



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO E IMPLEMENTACIÓN DE UN  
MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN  
SIMULTANEA DE METIL, ETIL Y PROPIL  
PARABENO EN LODOS DE AGUA RESIDUAL  
MEDIANTE EXTRACCIÓN ACELERADA CON  
DISOLVENTES Y CG-EM**

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA**

**P R E S E N T A:**

**ANDREA SÁNCHEZ BUTRÓN**



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 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:**            Profesor: Joaquín Preza De la Vega.

**VOCAL:**                    Profesora: Silvia Patricia Zafra Ramírez.

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

**1er SUPLENTE:**         Profesor: Juan Rolando Vázquez Miranda.

**2do SUPLENTE:**         Profesora: Tania Rojo Portillo.

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

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

**ASESOR DEL TEMA:**

---

José Elías Becerril Bravo

**SUSTENTANTE:**

---

Andrea Sánchez Butrón

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM el cual 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 2018)

## DEDICATORIAS

*“¿No ves lo necesario que es un mundo de penas y problemas para formar una inteligencia y convertirla en un alma?”*

*-John Keats*

A mi padre y a mi madre por su incondicional y entera confianza, amor y apoyo a lo largo de mi formación profesional y personal, esto no sería posible sin ustedes. Gracias por tenerme tanta paciencia y perdón por todos los malos ratos que les he hecho pasar. Mis logros son enteramente suyos.

A mis abuelos por todo su amor y cariño, motivación y confianza que ha sido importante y ha estado presente a lo largo de mi vida.

A mi hermano quien sirvió de motivación para culminar este proyecto, té agradezco la compañía que me hiciste mientras escribía esta tesis en la casa a altas horas de la noche. Te quiero mucho Ian.

A F. Romano, te agradezco por acompañarme en este momento, gracias por estar ahí, gracias por quererme y por ayudarme a crecer como persona.

A G. Ruiz y A. Fiesco, los otros dos grandes pilares que sostienen esta tesis, ambos grandes amigos, que me dieron su apoyo en momentos donde no sabía cómo continuar este proyecto de verdad no quepo en mi por agradecerles todo su apoyo. Y en lo particular gracias por ayudarme a ver la vida de otra manera y por todos los consejos. Cuentan conmigo siempre que lo necesiten.

A Nere y Edgar, siempre tengo presente el tamaño de su amistad y lo valiosa que es para mí, gracias por estar conmigo en momentos difíciles, los voy a querer siempre.

A “la dona”, estoy muy agradecida de haberlos conocido. “No cualquiera puede ser un gran químico, pero un gran químico si puede provenir de cualquier lado”.

*“Si todas las experiencias son indiferentes, la experiencia del deber es tan legítima como cualquier otra.  
Uno puede ser virtuoso por capricho.”*

*-Albert Camus*

## ÍNDICE

I. Lista de abreviaturas . . . . .	1
1. Resumen . . . . .	2
2. Objetivos . . . . .	4
2.1 Objetivo general . . . . .	4
2.2 Objetivos particulares . . . . .	4
3. Marco teórico. . . . .	5
3.1 Lodo residual . . . . .	5
3.1.1 Definición de lodo residual . . . . .	5
3.1.2 Lodo primario . . . . .	5
3.1.3 Lodo secundario . . . . .	6
3.1.4 Biosólidos . . . . .	6
3.1.5 Disposición y aprovechamiento de los lodos . . . . .	8
3.1.5.1 Producción de biogás . . . . .	9
3.1.5.1.1 Producción de biogás en Atotonilco Hidalgo. . . . .	9
3.1.5.2 Procesamiento térmico . . . . .	10
3.1.5.3 Relleno sanitario . . . . .	10
3.1.5.4 Saneamiento de suelos y agricultura . . . . .	11
3.2 Parabenos . . . . .	12
3.2.1 Generalidades . . . . .	12
3.2.1.2 Propiedades físicas y químicas . . . . .	13
3.2.2 Aplicaciones y usos . . . . .	13
3.2.3 Toxicidad . . . . .	14
3.2.4 Ecotoxicidad y medio ambiente. . . . .	17
3.3 Extracción acelerada con disolventes . . . . .	23
3.3.1 Fundamento . . . . .	23
3.3.2 Equipo . . . . .	24
3.4 Derivatización . . . . .	26
3.4.1 Fundamento . . . . .	26
3.4.2 Agentes sililantes . . . . .	27
3.4.3 Aplicaciones de la derivatización . . . . .	29
3.5 Cromatografía de gases . . . . .	30
3.5.1 Fundamento . . . . .	30
3.5.2 Instrumentación . . . . .	31
3.6 Espectrometría de masas . . . . .	36
3.6.1 Fundamento . . . . .	36
3.6.2 Instrumentación . . . . .	36

3.7	Curvas de calibración	41
3.7.1	Curva de calibración por estándar externo	42
3.7.2	Curva de calibración por estándar interno	43
3.7.3	Curva de calibración por adiciones de estándar	44
3.8	Parámetros de caracterización del método analítico	47
3.8.1	Intervalo de trabajo	47
3.8.1.1	Linealidad	47
3.8.1.2	Sensibilidad	47
3.8.2	Selectividad	48
3.8.3	Límite de detección	49
3.8.4	Límite de cuantificación	50
3.8.5	Exactitud	50
3.8.5.1	Precisión	51
3.8.5.1.1	Repetibilidad	52
3.8.5.1.2	Reproducibilidad	52
3.8.5.2	Veracidad	52
3.8.5.3	Incertidumbre de medida	53
3.8.6	Recobro	54
4.	Metodología	55
4.1	Material, reactivos y equipo	55
4.1.1	Reactivos	55
4.1.2	Estándares	55
4.1.3	Material	56
4.1.4	Instrumentación y equipo	56
4.2	Experimentos preliminares	57
4.2.1	Elección del disolvente de trabajo	57
4.2.2	Identificación de tiempos de retención	57
4.2.3	Identificación de espectro de masas	59
4.3	Rampa de temperatura	63
4.4	Derivatización	65
4.4.1	Agente sililante	65
4.4.2	Condiciones de derivatización	65
4.4.2.1	Volumen de derivatizante	66
4.4.2.2	Temperatura de derivatización	67
4.4.2.3	Tiempo de derivatización	69
4.5	Curva de calibración	71
4.5.1	Preparación de los estándares	71
4.5.2	Intervalo de trabajo	72



4.6 Caracterización del método cromatográfico . . . . .	74
4.6.1 Linealidad y sensibilidad . . . . .	74
4.6.2 Límite de cuantificación y límite de detección . . . . .	76
4.6.3 Repetibilidad y reproducibilidad . . . . .	78
4.6.4 Exactitud . . . . .	84
4.6.4.1 Precisión . . . . .	84
4.6.4.2 Veracidad . . . . .	84
4.7 Preparación preliminar de la muestra . . . . .	86
4.8 Condiciones de extracción (ASE) . . . . .	86
4.8.1 Fase dispersante . . . . .	88
4.8.2 Lavado . . . . .	90
4.8.2.1 Temperatura. . . . .	91
4.8.2.2 Ciclos de extracción. . . . .	92
4.8.3 Condiciones de extracción . . . . .	95
4.8.3.1 Disolvente . . . . .	96
4.8.3.2 Temperatura . . . . .	98
4.8.3.3 Presión . . . . .	99
4.8.3.4 Ciclos de extracción . . . . .	101
4.9 Caracterización de la metodología propuesta . . . . .	103
4.9.1 Exactitud . . . . .	103
4.9.1.1 Repetibilidad y reproducibilidad . . . . .	103
4.9.1.2 Recobro . . . . .	104
5. Aplicación a muestras reales . . . . .	106
5.1 Efecto matriz . . . . .	106
5.2 Resultados . . . . .	109
6. Discusión de resultados . . . . .	111
7. Conclusión . . . . .	118
8. Bibliografía . . . . .	121
ANEXO I. Modelos para el cálculo de la incertidumbre asociada a las mediciones y mínimos cuadrados . . . . .	I
ANEXO II. Graficas de residuales. . . . .	IX



## I. LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ASE</b>	Extracción acelerada con disolventes.
<b>BSTFA</b>	N,O-Bis(trimetilsilil)tifluroacetamida
<b>COT</b>	Carbono Orgánico Total.
<b>CG-MS</b>	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.
<b>Coef. de correl.</b>	Coefficiente de correlación.
<b>Conc.</b>	Concentración.
<b>CV</b>	Coefficiente de variación.
<b>Desv. est</b>	Desviación estándar.
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxígeno.
<b>Est</b>	Estándar.
<b>F.C</b>	Factor de corrección.
<b>F.D</b>	Factor de dilución.
<b>Figura.</b>	Figura.
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography (cromatografía de alta eficacia)
<b>Inc.</b>	Incertidumbre.
<b>L</b>	Litro.
<b>LOD</b>	Límite de detección.
<b>LOQ</b>	Límite de cuantificación.
<b>MeOH</b>	Metanol.
<b>Min</b>	Minuto.
<b>MI</b>	Microlitros.
<b>MI</b>	Mililitro.
<b>n.d</b>	No detectado.
<b>no.</b>	Número.
<b>Pp</b>	Página.
<b>Ppm</b>	Partes por millón.
<b>Seg</b>	Segundos.
<b>so'</b>	Desviación estándar corregida.
<b>Tr</b>	Tiempo de retención.
<b>Vol.</b>	Volumen.

## 1. RESUMEN

Los biosólidos de las plantas de tratamiento concentran la contaminación del agua de desazolve tratada, por sus características propias o adquiridas después de los procesos de estabilización estos pueden ser susceptibles de aprovechamiento siempre y cuando cumplan con los límites máximos permisibles en la NOM-004-SEMARNAT-2002 la cual está principalmente enfocada a los límites máximos permitidos de metales, microorganismos patógenos, sólidos totales y volátiles entre otros dentro de los biosólidos, sin embargo no existe una regulación para el rubro de los contaminantes emergentes, como lo son plaguicidas, antibióticos, conservadores, restos fármacos entre otros, que puedan estar presentes en los lodos residuales.

Un grupo de contaminantes emergentes de gran interés en la actualidad son los parabenos, los cuales son utilizados ampliamente en la industria cosmética y de la salud debido a sus efectos bactericidas y conservantes. Al estar presentes en los biosólidos, estos pueden ser retenidos en la matriz sólida pasando directamente al suelo entrando así en contacto directo con alimentos producidos para consumo humano y animal, poniendo en riesgo la salud humana a largo y corto plazo debido a sus características toxicológicas.

Conocer la cantidad de parabenos que se encuentran en los lodos residuales, es de gran importancia debido que así se podría dar un previo tratamiento a estos para posteriormente utilizarlos como mejoradores de suelo sin poner en riesgo la salud humana.

En este trabajo se presenta el desarrollo y optimización de un método analítico para determinación simultánea de 3 parabenos, ésteres del ácido p-hidroxibenzoico (metil, etil y propil) en lodos de agua residual de plantas de tratamiento de la ciudad de México mediante cromatografía de gases acoplado a un detector selectivo de masas (CG-EM) utilizando la técnica de Extracción

Acelerada con Disolventes para la preparación de la muestra debido a la complejidad de esta.

La optimización del método involucra el diseño experimental, la caracterización de este, la preparación de muestras y los parámetros cromatográficos para el análisis.

## 2.OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo general

El objetivo de este trabajo se centra en optimizar una metodología para la determinación simultánea de metil, etil y propil parabeno en muestras de lodos de plantas de tratamiento de agua residual mediante el uso de la Extracción Acelerada con Disolventes y Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.

### 2.2 Objetivos particulares

- Realizar y optimizar la extracción de metil, etil y propil parabeno en muestras de lodos mediante ASE (Extracción Acelerada con Disolventes).
- Determinar los parámetros y condiciones óptimas de derivatización de los parabenos para su posterior detección cromatográfica.
- Determinar los parámetros cromatográficos para la detección de metil, etil y propil parabeno.
- Caracterizar la metodología propuesta.
- Aplicar la metodología a muestras reales de lodos provenientes de plantas de tratamiento de agua residual y a muestras de sedimentos de ríos y canales.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1 Lodo residual**

##### **3.1.1 Definición de lodo residual**

Un lodo residual es el producto del desazolve de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Son sólidos o semisólidos los cuales pueden contener agua, sustancias disueltas, microorganismos, sólidos suspendidos y metales pesados.

Una de las principales características de un lodo residual es que no ha sido sometido a un proceso de estabilización, es decir reducir la presencia de patógenos, eliminar olores desagradables y reducir o eliminar por completo su potencial de putrefacción.<sup>1</sup>

Los lodos producidos en el tratamiento de aguas residuales dependen del tipo de planta de tratamiento (físico, químico o biológico) y de la operación, por ejemplo, en una planta de aguas residuales domésticas, los lodos se generan principalmente en las etapas de tratamiento primario y tratamiento secundario.

##### **3.1.2 Lodo primario**

Los lodos primarios son aquellos que se producen en la sedimentación por gravedad en las plantas de tratamiento. La composición de este tipo de lodo depende de las características del área de recogida de las aguas. El lodo primario contiene generalmente una gran cantidad de materia orgánica. La consistencia se caracteriza por ser un fluido denso con un porcentaje en agua que varía entre 93 – 97 %, de color grisáceo y oloroso con un porcentaje de sólidos totales de 4 – 10 %. Pueden reducir su volumen por espesamiento o deshidratación.<sup>2</sup>

### **3.1.3 Lodo secundario**

Este tipo de lodo posee un alto contenido de agua, color café oscuro y un contenido de sólidos totales de 0.5-2%. Normalmente se caracteriza por la interacción de distintos tipos de bacterias y microorganismos que requieren oxígeno para vivir, crecer y multiplicarse los cuales consumen materia orgánica.

Este tipo de lodo generalmente se encuentra en forma de flóculos que contienen biomasa (viva o muerta) así como partes minerales y orgánicas.<sup>1</sup>

Este tipo de lodo es producido en un proceso de tratamiento biológico en el cual, por medio de microorganismos, se remueve la materia orgánica contenida en el agua residual, la cual puede llevarse de manera aerobia o anaerobia y la biomasa puede estar suspendida o adherida en algún medio. Este tipo de lodo se remueven por sedimentación.<sup>3</sup>

### **3.1.4 Biosólidos**

Los biosólidos son residuos orgánicos sólidos o semisólidos resultantes del tratamiento de las aguas residuales los cuales han sido sometidos a procesos de estabilización.

Esos residuos orgánicos sólidos o semisólidos son estabilizados para reducir la presencia de patógenos, así como reducir su potencial de putrefacción, esto se logra a partir de procesos de estabilización como lo son la digestión anaerobia, la cual se basa en depositar los lodos en un reactor sin presencia de oxígeno con mezclado constante y la digestión aerobia, la cual se produce por medio de una aireación constante.

Se ha considerado que los biosólidos por sus características propias o por las adquiridas después del proceso de estabilización pueden ser susceptibles de aprovechamiento, en México se utilizan principalmente como mejoradores de suelo debido a su alto contenido de macro y micronutrientes, siempre y cuando cumplan



con los límites máximos permisibles de contaminantes establecidos en la NOM-004-SEMARNAT-2002 o en su caso se dispongan de forma definitiva como residuos no peligrosos.<sup>1</sup>

En la tabla 1 se muestran los límites permisibles para metales pesados en biosólidos en la NOM-004-SEMARNAT-2002:

Tabla 1. Límites máximos permisibles para metales pesados de forma total en biosólidos.

Contaminante	Límites máximos permisibles [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ] en base seca	
	Excelentes	Buenos
Arsénico	41	75
Cadmio	39	85
Cromo	1200	3000
Cobre	1500	4300
Plomo	300	840
Mercurio	17	57
Níquel	420	420
Zinc	2800	7500

En la tabla 2 se muestran los límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en lodos y biosólidos además se muestra en la tabla 3 la clasificación de estos en base a la cantidad que poseen según la NOM-004-SEMARNAT-2002.

Tabla 2. Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en lodos y biosólidos.

CLASE	INDICADOR BACTERIOLÓGICO DE CONTAMINACIÓN	PATÓGENOS	PARÁSITOS
	Coliformes fecales NMP/g en base seca	<i>Salmonella ssp.</i> NMP/g en base seca	Huevos de helmintos/g en base seca
A	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 1 (a)
B	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

(a)Huevos de helmintos viables

NMP número más probable

Tabla 3. Clasificación de los biosólidos y aprovechamiento de los mismos en función de tipo y clase según la NOM-004-SEMARNAT-2002

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
Excelente	A	Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación. Los establecidos para clase B y C.
Excelente o bueno	B	Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación. Los establecidos para clase C.
Excelente o bueno	C	Usos forestales. Mejoramiento de suelos. Usos agrícolas.

### 3.1.5 Disposición y aprovechamiento de lodos

El manejo de lodos provenientes del alcantarillado se está convirtiendo en un tema de suma importancia, dentro de la Unión Europea y el mundo<sup>4</sup>. Los métodos de manejo que involucraban un almacenamiento están siendo sustituidos por métodos que conducen a la estabilización de los residuos y el reciclaje de estos.

Las principales formas de aprovechamiento de estos son como fuente de energía debido a que poseen un alto valor calorífico o mejoradores de suelo en la agricultura.

### **3.1.5.1 Producción de biogás**

Los lodos secundarios, por su alto valor calorífico pueden ser aprovechados como fuente de energía durante la etapa de digestión anaerobia en la que se produce biogás como subproducto del proceso, el cual produce un 60 - 70 % de metano utilizado como fuente de energía directa y un 30 - 40 % de dióxido de carbono entre otros gases.<sup>5</sup>

El biogás puede ser alimentado a una máquina de cogeneración para generar energía eléctrica y calorífica.<sup>6</sup>

#### **3.1.5.1.1 Producción de Biogás en Atotonilco Hidalgo**

Un claro ejemplo de la producción de biogás a partir de biosólidos es la planta de tratamiento de aguas residuales de Atotonilco Hidalgo, México, la cual realiza el tratamiento de las aguas residuales generadas en la zona metropolitana del Valle de México, fue diseñada para ser autosuficiente generando su propia energía eléctrica utilizando biogás generado como subproducto del tratamiento de aguas y gas natural, lo cual resulto de una reducción anual del 81 % de la energía suministrada por fuentes externas<sup>7</sup>.

La producción de biogás se lleva a cabo utilizando el desperdicio sólido restante del proceso de tratamiento de aguas (lodos residuales), este proceso comienza en un digestor de lodos los cuales poseen microorganismos específicos los cuales descomponen la materia orgánica principalmente en dióxido de carbono y metano. El metano se separa y se envía a una máquina de cogeneración donde se quema produciendo calor, dióxido de carbono y agua. El vapor de agua hace funcionar las turbinas conectadas a un generador que provoca un campo magnético para la producción de electricidad<sup>8</sup>.

### **3.1.5.2 Procesamiento térmico.**

Uno de los métodos más utilizados es el procesamiento térmico debido a que este tratamiento se basa en la oxidación exotérmica de los biosólidos produciendo principalmente CO<sub>2</sub> y agua.

El procesamiento térmico reduce hasta en un 90 % el volumen de lodo y tiene una simultanea destrucción de patógenos, solidos volátiles y produce la degradación de compuestos químicos orgánicos tóxicos<sup>5</sup>.

Posterior a la incineración se puede llevar a cabo la recuperación de materias primas y materiales potencialmente peligrosos como lo son el fosforo, metales pesados, metales de tierras raras etc.

En china los lodos estabilizados por incineración son destinados a la producción de una fuente secundaria de combustible en fábricas de cemento reduciendo así las emisiones de CO<sub>2</sub> al ambiente por el uso de combustible fósil, así como se ha ocupado como materia prima en la producción de cemento debido a su composición<sup>9</sup>.

### **3.1.5.5 Relleno sanitario**

Consiste en depositar el lodo en un sitio destinado para este único fin, para posteriormente ser tapado con suelo. Cuando los lodos son dispuestos en el relleno sanitario, se lleva a cabo la descomposición de los residuos mediante una degradación anaerobia, así como transporte de sedimentos y disolución de materiales<sup>10</sup>.

#### **3.1.5.4 Saneamiento de suelos y agricultura**

Los lodos estabilizados o biosólidos también pueden ser utilizados como mejoradores de suelo en la agricultura. Éstos mejoran las características del suelo como lo son la textura y la capacidad de absorción del agua, también proveen nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal como nitrógeno, fósforo, níquel, zinc y cobre.

Los biosólidos, por su alto contenido en nutrientes ofrece diversas ventajas en comparación con los fertilizantes inorgánicos, esto se debe a que los nutrientes pueden ser incorporados lentamente por las plantas a medida que avanzan en su crecimiento, además de que estas formas orgánicas son menos solubles en agua por lo tanto tienen una menor probabilidad de lixiviarse al agua subterránea o ser arrastrada por aguas superficiales<sup>6</sup>.

## 3.2 Parabenos

### 3.2.1 Generalidades

Los parabenos son ésteres del ácido p-hidroxibenzoico los cuales han sido utilizados de manera amplia como conservadores en productos del cuidado personal, en la industria alimenticia, cosmética y en la fabricación de diversos productos debido a su buena estabilidad en un amplio intervalo de pH, baja solubilidad en agua, su actividad efectiva frente a hongos, levaduras y algunos microorganismos Gram + y Gram -, así como una escasa adsorción sobre la superficie de los empaques<sup>12</sup>.

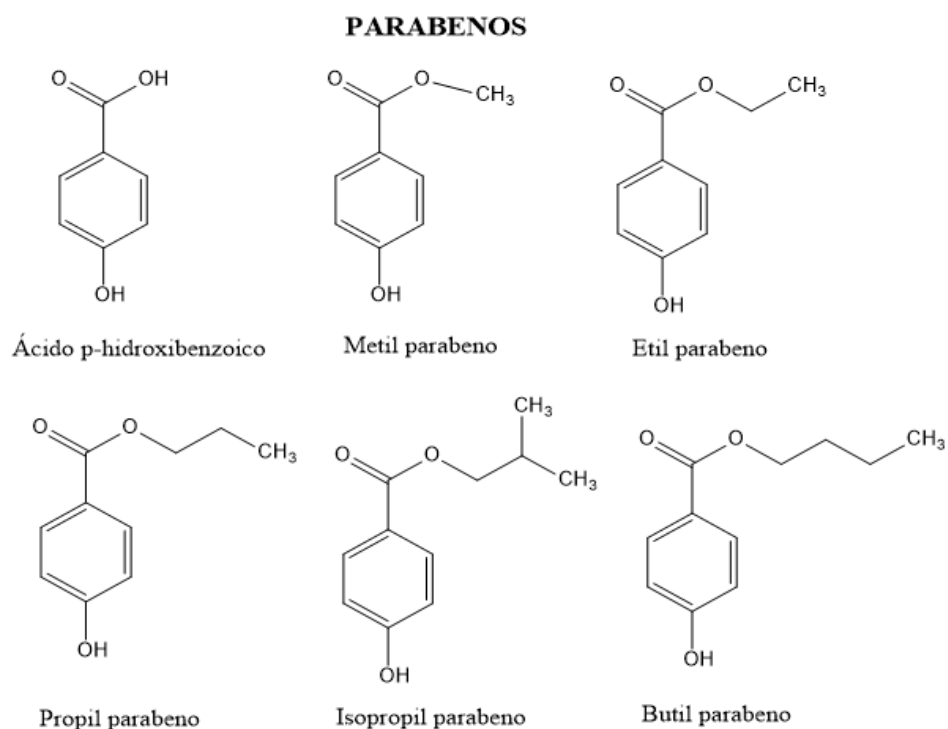


Figura.1 Estructura del ácido p-hidroxibenzoico, metil, etil, propil isopropil y butil parabeno.

### 3.2.1.1 Propiedades físicas y químicas

Los parabenos son sólidos relativamente solubles en agua e hidrolíticamente estables que presentan carácter hidrofóbico creciente al aumentar el tamaño en su cadena. En la tabla 4 se muestran sus propiedades de metil, etil y propil parabeno.

Tabla 4. Características fisicoquímicas de metil, etil y propil parabeno.

Propiedades	Metil parabeno CAS: 96-76-3	Etil parabeno CAS: 120-47-8	Propil parabeno CAS: 94-13-3
mM [g · mol <sup>-1</sup> ]	152.15	166.17	180.2
pKa	8.15	8.22	8.35
Log K <sub>o/w</sub>	1.96	2.47	3.04
Punto de ebullición [°C]	298.6	297-298	133
Punto de fusión [°C]	125-128	114-117	95-98
Presión de vapor. [hPa]	0.000005	0.00012	0.67
Solubilidad en agua [g · L <sup>-1</sup> ] (25°C)	2.5	1.84	0.4

Propiedades consultadas mediante su número CAS en: ChemSpider , Pub Chem y Chemical Book.

### 3.2.2 Aplicaciones y usos

Los parabenos son utilizados de manera individual o en mezclas principalmente como conservadores en productos de uso diario. La popularidad de los parabenos ha ido creciendo, debido a que estos ofrecen diversas ventajas comparados con otras alternativas como su bajo costo, así como una estabilidad térmica y química que permiten su aplicación en un alto intervalo de pH<sup>12</sup>.

Además de ser utilizados en la industria cosmética y farmacéutica, se encuentran en una gran variedad de productos en bajas concentraciones, se añaden a bebidas alcohólicas, jarabes, productos congelados, gelatinas, pulpa de tomate, etc. en donde sus concentraciones oscilan entre 450 -2000 mg · g<sup>-1</sup>, lo que supone una ingesta de 4-6 mg/Kg/día para un adulto. [Dabre P, 2004] Estos son absorbidos por el tracto gastrointestinal y por la sangre para ser hidrolizados a ácido p-hidroxibenzoico o su conjugado y excretados por la orina<sup>13</sup>.

A pesar de ser utilizados de manera amplia en diversas industrias, las regulaciones de estos solo se toman en cuenta en la producción de cosméticos, en los cuales la concentración máxima permitida es de 0.4 % para uso individual y 0.8 % en mezclas de estos. [Borremans M, 2004]

Como aditivos en cosméticos, el metil parabeno y el propil parabeno son los más utilizados en un rango de concentraciones normalmente inferior a 0.3 y 0.1 % respectivamente<sup>15</sup>.

### **3.2.3 Toxicidad**

Algunos estudios han mostrado que el uso a gran escala de estos conservadores en cosméticos puede causar daños a la salud debido a su actividad estrogénica, así como la perturbación al sistema endocrino. [Márquez-Sillero, 2010]

A pesar de que estos se encuentran en gran variedad de productos a bajas concentraciones, la relevancia de estos viene dada por la exposición continua a la que está sometida la población. En EE. UU siguen que en promedio la exposición individual por persona es de aproximadamente 76 mg · día<sup>-1</sup> para una persona de 70 kg de los cuales productos del cuidado personal y cosméticos aportan 50 mg · día<sup>-1</sup> mientras que los fármacos aportan 25 mg · día<sup>-1</sup> y la concentración de parabenos en alimentos aporta únicamente 1 mg · día<sup>-1</sup> <sup>17</sup>.



Los parabenos pueden entrar en contacto directo con la población mediante vías como la ingestión, inhalación y exposición dérmica<sup>15</sup> estos, posteriormente son adsorbidos por el tracto gastrointestinal y por la sangre y al final son hidrolizados a ácido p-hidroxibenzoico y excretados por la orina. Debido a que estos compuestos presentan una gran afinidad por las matrices orgánicas, se puede llegar a presentar una acumulación dérmica en los componentes grasos de los tejidos humanos<sup>18</sup>.

Recientemente ha habido un aumento en la preocupación sobre los riesgos potenciales que pueden tener los parabenos en la salud de los humanos y animales debido a que estos representan un grupo de disruptores endocrinos emergentes los cuales causan disfunciones inmunes, tienen efectos reproductivos y además se han asociado con el desarrollo y crecimiento de tumores que producen cáncer de mama<sup>19</sup>.

La toxicidad de los parabenos ha sido confirmada por estudios asociados a la aparición de cáncer de mamá y la actividad estrogénica de los mismos mostrados en la Tabla 5:

Tabla 5. Estudios realizados para comprobar la toxicidad y actividad estrogénica de los parabenos.

Estudio	Bibliografía
Concentraciones >20 ng · g <sup>-1</sup> de parabenos encontrados en tejido de tumores en la zona mamaria.	[Dabre P, 2004]
Los parabenos son capaces de desplazar al 17-β-estradiol del receptor estrogénico citosólico responsable de la proliferación y crecimiento de tumores mamarios.	[Golden R, 2005]
Incremento en la pared vaginal, peso de útero en roedores hembras y disminución de calidad del esperma en roedores machos al ser expuestos a formulaciones con parabenos.	[Golden R, 2005]

Los parabenos son capaces de causar aberraciones cromosómicas en presencia de bifenil policlorados. Generan inhibición de los lisosomas.	[Dabre P, 2004]
La actividad estrogénica de los parabenos aumenta con la longitud de las cadenas de ramificación.	[Núñez L, 2008]
Los parabenos generaron dermatitis de contacto o irritaciones cutáneas en 1.2 % de 4439 pacientes.	[Wentworth A, 2014]
Se determinó que los niveles de parabenos en leche materna oscilan entre 0.0023 a 6000 ng · mL <sup>1</sup> dependiendo del uso de productos del cuidado personal de las mujeres lactantes.	[Fernandes C ,2018]
Se detectó la presencia de metil, etil y propil parabeno en proporción de 63, 22, 29 % respectivamente en suero sanguíneo.	[Sandanger T, 2011]
La exposición a parabenos fue encontrada como la primera causa de incremento en el peso de glándulas suprarrenales y la disminución del peso de la glándula tiroides en roedores.	[Vo T, 2010]
Estudios demostraron la migración de metil y propil parabeno por aplicación cutánea en la piel a tejido mamario.	[Barr L, 2012]
Estudios realizados con tumores mamarios humanos encontraron una concentración media de parabenos 20,6 ± 4.2 ng·g <sup>-1</sup> identificando al metil parabeno con la concentración más alta 12.8 ± 2.2 ng · g <sup>-1</sup>	[Alijarrah A, 2005]
Estudios Recientes han demostrado que diversos parabenos tienen la capacidad de unirse al receptor de andrógenos además de que se descubrió que estos poseen a su vez actividad anti androgénica.	[Boberg J, 2010]

A pesar de todas las implicaciones que este tipo de compuestos puede llegar a generar en el ser humano, uno de los más grandes problemas que pueden desencadenar estos compuestos, son los productos de reacción que puedan llegar a producir en distintas matrices medioambientales. Ya que estos en presencia de cloro a niveles bajos (mg · mL<sup>-1</sup>), como lo son en aguas potables pueden llegar

a transformarse en compuestos mono-di halogenados cuyas repercusiones en el ser humano y en el ambiente son desconocidos [Canosa P, 2006].

### 3.2.4 Ecotoxicidad y medio ambiente

Los parabenos pueden ser introducidos en el medio acuático por la continua descarga del sistema de drenaje, así como el vertido directamente de productos que puedan contener en su formulación estos productos. Se ha descubierto que los parabenos son tóxicos para la vida mariana como algas, peces e invertebrados<sup>16</sup>.

En agua de río se han detectado niveles inferiores a  $80 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$  para metil propil y etil parabeno. [Canosa P, 2006] También se ha analizado la presencia de los parabenos, siendo el propilparabeno la especie mayoritaria [Lee HB; 2005]. En general, las concentraciones detectadas de estos compuestos son inferiores a  $2.5 \text{ ng/mL}$  para agua residual sin tratar, mientras que el efluente de la planta depuradora presenta niveles inferiores a  $100 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>18</sup>.

Debido al valor del logaritmo del  $k_{o/w}$  de los parabenos, es muy probable que estos tengan una gran afinidad a compuestos orgánicos como lo son las matrices sólidas, en este caso los lodos. El estudio de la concentración de estos es de suma importancia debido a que, al ser utilizados como mejoradores de suelos, los parabenos tienen una alta biodisponibilidad para los cultivos utilizadas para el consumo humano y animal.

Sin embargo, se ha observado que las diferencias entre las concentraciones de los parabenos dependen de si la descarga es de tipo doméstico, industrial o sanitario, así como el tamaño de la zona urbana, En la tabla 6 se muestran las concentraciones de metil, etil y propil parabeno obtenidas en diversas publicaciones en lodos de agua residual.

Tabla 6. Concentraciones de parabenos encontradas en lodos en diferentes publicaciones.

Lugar	Tipo de lodo	Determinación	Concentración (ng · g <sup>-1</sup> )			Bibliografía
			Metil Parabeno	Etil Parabeno	Propil Parabeno	
Quebec, Canadá	No tratado	LC - MS/MS	72 - 91	< 6.4	< 2.8 - 8	[Vigilino L. 2011]
Guangzhou, China	No tratado	UHPLC - MS/MS	5.7 - 53.5	< 0.6	3.6 - 17.8	[Yu Y. 2011]
Beijing, China	No tratado	LC - MS/MS	274 - 517	1.14 - 6.80	13.0 - 29.9	[Wenhui L, 2015]
Xiamen, China	No tratado	LC - MS/MS	8.2 - 48.1	-	< 0.1 - 6.0	[Sun Q,2016]
Corea del Sur	No tratado	HPLC - MS/MS	4.31 – 540	< 0.1 - 2.12	< 0.05 - 32.5	[Chunyang L, 2013]
Tarragona, España	No tratado	UHPLC - MS/MS	46 - 202	< 1.75	6 - 10	[Nieto A, 2009]
Madrid, España	No tratado	GC – MS	5.1 - 26.2	< 1.1	5.6 - 44.1	[Albero B. 2012]
Albania, EE. UU	No tratado	LC - MS/MS	24.3 - 87.4	1.6 - 12	0.36 - 4.64	[Wang L, 2016]
EE. UU	Tratado y no tratado (CLASE A y B)	LC - MS/MS	15.9 - 204.0	< 0.6 - 2.6	0.5 - 7.7	[Chen J,2017]
Valladolid, España	Tratado (activado aerobio)	GC – MS	-	-	0.25 - 0.37	[Lopez R , 2018]
Alemania	No tratado (posterior a la floculación)	LC - MS/MS	10.0	-	-	[Sanchez M,2018]
Barcelona, España	Tratados destinados a la agricultura	TFC-LC - MS/MS	360 - 751	8.9	29 - 174	[Gorga M 2014]
Salamanca, España	No tratado	CG-MS/MS	-	-	1.5	[Casas A, 2011]
Granada, España	Composta de lodo residual	LC - MS/MS	0.6 - 12.4	0.9 - 15.4	0.6 - 14.3	[Camino F, 2016]
Madrid España	No Tratado	LC - MS/MS	0.49	0.31	0.11	[Núñez L, 2010]
		HPLC-UV	0.89	0.65	0.81	

\*Se entiende como lodo no tratado al lodo tomado dentro del proceso de las plantas de tratamiento de agua residual sin haber sido sometidos a un proceso de estabilización.

De igual manera se han detectado la presencia parabenos en suelos fertilizados con biosólidos municipales y en suelos destinados para la agricultura humana, así como en los cultivos que estos producen, en la tabla 7 se muestran los tipos de parabenos y las concentraciones obtenidas en suelos y cultivos urbanos fertilizados con biosólidos.

Tabla 7. Concentraciones de parabenos encontradas en suelos destinados a la agricultura y en sus cultivos.

Estudio	Bibliografía
Se detectó la presencia de metil parabeno en una concentración de $7.14 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ en suelos utilizados para la agricultura fertilizados con biosólidos en Ontario, Canadá.	[Sabourin L, 2012]
Se encontraron metil, propil y butil parabeno en suelos destinados a la agricultura (Barcelona, España) en concentraciones de: $< 6.2 - 30 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , $< 0.19 - 0.48 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , $< 0.15 - 0.28 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ respectivamente. Así como la presencia de metil parabeno en la concentración de: $25.0 - 136 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ en muestras de lechuga que crecieron en dichos suelos.	[Margenat A, 2018]
Se detectó la presencia de metil, etil, propil y butil parabeno en nabo y zanahoria de un mercado local de Sevilla España.	[Aparicio I, 2018]
Se detectó la presencia de metil parabeno en lechuga, tomate, coliflor y habas provenientes de zonas de cultivos de Barcelona España, en concentraciones de: $28.5 - 150 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , $12.5 - 23.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , $< 0.81 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ y $< 0.81 - 28.7 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ respectivamente.	[Margenat A, 2019]
Se encontró una concentración de $81 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ de metil parabeno en apio obtenido de un mercado de Beijing, China.	[Song S, 2017]

Sin embargo, una gran parte de los productos del cuidado personal como lo son los parabenos, son desechados por medio del sistema de drenaje hasta llegar a grandes cuerpos de agua los cuales generan una gran biodisponibilidad en ecosistemas marinos provocando repercusiones en las especies que habitan en ellos. En la tabla 8 se muestran los efectos ecotoxicológicos y las concentraciones de parabenos asociadas a diversas especies acuáticas.

Tabla 8. Efectos ecotoxicológicos y concentraciones de parabenos encontradas en diversas especies acuáticas.

Estudio	Bibliografía
La exposición de metil parabeno a embriones de pez cebra ( <i>Danio rerio</i> ) demostró el desarrollo de edema pericárdico, acumulación de células sanguíneas, curvatura en la columna vertebral y anomalías en la eclosión, supervivencia y frecuencia cardiaca.	[Yatin V, 2017]
Se comprobó que la exposición de los primeros 6 parabenos en Tilapias adultas del Nilo causaron cambios bioquímicos en las células branquiales y hepáticas, además se mostró que a largo plazo hubo una adaptación antioxidante a las dosis de parabenos en branquias e hígado.	[Silva D, 2018]
Se determinó la presencia de seis parabenos y sus metabolitos (ácido 4-hidroxibenzoico) en aguas superficiales y sedimentos del río Amarillo y el río Huai en China atribuidas a la precipitación pluvial.	[Feng J, 2019]
Se detectó la presencia de etil parabeno en ríos y manglares de la india atribuido a las descargas industriales.	[Rajendran, 2011]
Se detectó la presencia de metil, propil y butil parabeno en las aguas superficiales. No se detectó presencia de los parabenos el tejido cerebral de los pescados analizados, pero sí de bisfenol A.	[Renz L , 2013]
Se demostró que la exposición a propil parabeno en peces cebra ( <i>Danio rerio</i> ) influenció los procesos de diferenciación sexual aumentando la proporción de peces hembra en el grupo de peces expuesto.	[Mikula P, 2009]
La exposición del butil parabeno en perifiton demostró la inhibición del crecimiento del Perifiton, así como la inhibición de la eficacia fotosintética y la inhibición en la diversidad del Perifiton.	[Song C, 2016]
Se comprobó la presencia de parabenos en tejido de diversos peses, mamíferos marinos, aves marinas y sus huevos, así como la presencia del metabolito de los parabenos (ácido p-hidroxibenzoico) en osos polares ( <i>Ursus maritimus</i> ) de Alaska y aves albatros ( <i>Diomedidae</i> ) en las islas Midway.	[Juliano C, 2017]
Se examinó el efecto de 7 parabenos en las especies marinas ( <i>Daphnia Magna</i> ) y ( <i>Pimephales Promelas</i> ) obteniendo una	[Dobbins L, 2009]

concentración letal de 40 - 24.6 mg · L <sup>-1</sup> y 3.3-160.0 mg · L <sup>-1</sup> respectivamente, además se observaron efectos en el crecimiento y reproducción de los mismos en los niveles más bajos de exposición a los parabenos.	
Se detectó la presencia de preservativos cosméticos con base en parabenos (metil, etil, propil y butil) a una concentración de 1000 – 3450 ng · g <sup>-1</sup> , 105 – 183 ng · g <sup>-1</sup> , 74.5 - 1140 ng · g <sup>-1</sup> , 18.3 - 22.9 ng · g <sup>-1</sup> respectivamente en tres especies de peces: ( <i>V. Buchanani</i> ), ( <i>E.Corallicola</i> ) y ( <i>M. Cephalus</i> ) de la bahía Manila en Filipinas	[Kim J, 2011]
Se encontró una concentración de metil, etil, propil y butil parabeno en más del 90 % de las 20 especies de peces de Bahía Manila con concentraciones de: < 0.05 - 3600 , < 0.011 - 840 , < 0.024 - 1100 y 0.003 - 70 ng · g <sup>-1</sup> respectivamente.	[Ramaswamy B, 2011]
Se detectó la presencia de seis parabenos y sus metabolitos en 254 muestras de tejido las cuales incluyen hígado, riñón, huevos y plasma de 12 especies de peces, 7 de aves recolectados y en tejido de riñón e hígado provenientes de osos negros ( <i>Ursus americanus</i> ) encontrando en concentraciones más altas metil parabeno.	[Xue J, 2016]
Se encontró la presencia de 6 parabenos y sus metabolitos más comunes en 121 muestras de tejidos de 8 especies de mamíferos marinos de las costas de Florida, California, Washington y Alaska, identificando a metil parabeno como el compuesto mayoritario.  La concentración más alta de 865 ng · g <sup>-1</sup> de metil parabeno fue encontrada en los tejidos provenientes de hígados de los delfines nariz de botella ( <i>Tursiops truncatus</i> ).	[Xue J,2015]

Debido a la gran biodisponibilidad que los parabenos tienen en matrices ambientales principalmente las acuáticas, las especies que habitan en estos están en contacto constante con estos analitos lo cual ha generado repercusiones severas en su desarrollo y crecimiento, así como una acumulación considerable de estos en su cuerpo.

A pesar de que los parabenos están asociados a la aparición de tumores mamarios, aún hay bastantes efectos que se desconocen de la exposición prolongada de los parabenos en el ser humano, por lo cual es de suma importancia conocer la concentración en lodos de agua residual utilizados como mejoradores de suelo o en la agricultura debido a que de no tener una regulación se puede llegar a tener una bioacumulación en los cultivos y posteriormente estar en una exposición crónica de los parabenos con el ser humano.



### 3.3 Extracción acelerada con disolventes

#### 3.3.1 Fundamento

La extracción acelerada con disolventes (ASE) o también conocida como extracción con disolventes presurizados fue comercializada por la compañía DIONEX en 1995<sup>66</sup>.

Es una técnica de extracción completamente automatizada sólido-líquido para compuestos orgánicos de matrices sólidas y semisólidas que combina la utilización de temperaturas y presiones elevadas con disolventes en estado líquido para generar una extracción rápida y eficaz de los analitos en distintos tipos de matrices contenidos en una celda de acero sellada. Normalmente las extracciones son completadas de 15 - 25 minutos utilizando solamente 15 - 45 mL de disolvente<sup>67</sup>.

La presión elevada es necesaria para mantener el disolvente en estado líquido a las temperaturas de trabajo, las cuales normalmente son superiores a las temperaturas de ebullición por lo cual las propiedades del disolvente se modifican, de modo que su viscosidad disminuye, favoreciendo la difusión de los analitos por la matriz, aumentando así la eficacia de la extracción y minimizando el volumen de disolvente empleado. [Richter B, 1996]

El disolvente debe ser capaz de solubilizar los analitos de manera eficiente sin arrastrar los demás componentes de la matriz. Por otro lado, la temperatura tiene que ser lo suficientemente elevada para favorecer la cinética de extracción sin degradar los analitos. El uso elevado de temperaturas también favorece el aumento de las velocidades de difusión, es decir favorece la movilidad de los analitos de la capa límite hasta la matriz en la cual está el disolvente extrayendo a mayores temperaturas. Las altas temperaturas también reducen la viscosidad del disolvente, lo que significa que el disolvente puede penetrar por las porosidades de la matriz de manera más fácil, así como reducir las interacciones matriz-soluto causadas por las fuerzas de Van Der Waals, puentes de hidrógeno y atracciones dipolo-dipolo<sup>67,68</sup>.

En el proceso de extracción, el disolvente se introduce a la celda libre de oxígeno, lo cual evita la degradación de los compuestos por oxidación, a presión constante mediante un tiempo determinado, una vez transcurrido el tiempo, la celda se vacía recogiendo así el extracto en un vial colector.

Posteriormente se hace pasar un volumen de disolvente el cual esta expresado como tanto por ciento del volumen total de la celda, llamado porcentaje de flush, para arrastrar posibles trazas remanentes de los analitos<sup>68</sup>. Es decir, si se tiene un porcentaje de flush del 60 %, al finalizar la extracción y tener el extracto recolectado en un vial colector, se hace por la celda un 0.6 del volumen total que la celda puede almacenar de disolvente para arrastrar posibles trazas de analitos que no hayan sido extraídas por el disolvente en la extracción principal.

Otros factores que afectan directamente a la eficacia de la extracción son el número de ciclos y el tiempo de extracción.

### **3.3.2 Equipo**

Los equipos de Extracción Acelerada con Disolventes constan de una bomba para impulsar el disolvente, un horno donde se introducen las celdas de acero presurizadas para mantenerla a la temperatura seleccionada, un vial colector en el cual se recoge el extracto y una bomba de nitrógeno para purgar la celda al finalizar el proceso.

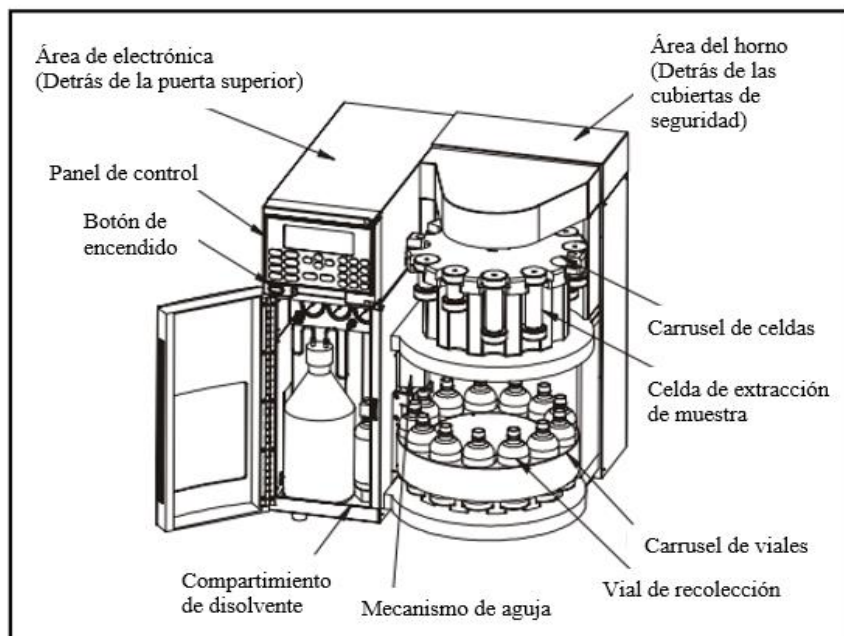


Figura. 2. Esquema de un equipo de extracción acelerada con disolventes DIONEX ASE 300<sup>66</sup>.

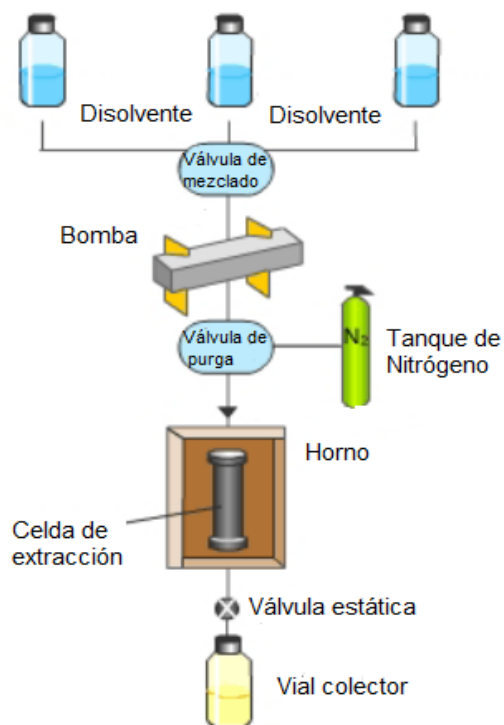


Figura. 3. Funcionamiento de un equipo de Extracción Acelerada con Disolventes tomado de: Extracción acelerada Dionex ASE 150/350<sup>66</sup>.

## 3.4 Derivatización

### 3.4.1 Fundamento

La derivatización es una transformación química de los analitos en otras especies de estructura similar, más compatibles con la técnica de determinación o que presenten mejores características para su determinación. [Mol H, 2000]

Para las técnicas cromatográficas los objetivos particulares de la derivatización de los analitos recaen principalmente en mejorar la estabilidad térmica de estos, mejorar la resolución cromatográfica entre los picos y modificar indirectamente la sensibilidad del detector introduciendo moléculas con grupos orgánicos que incrementen su respuesta<sup>70</sup>.

La técnica de la derivatización se ve principalmente aplicada en la determinación de residuos de plaguicidas en suelos y sedimentos mediante el uso de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAR), debido al alto carácter polar de los analitos y su baja volatilidad requieren una previa transformación de su estructura para así modificar sus propiedades y su posterior inyección cromatográfica<sup>71</sup>.

Esta derivatización se realiza principalmente con FMOC (Cloruro de 9-Fluorenilmetoxi carbonil), el cual es capaz de reemplazar los oxígenos activos de los grupos –OH que posee la estructura, disminuyendo su polaridad. Una vez que los analitos son sometidos a la derivatización pueden ser analizados mediante CLAR<sup>71</sup>.

### 3.4.2 Agentes sililantes

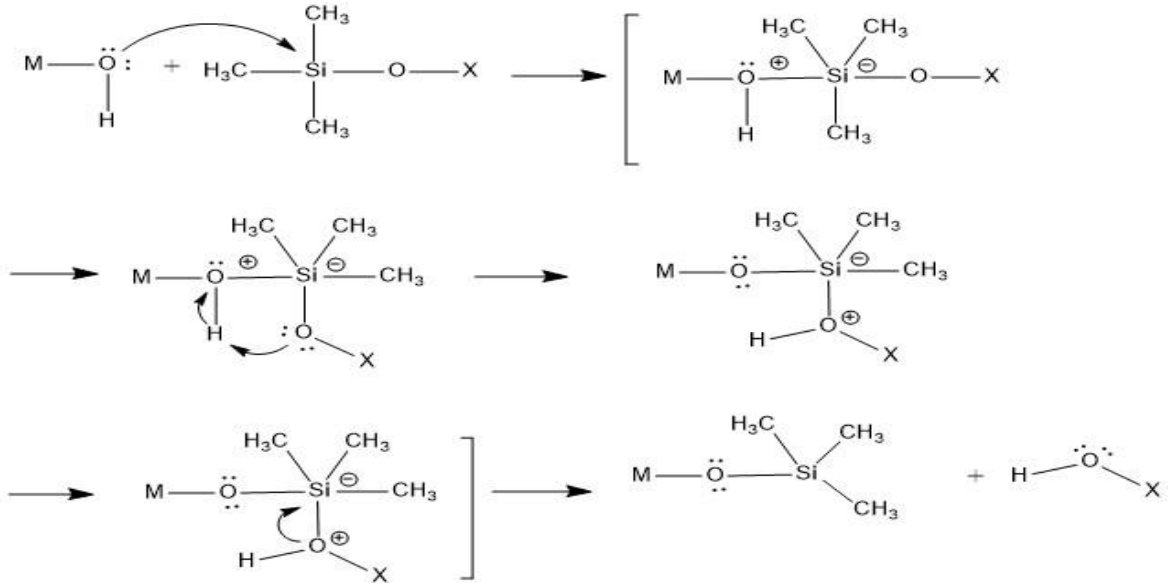
La sililación es el procedimiento de derivatización más empleado para el análisis por GC, debido a la facilidad en su empleo y en la formación de los derivados.

Estos agentes derivatizantes son capaces de reemplazar un hidrogeno activo de los grupos -OH, de ácidos carboxílicos y alcoholes mediante la formación del enlace silicio-oxigeno, se bloquean las interacciones dipolo- dipolo reduciendo la polaridad de las especies con grupos hidroxilos o carboxilos. Comparando con el compuesto de partida, los silil derivados suelen ser mucho más volátiles, menos polares y térmicamente más estables.

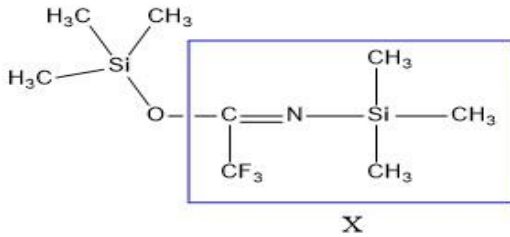
Algunos de los reactivos empleados en las reacciones de sililación son:

- BSA (N,O-bis (trimetilsilil) Acetamida)
- BSTFA (N,O-bis (Trimetilsilil) Trifluoroacetamida)
- HMDS (Hexametildisilazano)
- MSTFA (N-Metil-N-(Trimetilsilil) Trifluoroacetamida)
- TMCS (Clorotrimetilsilano)
- TMSDEA (N-(Trimetilsilil) Dietilamina)
- TSIM (N-(Trimetilsilil) Imidazol)

Esquema de la reacción de sililación:



para BSTFA



Donde M en este caso particular corresponde a metil , etil y propil parabeno.

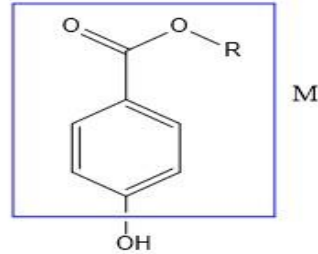


Figura. 4. Mecanismo de reacción BSTFA.

Algunas de las ventajas que presenta el uso de agentes sililantes recaen en que estos pueden hacer reaccionar un amplio número de compuestos, la gran disponibilidad de reactivos y la facilidad para preparar la reacción. Por otro lado, la

mayor desventaja que las reacciones de sililación, es que los reactivos suelen ser higroscópicos, de gran toxicidad y requieren el uso de disolventes orgánicos apróticos<sup>70</sup>.

### **3.4.3 Aplicaciones de la derivatización**

- Transformación de compuestos reactivos los cuales presentan interacción con la fase estacionaria de la columna.
- Incremento en la especificidad en la fragmentación de los iones moleculares en la espectrometría de masas.
- Transformación de compuestos no volátiles en sus derivados volátiles.
- Transformación de compuestos no detectables en sus derivados detectables.

## 3.5 Cromatografía de gases

### 3.5.1 Fundamento

La cromatografía se basa en la distribución de los analitos de una muestra entre dos fases inmiscibles entre sí: la fase estacionaria, depositada dentro de la columna cromatográfica la cual puede ser de vidrio o silica fundida y la fase móvil o gas portador, generalmente son gases inertes como helio o hidrógeno el cual fluye a través de la columna hacia un detector<sup>72</sup>.

Las moléculas con gran afinidad a la fase estacionaria se mueven lentamente a través de la columna y las moléculas con poca afinidad eluyen muy rápidamente a través del sistema. Esta diferencia de migración permite a los componentes separarse en bandas que pueden ser analizadas.

En la cromatografía de gases los analitos deben encontrarse en fase gaseosa para ser separados, por lo que es necesario que estos sean volátiles. La volatilidad de una especie depende de su tamaño y la polaridad: a mayor masa molecular y polaridad, la volatilidad será menor<sup>73</sup>.

Las ventajas de la cromatografía de gases son: análisis rápidos, alta eficiencia de separación, sensibilidad ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ó  $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), no destructiva, análisis cuantitativos precisos (coeficientes de variación de 1 - 5 %), requiere pequeños volúmenes de muestra ( $\mu\text{L}$ ) y es barata comparada con otras técnicas de análisis instrumental <sup>74,75</sup>.

La elución cromatográfica se puede llevar a cabo con un programa de temperatura constante (análisis isotérmico) o con una rampa de temperatura, la cual consiste en aumentar gradualmente la temperatura.



### 3.5.1 Instrumentación

Los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases son:

- Fuente de gas
- Sistema de inyección
- Horno y columna cromatográfica
- Sistema de detección
- Sistema de registro

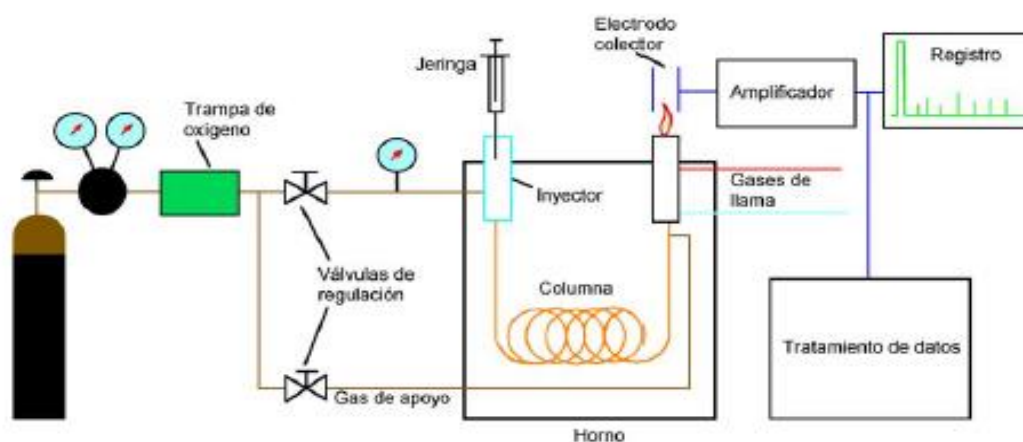


Figura 5. Esquema general de un cromatógrafo de gases <sup>76</sup>.

a) Fuente de gas o fase móvil.

Como fuentes de gas portador se suelen utilizar cilindros de gas comprimido de elevada de grado cromatográfico, es decir, debe ser inerte para evitar las interacciones con la muestra y la fase estacionaria, debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa, fácilmente disponible, de alta pureza, económico y adecuado al detector que se utiliza, deben ser capaces de suministrar una presión de gas adecuada y constante. Son utilizados gases inertes como helio, hidrogeno y nitrógeno, debido a que son gases de baja masa molecular los cuales tienen una

baja resistencia a la transferencia de masas, facilitando así la movilidad de los analitos <sup>76</sup>.

En algunos casos es necesario una trampa para eliminar trazas de impurezas que pueda contener el gas (oxígeno y agua principalmente) que puedan afectar al sistema cromatográfico.

#### b) Sistema de inyección

La función principal del sistema de inyección de muestras es volatilizar los analitos de manera rápida y eficaz para posteriormente incorporarlos a la corriente de gas acarreador que fluye a través de la columna.

Un inyector está formado por un bloque metálico con un sistema de calentamiento capaz de mantener una temperatura constante y un aislamiento térmico. En el interior de este se encuentra el sistema de inyección, en este el gas portador previamente calentado, pasa de manera continua por el sistema, la muestra es inyectada en el interior de la cámara por medio de una micro jeringa de precisión a través del septum (diafragma perforable) con capacidad de autosellado en el momento que se retira la aguja. Una vez inyectada la muestra esta es vaporizada, mezclada con el gas portador en el liner o cámara de mezclado para posteriormente ser arrastrada por la corriente del gas portador hacia la columna<sup>76</sup>.

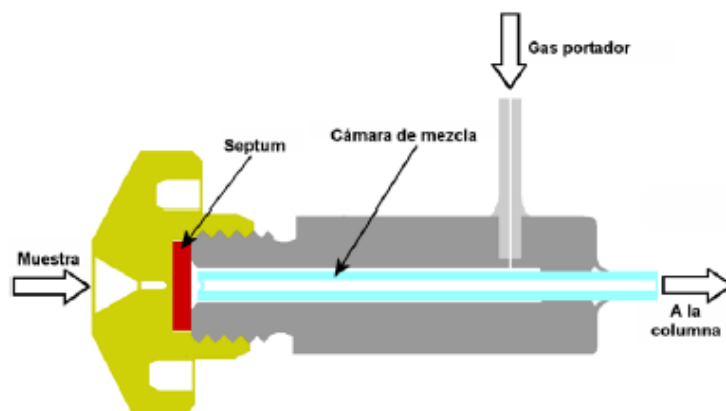


Figura 6. Esquema de inyector para columnas empaquetadas <sup>76</sup>.

Uno de los tipos de inyección más comunes es el modo “Split”, el cual es utilizado para el análisis de disoluciones en el cual el analito se encuentra en concentraciones elevadas.

Al introducir al inyector la muestra, esta se volatiliza y mezcla, posteriormente llega a un divisor de flujo en el cual una parte de la muestra es introducida a la columna y otra, mediante una válvula de purga Split queda fuera del sistema evitando principalmente una sobrecarga de la columna y los efectos negativos que esto pueda producir<sup>76</sup>. Este método es muy usual en el análisis de muestras complejas muy concentradas como en la industria petrolífera o en la industria de los aceites esenciales.

Otro modo de inyección es el modo “Splitless” utilizado cuando el analito está en muy bajas concentraciones, ya que la muestra es volatilizada en su totalidad y dirigida a la columna. Posteriormente una válvula de purga se abre con el fin de eliminar el disolvente que pudiera quedar en el inyector y la muestra pasa a la columna con un programa de temperatura adecuado.

Una de las principales ventajas del uso del modo “Splitless” es que, al pasar toda la muestra, la sensibilidad aumenta, lo cual es de suma importancia cuando se requiere realizar un análisis a nivel de trazas, a su vez las pérdidas de eficiencia por una mala inyección se reducen debido a que hay una reconcentración en de la muestra en la cabeza de la columna <sup>77</sup>.

### c) Horno y columna cromatográfica

El horno de un cromatógrafo de gases tiene como función mantener la columna a una temperatura fija con gran precisión ( $\pm 12$  °C), Es necesario que el horno permita que la temperatura se incremente a una velocidad prefijada y constante (para el uso de programas de temperatura).

El horno contiene a la columna, la parte en donde se lleva a cabo la separación cromatográfica. Generalmente las columnas más utilizadas para la cromatografía de gases son las columnas capilares debido a su alta eficiencia de separación y operación a altas temperaturas <sup>76</sup>.

#### d) Sistema de detección

Una vez que los componentes de la muestra de análisis han sido separados por la columna, a la salida de esta debe de estar un sistema de detección.

Los detectores son dispositivos que miden los solutos en la corriente del gas acarreador, convirtiendo una señal no medible directamente en una señal elaborable de una propiedad física. Esta señal es elaborada por la comparación entre el gas acarreador puro (blanco) y el mismo gas con los componentes de la muestra a ser separados por la columna.

Un Detector debe ser altamente sensible, tener una respuesta lineal sobre un amplio rango de concentración y ser relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (intervalo dinámico lineal) <sup>78</sup>.

Los principales detectores utilizados son:

- Espectrómetro de masas.
- Detector de ionización de flama.
- Conductividad térmica.
- Detector de captura de electrones.

#### e) Sistema de registro

Tiene la finalidad de interpretar la propiedad electrónica, obteniendo un gráfico de señal versus tiempo llamado cromatograma.

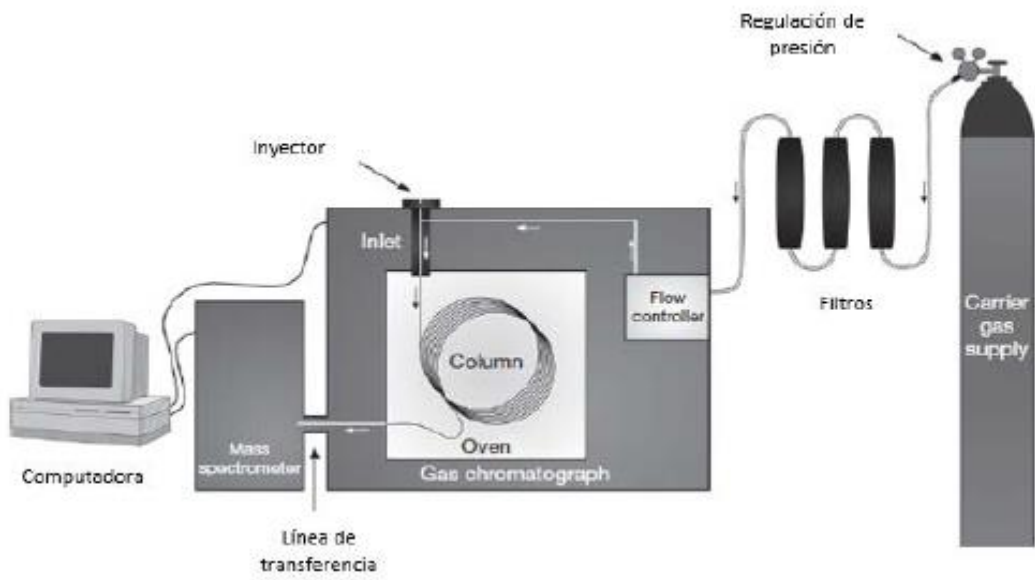


Figura. 7. Esquema de un Cromatógrafo de gases acoplado a un sistema de registro<sup>78</sup>.

## 3.6 Espectrometría de masas

### 3.6.1 Fundamento

La espectrometría de masas es técnica de análisis cualitativo utilizado para la determinación de estructuras orgánicas. En el sentido estricto, no es propiamente un método espectroscópico debido a que no se utiliza la absorción, transmisión o emisión de radiación electromagnética por la muestra además en esta técnica a diferencia de las espectroscopias clásicas, en las cuales los procesos que se originan son puramente físicos, no destructivos, la espectrometría de masas durante la obtención del espectro tiene lugar procesos químicos destructivos por lo cual la muestra utilizada no puede recuperarse.

Está basada en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa para posteriormente ser separados de acuerdo con su relación masa carga ( $m/z$ ) y finalmente ser detectados por medio de un dispositivo adecuado.

Un espectro de masas es por lo tanto una formación bidimensional que representa la abundancia de los diferentes tipos de iones en función con su relación masa/carga de cada uno de ellos.

### 3.6.2 Instrumentación

El espectrofotómetro de masas en esencia debe desempeñar las siguientes funciones<sup>79</sup>:

- a) Debe ser capaz de volatilizar las sustancias de análisis.
- b) Debe ser capaz de originar los iones correspondientes a partir de las moléculas neutras en su fase gaseosa.
- c) Debe ser capaz de separar a los iones en función de su relación masa carga.
- d) Debe ser capaz de detectar los iones formados y tomar un registro de ellos.

Para poder cumplir estas cuatro funciones debe constar en principio de<sup>79</sup>.

- a) Sistema de introducción de muestras.
- b) Fuente de iones.
- c) Analizador.
- d) Sistema de detección y registro.

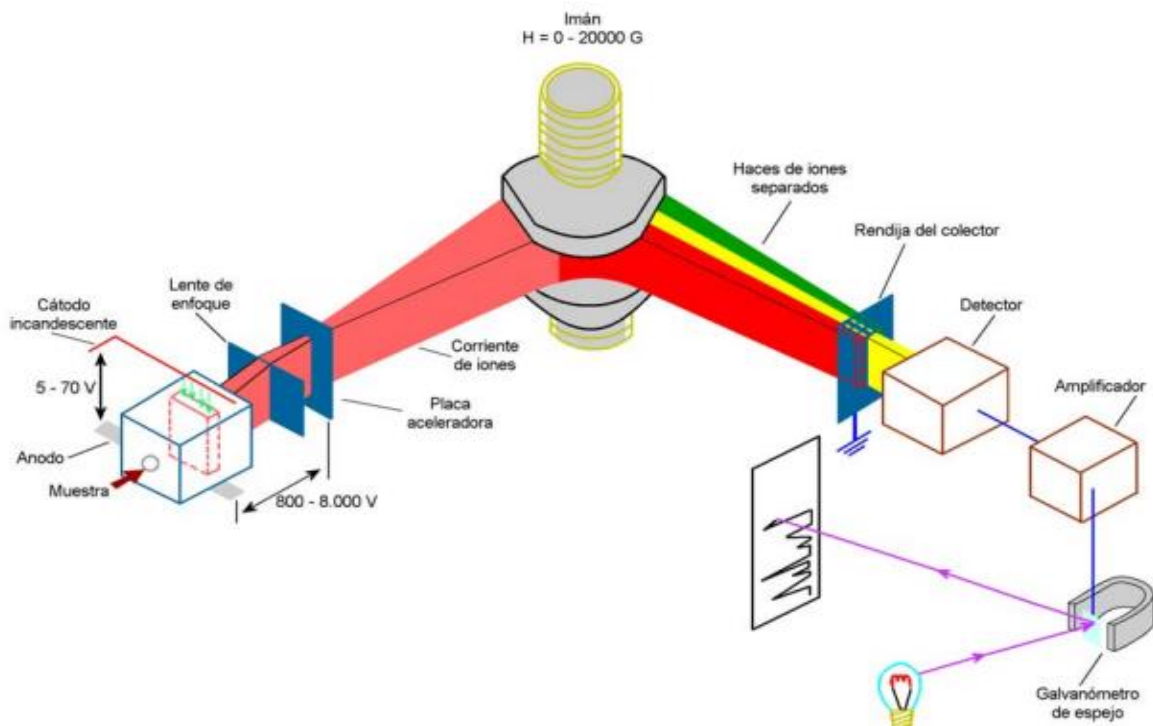


Figura 8. Esquema de un espectrómetro de masas de separación magnética<sup>79</sup>.

- a) Sistema de introducción de muestras.

De acuerdo con la naturaleza de la muestra se utilizan principalmente tres métodos para la introducción de muestras: Introducción directa, indirecta e introducción a partir de un cromatógrafo. Este último sistema de introducción de muestras la introducción se realiza directamente en fase gaseosa la cual proviene directamente del sistema cromatográfico en el cual se realiza la separación de los diversos componentes de la muestra.

## b) Fuente de iones.

En la fuente de ionización es donde se producen los iones gaseosos de la muestra. Existen principalmente dos métodos para producir la ionización de la muestra en el estado gaseoso, la ionización por impacto electrónico y el método de ionización química.

En la ionización por impacto electrónico las moléculas son ionizadas mediante un haz de electrones de alta energía se emiten por efecto termoeléctrico procedente de un filamento incandescente para posteriormente acelerarse por medio de una diferencia de potencial variable entre el filamento y la fuente.

Para poder enfocar a los electrones dentro de una trayectoria determinada, se utiliza un campo magnético paralelo a la dirección a la que se mueven los electrones de forma que estos describen una trayectoria helicoidal hasta que llegan al ánodo donde son recogidos.

Cuando las moléculas en estado gas, atraviesa el haz de electrones de alta energía ocurre una colisión entre ellos formando así a los iones correspondientes mediante la eliminación de electrones para que posteriormente una vez ionizada y en su caso fragmentada la molécula, los iones correspondientes pasen a una placa con carga positiva la cual los repele fuera del haz de electrones<sup>79</sup>.

La ionización química se utiliza como agente ionizante un ion que transfiere su carga a la molécula de la muestra por medio de una reacción biomolecular. La fuente de iones es en esencia igual que la ionización por impacto electrónico.

## c) Analizador

Una vez que las moléculas han sufrido una ionización, las mezclas de iones resultantes deben ser separados para ser detectados de forma individual. Los analizadores más utilizados son el de campo magnético, el analizador cuadrupolar y el analizador de trampa de iones<sup>78</sup>.



Los analizadores cuadrupolares son utilizados en equipos combinados con un cromatógrafo de gases y corresponde al utilizado en este trabajo.

Este está formado por cuatro barras metálicas de sección circular o hiperbólica, rectas, paralelas y dispuestas con presión sobre una circunferencia de tal forma que el haz de iones procedente de la fuente incida sobre el centro del dispositivo.

Sobre estas barras, por pares alternos se aplica un potencial constante  $V$  y un potencial alterno de radiofrecuencia superpuesto, la combinación de ambos campos origina un movimiento iónico lateral complejo sin afectar su movimiento longitudinal. Este tipo de analizadores, al trabajar únicamente con campos eléctricos los barridos que realiza son muy rápidos<sup>79</sup>.

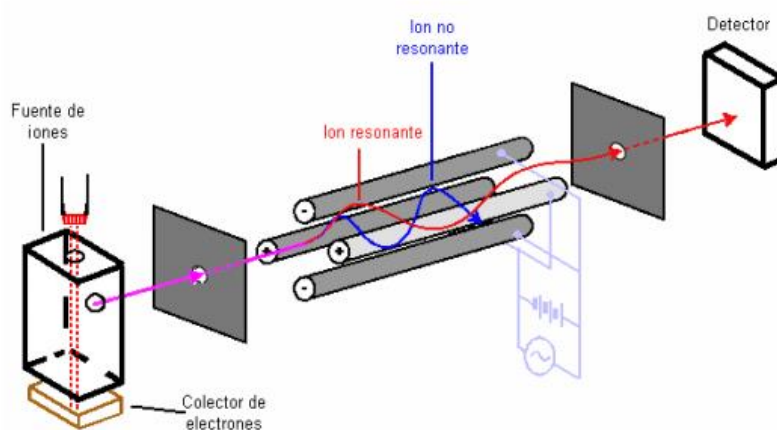


Figura 9. Esquema de un analizador cuadrupolar<sup>79</sup>.

d) Sistema de detección y registro.

El sistema de detección es el encargado de detectar, cuantificar y amplificar la corriente con la que salen los iones del analizador. Debido a que las corrientes de iones que salen del analizador presentan una baja intensidad la detección debe ser muy rápida y precisa.

Por otro lado, el sistema de registro cumple con la función de convertir la propiedad electrónica en una interpretación entendible. El gráfico resultante de señal vs  $m/z$  posee el nombre de espectro de masas<sup>78</sup>.

### 3.7 Curvas de calibración

Cuando se aplica un método de análisis químico se llevan una serie de pasos consecutivos con la finalidad de obtener la información que se necesita.

El primero de ellos es el muestreo el cual consiste en seleccionar una muestra representativa del objeto de estudio, posteriormente se lleva a cabo el tratamiento de la muestra, es decir llevar la muestra seleccionada a un estado adecuado para el análisis, se realiza la medición de la señal analítica o de la respuesta instrumental debida al analito y finalmente se lleva a cabo el tratamiento de los datos experimentales para obtener un resultado.

Para obtener una señal analítica de las especies químicas de interés que posteriormente puede ser relacionada con la concentración de esta, se realizan mediciones indirectas con curvas de calibración<sup>80</sup>.

El termino calibración, se refiere al proceso que permite confirmar que una señal medida por un instrumento es correcta. Se refiere al aseguramiento de que un instrumento y/o aparato funciona correctamente. Por otra parte, la estandarización es el proceso por el cual se determina experimentalmente la relación entre la señal y la cantidad de analito<sup>81</sup>.

Los estándares son preparaciones (generalmente disoluciones) que poseen una concentración conocida de un elemento o sustancia especifica los cuales cumplen con las siguientes características: composición conocida, elevada pureza, estables a temperatura ambiente, no higroscópico<sup>82</sup>.

### 3.7.1 Curva por estándar externo

Una curva de calibración por estándar externo se aplica en la determinación de un analito en la cual los componentes de la matriz de la muestra, así como los reactivos usados en la preparación de esta no interfieren en el análisis, es decir no se tiene un efecto de matriz.

Puede emplearse una curva de calibración por estándar externo en condiciones tales que la contribución de los interferentes sobre las medidas se mantiene constante<sup>82</sup>.

Para la cromatografía de gases, una curva de calibración por estándar externo consiste en inyectar en el equipo volúmenes constantes de disoluciones de concentraciones conocidas y crecientes del compuesto que se pretende cuantificar; posteriormente se representa la cantidad del analito frente al área del pico debiéndose obtener una tendencia lineal.

A partir de esta, es posible realizar la cuantificación en una muestra desconocida por interpolación gráfica o matemática del área pico obtenido en la recta de calibrado.

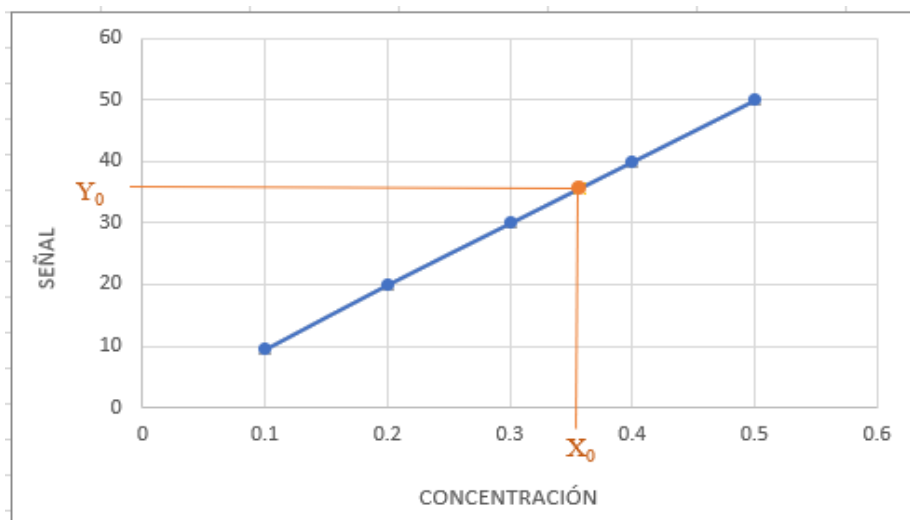


Figura. 10. curva de calibración por estándar externo.

El principal problema que plantea la calibración por este medio es la reproducibilidad por la inyección, la cual debe repetirse periódicamente para verificar la fiabilidad de la cuantificación <sup>83</sup>.

### **3.7.2 Calibración por estándar interno**

Este tipo de calibración se utiliza para compensar errores aleatorios y sistemáticos asociados con la manipulación de la muestra, principalmente de la inyección. Este método consiste en añadir una cantidad definida y fija de un compuesto patrón, llamado estándar interno a la muestra a analizar antes de manipularla, se preparan disoluciones de concentración creciente del compuesto a analizar y se añade una cantidad idéntica en todos los casos del estándar interno, el cual debe cumplir con las siguientes características:

- a) En cromatografía de gases el patrón debe dar un pico totalmente resuelto.
- b) El pico del compuesto patrón debe estar en las proximidades del pico del analito de interés
- c) El compuesto patrón debe tener un comportamiento similar a los analitos.
- d) No debe estar presente en la muestra a analizar
- e) Debe ser químicamente estable frente a la muestra y a los procesos del análisis.

En cromatografía de gases, tras obtener los correspondientes cromatogramas, se representa la concentración del compuesto a cuantificar en función de la relación de los picos problema/patrón, con lo que se obtendrá una recta en la cual se puede interpolar la relación del área de los picos de una muestra desconocida <sup>83</sup>.

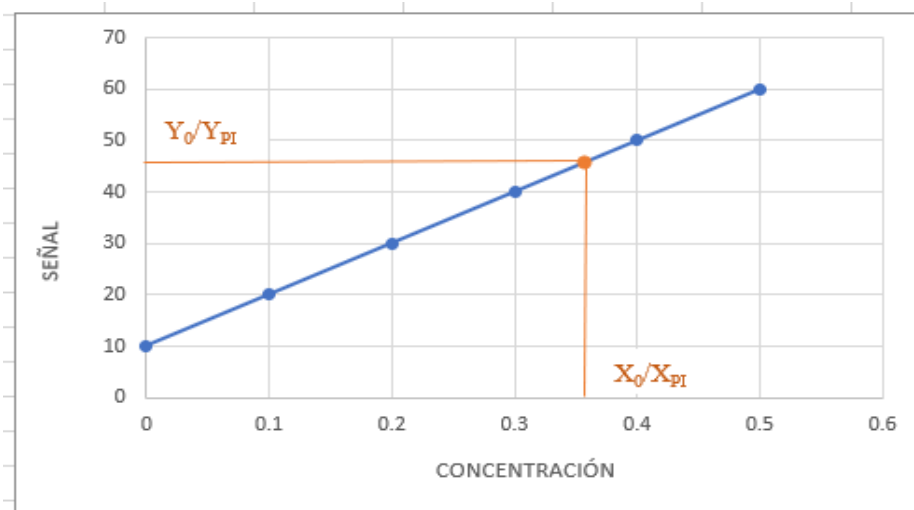


Figura. 11. curva de calibración por estándar interno.

### 3.7.3 Calibración por adición de estándar

Cuando se trata de análisis de muestras muy complejas como lo son suelos, minerales, sangre, orina etcétera. la preparación de estándares que reproduzcan la composición de la muestra es muy complicada, ya que usualmente en este tipo de muestras los componentes de la matriz afectan las medidas de la señal analítica ya sea por exceso o por defecto <sup>80</sup>.

Este método consiste en la adición de un volumen fijo de muestra a los estándares a volumen constante de este modo cada disolución es afectada de manera similar por los efectos de matriz.

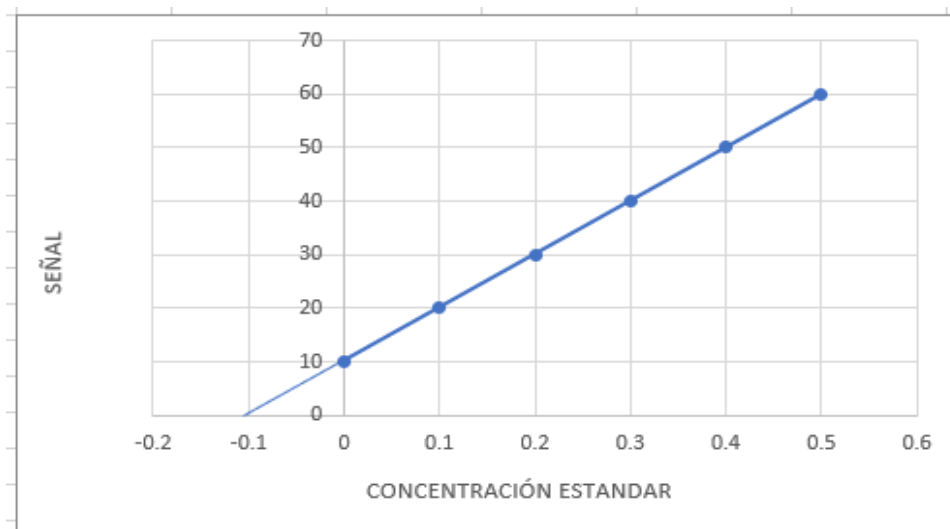


Figura. 12. curva de calibración por adiciones de estándar.

Este método no elimina las interferencias, sólo las compensa ya que se obtienen todas las señales analíticas bajo las mismas condiciones.

Para otros métodos no cromatográficos se puede realizar la curva de calibración con adición de estándar sobre una única alícuota de muestra, a la cual se le añade progresivamente volúmenes variables de muestra para posteriormente registrar la señal medida.

Cuando se utiliza una curva de calibración con adición de estándares, es conveniente la realización de la curva de calibrado para el blanco, en la cual están incluidos todos los reactivos y la solución patrón a diferentes concentraciones exceptuando a la muestra.

La finalidad de este calibrado es obtener la contribución real de los reactivos a la señal del analito en la muestra.

Se deben comparar los parámetros estadísticos de la curva de regresión del calibrado del blanco con los obtenidos de la curva de regresión con adiciones de estándar y corregir la concentración del analito en la muestra utilizando el blanco medido<sup>80</sup>.

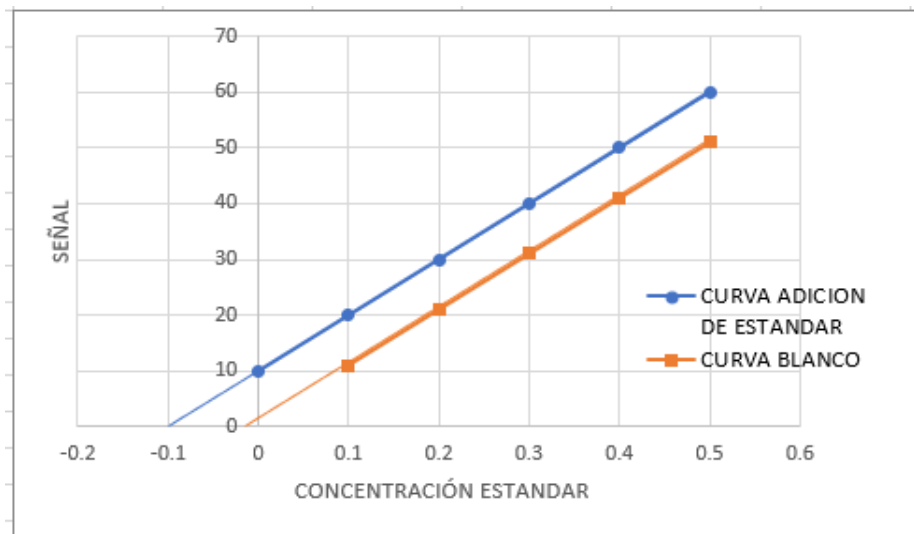


Figura. 13. curva de calibración por adiciones de estándar y curva de calibración de blanco para corregir la concentración de la muestra.



## **3.8 Parámetros de caracterización del método analítico**

### **3.8.1 Intervalo de trabajo**

Es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable. El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación y el extremo superior está definido por la concentración a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad <sup>84</sup>.

#### **3.8.1.1 Linealidad**

La linealidad no se cuantifica, pero se observa por simple inspección o pruebas significativas de no linealidad <sup>84</sup>. Como criterio de aceptación de la linealidad a partir de una curva de calibración se debe considerar un coeficiente de determinación ( $r^2$ )  $> 0.99$  o mediante un análisis de residuales.

#### **3.8.1.2 Sensibilidad**

Es el cociente entre la variación de una indicación de un sistema de medida y la variación del valor de la magnitud medida<sup>85</sup>. La sensibilidad indica la capacidad de un método para discriminar entre pequeñas variaciones de concentración de analito, este parámetro se determina mediante la pendiente de una curva de calibración.

Entre dos métodos de análisis que presenten igual pendiente, el más sensible es el que presente la mayor precisión (parámetro explicado más adelante) de datos obtenidos <sup>80,84</sup>.

Por otro lado, para dos métodos que tengan igual precisión, el que tenga mayor pendiente será el más sensible.

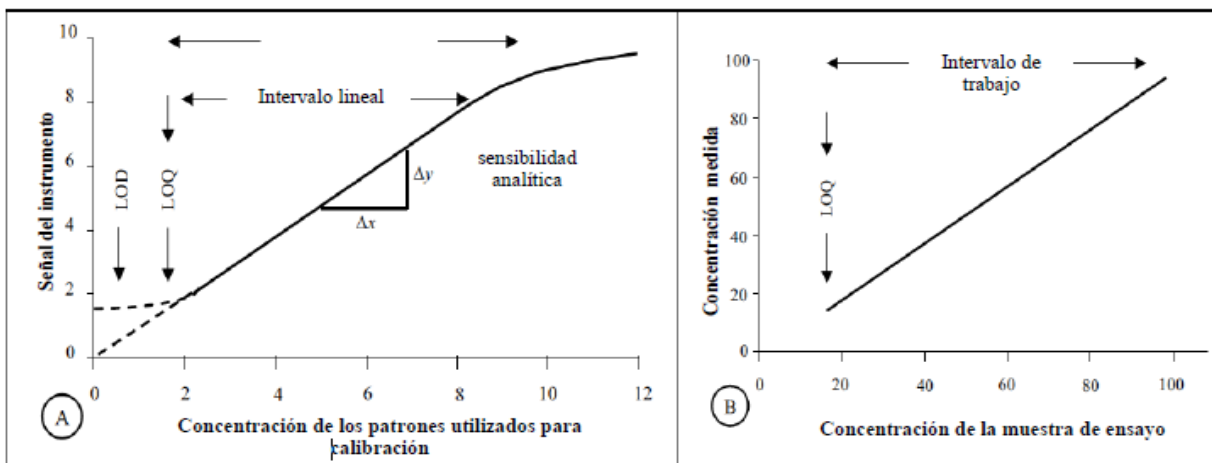


Figura. 14. curva respuesta obtenida identificando las características de desempeño de trabajo: intervalo de trabajo, intervalo lineal, sensibilidad analítica, LOD, LOQ <sup>83</sup>.

### 3.8.2 Selectividad

Es la propiedad de un sistema de medida, empleando un procedimiento de medida especificado por la cual el sistema proporciona valores medido para uno o varios mensurados, que son independientes entre sí o de otras magnitudes existentes en el fenómeno, cuerpo o sustancia de estudio<sup>85</sup>.

Los instrumentos de espectrometría de masa modernos ofrecen una gran selectividad, como por ejemplo cromatografía gaseosa o líquida con detección por espectrometría de masas<sup>82</sup> debido a la capacidad de estos equipos de diferenciar de entre varios compuestos no resueltos en un pico presentado en un cromatograma debido a sus iones  $m/z$  y abundancias presentadas en los espectros de masas que arrojan estos equipos.

### 3.8.3 Límite de detección

Se entiende como límite de detección (LOD) a un valor medido obtenido mediante un procedimiento de medida dado, con una probabilidad “x” de declarar erróneamente la ausencia de un constituyente de un material, dada una probabilidad “y” de declarar erróneamente su presencia<sup>85</sup>.

Es decir, es la mínima concentración de analito que se puede detectar a un nivel de confianza dado, mediante la aplicación de un método de análisis.

Se calcula multiplicando la desviación estándar ( $s_0$ ) por un factor, en este caso 3, de muestras blanco (que no tengan cantidades detectables de analito) o bien muestras de ensayo con concentraciones de analito cercanas o por debajo del LOQ esperable.

En técnicas como la cromatografía, las cuales están basadas en la detección de picos por encima del ruido, se requieren muestras por encima o cercanas del LOQ, estas pueden ser preparadas con la fortificación de un blanco.

La medición de este blanco se debe realizar por lo menos 10 réplicas para tener un estimado adecuado de la desviación estándar y se debe considerar el promedio de la respuesta de las réplicas, así como realizar una corrección de la desviación estándar dividiéndola por la raíz cuadrada de n, donde n es el número de réplicas promedio, en este caso 10<sup>84</sup>.

$$LOD = \text{Respuesta del blanco} + 3s'_0$$

Donde:

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$$

### 3.8.4 Límite de cuantificación

Se define límite de cuantificación (LOQ) como la más pequeña concentración de analito que puede ser determinada con un “desempeño aceptable” el cual es considerado tomando en cuenta factores como precisión, veracidad e incertidumbre de medición.

En la practica el límite LOQ se calcula como la concentración del analito correspondiente al valor promedio del blanco más la desviación estándar del blanco ( $s_0$ ) por un factor que en este caso corresponde a 10. Al igual que para el LOD la medición del blanco se debe realizar con por lo menos 10 réplicas y deben realizar las correcciones correspondientes a la desviación estándar del blanco<sup>84</sup>.

$$LOD = \text{Respuesta de blanco} + 10s'_0$$

Donde:

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$$

### 3.8.5 Exactitud

La exactitud se define como la proximidad entre un valor medido y un valor considerado verdadero del mensurando (magnitud que se desea medir<sup>85</sup>)<sup>85</sup>. Normalmente la exactitud se estudia por dos componentes los cuales evalúan efectos sistemáticos y aleatorios, la veracidad y la precisión<sup>84</sup>.

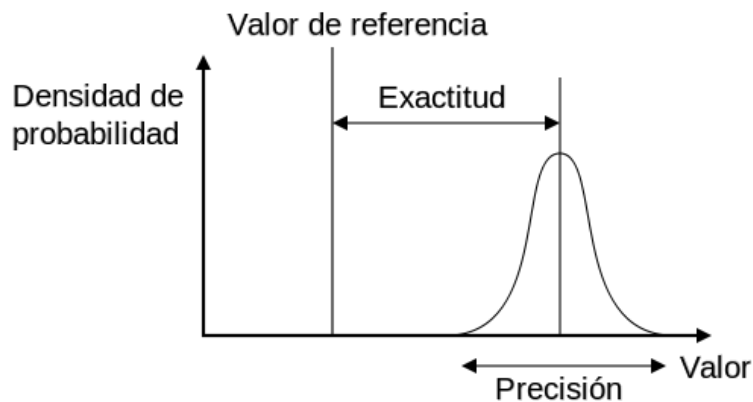


Figura. 15. Representación de la diferencia entre exactitud y precisión<sup>84</sup>

### 3.8.5.1 Precisión

La precisión es una medida de cuan cerca están los resultados entre sí.

Se expresa por medio de parámetros que describen la propagación de los resultados como lo son típicamente la desviación estándar calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de distintas mediciones bajo condiciones específicas. Otra forma de expresar la precisión es la desviación estándar relativa o coeficiente de variación expresada como:

$$CV = \frac{s}{x_{prom}} (100)$$

Se define como la precisión de un resultado individual como la diferencia entre este y la media aritmética, conocido como error sistemático <sup>81,87</sup>.

La repetibilidad de medición y reproducibilidad de medición representan dos medidas de precisión que pueden ser evaluadas.

#### **3.8.5.1.1 Repetibilidad**

Repetibilidad es una medida de la variabilidad de los resultados cuando una medición se lleva a cabo por un solo analista utilizando el mismo equipo en un plazo corto de tiempo. Es una medida de la varianza y un reflejo de la máxima precisión que el método puede alcanzar<sup>84</sup>.

#### **3.8.5.1.2 Reproducibilidad**

La reproducibilidad es una medida de dispersión de los resultados de ensayos independientes utilizando un mismo método en diferentes condiciones: distintos operadores, distintos equipamientos o laboratorios. Esta supone dar la mayor variación en los resultados que la repetibilidad <sup>81</sup>.

#### **3.8.5.2 Veracidad**

La veracidad de medición es una expresión de la proximidad de la media de “*n*” resultados, producidos con el método a un valor de referencia del analito en la muestra en cuestión.

La determinación de la veracidad requiere el análisis de un material de referencia para comprobar la veracidad del método<sup>84</sup>.

Por lo general esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de sesgo la cual se basa en la comparación de la media de los resultados con un valor de referencia adecuado. Teniendo tres enfoques:

- a) Análisis de materiales de referencia
- b) Experimentos de recuperación utilizando muestras adicionadas
- c) Comparación con resultados obtenidos mediante otro método

Expresándose el sesgo como:

$$b = x_{prom} - x_{ref}$$

O en términos de porcentaje como:

$$b = \frac{x_{prom} - x_{ref}}{X_{prom}} (100 \%)$$

### 3.8.5.3 Incertidumbre de medida

Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando a partir de la información que se utiliza<sup>85</sup>.

Se deben de tener en cuenta, para la estimación de esta, todos los efectos reconocidos que operan en el resultado y las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan de acuerdo con procedimientos establecidos<sup>84</sup>.

En general la incertidumbre de medida incluye numerosas componentes. Algunas pueden calcularse mediante una **evaluación tipo A de la incertidumbre de medida**, a partir de la distribución estadística de los valores que proceden de las series de mediciones y pueden caracterizarse por desviaciones típicas. Las otras componentes que pueden calcularse mediante una **evaluación tipo B de la incertidumbre de medida**, pueden caracterizarse también por desviaciones típicas, evaluadas a partir de funciones de densidad de probabilidad basadas en la experiencia u otra información<sup>85</sup>.

### 3.8.6 Recobro

Es la capacidad que tiene un procedimiento analítico para determinar cuantitativamente una especie química que ha sido adicionada a la muestra expresada generalmente como porcentaje.

$$\% \text{ Recobro} = \frac{C_f - C_u}{C_a} (100)$$

En donde  $C_f$  es la concentración del analito medida en la muestra fortificada;  $C_u$  es la concentración del analito medida en la muestra sin fortificar y  $C_a$  es la concentración adicionada de analito.

El recobro nos habla de la capacidad del método para determinar un analito y las pérdidas que el método puede presentar de este, por lo tanto, en una determinación cuantitativa del analito se debe realizar una corrección a la concentración obtenida<sup>87</sup>.

$$\text{Concentracion real} = \frac{\text{Concentracion de la muestra}}{\text{Factor de recobro}}$$



## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Material, reactivos y equipo

#### 4.1.1 Reactivos

- Acetato de etilo 99.98%, grado HPLC, J.T Baker. Lote no. H04C59 (México).
- Hexano 99.90 % , grado HPLC, Honeywell. Lote no. DE871 (USA).
- Acetonitrilo >99.5%, grado HPLC, Tecsiquim Lote no. TEC-093-EB-H (México).
- Metanol >99.8% , reactivo ACS, Sigma Aldrich. Lote no. SHBJ5569
- Tierra de diatomeas >99.9%, Dionex ASE, Thermo Scientific. Lote no. 120508 (USA).
- Sulfato de sodio, anhidro y granular 99.0 % , J.T Baker Lote no. 0000039201 (USA).
- Nitrógeno comprimido,99.5-100 % , Praxair. Lote no. P0215;20190604393 (México).
- Helio comprimido, 99.5-100 % , Praxair. Lote no. P0215;2018083304K
- N,O-Bis(trimetilsilil) tifluoroacetamida (BSTFA) grado derivatizante para CG, SUPLECO. Lote no. LB90587 (USA).

#### 4.1.2 Estándares

- Acenafteno-d10, 99.9%, SUPLECO. Lote no. LB33778 (USA).
- Metil Parabeno 98.3%, SUPLECO. Lote no. LB51963 (USA).
- Etil 4-hidroxibenzoato, 99%, Sigma Aldrich, Lote no. 05815KE (USA).
- Propil 4-hidroxibenzoato >99%, Sigma Aldrich, Lote no. 07501EE (USA).

### 4.1.3 Material

- Filtros de fibra de vidrio para celdas, material 068092, ThermoFisher Scientific, Lote no. E6F2W6 (USA).
- Viales ámbar con tapa 2 mL Agilent (USA).
- Viales de 60 mL con tapa para ASE 200 Dionex (USA).
- Celdas de extracción de 22 mL ASE 200 Dionex (USA).
- Puntas para micro pipeta 2-200  $\mu$ L, eppendorf T.I.P.S, Lote no. A142851H (USA).

### 4.1.4 Instrumentación y equipo

- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890N acoplado a un detector de masas Hewlett Packard 5973. Columna Capilar HP-5MS-UI 30m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m, modelo no. Agilent 19091S-433 350 °C max. Inyector Split-Splitless con un liner 0.75 mm.
- Balanza Analítica OHAUS, Modelo E12140, resolución 0.0001 g.
- Extractor acelerado de disolventes (ASE 200) Dionex.
- Termómetro de líquido en vidrio, LAUKA, -20 °C – 100 °C, resolución 1°C.
- Homogeneizador (Vortex) Maxi Mix II Termo Scientific.
- Baño seco de temperatura, Thermolyne, modelo DB28125.
- Probeta 50 mL, Pyrex resolución 1mL, Clase B.
- Matraz volumétrico con tapón Pyrex A 10 mL.
- Jeringa para cromatógrafo Agilent 10  $\mu$ L.
- Micropipeta de 10-100  $\mu$ L, Biohit Proline.
- Micropipeta de 2-20  $\mu$ L, Biohit Proline.

## **4.2 Experimentos preliminares**

### **4.2.1 Elección del disolvente de trabajo**

La elección del disolvente se realizó de acuerdo con las propiedades de los parabenos, revisando en la literatura se encontró que estos son solubles en disolventes polares como: acetonitrilo, metanol, acetato de etilo y parcialmente solubles en agua, benceno, éter y tetracloruro de carbono.

Debido a la composición de columna HP5-MS-UI: (5% fenil)-metilpolisilano .

Se eligió un disolvente de polaridad media, que fuera capaz de solubilizar los analitos de interés sin dañar la columna al momento de los análisis cromatográficos, como el acetato de etilo. El cual demostró solubilizar los analitos de manera eficiente sin producir sangrado o algún daño a la columna cromatográfica.

### **4.2.2 Identificación de tiempos de retención.**

Para identificar los tiempos de retención preliminares de metil, etil y propil parabeno se realizó una derivatización previa en la cual se eligió como agente derivatizante BSTFA debido a que estos a ser derivados fenólicos son susceptibles a la derivatización mediante un agente sililante.

De manera preliminar se entregaron 100  $\mu\text{L}$  de una disolución estándar de concentración nominal  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de metil, etil y propil parabeno en acetato de etilo en un vial ámbar de 2.0 mL para posteriormente adicionar 20  $\mu\text{L}$  de BSTFA, cerrar el vial y derivatizar durante 10 minutos a  $85^\circ \text{C}$ .

Posteriormente tomando como referencia una rampa de temperatura reportada en la literatura [Canosa P, 2007] se implementó y optimizó una rampa de uso preliminar, en la tabla 9. Se muestran las comparaciones entre las condiciones cromatográficas usadas en la literatura y la rampa preliminar propuesta.

Tabla 9. Parámetros generales de las rampas de temperatura, reportada en la literatura y la rampa propuesta.

Parámetros	Referencia [Canosa P, 2007]	Rampa utilizada
Columna cromatográfica	HP5-MS	HP5-MS-UI
Modo de inyección	Splitless	Splitless
Temperatura del inyector	280 ° C (1 µL)	250 ° C (1 µL)
Temperatura inicial	50 ° C (2min)	90 ° C
Rampa	10 ° C · min <sup>-1</sup>	7 ° C · min <sup>-1</sup> a 160 ° C 3 ° C · min <sup>-1</sup> a 80 ° C
Temperatura final	270 ° C (10 minutos)	180 ° C (2 minutos)
Flujo de gas portador (He)	1 mL · min <sup>-1</sup>	2 mL · min <sup>-1</sup>
Tiempo de análisis	30 minutos	18 minutos

Al realizar por triplicado una inyección cromatográfica de una disolución que tuviera los estándares de metil, etil y propil parabeno de manera simultánea posterior a la derivatización, se observaron los tiempos de retención mostrados en la tabla 10.

Tabla 10. tiempos de retención obtenidos de manera preliminar para metil, etil y propil parabeno.

Analito	Tiempo de retención [minutos]
Metil parabeno	8.9
Etil parabeno	10.1
Propil parabeno	11.8

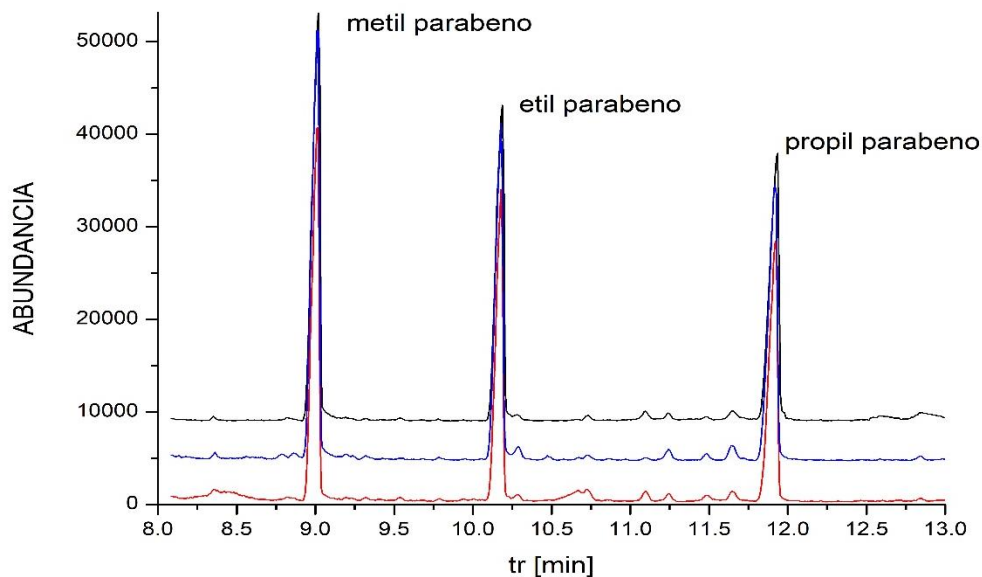


Figura.16. Cromatograma obtenido de las inyecciones del estándar  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de metil etil y propil parabeno

Podemos comprobar así que la identificación de los analitos de interés derivatizados es posible mediante el método cromatográfico.

#### 4.2.3 Identificación de espectro de masas

Para corroborar que las señales obtenidas corresponden a metil, etil y propil parabeno se compararon los espectros de masas obtenidos con los reportados en la literatura para los analitos.

Para metil parabeno:

Producto de la sililación: metil p- (oxi (trimetilsilil)) benzoato.

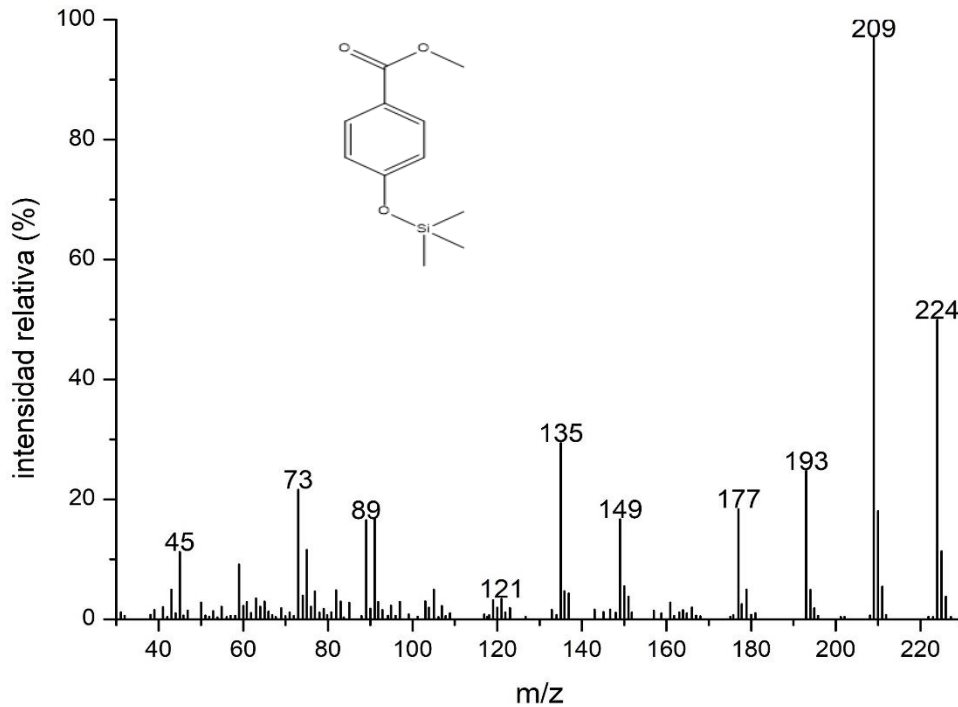


Figura. 17. Espectro de masas correspondiente a Metil parabeno derivatziado con BSTFA utilizando un estándar  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

En el espectro de masas se puede identificar los iones principales: 135, 149, 177, 193, 209 y 224  $\text{m/z}$ <sup>88</sup>. Por lo cual podemos concluir que la señal obtenida en el cromatograma corresponde a metil parabeno derivatizado.

Para etil parabeno:

Producto de la sililación: etil p- (oxi (trimetilsilil)) benzoato.

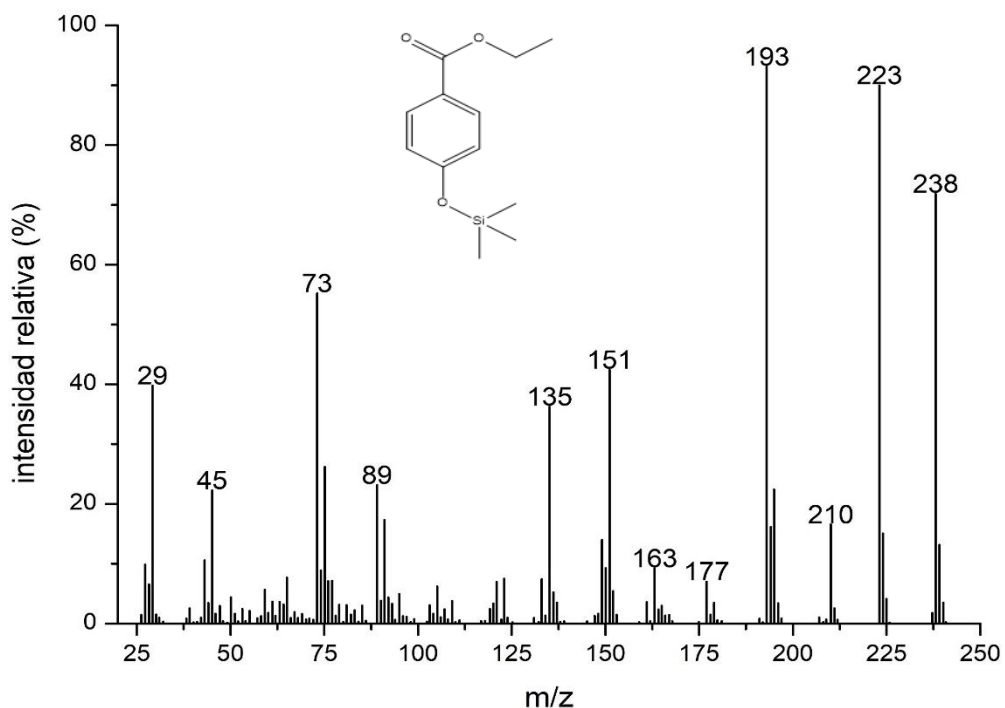


Figura. 18. Espectro de masas correspondiente a etil parabeno derivatziado con BSTFA utilizando un estándar  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

En el espectro de masas se pueden identificar los iones principales: 135, 151, 177, 193, 210, 223 y 238  $m/z$ <sup>88</sup>. Por lo cual podemos concluir que la señal obtenida en el cromatograma corresponde a etil parabeno derivatizado.

Para propil parabeno:

Producto de la sililación: propil p- (oxi (trimetilsilil)) benzoato.

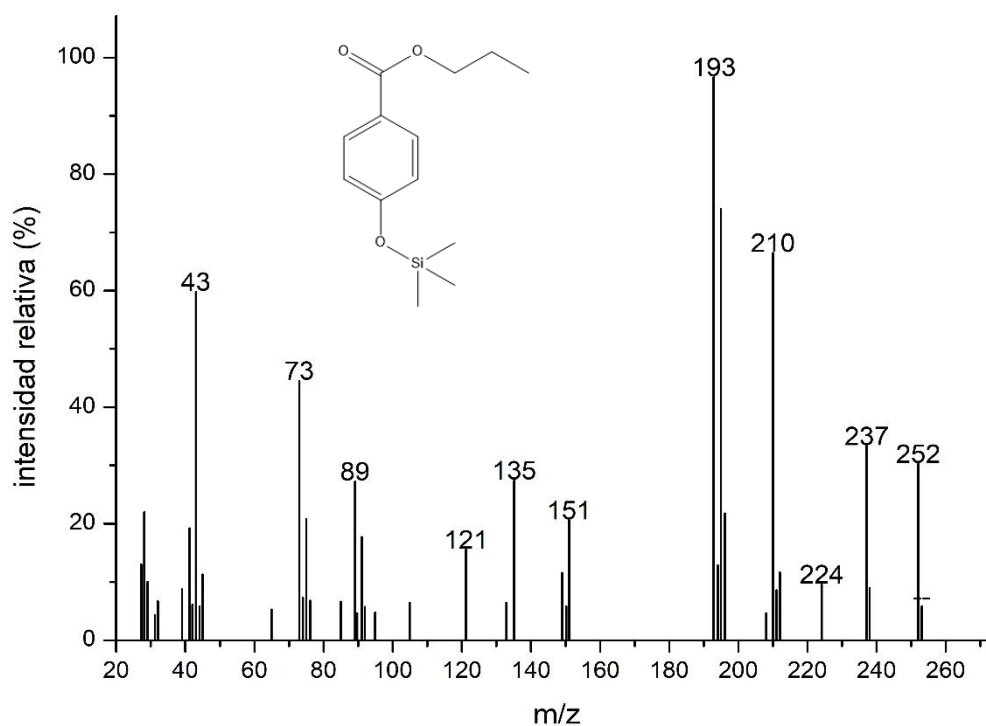


Figura. 19. Espectro de masas correspondiente a propil parabeno derivatziado con BSTFA utilizando un estándar  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

En el espectro de masas pueden identificar los iones principales: 135, 151, 193, 210, 237 y 252  $m/z$ <sup>88</sup>. Por lo cual podemos concluir que la señal obtenida en el cromatograma corresponde a propil parabeno derivatizado.

En las tres comparaciones de los espectros de masa obtenidos y los encontrados en la literatura se puede observar que hay una diferencia entre las intensidades relativas, sin embargo se puede tener certeza de que estas señales corresponden a los analitos debido a que el número de señales obtenidas en los cromatogramas corresponde al número de señales esperadas tomando en cuenta que son una serie



homologa de parabenos además de que la preparación de los estándares se realizó con reactivos de alta pureza.

### 4.3 Rampa de temperatura

La rampa de temperatura se optimizó hasta obtener una rampa que permitiera un análisis rápido, con buena resolución y definición de los picos para los analitos de interés tomando como referencia una rampa de temperatura utilizada para la determinación de parabenos mediante CG-MS.

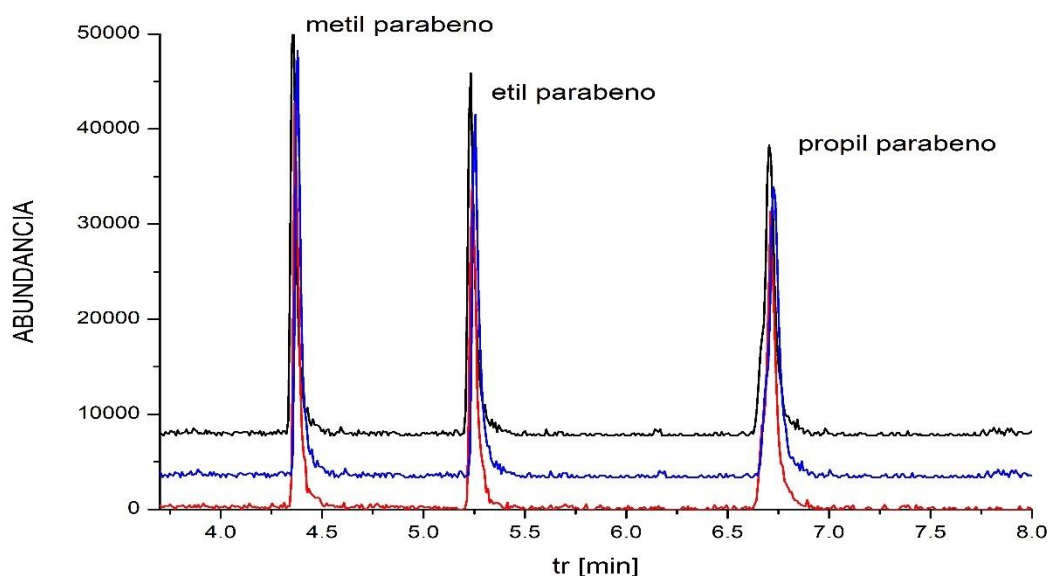


Figura. 20. Cromatograma obtenido de inyección de estándar  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (3 inyecciones consecutivas bajo las mismas condiciones). Se muestran las señales de metil, etil y propil parabeno de izquierda a derecha.

En la tabla 11 se muestran los parámetros cromatográficos y la rampa de temperatura utilizada para la determinación de los parabenos

Tabla 11. Comparación de las rampa y condiciones para el análisis cromatográfico reportadas en la literatura, preliminares y la rampa utilizada.

	Referencia [Canosa P,2007]	Rampa de temperatura preliminar	Rampa de temperatura utilizada
Columna cromatográfica	HP5-MS	HP5-MS-UI	HP5-MS-UI
Modo de inyección	Splitless	Splitless	Splitless
Temperatura de inyector [° C]	280	250	250
Volumen de inyección [ µL]	1	1	1
Temperatura inicial [° C]	50 (2 minutos)	90	130
Rampa de temperatura	10 ° C · min <sup>-1</sup>	7 ° C · min <sup>-1</sup> a 160 ° C 3 ° C · min <sup>-1</sup> a 180 ° C	7 ° C · min <sup>-1</sup> a 160 ° C 3 ° C · min <sup>-1</sup> a 180 ° C
Temperatura final [° C]	270 (10 minutos)	180 (2 minutos)	180
Flujo de gas portador (He) [mL · min <sup>-1</sup> ]	1	2	2
Solvent delay [minutos]	-	6	3.5
Tiempo de análisis [minutos]	30	18	10.9
Tiempo de retención [minutos]	Metil parabeno	-	8.9
	Etil parabeno	-	10.1
	Propil parabeno	-	11.8
			6.7

Se puede observar que se redujeron los tiempos de retención de la rampa utilizada en los experimentos preliminares, conservando la resolución y definición de los picos cromatográficos, así como la respuesta de la disolución estándar en los experimentos preliminares.

## **4.4 Derivatización**

### **4.4.1 Agente sililante**

Para la derivatización de los parabenos mediante una reacción de sililación se eligió al BSTFA como derivatizante, debido a su disponibilidad, la eficiencia de la derivatización reportada [Canosa P, 2007] y la facilidad de la localización de los iones principales debido a la poca fragmentación que se presenta en los espectros de masas.

### **4.4.2 Condiciones de derivatización**

Para optimizar la derivatización de los parabenos a lo largo del trabajo experimental se estudiaron 3 factores: volumen de derivatizante, tiempo de derivatización y temperatura de derivatización.

La evaluación de los parámetros se realizó utilizando una disolución estándar de 10 mg·L<sup>-1</sup> que contenía los 3 parabenos de interés utilizando como disolvente acetato de etilo, en todas las evaluaciones de los parámetros se entregó una alícuota de 100 µL de dicha disolución en un vial ámbar de 2.0 mL utilizando una agitación con Vórtex de 30 segundos en todos los casos.

La elección de las condiciones de derivatización se llevó a cabo por la comparación de la respuesta cromatográfica obtenida, eligiendo entre las variables el parámetro que mayor respuesta cromatográfica presentara, conservando una resolución y definición de los picos cromatográficos. Otro parámetro que se tomó en cuenta fue que esta respuesta cromatográfica no poseyera fracciones de analito sin derivatizar. Estos estudios se realizaron por triplicado.

#### 4.4.2.1 Volumen de derivatizante

Para el estudio se tomó como volumen máximo de derivatizante 20  $\mu\text{L}$  debido a que en los experimentos preliminares no se observó en los cromatogramas residuos de parabeno sin derivatizar, estas señales se pueden identificar debido a que aparece otra señal cromatográfica no definida en el tiempo de retención esperada para los analitos derivatizados. (Ver fig. 22)

Tomando en cuenta los instrumentos de trabajo se eligió como volúmenes de estudio 10, 5 y 2  $\mu\text{L}$ . Tomando como tiempo de derivatización 10 minutos y una temperatura de derivatización de 85 ° C.

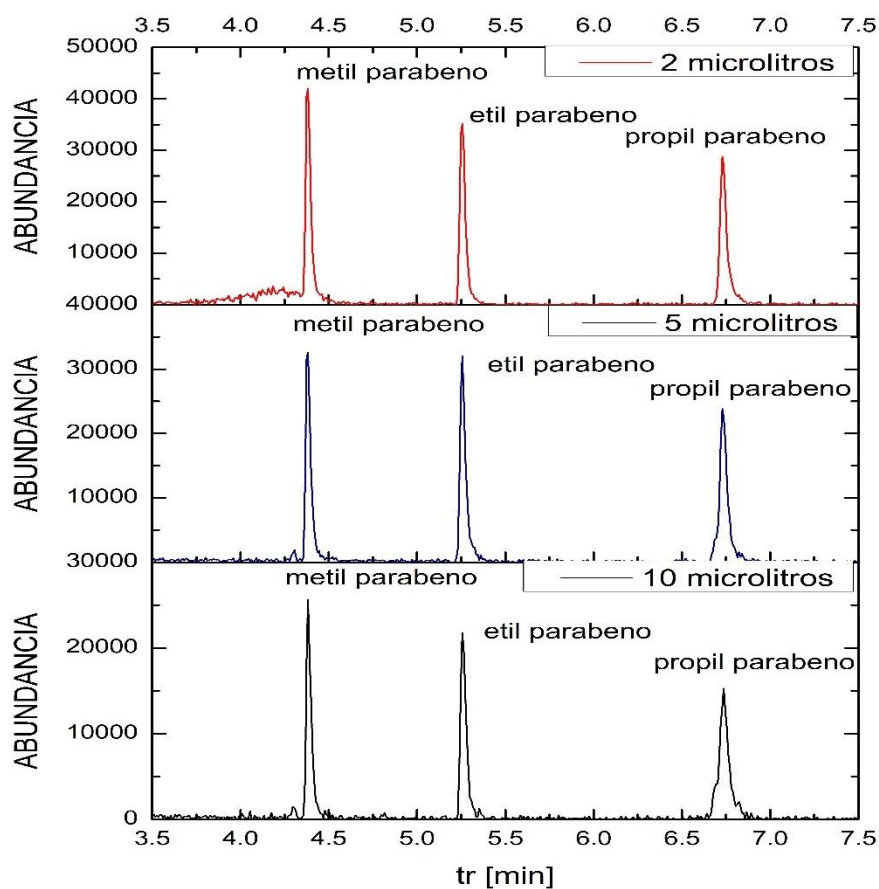


Figura. 21. Comparación de la respuesta cromatográfica en la derivatización de metil, etil y propil parabeno utilizando diversos volúmenes de derivatizante BSTFA.

Comparando la respuesta cromatográfica obtenida se puede concluir que no hay diferencias significativas entre los tres volúmenes utilizados de derivatizante sin embargo en el cromatograma obtenido para 2  $\mu\text{L}$ , a diferencia de los otros dos volúmenes utilizados, se observa una ligera interferencia cerca del pico correspondiente a metil parabeno la cual puede ser atribuida a fragmentos del parabeno sin derivatizar, por lo que se eligió como volumen de derivatizante a utilizar 5  $\mu\text{L}$ .

#### **4.4.2.2 Temperatura de Derivatización**

Para el estudio se tomó como referencia la temperatura de derivatización 85 °C debido a que en los experimentos preliminares no se observó en los cromatogramas residuos de parabeno sin derivatizar al usar esta temperatura.

Tomando, así como temperaturas de estudio 65 ° C y 45 ° C. Tomando como tiempo de derivatización 10 min y volumen de derivatizante 5  $\mu\text{L}$ .

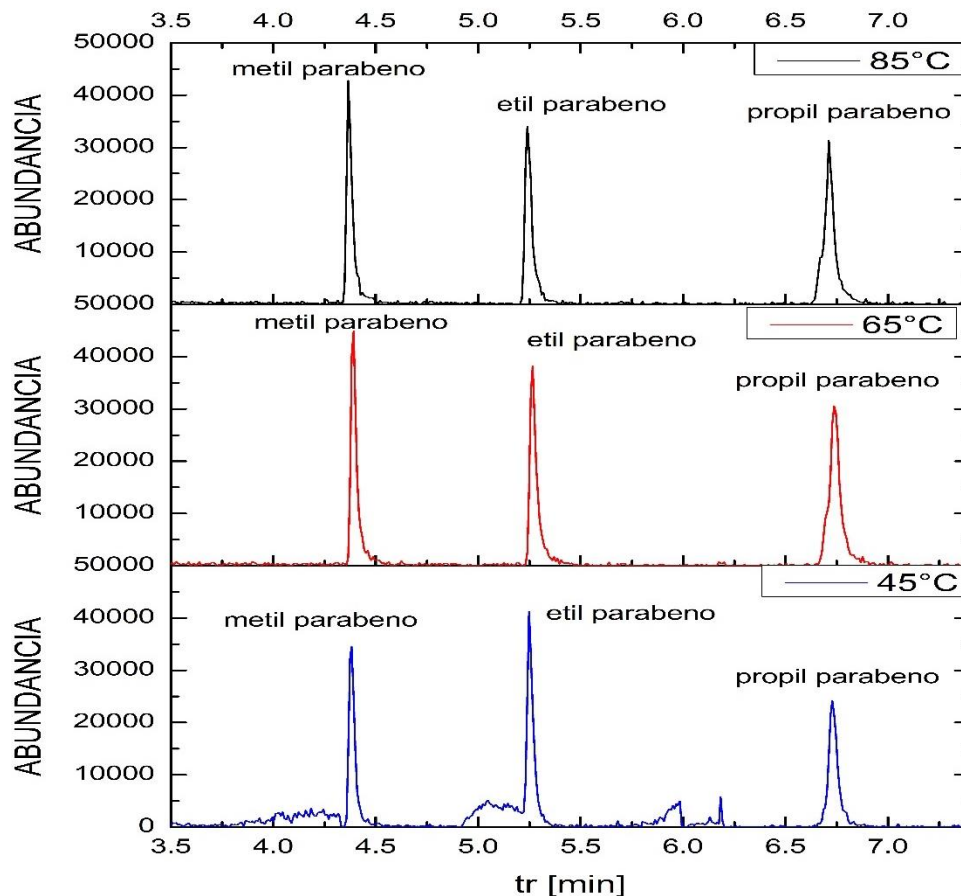


Figura. 22. Comparación de la respuesta cromatográfica obtenida para la derivatización de metil, etil y propil parabeno utilizando diversas temperaturas de reacción.

Se pudo observar que no hubo una diferencia significativa con las temperaturas de derivatización de 65 ° C y 85 ° C además de que en ambos casos no hubo presencia de fragmentos sin derivatizar en los cromatogramas.

Por otro lado, para el tiempo de derivatización de 45 ° C se puede observar que la reacción no ocurrió de manera óptima ya que se presentaron fragmentos de parabeno sin derivatizar en el cromatograma.

Por lo que se eligió como temperatura de derivatización 65 ° C.

#### 4.4.2.3 Tiempo de Derivatización

Para el estudio de los parámetros se tomó como tiempo máximo de derivatización 10 minutos debido a que en los cromatogramas de los estudios preliminares no se mostraron áreas correspondientes a los parabenos sin derivatizar.

Por lo que se estudiaron los tiempos de derivatización de 5 y 2 minutos. Tomando como volumen de derivatizante 5  $\mu\text{L}$  y temperatura de derivatización de 65 ° C.

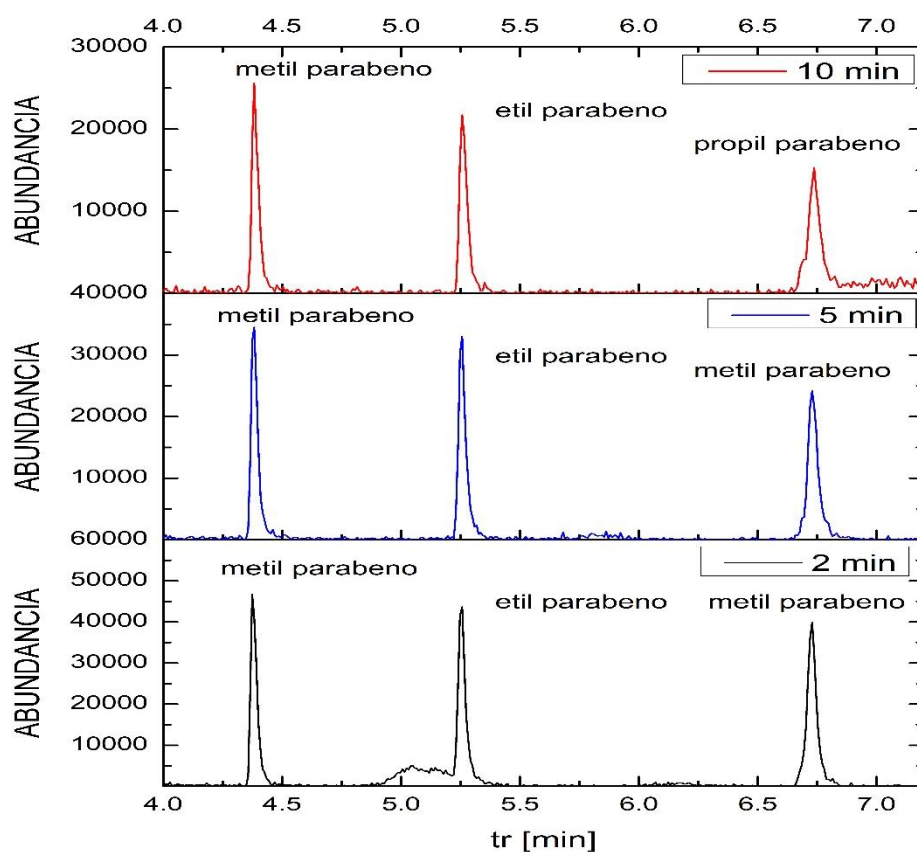


Figura. 23. Comparación de la respuesta cromatográfica obtenida para la derivatización de metil, etil y propil parabeno utilizando diversos tiempos de reacción.

Para los tiempos de reacción de 5 y 10 minutos no hay un cambio significativo entre las áreas obtenidas para los compuestos derivatizados, además de que en ninguno de los dos se presentó respuesta correspondiente a los parabenos sin derivatizar. Para el tiempo de reacción 2 minutos la reacción ocurre de manera incompleta esto se supone debido a la presencia de respuestas correspondientes a los parabenos sin derivatizar.

Por lo cual se fijó el tiempo de derivatización a 5 minutos.

Por lo cual los nuevos valores de los parámetros para la derivatización de las muestras y los estándares para alícuotas de volumen constante de 100  $\mu\text{L}$  son los siguientes:

- Volumen de derivatizante: 5  $\mu\text{L}$
- Temperatura de derivatización: 65  $^{\circ}\text{C}$
- Tiempo de calentamiento: 5 minutos

Tomando un tiempo de agitación en vórtex de 30 segundos.



## 4.5 Curva de calibración

Debido a que el interés de este trabajo recae en la preparación de la muestra y la optimización de la misma para la posterior determinación de los analitos de interés en una matriz compleja como lo son los lodos residuales, la determinación cromatográfica puede realizarse de manera sencilla utilizando una curva de calibración por estándar externo.

### 4.5.1 Preparación de los estándares

La preparación de los estándares se realizó de manera conjunta para metil, etil y propil parabeno en una sola disolución utilizando como estándar metil, etil y propil parabeno utilizando como disolvente acetato de etilo grado HPLC.

Se preparó una disolución madre de una concentración nominal de  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para posteriormente preparar una disolución stock  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , tomando 100 microlitros ( $100 \mu\text{L}$ ) de la disolución madre, ambas disoluciones se prepararon en matraces volumétricos de 10.0 mL. De la disolución stock  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  se entregaron los volúmenes adecuados para preparar las disoluciones de los estándares descritos en el intervalo de trabajo. En la tabla 12. Se muestra la concentración real de las disoluciones madre y stock utilizadas para la preparación de los estándares de la curva de calibración.

Tabla 12. Masa, concentración de la disolución madre y disolución stock utilizadas en la preparación de los estándares, así como sus incertidumbres asociadas.  $k=2$ .

Parámetro	ANALITO		
	Metil parabeno	Etil parabeno	Propil parabeno
Masa [mg]	11.6	10.7	11.5
Concentración de disolución madre [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	1140.3	1059.3	1139.5
Incertidumbre de disolución madre [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $k = 2$ ]	12.2	12.2	12.3
Concentración de disolución stock [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	11.4	10.6	11.4
Incertidumbre de disolución stock [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , $k = 2$ ]	0.1	0.1	0.1

#### 4.5.2 Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo se eligió de manera arbitraria de  $0.2\text{-}1.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  utilizando 8 estándares:  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $1.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $1.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para la construcción simultanea de las curvas de calibración para metil, etil y propil parabeno.

En la tabla 13. Se muestran las características de los estándares utilizados en la construcción de la curva de calibración.

Tabla 13. Características de los estándares utilizados, su concentración nominal, real e incertidumbre asociada k=2

No. Est.	Volumen final [ $\mu\text{L}$ ]	k=2							
	100	Conc. Nominal estándar [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	Vol. disolución Stock [ $\mu\text{L}$ ]	Vol. Acetato de etilo [ $\mu\text{L}$ ]	Conc. Metil parabeno [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	Conc. Etil parabeno [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	Conc. Propil parabeno [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	Inc. Metil parabeno [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	Inc. Etil parabeno [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ]
1	0.2	2.0	98	0.228	0.212	0.228	0.006	0.006	0.006
2	0.4	4.0	96	0.456	0.424	0.455	0.007	0.007	0.007
3	0.6	6.0	94	0.68	0.64	0.68	0.01	0.01	0.01
4	0.8	8.0	92	0.91	0.85	0.91	0.01	0.01	0.01
5	1	10.0	90	1.14	1.06	1.14	0.01	0.01	0.01
6	1.2	12.0	88	1.37	1.27	1.37	0.02	0.02	0.02
7	1.4	14.0	86	1.60	1.48	1.59	0.02	0.02	0.02
8	1.6	16.0	84	1.82	1.69	1.82	0.02	0.02	0.02

## 4.6 Caracterización del método cromatográfico

### 4.6.1 Linealidad y sensibilidad.

La linealidad del intervalo de trabajo seleccionado se puede comprobar en las gráficas siguientes, mediante un ajuste de mínimos cuadrados (Ver Anexo II).

Con la realización de un ajuste en las correspondientes curvas de calibración (suprimir puntos fuera de la tendencia lineal conservando 5) se observa un coeficiente de correlación  $> 0.99$  el cual indica una linealidad óptima, además de que mediante el análisis de residuos (Ver Anexo II) se puede mostrar que estos no siguen ninguna tendencia en particular por lo que se supone que un modelo lineal. La sensibilidad de las curvas de calibración recae en la pendiente de las mismas.

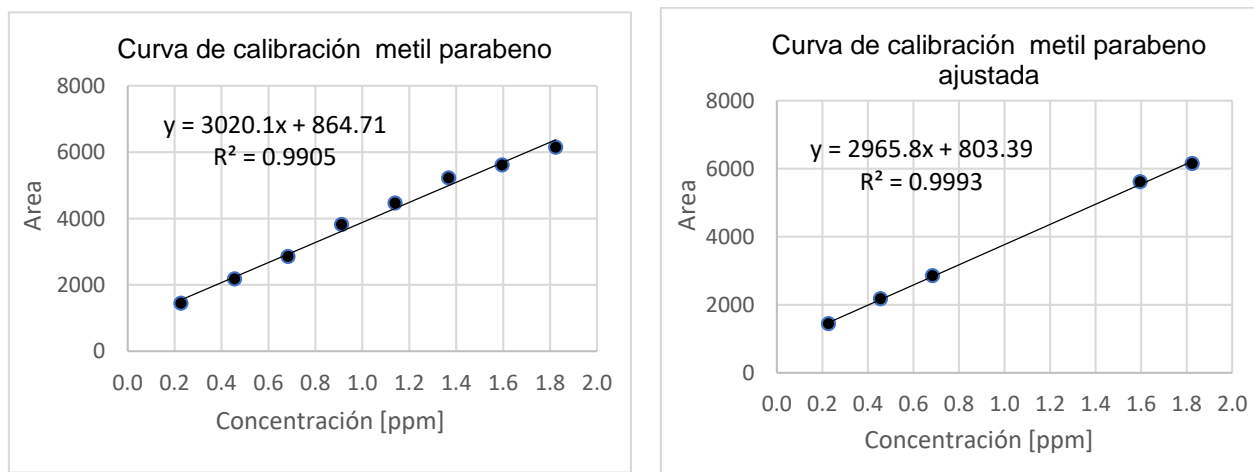


Figura. 24, 25. Curva de calibración correspondiente a metil parabeno (izquierda) y curva de calibración ajustada con 5 puntos (derecha).

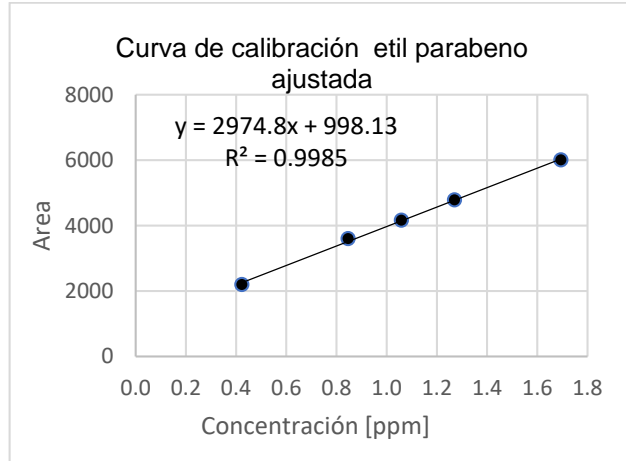
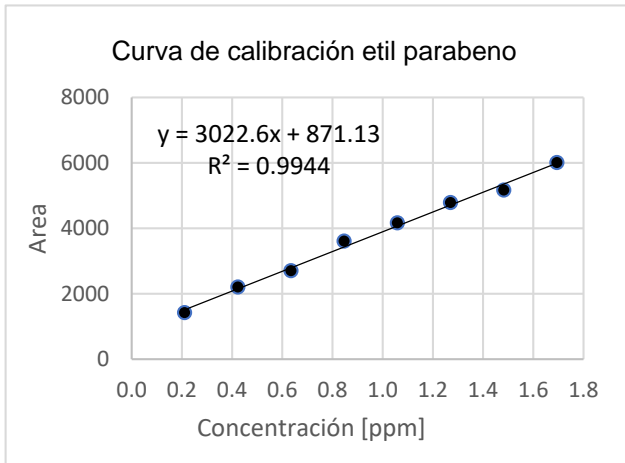


Figura. 26, 27. Curva de calibración correspondiente a etil parabeno (izquierda) y curva de calibración ajustada con 5 puntos (derecha).

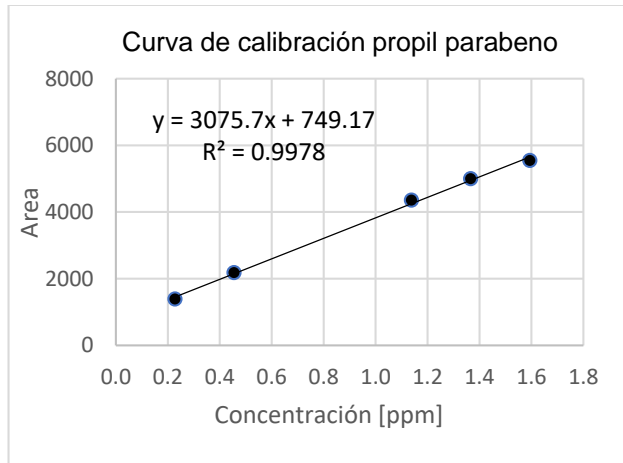
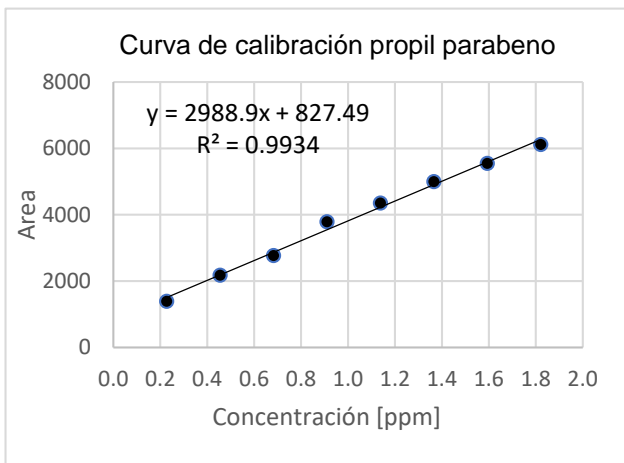


Figura. 28,29. Curva de calibración para propil parabeno (izquierda) y curva de calibración ajustada con 5 puntos (derecha).

#### 4.6.2 Límite de cuantificación y límite de detección

Para la evaluación de los límites de cuantificación (LOQ) y detección (LOD) del método cromatográfico se tomó la una señal cromatográfica de un estándar que tuviera resolución mínima 10 :1 con el ruido obteniendo en el cromatograma, como segundo criterio se tomó en cuenta que estas señales obtenidas al momento de convertirlas a unidades de concentración, mediante la aplicación de las curvas de calibración estos valores de concentración tuvieran un significado real.

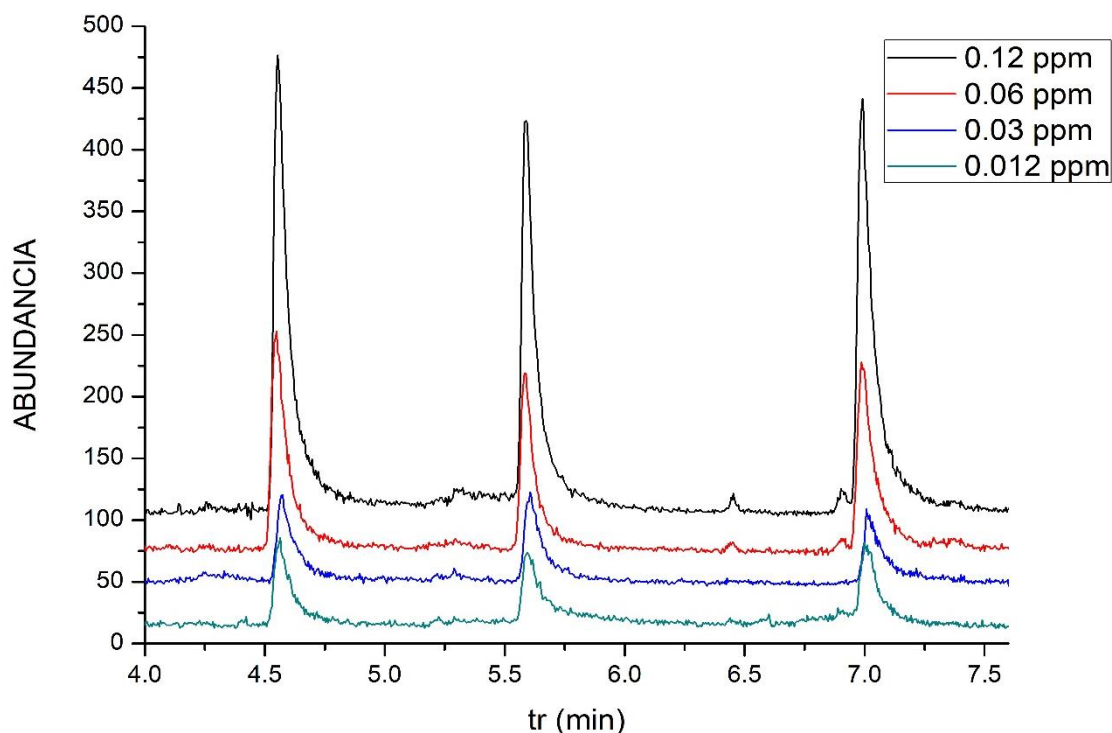


Figura. 30. Respuesta cromatográfica obtenida para metil, etil y propil parabeno de izquierda a derecha derivatizados a concentraciones de  $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ,  $0.12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ,  $0.06 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ,  $0.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $0.0015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de abajo hacia arriba.

En la tabla 14. Se muestran los resultados obtenidos para el LOD y LOQ para las curvas de calibración de metil, etil y propil parabeno.

Tabla 14. Respuesta cromatográfica obtenida para la evaluación del estándar de concentración nominal  $0.12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para metil, etil y propil parabeno y LOD y LOQ asociados.

Concentración nominal del estándar: $0.12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$			
RESPUESTA CROMATOGRÁFICA			
no. de repetición	Metil parabeno	Etil parabeno	Propil parabeno
1	901	911	939
2	991	924	967
3	907	891	911
4	910	907	889
5	976	903	900
6	940	924	893
7	944	882	891
8	940	884	936
9	914	900	910
10	902	905	900
11	935	922	917
12	945	903	903
13	909	892	948
14	989	946	966
15	908	891	972
Promedio	934	906	923
Desviación estándar	31	17.5	29.4
so'	8.00	4.52	7.60
LOD	0.05	0.03	0.06
LOQ	0.07	0.02	0.08

### 4.6.3 Repetibilidad y reproducibilidad

La repetibilidad del método se evaluó realizando 1 curva de calibración en el intervalo de trabajo descrito con 3 repeticiones bajo las mismas condiciones de trabajo obteniendo un coeficiente de variación < 10 % entre las áreas obtenidas para cada estándar y un coeficiente de correlación en las curvas de calibración > 0.99 a excepción de la primera repetición para propil parabeno donde se ve que el coeficiente de correlación está por debajo del parámetro.

Para metil parabeno:

En la tabla 15. Se muestran los resultados de la respuesta cromatográfica de los estándares para las tres repeticiones cromatográficas y sus coeficientes de variación asociados.

Tabla 15. Respuestas cromatográficas obtenidas para las 3 repeticiones realizadas para la curva de calibración de metil parabeno y sus coeficientes de variación asociados.

Concentración estándares [mg·L <sup>-1</sup> ]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	Coeficiente de variación [%]
0.228	1456	1514	1429	1466	3.0
0.456	2048	2109	2087	2081	1.5
0.68	2858	3122	2953	2978	4.5
0.91	3876	3999	4075	3983	2.5
1.14	4583	4532	4307	4474	3.3
1.37	5133	5192	5208	5178	0.8
1.60	5306	5536	5497	5446	2.3
1.82	6107	5978	6094	6060	1.2
Coeficiente de correlación	0.990	0.989	0.990	0.990	



Para etil parabeno:

En la tabla 16. Se muestran los resultados de la respuesta cromatográfica de los estándares para las tres repeticiones cromatográficas y sus coeficientes de variación asociados.

Tabla 16. Respuestas cromatográficas obtenidas para las 3 repeticiones realizadas para la curva de calibración de etil parabeno y sus coeficientes de variación asociados.

Concentración estándares [mg·L <sup>-1</sup> ]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	Coefficiente de variación [%]
0.212	1430	1362	1397	1396	2.4
0.424	2018	1943	1958	1973	2.0
0.64	2696	2747	2848	2764	2.8
0.85	3869	3763	3671	3768	2.6
1.06	4128	4212	3987	4109	2.8
1.27	4744	4758	4853	4785	1.2
1.48	5115	5306	5120	5180	2.1
1.69	6066	6164	6383	6204	2.6
Coefficiente de correlación	0.992	0.996	0.993	0.995	

Para propil parabeno:

En la tabla 17. Se muestran los resultados de la respuesta cromatográfica de los estándares para las tres repeticiones cromatográficas y sus coeficientes de variación asociados.

Tabla 17. Respuestas cromatográficas obtenidas para las 3 repeticiones realizadas para la curva de calibración de propil parabeno y sus coeficientes de variación asociados.

Concentración estándares [mg·L <sup>-1</sup> ]	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Promedio	Coefficiente de variación [%]
0.228	1441	1394	1417	1417	1.7
0.455	2003	2031	1951	1995	2.0
0.68	2750	2857	2899	2835	2.7
0.91	3953	3842	3740	3845	2.8
1.14	4171	3970	4177	4106	2.9
1.37	5225	5099	5005	5110	2.2
1.59	5756	5468	5448	5557	3.1
1.82	6094	6187	6063	6115	1.1
Coefficiente de correlación	0.992	0.994	0.996	0.995	

La reproducibilidad del método cromatográfico se evaluó realizando 3 curvas de calibración independientes bajo distintas condiciones de trabajo (durante 3 días consecutivos) obteniendo un coeficiente de variación < 10 % manteniendo la y un coeficiente de correlación en las curvas de calibración > 0.99.

Para metil parabeno:

En la tabla 18. Se muestran los resultados de la respuesta cromatográfica de los estándares para las tres repeticiones cromatográficas y sus coeficientes de variación asociados.

Tabla 18. Respuestas cromatográficas obtenidas para la realización de 3 curvas de calibración independientes para Metil parabeno en 3 días consecutivos.

METIL PARABENO					
Concentración estándares [ mg·L <sup>-1</sup> ]	Curva 1 (06.05.19)	Curva 2 (07.05.19)	Curva 3 (08.05.19)	Promedio	Coeficiente de variación [%]
0.228	1437	1495	1466	1466	2.0
0.456	2316	2420	2081	2272	7.6
0.68	2768	3031	2978	2925	4.8
0.91	3916	3895	3983	3931	1.2
1.14	4409	4352	4474	4412	1.4
1.37	5343	5039	5178	5187	2.9
1.60	5579	5627	5446	5551	1.7
1.82	6564	5871	6060	6165	5.8
Coeficiente de correlación	0.995	0.993	0.990	0.995	

Para etil parabeno:

En la tabla 19. Se muestran los resultados de la respuesta cromatográfica de los estándares para las tres repeticiones cromatográficas y sus coeficientes de variación asociados.

Tabla 19. Respuestas cromatográficas obtenidas para la realización de 3 curvas de calibración independientes para etil parabeno en 3 días consecutivos.

ETIL PARABENO					
Concentración estándares [mg·L <sup>-1</sup> ]	Curva 1 (06.05.19)	Curva 2 (07.05.19)	Curva 3 (08.05.19)	Promedio	Coficiente de variación [%]
0.212	1396	1436	1440	1424	1.7
0.424	1973	2211	2334	2173	8.4
0.64	2764	2635	2713	2704	2.4
0.85	3768	3613	3680	3687	2.1
1.06	4109	4174	4032	4105	1.7
1.27	4785	4800	4500	4695	3.6
1.48	5180	5103	5106	5130	0.9
1.69	6204	6046	5944	6065	2.2
Coficiente de correlación	0.995	0.997	0.997	0.999	

Para propil parabeno:

En la tabla 20. Se muestran los resultados de la respuesta cromatográfica de los estándares para las tres repeticiones cromatográficas y sus coeficientes de variación asociados.

Tabla 20. Respuestas cromatográficas obtenidas para la realización de 3 curvas de calibración independientes para Propil parabeno en 3 días consecutivos.

PROPIL PARABENO					
Concentración estándares [mg·L <sup>-1</sup> ]	Curva 1 (06.05.19)	Curva 2 (07.05.19)	Curva 3 (08.05.19)	Promedio	Coefficiente de variación [%]
0.228	1417	1373	1455	1415	2.9
0.455	1995	2249	2417	2220	9.6
0.68	2835	2679	2827	2780	3.2
0.91	3845	3950	3742	3846	2.7
1.14	4106	4425	4256	4262	3.7
1.37	5110	5028	4662	4933	4.8
1.59	5557	5300	5696	5518	3.6
1.82	6115	6228	6020	6121	1.7
Coefficiente de correlación	0.995	0.991	0.995	0.997	

## **4.6.4 Exactitud**

### **4.6.4.1 Precisión**

Para la determinación de la precisión se realizó la determinación simultánea de la concentración de un estándar de Metil, etil y propil parabeno de concentración nominal  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  estándar 10 veces obteniendo un coeficiente variación de: 4.89 %, 4.37 %, 4.98 % para metil, etil y propil parabeno respectivamente.

En la tabla 21 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la precisión.

### **4.6.4.2 Veracidad**

Para la determinación de la veracidad del método se comparó la concentración simultánea de metil, etil y propil parabeno obtenida de manera experimental con la concentración real de la muestra de concentración nominal de:  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para cada parabeno, 10 veces, obteniendo un sesgo porcentual del: 3.28 %, 3.50 % y 4.13 % para metil, etil y propil parabeno respectivamente, los resultados se muestran en la tabla 21.

Tabla 21. Resultados de la concentración obtenida, promedio, desviación estándar, C.V y sesgo obtenidos para metil, etil y propil parabeno en la evaluación de la precisión y la veracidad.

	Metil parabeno [mg·L <sup>-1</sup> ]	Etil parabeno [mg·L <sup>-1</sup> ]	Propil parabeno [mg·L <sup>-1</sup> ]
Concentración real estándar 0.8 mg·L <sup>-1</sup>	0.91	0.85	0.91
1	0.99	0.93	0.86
2	1.01	0.80	0.99
3	0.93	0.91	0.96
4	0.92	0.91	0.95
5	0.99	0.85	0.98
6	0.89	0.88	1.03
7	0.91	0.88	1.08
8	0.90	0.89	1.03
9	0.97	0.87	0.94
10	0.89	0.92	0.87
Promedio	0.94	0.88	0.95
Desviación estándar	0.05	0.04	0.05
Coefficiente de variación [%]	4.89	4.37	4.98
Sesgo [%]	3.28	3.50	4.13

Una vez caracterizado el método cromatográfico se procedió a realizar la preparación y tratamiento de la muestra para su análisis cromatográfico.

#### **4.7 Preparación preliminar de la muestra**

Para la preparación preliminar de la muestra de lodos residuales obtenidos del desazolve de los sistemas de alcantarillado, se realizó la homogenización de la suspensión para posteriormente ser secada a 110 °C durante 48 horas, posteriormente con ayuda de un mortero se pulverizo la muestra hasta llevar a un tamaño de partícula homogéneo.

#### **4.8 Condiciones de extracción (ASE)**

Para la evaluación de las condiciones de extracción, las celdas de extracción se prepararon colocando un filtro de fibra de vidrio en la parte inferior de la celda seguido de aproximadamente 2 g de fase dispersante la cual se comprimió ligeramente dentro de la celda, posteriormente se pesaron aproximadamente 0.5 g de lodo seco , se homogenizaron con 1 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 1 g de la fase dispersante, se colocaron en la celda y se comprimieron, se llenando a tope la celda con fase dispersante y cerrándola .

Posterior a las extracciones, la derivatización se llevó a cabo tomando 100 µL del extracto, agregando 5 µL de BSTFA+ TMCS como derivatizante, llevando a cabo la reacción de derivatización bajo los parámetros optimizados descritos previamente. En la tabla 22 se muestran las condiciones preliminares de la etapa de lavado y de extracción.



Tabla 22. Condiciones preliminares de extracción para la evaluación del efecto de la fase dispersante en la respuesta cromatográfica.

Parámetro	Lavado	Extracción
Disolvente	Hexano	Acetato de etilo
Temperatura [°C]	40	120
Duración del ciclo [min]	5	5
Presión [psi]	700	1800
Número de ciclos	1	3
Flush [%]	100	100
Purga [segundos]	60	60

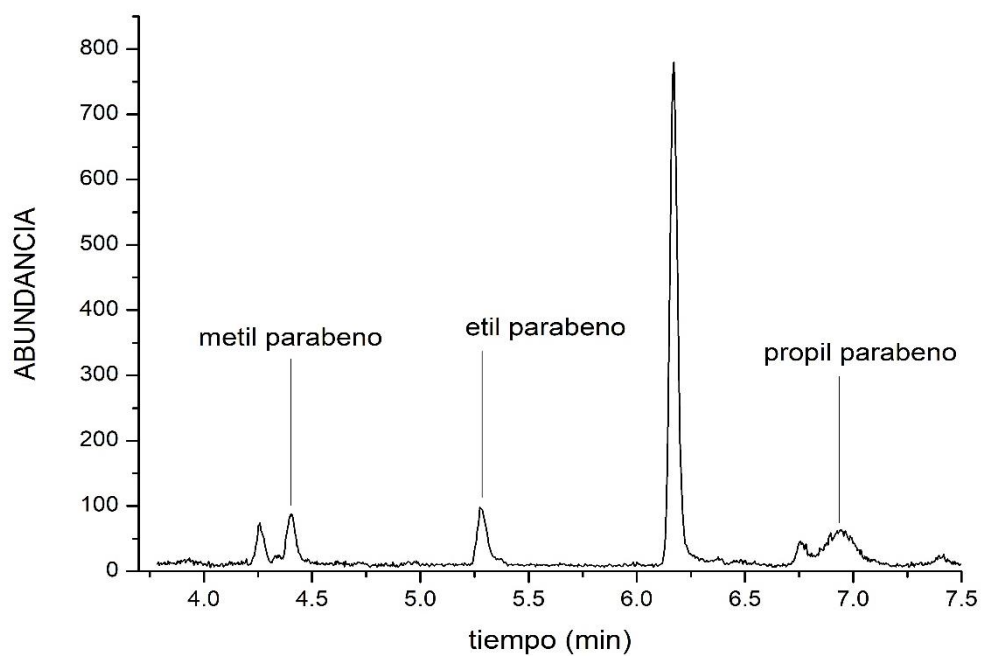


Figura. 31. Cromatograma obtenido para la muestra en condiciones preliminares. Los analitos de interés, Metil, etil y propil parabeno se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente.

#### 4.8.1 Fase dispersante

Diatomita o tierra de diatomeas fue utilizada como fase dispersante debido a las propiedades que tiene para absorber la humedad al igual que ser una fase dispersante inerte y no afín a los analitos de interés.

Para estudiar si este material dispersante presenta o no respuesta en los tiempos de retención de los analitos, se estudió el efecto de la tierra y de la tierra sometida a un calentamiento a 200 °C durante 4 horas comparándola con un estándar de 0.03 mg·L<sup>-1</sup> (por debajo del límite de detección del método cromatográfico). Las determinaciones cromatográficas se realizaron por triplicado.

Para la evaluación del efecto de la fase dispersante se utilizaron las condiciones de extracción y lavados señaladas previamente.

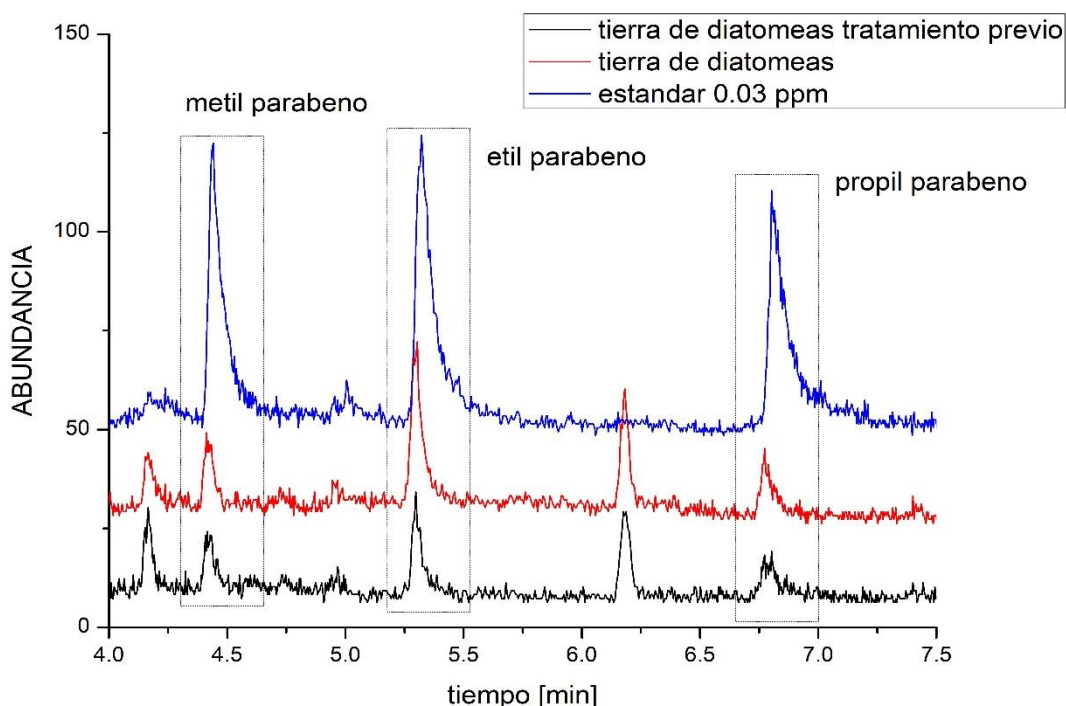


Figura. 32. Cromatograma tierra de diatomeas, tierra de diatomeas sometida a tratamiento comparadas con un estándar 0.03 mg·L<sup>-1</sup>.

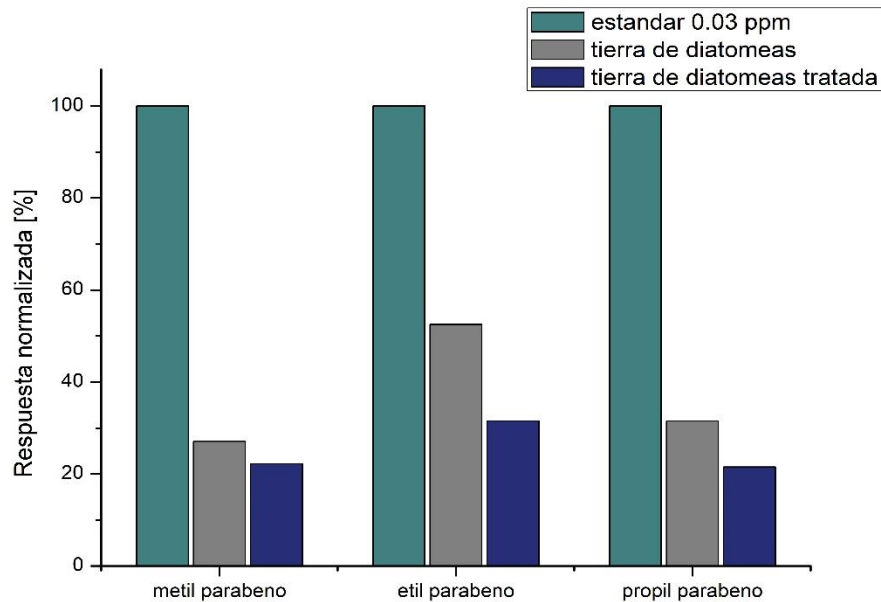


Figura. 33. Respuesta cromatográfica normalizada para Estándar 0.03 mg·L<sup>-1</sup>, tierra de diatomeas y tierra de diatomeas tratada.

Se puede observar que la tierra de diatomeas presenta una respuesta en los tiempos de retención de los parabenos, sin embargo al realizar la normalización de áreas tomando como 100 % la respuesta para el estándar de concentración de 0.03 mg·L<sup>-1</sup>, podemos ver que la respuesta para la tierra de diatomeas, tratada y no tratada se encuentra por debajo del 60 %, debido a que el estándar está por debajo de los LOQ se considera que la respuesta aportada por la tierra de diatomeas es despreciable. Sin embargo, para minimizar este efecto se trabajó con tierra de diatomeas sometida a un tratamiento previo de 200 °C durante 4 horas.

#### 4.8.2 Lavado

Se planteó realizar una etapa de lavado previa a la extracción para disminuir las interferencias que pudieran presentarse en los cromatogramas al momento de realizar la determinación cromatográfica.

Tomando en cuenta la polaridad de los analitos y su  $k_{o/w}$  el cual al hablar de la razón entre las concentraciones de un soluto en dos fases no miscibles (disolventes orgánicos apolares y disolventes polares proticos) supone un carácter hidrófobo de una sustancia o la afinidad de esta a las matrices orgánicas. Debido a esto se decidió utilizar un disolvente no polar, hexano, para la realización de estos lavados. En la tabla 23 se muestran los factores de extracción que se mantuvieron con un valor fijo para este estudio.

Tabla 23. Factores de extracción fijos para la realización del lavado.

Factores	Parámetros
Tiempo de ciclo [minutos]	5
Flush [%]	100
Purga [segundos]	60
Presión [psi]	700

Manteniendo condiciones suaves de extracción y evaluando las variables con más impacto en la etapa de extracción que son la temperatura y los ciclos de extracción.

#### 4.8.2.1 Temperatura

Debido a que hubo una respuesta cromatográfica de los analitos realizando un lavado preliminar en la muestra a 40 °C se evaluara el efecto del aumento de la temperatura de extracción a 80 °C y 120 °C.

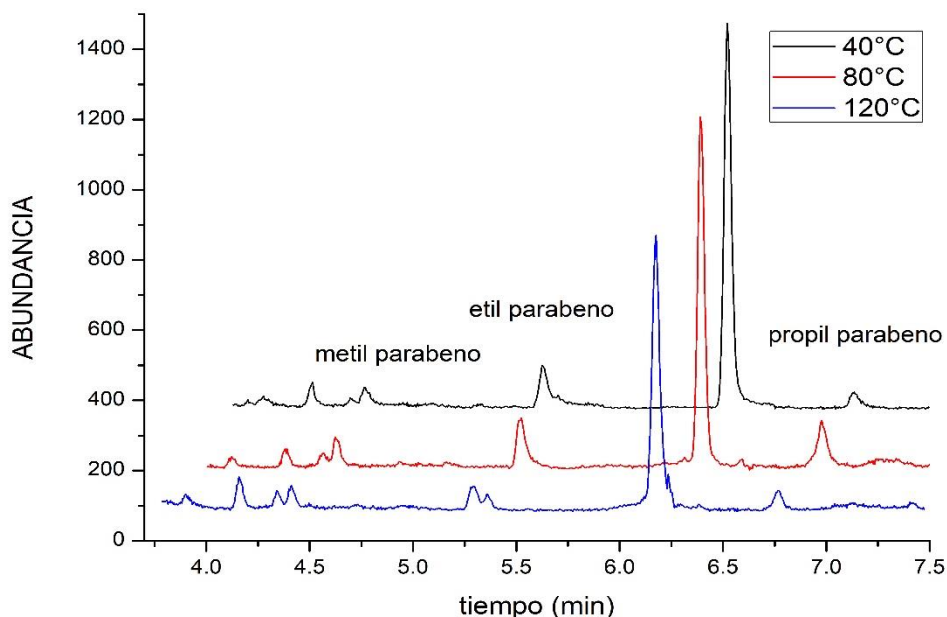


Figura. 34. Cromatograma para la evaluación de distintas temperaturas de lavado con hexano realizadas con una misma muestra de lodo. Los analitos de interés: metil, etil y propil parabeno se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente.

En la realización del lavado a 120 °C el interferente con mayor respuesta tr : 6.2 min disminuyo la respuesta en comparación de los lavados a 40 °C y 80 ° C , sin embargo la resolución y definición de los picos cromatográficos de los analitos disminuyó, por lo cual al comprometerse la respuesta cromatográfica de los analitos no se puede elegir 120°C como la temperatura de lavado.

Se puede apreciar en el cromatograma que hubo una mayor respuesta de los analitos a 80 °C , sin embargo esto puede ser debido a efectos de la homogeneidad de la muestra por lo que el área del pico de los analitos será descartado como parámetro para la evaluación de la temperatura de los lavados sin embargo comparando esta temperatura de lavado con la de 40 °C podemos ver que los picos cromatográficos asociados a la respuesta de los analitos posee una mayor resolución por lo cual , 80 °C se toma como temperatura de lavado.

#### 4.8.2.2 Ciclos de extracción

Se evaluó la respuesta de los parabenos, así como de sus interferencias de 0 - 3 ciclos en el lavado para una muestra de lodo. Utilizando como parámetros de extracción los indicados previamente, modificando la temperatura de extracción a 80 °C

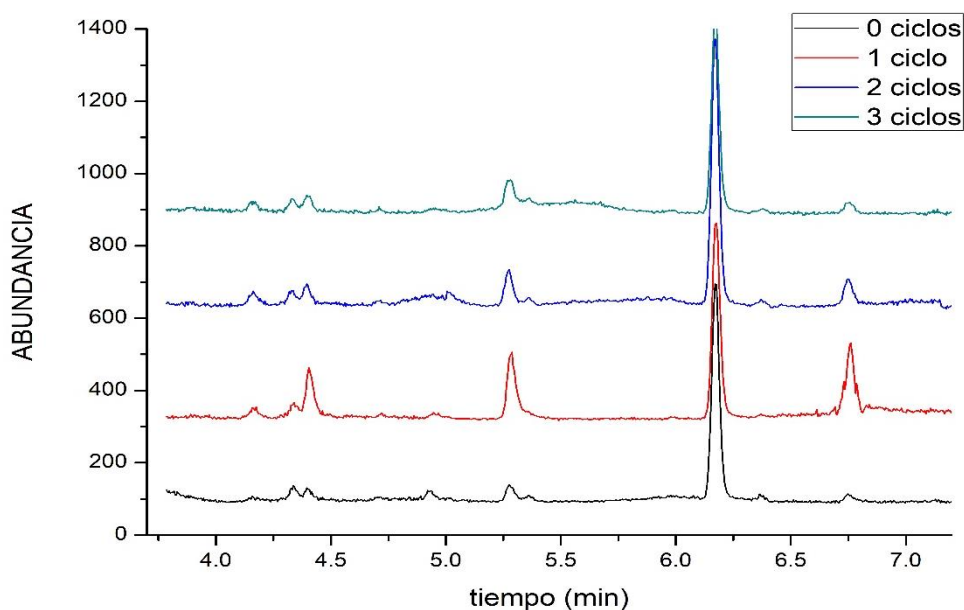


Figura. 35. Comparación de la respuesta cromatográfica para metil, etil y propil parabeno de 0 - 3 ciclos. Los analitos de interés, se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente.

En el cromatograma se puede observar que hay un aumento de la respuesta de los analitos de entre el cromatograma donde no hay una etapa de lavado previa y en donde la etapa de lavado de un ciclo, sin embargo, esta respuesta empieza a disminuir al aumentar la cantidad de ciclos realizados.

No hay un efecto significativo en el aumento o disminución de la respuesta para las interferencias, la interferencia en 6.2 min se mantiene constante en los 4 cromatogramas presentados. Por lo cual se toma como 1 ciclo de lavado como valor máximo de ciclos utilizados.

Por lo tanto, las condiciones de lavados finales se muestran en la tabla 24.

Tabla 24. Comparación de los valores utilizadas en los lavados preliminares y los valores optimizados.

	Lavado preliminar	Lavado optimizado
Disolvente	Hexano	Hexano
Temperatura [°C]	40	80
Duración del ciclo [minutos]	5	5
Presión [psi]	700	700
Número de ciclos	1	1
Flush [%]	100	100
Purga [segundos]	60	60

Se obtuvo el cromatograma de la fracción de los lavados con hexano con la metodología optimizada obteniendo:

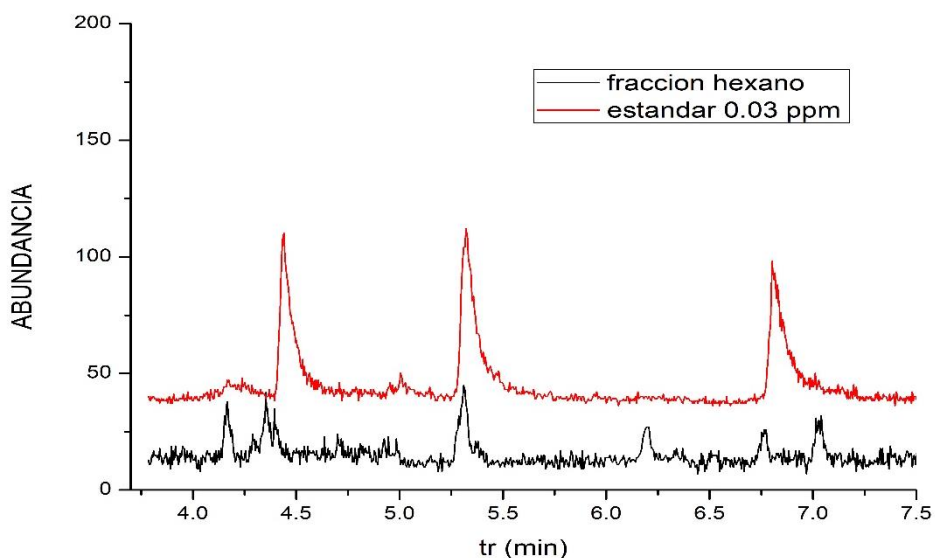


Figura.36. Cromatograma obtenido para la fracción de lavado comparada con el estándar  $0.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de metil, etil y propil parabeno. Los analitos de interés, se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente.

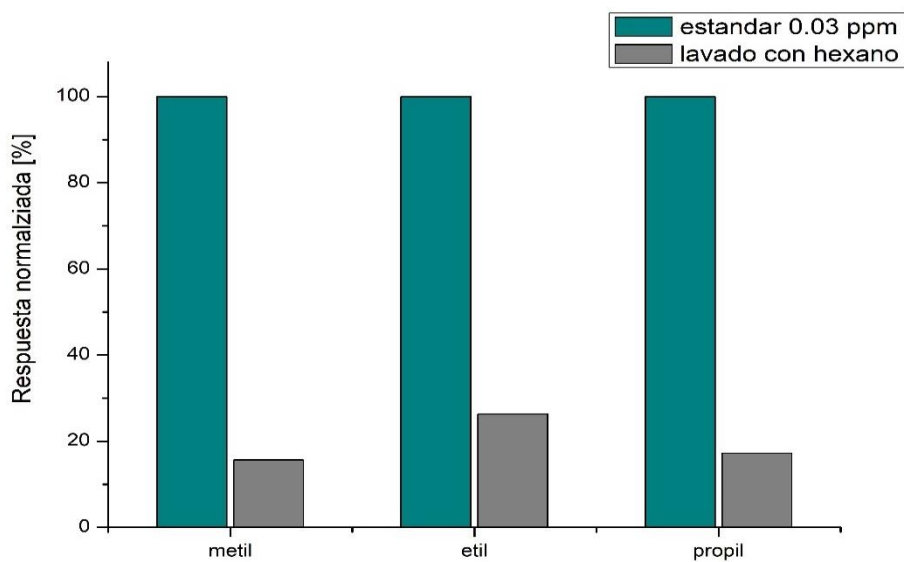


Figura. 37. Respuesta cromatográfica normalizada para la respuesta del estándar  $0.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de los analitos metil, etil y propil parabeno y su respuesta en la fracción del lavado con hexano.

Podemos observar que en la fracción del lavado si hay presencia de los analitos , sin embargo al comparar la respuesta obtenida para los analitos en la fracción del



lavado con el estándar  $0.03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  podemos ver que esta respuesta es menor o igual al 30 % de la señal obtenida para los analitos con el estándar, esta concentración al estar debajo de los límites de cuantificación nos indicó que la respuesta obtenida para los analitos en la fracción de hexano no es significativa y por lo tanto puede ser despreciada.

#### 4.8.3 Condiciones de extracción

Para la evaluación de las condiciones de extracción se implementó la etapa de lavado optimizada, así como las condiciones de extracción preliminares descritas previamente. En la tabla 25 se muestran las condiciones de lavado finales a utilizar y las condiciones de extracción preliminares para la determinación de metil etil y propil parabeno en las muestras de lodos y sedimentos.

Tabla 25. Condiciones optimizadas de etapa de lavado y condiciones preliminares de extracción.

Parámetro	Lavado	Extracción
Disolvente	Hexano	Acetato de etilo
Temperatura[°C]	80	120
Duración del ciclo [minutos]	5	5
Presión [psi]	700	1800
Número de ciclos	1	3
Flush [%]	100	100
Purga [segundos]	60	60

Al igual que para la optimización de los lavados de extracción se fijaron los parámetros de flush en 100 %, purga en 60 segundos y la duración de los ciclos en 5 minutos.

#### 4.8.3.1 Disolvente

Debido a la naturaleza de los analitos de manera preliminar se utilizó como disolvente polar, acetato de etilo y se evaluó el efecto de la extracción de los analitos con un disolvente de mayor polaridad como lo es el acetonitrilo.

Para la comparación de la respuesta cromatográfica se realizaron las extracciones bajo las mismas condiciones de lavados y extracción, el extracto se concentró a sequedad y este se reconstituyó con 1.0 mL de acetato de etilo para su posterior derivatización e inyección.

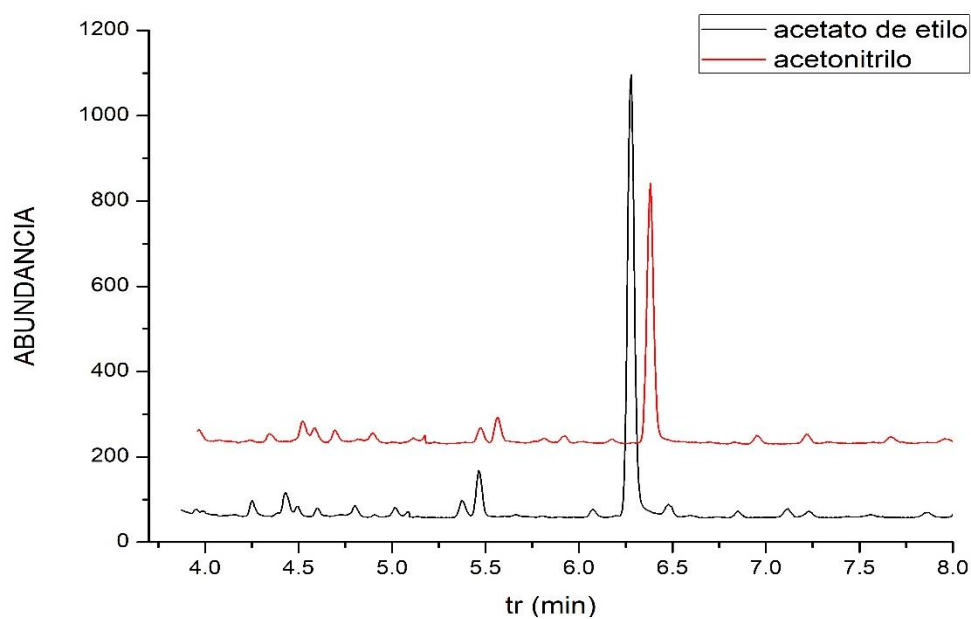


Figura. 38. Cromatograma para extracciones utilizando como disolvente acetato de etilo y acetonitrilo, ambos cromatogramas están desfasados uno de otro. Los analitos de interés, metil, etil y propil parabeno se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente

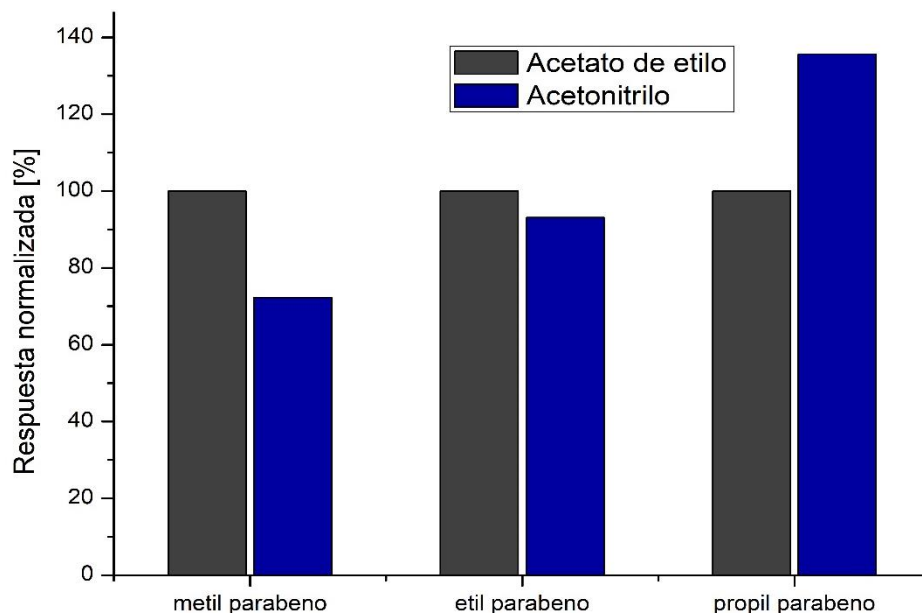


Figura. 39. Respuesta cromatográfica normalizada para las extracciones utilizando como disolvente acetato de etilo frente a las extracciones utilizando como disolvente acetonitrilo.

Se puede observar que hay una mayor respuesta cromatográfica utilizando acetonitrilo como disolvente, mayor en 30 % para metil parabeno y mayor en 10 % para etil parabeno, sin embargo se puede ver que la respuesta cromatográfica es menor en un 40 % para propil parabeno, además de que se puede ver una disminución considerable la interferencia correspondiente al pico de 6.2 min, sin embargo se puede apreciar una mayor resolución y definición de los picos cromatográficos en la utilización de acetato de etilo como disolvente de extracción por lo que se elige como disolvente de extracción, otro criterio que se consideró para no elegir al acetonitrilo como disolvente de extracción es que la utilización de este mismo implica una reconstitución de matriz lo que implica por ende mayor manipulación de la muestra.

### 4.8.3.2 Temperatura

Se evaluó el efecto de la temperatura en la respuesta cromatográfica de los analitos y las interferencias, tomando como temperaturas de extracción: 80 °C, 120 °C y 180 °C utilizando los demás parámetros de extracción, lavado y derivatización descritos previamente.

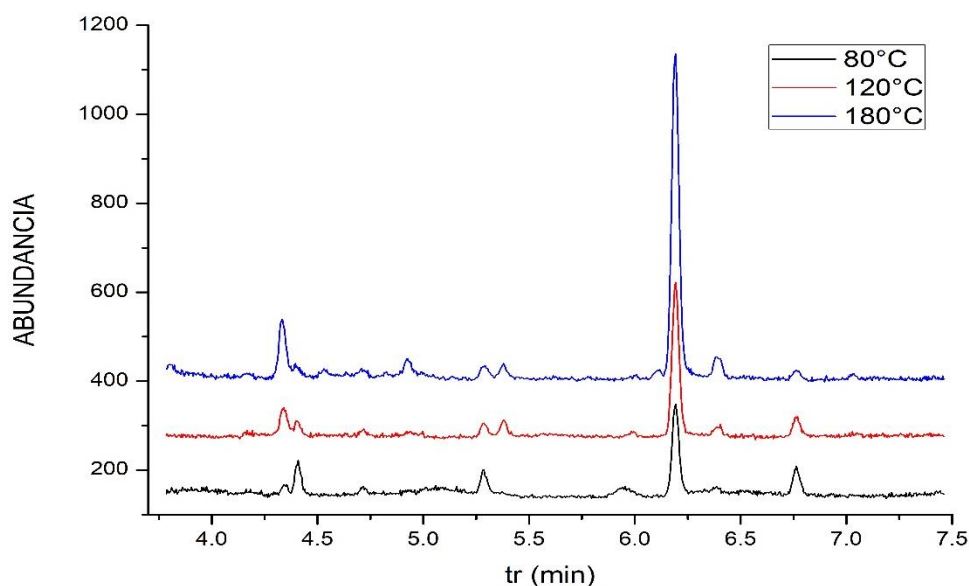


Figura. 40. Cromatogramas obtenidos para las extracciones modificando la temperatura de extracción a 80 °C, 120 °C y 180 °C. Los analitos de interés, Metil, etil y propil parabeno se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente.

En los cromatogramas obtenidos podemos ver que la señal para Metil, etil y propil parabeno son mayores utilizando una temperatura baja de extracción de 80 °C. De igual manera se puede observar que la señal de las interferencias en 4.2 min y 6.2 min aumentan conforme el aumento de la temperatura, así como la aparición de otras interferencias utilizando 180 °C como temperatura de extracción.

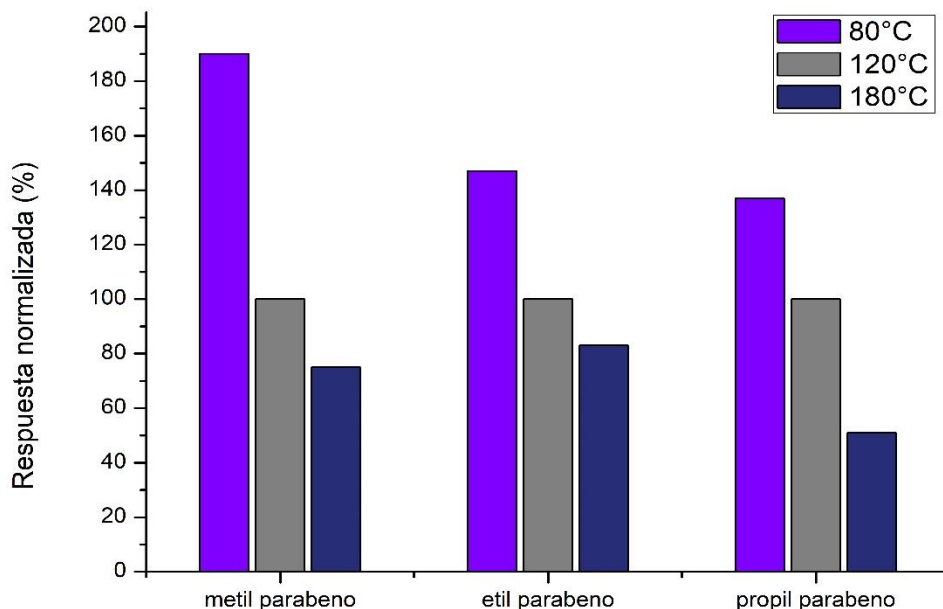


Figura. 41. Respuesta cromatográfica normalizada para las extracciones utilizando como temperatura de extracción 120 °C frente a 80 °C y 180 °C.

Debido al aumento considerable de la respuesta cromatográfica para metil y propil parabeno, así como la resolución y definición del pico cromatográfico correspondiente a metil parabeno, se toma como temperatura de extracción 80 °C

#### 4.8.3.3 Presión

Se evaluó el efecto de la presión utilizada en la extracción utilizando las presiones de: 800 psi, 1200 psi y 1800 psi, esta comparación se llevó a cabo utilizando los parámetros de lavado, derivatización y extracción descritos previamente, modificando la temperatura de extracción a 80 °C.

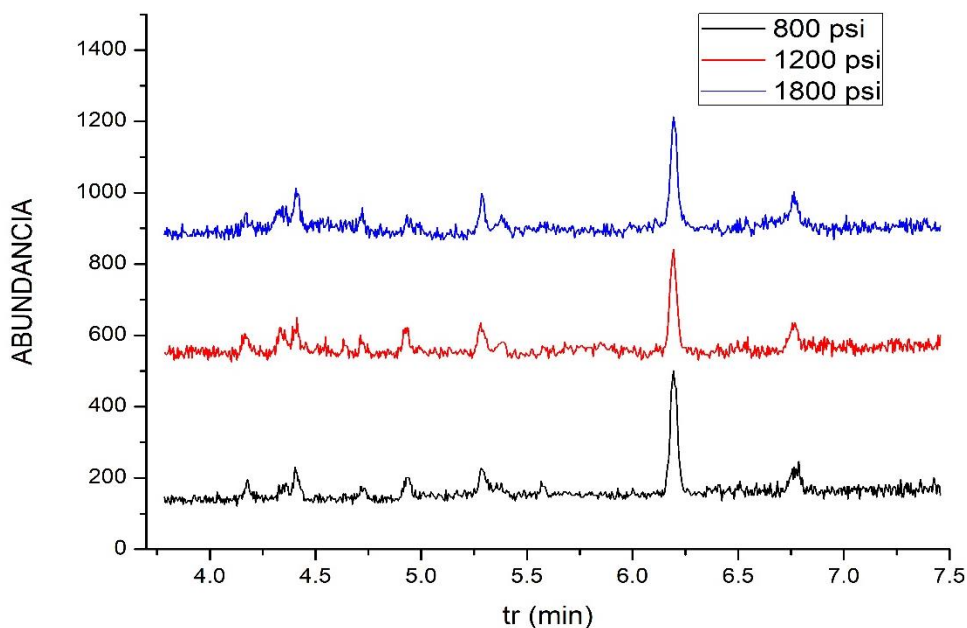


Figura. 42. Cromatogramas obtenidos para las extracciones modificando la presión utilizada para la extracción: 800 psi, 1200 psi y 1800 psi. Los analitos de interés, metil etil y propil parabeno se encuentran en los tiempos de retención: 4.4 min, 5.3 min y 6.7 min respectivamente.

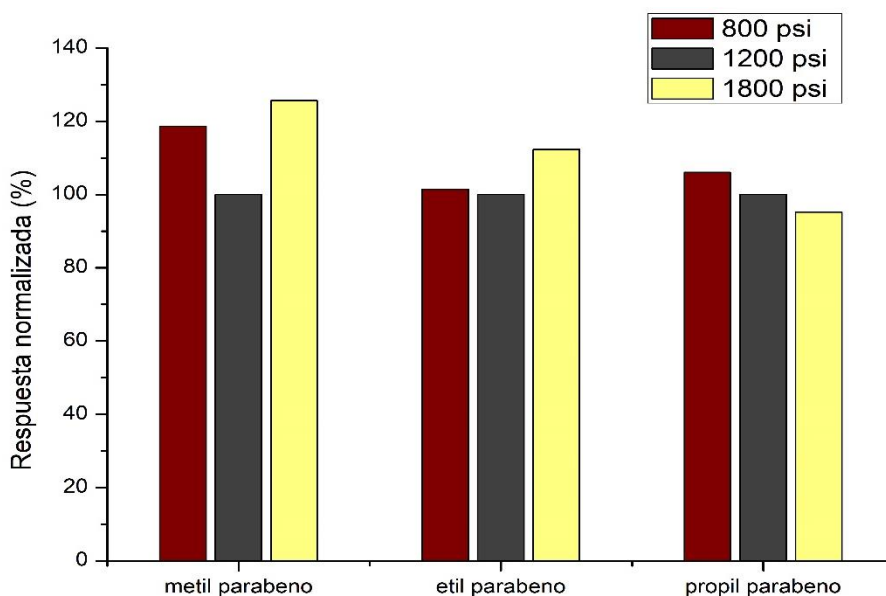


Figura. 43. Respuesta cromatográfica normalizada para las extracciones utilizando como presión de extracción 1200 psi frente a 800 psi y 1800 psi.

Se puede observar que hubo un aumento de la respuesta cromatográfica de los analitos al realizar un cambio en la presión sin embargo comparando la respuesta para los analitos obtenida para las presiones de 800 y 1800 psi no hubo un cambio considerable de la respuesta entre ellas.

Se puede observar que, al aumentar la presión, la respuesta para los interferentes en 4.3 min y 5.4 min aumento perdiendo la resolución y definición de los analitos de interés. Por lo cual se toma como presión para las extracciones 800 psi.

#### 4.8.3.4 Ciclos de extracción

Se evaluó el efecto de los ciclos de extracción con 1, 2, 3, 4 y 5 ciclos de extracción consecutivos en la misma celda de extracción. Esta comparación se llevó a cabo colectando la porción de la extracción del ciclo correspondiente y utilizando los parámetros de lavado, derivatización y extracción descritos previamente, modificando la temperatura de extracción a 80 °C y la presión a 800 psi.

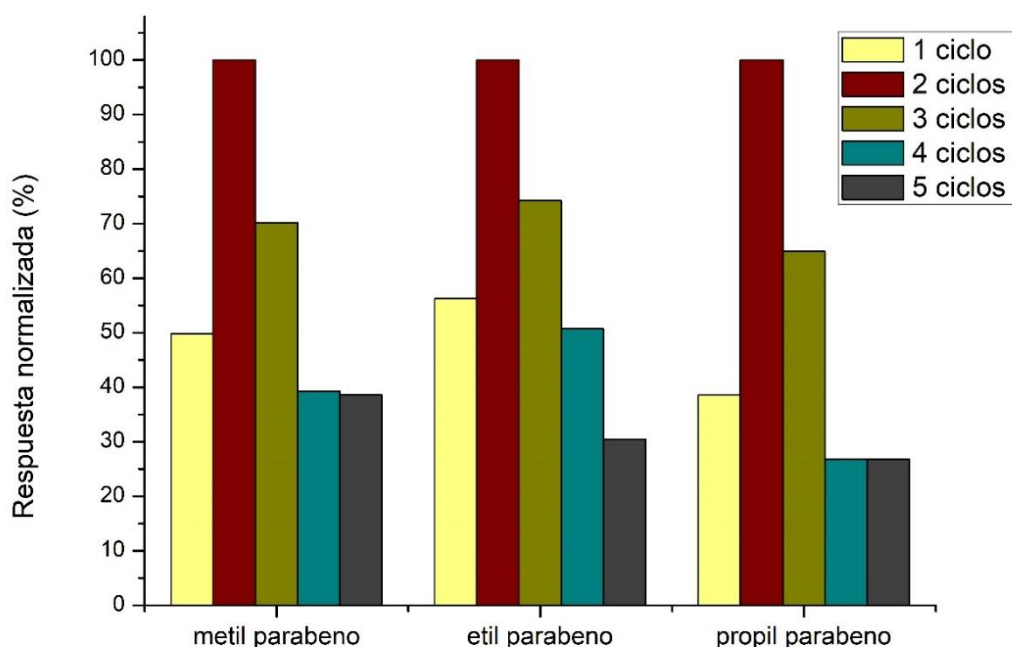


Figura. 44. Respuesta cromatográfica normalizada para las extracciones consecutivas en una celda de extracción utilizando 1,2,3,4 y 5 ciclos, normalizando en 2 ciclos.

Se puede observar que hay un aumento en la respuesta obtenida hasta 2 ciclos, a partir de este la respuesta en los 3 parabenos empieza a disminuir, en el tercer ciclo todavía hay una respuesta considerable de los parabenos debido a que la respuesta es aproximadamente del 60 % de la respuesta normalizada correspondiente a la extracción a 2 ciclos.

En 4 y 5 ciclos la respuesta de los analitos es aproximadamente el 30 % de la respuesta normalizada, a excepción de etil parabeno donde la respuesta es de 50.7 % en comparación con la respuesta normalizada de 2 ciclos por lo cual se elige como limitante de los ciclos 3. En la tabla 26 se muestra una comparación entre las condiciones de extracción preliminares y las condiciones optimizadas.

Tabla. 23. Condiciones preliminares de extracción y condiciones optimizadas de extracción.

	Extracción preliminar	Extracción optimizada
Disolvente	Acetato de etilo	Acetato de etilo
Temperatura[°C]	120	80
Duración del ciclo [minutos]	5	5
Presión [psi]	1800	800
Número de ciclos	3	3
Flush [%]	100	100
Purga [segundos]	60	60



## 4.9 Caracterización de la metodología propuesta

### 4.9.1 Exactitud

Para la evaluación de la exactitud se evaluaron los criterios de precisión y veracidad. La precisión se evaluó mediante la reproducibilidad y repetibilidad total del método y la veracidad se evaluó con el factor de recobro.

#### 4.9.1.1 Repetibilidad y reproducibilidad

Para este estudio se llevó a cabo la determinación de la concentración simultánea de Metil, etil y propil parabeno una muestra de lodo (DQO = 123.4 [mg·L<sup>-1</sup>]) fortificando con una disolución estándar de 0.8 ppm) por cuadruplicado en un mismo día durante 3 días, en la tabla 27 se muestran los resultados obtenidos para la repetibilidad y reproducibilidad.

La preparación de la muestra para el ASE se encuentra descrita en el apartado 4.8, para este análisis se pesaron aproximadamente 0.5 g de la muestra de lodo.

Tabla 27. Concentraciones y coeficientes de variación obtenidos para la determinación simultánea de metil, etil y propil parabeno en la muestra fortificada.

Analito	Repetibilidad (n=4) *		Reproducibilidad (n=3) **	
	Concentración [mg·L <sup>-1</sup> ] k=2	Coefficiente de variación [%]	Concentración [mg·L <sup>-1</sup> ] k=2	Coefficiente de variación [%]
Metil parabeno	7.9 ± 0.3	5.47	8.1 ± 0.3	7.08
Etil parabeno	2.9 ± 0.1	9.41	2.4 ± 0.1	10.53
Propil parabeno	7.6 ± 0.3	8.82	7.3 ± 0.3	7.01

\*Para la evaluación de la repetibilidad se realizaron 4 extracciones sucesivas de la misma muestra y se determinó su concentración por triplicado.

\*\*Para la evaluación de la reproducibilidad se realizó el mismo procedimiento que para la determinación de la repetibilidad por 3 días.

#### 4.9.1.2 Recobro

La veracidad de la metodología propuesta se evaluó mediante el % de recobro. Se analizó una muestra de lodo residual (DQO= 858.6 ppm) dividida en 2 partes, una de ellas sin ninguna alteración y la otra fue enriquecida para que el extracto resultante posea una concentración aproximada de  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de los analitos, la preparación de esta se llevó a cabo mediante la fortificación de la muestra de lodo con los estándares metil y propil parabeno a una concentración de  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cada analito contenidos en 3 mL aproximada de MeOH HPLC, se adicionaron de manera directa a la muestra y posteriormente esta se llevó a sequedad para su posterior tratamiento.

La preparación de la muestra para la Extracción Acelerada con Disolventes se encuentra descrita en el apartado 4.8, de igual manera pesaron aproximadamente 0.5 g de lodo fortificado y lodo sin ninguna alteración respectivamente.

El porcentaje de recobro se calculó como la concentración obtenida resultante de la diferencia entre la respuesta obtenida de la fracción fortificada y la fracción sin adición, dividida entre la concentración añadida de los analitos.

$$\text{Recobro \%} = \frac{\text{Concentración obtenida}}{\text{Concentración de adición}} \times 100$$

$$\text{Conc. obtenida} = \frac{(Y_{fort} - Y_{matriz}) - b}{m} (F.D) \left( \frac{\text{Vol. muestra [L]}}{\text{masa muestra [Kg]}} \right)$$

F.D = factor de dilución

En la tabla 28 se muestran los resultados obtenidos para el recobro (factor y porcentaje) para la recuperación de metil, etil y propil parabeno.

Tabla 28. Factor de recobro asociado a los analitos metil, etil y propil parabeno para la metodología desarrollada.

Analito	Concentración en la muestra [mg·L <sup>-1</sup> ]	Concentración recuperada [mg·L <sup>-1</sup> ]	Recobro [%]	Factor de recobro
Metil parabeno	1610.4	1334.1	83.5	0.835
Etil Parabeno	1018.6	720.9	71.7	0.717
Propil parabeno	1028.5	632.3	63.5	0.635

## 5. APLICACIÓN A MUESTRAS REALES

### 5.1 Efecto matriz

Para el estudio del abatimiento o incremento de la respuesta cromatográfica de los analitos frente a las muestras de lodo y sedimentos a utilizar (descritas en el apartado siguiente), se evaluó la respuesta cromatográfica de un estándar interno a una concentración conocida de  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , Acenafteno d-10 en Acetato de Etilo HPLC, frente a la respuesta cromatográfica del mismo estándar a la misma concentración en las matrices utilizadas, en la tabla 29 se muestra la rampa de temperatura y las características cromatográficas utilizadas en este análisis.

Tabla 29. Rampa de temperatura y características cromatográficas para la determinación de Acenafteno d-10.

Parámetros	Rampa de temperatura
Columna cromatográfica	HP5-MS-UI
Modo de inyección	Splitless
Temperatura del inyector [°C]	250
Volumen de inyección [ $\mu\text{L}$ ]	1
Temperatura inicial [°C]	130 °C
Rampa	$7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ a $160 \text{ }^\circ\text{C}$ $3 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ a $180 \text{ }^\circ\text{C}$
Temperatura final [°C]	180 °C
Flujo de gas portador (He)	2 mL/min
Solvent delay [minutos]	3.5
Tiempo de análisis [minutos]	10.9
Tiempo de retención [minutos]	4.4

La preparación de los estándares  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y el tratamiento de estos se llevó a cabo de la misma manera que para la preparación de los estándares de metil, etil y propil parabeno: se entregaron  $8 \mu\text{L}$  de una disolución  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Acenafteno d-10 y se entregaron  $92 \mu\text{L}$  de Acetato de Etilo HPLC para tener un volumen total de  $100 \mu\text{L}$ . A este estándar se le entregaron  $5 \mu\text{L}$  de derivatizante BSTFA, se sometió a agitación durante 60 segundos y se sometió a calentamiento durante 5 min a  $65^\circ\text{C}$  posteriormente se realizó una inyección directa de  $1 \mu\text{L}$  en el Cromatógrafo de gases.

Para la determinación de la respuesta cromatográfica de Acenafteno d-10 en las muestras, la preparación y tratamiento de los estándares fue la misma, con la diferencia de que se entregaron  $92 \mu\text{L}$  del extracto obtenido del ASE para cada muestra. (masa utilizada para cada muestra  $0.5 \text{ g}$  aproximadamente.)

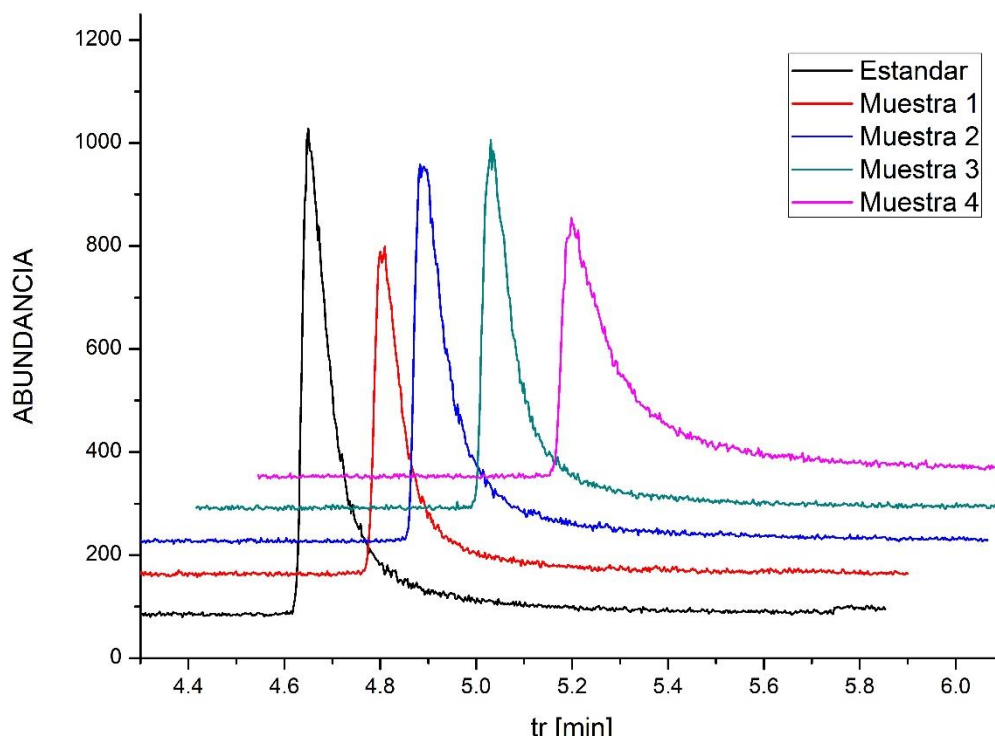


Figura 45. Cromatogramas obtenidos para el estándar Acenafteno d-10, el estándar  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  en comparación con las 4 matrices ocupadas de las muestras de lodos de agua residual y sedimentos.

En todos los casos se pudo ver un ligero abatimiento de la respuesta cromatográfica debido a un efecto matriz, en esta determinación cuantitativa de los analitos, Metil, etil y propil parabeno se debe realizar una corrección a las señales obtenidas en las matrices mediante un factor de corrección para cada matriz, en la tabla 30 se muestran los factores de corrección obtenidos para cada matriz.

Tabla 30. Factores de corrección obtenidos asociados a las 4 matrices de las muestras de lodos y sedimentos a utilizar.

No. Muestra	Factor de corrección
1	0.702
2	0.920
3	0.975
4	0.808

$$\text{Respuesta cromatografica corregida} = \frac{\text{Respuesta cromatografica}}{\text{Factor de corrección}}$$

## 5.2 Resultados

Empleando la metodología desarrollada se analizaron 5 muestras provenientes de una planta de lodo de tratamiento en la Ciudad de México y sedimentos obtenidos en ríos y canales de Tula, Hidalgo.

La preparación de la muestra esta descrita en el apartado 4.8, de igual manera se pesaron aproximadamente 0.5 g de cada muestra de sedimento para su extracción en el ASE.

La extracción de las muestras se realizó por cuadruplicado (n=4) y la determinación cromatográfica que realizo por triplicado para cada muestra. Los resultados, las características y la incertidumbre asociada a estas mediciones se encuentra en la tabla 31.

Tabla 31. Características y concentración de Metil, etil y propil parabeno de las muestras de lodo y sedimentos utilizadas.

No. Muestra	pH	DQO [mg · L <sup>-1</sup> ]	Muestreo	Metil parabeno [mg·L <sup>-1</sup> ] k=2	Etil parabeno [mg·L <sup>-1</sup> ] k=2	Propil parabeno [mg·L <sup>-1</sup> ] k=2
1	7.07	858.6	Muestra recolectada de la planta de tratamiento Cerro de la estrella CDMX. 07.07.18	25.7 ± 1.0	25.7 ± 1.0	33.3 ± 1.2
2	7.04	94.3	Muestra tomada de un canal de riego. Tula Hidalgo 06.12.18	9.7 ± 0.4	6.8 ± 0.3	3.5 ± 0.2
3	6.94	86.3	Muestra tomada de un canal de riego. Tula, Hidalgo 06.12.18	9.6 ± 0.4	2.6 ± 0.1	11.9 ± 0.5
4	5.97	123.4	Muestra tomada de Rio urbano. Tula, Hidalgo 06.12.18	23.7 ± 0.9	20.6 ± 0.8	27.2 ± 1.0

\*n=4 para cada muestra

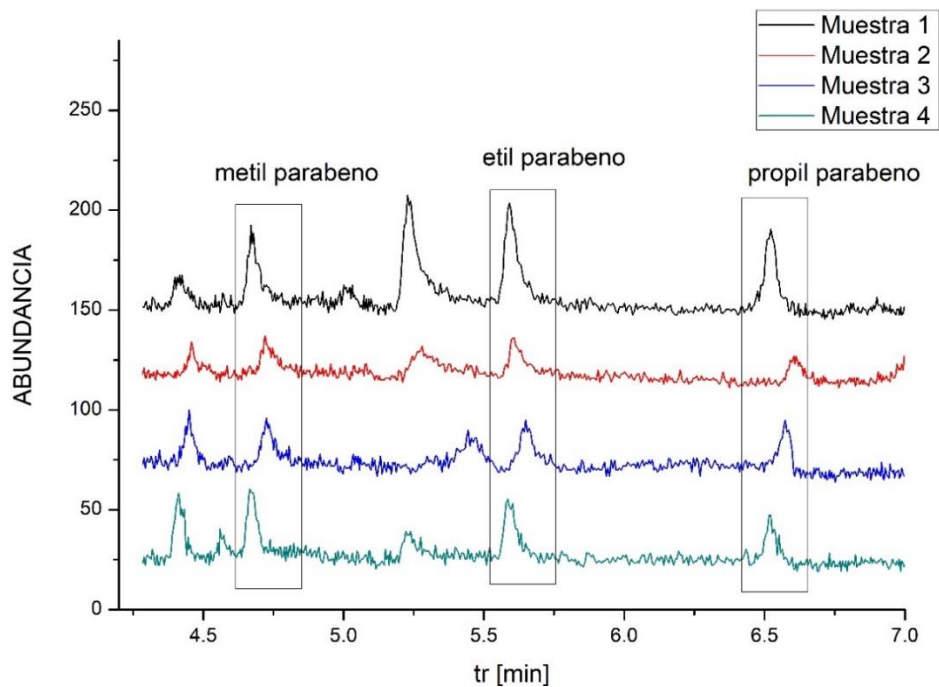


Figura. 45. Cromatogramas obtenidos para la determinación de metil, etil y propil parabeno en las matrices de lodos y sedimentos utilizadas sin fortificar.

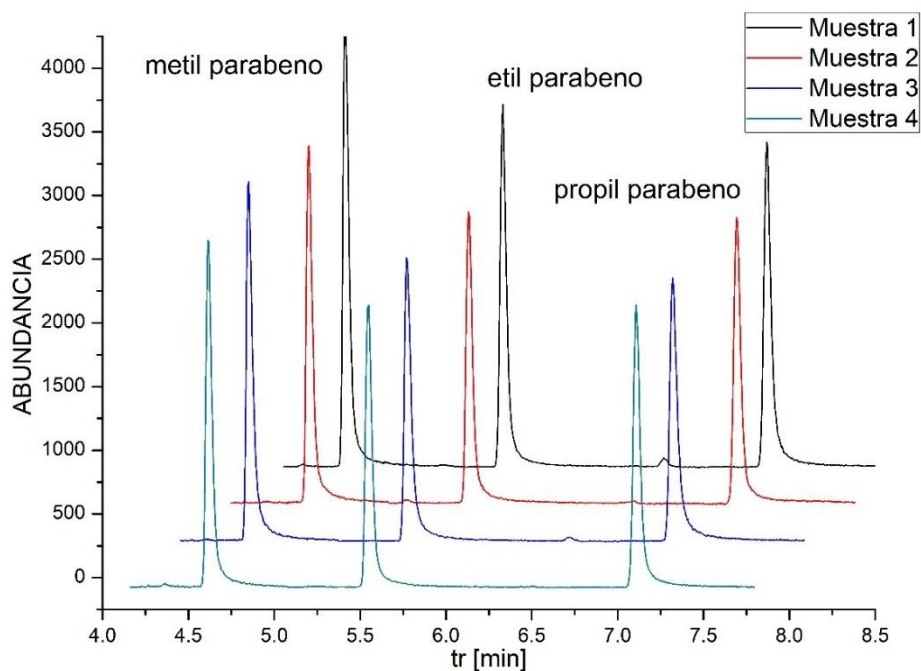


Figura. 46. Cromatogramas obtenidos para la determinación metil, etil y propil parabeno en las matrices de lodos y sedimentos utilizadas, muestras fortificadas a  $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$



## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La comparación de los resultados obtenidos para las muestras de distintos sedimentos en comparación con los reportados en la literatura se muestra en la tabla 32:

Tabla 32. Concentraciones de metil, etil y propil parabenos reportadas para sedimentos de ríos y cuerpos de agua, concentraciones de metil, etil y propil parabeno encontradas en lodos de agua residual (ver Tabla 6) en comparación con las concentraciones de los analitos encontradas en este estudio.

Lugar	Tipo de sólido	Determinación	Concentración (ng/g)			Referencia
			Metil Parabeno	Etil Parabeno	Propil Parabeno	
Madrid, España	Suelos forestales	LC - MS/MS	0.91 - 1.16	0.59 - 0.85	1.3 - 1.47	[Núñez L, 2008]
	Suelos de agricultura		0.63 - 1.34	0.63 - 1.17	0.08 - 0.22	
	Sedimentos		0.84 - 6.35	0.10 - 5.10	0.09 - 0.19	
Salamanca, España	Sedimento de río	GC - MS	0.31 - 0.40	-	0.32 - 2.27	[Casas A, 2011]
Beijín, China	Sedimentos río Yellow	LC - MS/MS	7.07 - 27.6	0.61 - 2.43	2.52 - 6.91	[Jinglan,2019]
	Sedimentos río Huai		50.3 - 179	6.97 - 18.8	1.02 - 2.14	
República de Corea	Sedimentos de costas	HPLC - MS/MS	0.13 - 11.2	< LOQ - 0.08	< LOQ - 0.10	[Jae-Won, 2019]
Estados Unidos, Corea del Sur, Japón	Sedimento USA	ESI - MS/MS	0.312 - 45.5	n.d - 0.459	n.d - 3.52	[ Chunyang L, 2013]
	Sedimento Japón		2.59 - 17.8	n.d - 0.132	n.d - 2.84	
	Sedimento Corea		2.43 - 16.8	0.315 - 2,67	0.097 - 64.5	
Barcelona, España	Sedimentos de río	LC - MS	n.d - 142	n.d - 49	n.d - 26	[Gorga M, 2015]
Quebec, Canadá	Lodo no tratado	LC - MS/MS	72 - 91	< 6.4	< 2.8 - 8	[Viglino L. 2011]
Beijing, China	Lodo no tratado	LC - MS/MS	274 - 517	1.14 - 6.80	13.0 - 29.9	[Wenhui L, 2015]
Xiamen, China	Lodo no tratado	LC - MS/MS	8.2 - 48.1	-	< 0.1 - 6.0	[Sun Q,2016]

Corea del Sur	Lodo no tratado	HPLC - MS/MS	4.31 - 540	< 0.1 - 2.12	< 0.05 - 32.5	[Chunyang L, 2013]
Madrid, España	Lodo no tratado	GC - MS	5.1 - 26.2	< 1.1	5.6 - 44.1	[Albero B. 2012]
Albania, E.U. A	Lodo no tratado	LC - MS/MS	24.3 - 87.4	1.6 - 12	0.36 - 4.64	[Wang L, 2016]
Estados Unidos	Tratado (CLASE A y B)	LC - MS/MS	15.9 - 204.0	< 0.6 - 2.6	0.5 - 7.7	[Chen J, 2017]
Granada, España	Composta de lodo residual	LC - MS/MS	0.6 - 12.4	0.9 - 15.4	0.6 - 14.3	[Camino F, 2016]
CDMX, México	Lodo planta de tratamiento (M1)	GC - MS	23.5 - 28.3	23.1 - 28.7	29.6 - 36.8	<b>Este estudio</b>
Hidalgo, México	Sedimentos canal de riego (M2)		8.1 - 10.9	5.2 - 7.9	1.7 - 5.2	
	Sedimentos canal de riego (M3)		8.7 - 11.0	1.2 - 4.9	9.3 - 14.7	
	Sedimentos río urbano (M4)		22.1 - 25.8	19.2 - 21.7	25.7 - 28.8	

La bioacumulación y biodisponibilidad de los parabenos en matrices solidas como lo son los lodos provenientes del tratamiento de agua residual y los sedimentos de ríos urbanos y canales de riego tienen que ver con tres factores importantes: la solubilidad en medio acuoso, el coeficiente de octanol-agua ( $K_{ow}$ ), y el coeficiente de adsorción de carbono orgánico.

El pH en estas muestras no juega un papel importante debido a que en todos los casos el pH de las muestras de lodo se encuentra por debajo del valor de pKa de los analitos, lo cual nos dice que metil, etil y propil parabeno no se encontraban en una forma ionizada en el medio acuoso.

La solubilidad de los analitos en el medio acuoso nos habla de la capacidad de un analito de disolverse en agua, los contaminantes orgánicos que son muy solubles

en agua se adsorben con baja afinidad a los suelos, quedando en la matriz acuosa. Un analito que posea un valor bajo de solubilidad tiene una afinidad más alta a suelos y sedimentos, debido a que estos pueden sedimentarse en la base de los acuíferos y posteriormente ser adsorbidos por la matriz.

Se puede observar que para los tres parabenos el valor de la solubilidad a 25°C es baja por lo cual se puede inferir que estos tienen una mayor afinidad a suelos que a la matriz acuosa.

De igual manera se puede observar que al aumentar la cadena de los alquil parabenos la solubilidad disminuye de manera que el valor más bajo de solubilidad corresponde a propil parabeno con un valor de  $0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  el cual también corresponde al analito con una mayor concentración encontrada en los lodos residuales y en los sedimentos analizados (a excepción de la muestra 2).

Otro parámetro importante es el  $k_{ow}$  el cual nos habla de la manera en la cual la forma no ionizada de un analito puede distribuirse (la razón entre las concentraciones) entre dos disoluciones inmiscibles, disolventes no polares y disolventes polares proticos, generalmente octanol y agua respectivamente. El coeficiente de reparto octanol-agua nos habla también de que tana fin puede llegar a ser un compuesto a matrices orgánicas como los sedimentos.

Valores altos de logaritmo de  $k_{ow}$  (mayor o igual a 5 ) nos hablan de que los compuestos son afines a la “fase” orgánica de la disolución más que a la fase acuosa, es decir que estos tienen un alto carácter hidrofóbicos y son más afines a matrices orgánicas que a matrices acuosas, y valores bajos del logaritmo de  $k_{ow}$  (menores o iguales a 1 ) nos hablan que estos compuestos tienen un alto carácter hidrofílico y son afines a matrices acuosas más que a matrices orgánicas.

Tomando en cuenta que, dentro de los ríos, canales de riego y plantas de tratamiento de agua residual, los sedimentos (matrices solidas) están en un constante contacto con la matriz acuosa el cual posee el contaminante disuelto, este

puede distribuirse en la fase acuosa, donde esta disuelto y en una fase particulada (coloidal) producida entre los sedimentos y el medio acuoso, en función a las interacciones físicas y químicas.

Teniendo en cuenta que los valores del logaritmo  $k_{ow}$  son de: 1.96, 2.47 y 3.04 respectivamente, nos habla de que los parabenos aumentan su afinidad por matrices orgánicas al aumentar su cadena ramificada, por lo cual estos analitos al ir creciendo en la cadena tendrán una mayor afinidad por la fase particulada que por la fase acuosa.

Se puede observar en la tabla anterior, que la concentración de analito más alta para las muestras (a excepción de la muestra 2) fue para propil parabeno lo cual tiene una relación directa en que este analito tenga coeficiente de octanol-agua más alto.

Se debe tomar en cuenta que los sólidos y sedimentos se dan por degradación de la materia orgánica así como de material detrítico de plantas, animales o sus productos de degradación , lipoproteínas , aminoácidos, lípidos y sustancias húmicas se puede inferir que los contaminantes orgánicos , en este caso los parabenos de igual manera entran en contacto con las matrices sólidas por procesos de adsorción (formación de interacciones electroestáticas o uniones específicas) con los componentes de la matriz sólida y los sitios activos que esta posee o dentro de la fase particulada, por lo tanto la concentración y distribución de los analitos en estas fases está en relación con el contenido de carbono orgánico total.

Un parámetro que nos brinda información de la afinidad de los analitos con base en la cantidad de carbono orgánico total en los sedimentos es el coeficiente de adsorción de carbono orgánico, el cual nos habla de la tendencia de un compuesto orgánico a ser adsorbido (retenido) por suelos y sedimentos. Este coeficiente es

único para cada tipo de suelos y para cada analito, y este se basa en los coeficientes de distribución de los analitos y el % de COT.

Por lo anterior se puede inferir que un contaminante orgánico, como los parabenos tendrá una mayor afinidad a los suelos y sedimentos mientras más alto sea el % COT, o la Demanda Química de oxígeno, debido a que esta última mide la cantidad de sustancias susceptibles a ser oxidadas, principalmente materia orgánica, al igual que el carbono orgánico total.

Lo cual explica que en la muestra 1 y la muestra 4, las cuales poseen una mayor concentración de DQO, sean a su vez las muestras que mayor cantidad de metil etil y propil parabeno posean.

En comparación con los resultados obtenidos en la literatura se puede observar que para el análisis de las muestras utilizadas en este estudio el rango de concentraciones obtenidas es más corto que los reportados previamente en la literatura. Sin embargo, esto puede deberse a que de cada muestra se tomó de un solo punto de muestreo y con esa muestra se realizaron las determinaciones de los analitos de interés ( $n > 3$ ), en comparación con otros estudios que su rango de concentraciones es más amplio [Jinglan, 2019] en donde los puntos de muestreo para un mismo cuerpo de agua (rio) eran distintos.

Comparando las concentraciones obtenidas de los analitos obtenidas en sedimentos de rio urbanos y canales de riego (M4, M3, M2) en comparación con las reportadas en la literatura para los sedimentos de ríos, costas y sedimentos varios, se puede observar que las concentraciones de metil parabeno son más elevadas de las reportadas, o están dentro del intervalo descrito con excepción a la de sedimentos de rio Huai [Jinglan, 2019].

Para el caso de etil parabeno, al igual que en las concentraciones reportadas en la literatura, de los tres analitos estudiados, este posee las concentraciones encontradas más bajas, sin embargo, en las muestras de interés la concentración esta elevada de lo reportado experimentalmente.

Al igual que en el caso anterior, las concentraciones obtenidas para propil parabeno están por encima de las reportadas en la literatura, con la diferencia que, en la literatura la concentración más elevada de parabenos encontrada corresponde en la mayoría de los casos a metil parabeno y en este estudio se encontró que la mayor concentración de parabeno corresponde a propil parabeno.

En estas tres muestras de sedimentos (canales de riego y río urbano) podemos ver que la concentración más alta de los tres analitos corresponde a la muestra proveniente del río urbano esto se podría explicar debido a que, las aguas que circulan en este río son provenientes del desagüe municipal, lo que indica que la muestra de sedimento está en constante contacto con el flujo de agua que contiene parabenos en diversos productos, principalmente productos del cuidado personal, a diferencia de las muestras de sedimentos analizadas que poseen concentraciones muy similares, los cuales pueden ser alimentados con aguas tratadas o algún otro cuerpo de agua donde la concentración de estos analitos debería ser menor o nula.

Comparando las concentraciones obtenidas para metil, etil y propil parabeno en la muestra de lodo residual proveniente del cerro de la estrella (M1) se puede observar que la concentración obtenida para los 3 analitos posee un rango de concentraciones más pequeño que los reportados en la literatura ( $n > 3$ ).

Para el caso de metil parabeno, se puede observar que el rango de concentraciones obtenido es similar a los reportados en la literatura, con excepción del lodo residual utilizado en composta [Camino, F, 2016].

Para etil parabeno se puede observar que el rango de concentraciones obtenido es superior a los reportados experimentalmente en todos los casos, sin embargo, al igual que para la concentración de parabenos en sedimentos, se puede observar que sigue la tendencia de tener el menor rango de concentración entre los tres analitos estudiados.

Para el caso de propil parabeno se puede apreciar que el rango de concentraciones obtenido, al igual que el caso anterior se encuentra por encima de los reportados en la literatura con excepción de [Albero B, 2012] y [Wenhui L, 2015]. Al igual que para las muestras de sedimentos se pudo ver que el rango de concentraciones más alto fue para propil parabeno a diferencia de lo reportado en la literatura.

En esta muestra de lodo de agua residual se puede ver una similitud más clara de los valores de concentraciones obtenidos con los reportados en la literatura, esto puede deberse a que, la muestra al ser recogida de una planta de tratamiento de aguas residuales la cual lleva un proceso de estabilización el cual puede ser similar al utilizado en otras plantas de tratamiento. La diferencia de concentraciones entre los valores obtenidos y los de la literatura puede deberse enteramente a los contaminantes que se encuentran en las aguas residuales tratadas, así como puede ser atribuida a los procesos de estabilización y preparación de la muestra a la que fue sometida el lodo residual, la cual va cambiando en cada estudio.

## 7. CONCLUSIONES

Se desarrolló e implementó un método analítico mediante la Extracción Acelerada con Disolventes seguido de un análisis cromatográfico (Cromatografía de gases acoplada a detector de masas) para la determinación de metil, etil y propil parabeno.

Se realizó la optimización y la caracterización de la metodología para la extracción de metil, etil y propil parabeno mediante la Extracción Acelerada con Disolventes en la etapa de Lavado y Extracción en muestras de lodos de aguas residuales y sedimentos para su posterior análisis cromatográfico.

Se realizó la optimización de las condiciones de derivatización de metil, etil y propil parabeno para su posterior determinación cromatográfica, disminuyendo el tiempo de derivatización, así como el volumen de derivatizante reportados en la literatura.

Se realizó la optimización y caracterización de la rampa de temperatura y los parámetros cromatográficos utilizados para la determinación de metil, etil y propil parabeno en un intervalo de 0.2-1.6 mg·L<sup>-1</sup>. Logrando disminuir el tiempo de análisis a: 10.95 min de los reportados previamente para la determinación de estos analitos sin comprometer la sensibilidad de la metodología o la respuesta cromatográfica.

De manera general se logró disminuir la cantidad de reactivos y disolventes utilizados para la determinación de los analitos en cuestión, disminuyendo por lo tanto la cantidad de residuos generados.

El método cromatográfico presentó coeficientes de variación < 10 % en repetibilidad y reproducibilidad, así como un intervalo lineal con un  $R^2 > 0.99$ , LOD de 0.05 mg·L<sup>-1</sup>, 0.03 mg·L<sup>-1</sup> y 0.06 mg·L<sup>-1</sup> y un LOQ de 0.07 mg·L<sup>-1</sup>, 0.02 mg·L<sup>-1</sup> y 0.08 mg·L<sup>-1</sup> para los analitos: metil, etil y propil parabeno respectivamente, por lo cual puede



utilizarse para la determinación cromatográfica de metil etil y propil parabeno en muestras.

La metodología general, es decir la determinación cromatográfica simultanea de metil etil y propil parabeno incluyendo la preparación de la muestra en las matrices solidas mediante ASE presentó coeficientes de variación < 10 % sin embargo la metodología propuesta presentó valores de recobro de: 83.5 %, 71.7 % y 63.5 % para metil, etil y propil parabeno respectivamente.

Para el caso de metil parabeno el recobro obtenido cae dentro del intervalo de (80 – 120 %) el cual es el intervalo aceptable de recobro en una metodología analítica, por lo tanto, se puede decir que la metodología propuesta es confiable para la determinación de metil parabeno.

Por otro lado, los valores de recobro obtenidos para etil y propil parabeno están por debajo del intervalo aceptable por lo cual se propone la mejora y optimización de la metodología propuesta para lograr la determinación simultanea de los 3 parabenos analizados en este trabajo.

Se aplico la metodología propuesta a muestras de lodo de agua residual, así como muestras de sedimentos obtenidas de canales de riego y canales urbanos de la ciudad de Tula Hidalgo. Obteniendo las concentraciones más altas para la muestra de lodo de agua residual de la planta de tratamiento del Cerro de la estrella y para la muestra tomada de un rio urbano en Tula, Hidalgo.

Se pudieron observar en la mayoría de los casos que, los valores obtenidos para la concentración de estos analitos en las muestras utilizadas estaban por encima del rango de concentraciones reportadas en la literatura, así como un aumento significativo de la concentración de etil parabeno encontrada en las muestras a diferencia de las reportadas en la literatura. Concluyendo así que, al tener una alta cantidad de parabenos en sedimentos de ríos urbanos, canales y lodos de plantas

de tratamiento, destinados a usos diversos, se tiene una biodisponibilidad significativa de estos analitos.

De igual manera, que haya una alta concentración de los analitos en los lodos de agua residual y en los sedimentos obtenidos para el río urbano principalmente, nos indica que también hay altas concentraciones de estos analitos en las aguas que circulan por el río y las aguas residuales utilizadas para riego de cultivos en algunos casos, aumentando la biodisponibilidad de los analitos.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental. - Lodos y biosólidos. -Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Tomado de: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ecol/semarnat004.pdf> Consultado el 18/ febrero/2019
2. Celio S. (2015) Propuesta de tratamiento de lodos generados en la planta de tratamiento de aguas residuales “cerro de la estrella”. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
3. EPA (1999) Biosolids generation use and disposal in the United States Environmental Protection Agency, Estados Unidos, pp 9.
4. Bartłomiej M, Jacek N, Piotr K; (2014). Review of sewage sludge management: standards, regulations and analytical methods. Journal of cleaner production. Vol. 90 pp 1-15.
5. Abdul R, Vineet S, He J, Dastyar W, Dionysiou D, Wang W, Zhao M; (2018) Opportunities and challenges in sustainable treatment and resource reuse of sewage sludge: A review. Chemical Engineering Journal. Vol 337, pp 6161-641.
6. Limón J. (2013). Los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales ¿Problema o Recurso? Especialidad. Guadalajara Jalisco.

7. Bello J, Contreras C, Rodriguez J. (2016) Planta de tratamiento de aguas residuales Atotonilco México. Zofnass program for sustainable infrastructure. Graduate School of Design. Harvard University. Tomado de : [https://research.gsd.harvard.edu/zofnass/files/2016/08/05\\_Atotonilco\\_SP\\_FinalDocument.pdf](https://research.gsd.harvard.edu/zofnass/files/2016/08/05_Atotonilco_SP_FinalDocument.pdf) Consultado el: 18/octubre/2019
8. SEMARNAT, Planta de aguas de tratamiento de aguas residuales Atotonilco. Tomado de: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/SGAPDS-19-11.pdf> Consultado el: 18/octubre/2019
9. Chen H, Yan S, Ye Z, Meng H, Zhu Y; (2011) Utilization of urban sewage sludge: Chinese perspectives. Environmental Science and Pollution Research. Vol 19. pp 1454–1463.
10. Hall J, Hudson J (2000) Sludge management in developing countries. European biosolids and organic residuals conference Proceedings on the Joint CIWEM Aqua Enviro Consultancy Services UK Seminar. 1 Paper 3.
11. Valkova N, Lépine F, Valeanu L, Dupont M, Labrie L, Bisailon J, Braudet R, Shareck F, Villemur R; (2001) Hydrolysis of 4-hydroxybenzoic acid esters (parabens) and their aerobic transformation into phenol by the resistant Enterobacter cloacae strain EM. Applied and environmental microbiology. Vol. h67 (6) pp. 2404-09.
12. Becerra-Herrera M, Miranda V, Arismendi D, Richter P ;(2018) Chemometric optimization of the extraction and derivatization of parabens for their determination in water samples by rotating-disk sorptive extraction and gas chromatography mass spectrometry. Talanta. Vol. 176. pp 551-557.

13. Dabre P, Aljarrah A, Miller R, Coldhan N, Sauer M, Pope G ;(2004) Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours. *Journal of applied toxicology* Vol. 24. pp 5-13.
14. Borremans M, Van Loco J, Roos P, Goeyens L; (2004) Validation of HPLC analysis of 2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol, methyl, ethyl, propyl, butyl and benzyl 4-hydroxybenzoate (parabens) in cosmetic products with emphasis on decision limit and detection capability. *Chromatographia*. Vol.59 pp 47-53
15. Sanchez M.; Souza S, Schenider A, Sanches S, Primel G; (2018) Trace analysis of parabens preservatives in drinking water treatment sludge, treated, and mineral water samples. *Environmental science and pollution*. pp. 14460-14470
16. Márquez-Sillero I, Aguilera-Herrador E, Cardenas S, Valcárcel M;(2010) Determination of parabens in cosmetic products using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent and corona-charged aerosol detection system. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1217 pp 1-6
17. Soni M, Budrok GA, Taylor S, Greenberg N; (2001) Safety assessment of propyl paraben a review of the published literature. *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 39 pp 513-5132
18. Canosa M (2008) Desarrollo de metodología analítica para determinación de triclosán y parabenos. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales. Memoria para optar el grado de doctora en Química. Universidad de Santiago Compostela

19. Harvey P, Dabre P. (2004) Endocrine disrupters and human health: could estrogenic chemicals in body care cosmetics adversely affect breast cancer incidence in women?. *Journal of Applied Toxicology*. Vol 24. Pp 167-176
20. Golden R, Gandy J, Vollmer G; (2005) A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Critical Reviews in toxicology*. Vol. 35. pp 435-458
21. Núñez L, Tadeo JL, García-Valcarcél A, Turiel E; (2008) Determination of parabens in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol.1214 pp 178-182
22. Wentworth AB, Yiannias JA, Keeling JH, Hall MR , Camilleri MJ , Drage LA, Torgerson RR, Fett DD , Prakash AV, Sacif LA , Allen EM , Johnson JS, Singh N, Nordberg D , Killian J , Davis M; (2014) Trends in patch-test results and allergen changes in the standard series: a Mayo Clinic 5-year retrospective review (January 1, 2006, to December 31, 2010). *Journal of the American Academy of Dermatology*. Pp 269–275
23. Fernandes C, Sousa I, Costa M; (2018) Recent development of chromatographic methods to determinate parabens in breast milk samples: A review. *Journal of chromatography B*. Vol. 1093-1094, pp 82-90
24. Sandanger T, Huber S, Moe M, Braathen T, Leknes H, Lund E; (2011). Plasma concentration of parabens in postmenopausal women and self-reported use of personal care products: the NOWAC postgenome study. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. Vol. 6, pp 595-600

25. Vo T, Yoo Y, Choi K, Jeung E; (2010) Potential estrogenic effects of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reproductive Toxicology*. Vol. 29, pp 306-316
26. Barr L, Metaxas G, Harbach C (2012) Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial location accorss the breast from axilla to sternum. *Journal of Applied Toxicology*. Vol 32 Issue 3.
27. Aljarrah A, Miller W, Coldham N, Saier M, Pope G (2005) Concentration of Parabens in human breast tumors. *Journal of Applied Toxicology*. 24 pp 5-13.
28. Boberg J, Taxvig C, Christiansen S, Hass U (2010) Posible endocrime disrupting effects of parabens and their metabolites. *Reproductive Toxicology*. Vol. 20(2) pp 301-312.
29. Fransaway M, Anthony F, Paulina J, Fransway B, Donald V, Warshaw M, Sasseville D, Fowler J, DeKoven J, Pratt M; (2019) Parabens. Contact non-allergen of the year. *American Contact Dermatitis Society. Dermatitis* Vol. 30 no. 1
30. Nowak K, Ratajczak-Wrona W, Górská M, Jablonska E; (2018) Parabens and their effects on the endocrine system. *Molecular and cellular endocrinology* Vol. 474 pp 238-251
31. Canosa P, Rodriguez I, Rubí E, Bollaín M, Cela R; (2006) Optimisation of a solid-phase microextraction method for the determination of parabens in water samples at the low ng per litre level. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1124. Pp 3-10
32. Lee HB, Peart T, Svoboda M; (2005) Determination of endocrine-disrupting phenol, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by

solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatography A* Vol. 1094, pp 122

33. Viglino L, Prevost M, Sauve S (2011) High throughput analysis of solid-bound endocrine disruptors by LDTD-APCI-MS/MS. *Journal of Environmental Monitoring*. Vol. 13 pp 583-590
34. Yu Y, Huang Q, Cui J, Zhang K, Tang C, Peng X; (2011) Determination of pharmaceuticals, steroid hormones and endocrine-disrupting personal care products in sewage sludge by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol 399 pp 891-902
35. Wenhui L, Yali S, Lihong G, Jiemin L, Yaqi C; (2015) Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant. *Journal of Hazardous Materials*. Vol 300 pp 29-38
36. Sun Q, Li M, Ma C, Chen X, Xie X, Yu C; (2016) Seasonal and spatial variations of PPCP occurrence, removal and mass loading in three wastewater treatment plants located in different urbanization areas in Xiamen, China. *Environmental Pollution*. Vol 208 pp371-381
37. Chunyang L, Sunggyu L, Hyo-Bang M, Nobuyoshi Y, Kurunthachalam K; (2013) Parabens in sediment and sewage sludge from the United States, Japan and Korea: spatial distribution and temporal trends. *Environmental Science & Technology*. Vol. 47 pp 10895-10902
38. Nieto A, Borrull F, Marce R, Pocurull E; (2009) Determination of personal care products in sewage sludge by pressurized liquid extraction and Ultra-High-



Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol 1216 pp.5619-5625

39. Albero B, Perez R, Sanchez-Brunete C Tadeo J; (2012) Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). *Journal of Hazardous Materials*. Vol 239-240 pp 48-55
40. Wang L, Liao C, Liu F, Wu Q, Guo Y, Moon H, Nakata H, Kannan K; (2012) Occurrence and human exposure of p-hydroxybenzoic acid esters (parabens) , bisphenol A , diglycidyl ether (BADGE) and their hydrolysis products indoor dust from the United States and three East Asian countries. *Environmental Science & Technology*. Vol.46 pp 11548-11593
41. Chen J, Pycke B, Brownawell B, Kinney C, Furlong E, Koplín S, Halden R; (2017) Occurrence, temporal variation, and estrogenic burden of five parabens in sludge collected across the United States. *Science of the Total Environment* pp. 368-374
42. Muñoz J. (2015) Eliminación de contaminantes parabenos en agua mediante procesos físicos, químicos y electroquímicos. Tesis doctoral. Dto de ingeniería química y química física de la universidad de Extremadura.
43. López R, Marín D, Irusta R, Garcia P, Lebero R, Fernandez M, Muñoz R (2018) Multiresidue analytical method for pharmaceuticals and personal care products in sewage and sewage sludge by online direct immersion SPE on-fiber derivatization- GCMS. *Talanta*. Vol. 186 pp. 506-512
44. Gorga M, Insa S, Petrovic M, Barceló D. (2014) Analysis of endocrine disruptors and related compounds in sediments and sewage sludge using on-

line turbulent flow chromatography-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1352 pp 29-37

45. Casas A, Möder M, Fernández M.E (2011) Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl triclosan from soil sediment and sludge with in situ derivatization and determination by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol 1218 pp 3837-3877
46. Camino-Sánchez F, Zafra A, Dorival N, Juarez B, Vílchez J (2016) Determination of selected parabens, benzophenones, triclosan and triclocarban in agricultural solids after and before treatment with compost from sewage sludge: A lixiviation study. *Talanta*. Vol. 150 pp 415-424.
47. Núñez Laura (2010) Nuevas metodologías para la determinación de nonilfenol, sus derivados etoxilados y parabenos en muestras medioambientales. Memoria para optar al grado de doctor. Universidad Complutense de Madrid. Madrid España.
48. Sabourin L, Duenk P, Bonte S, Payne M, Lapen D, Topp E (2012) Uptake of pharmaceuticals, hormones and parabens into grown soil fertilized with municipal biosolids. *Science of the Total Environment*. Vol. 431 pp. 233-236
49. Margenat A, Matamoros V, Díez S, Cañameras N, Comas J, Bayona J (2018) Occurrence and bioaccumulation of chemical contaminants in lettuce grown in peri-urban horticulture. *Science of the Total Environment*. Vol. 637-638 pp 1166-1174.
50. Aparicio I, Martín J, Abril C, Santos J, Alonso E (2018) Determination of household and industrial chemicals, personal care products and hormones in leafy and root vegetables by liquid chromatography-tandem mass

- spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1533 pp 49-56.
51. Margenat A, Matamoros V, Díez S, Cañameras N, Comas J, Bayona J (2019) Occurrence and human health implications of chemical contaminants in vegetables grown in peri-urban agriculture. *Environmental International*. Vol. 124 pp. 49-57
52. Song S, Zhang Z, Zou N, Chen R, Han L, Pan C, Sapozhnikova Y (2017) Determination of six parabens residues in fresh-cut vegetables using QuEChERS with multi-walled carbon nanotubes and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Analytical Methods* Vol. 10 pp 3972-3979
53. Yatin V, Ponnien K, Lite C, Barathi S, Santosh W (2017). Developmental toxicity and induction of vitellongenin in embryo-larval stages of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to methyl paraben. *Ecotoxicology and Environmental Safety* Vol. 141 pp 113-118.
54. Silva D, Serrano L, Olivera T, Mansano A, Almeida E, Viera E (2018). Effects of parabens on antioxidant system and oxidative damages in *Niletilapia* (*Oreochromis niloticus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 162 pp.85-91.
55. Feng J, Zhao J, Xi N, Guo W, Sun J (2019) Parabens and their metabolite in surface water and sediment from the Yellow River and the Huai River in Henan Province: Spatial distribution, seasonal variation and risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* Vol.172 pp 480-487.
56. Rajendran B, Shanmugam G, Velu G, Regarajan B, Joakim D (2011) GC - MS analysis and ecotoxicological risk assessment of triclosan,

carbamazepine and parabens in Indian rivers. *Journal of Hazardous Materials*. Vol.186 pp. 1586-1593.

57. Renz L, Volz C, Michanowicz D, Ferrar K, Christian C, Lenzner D, El-Hefnawy T (2013) A study of parabens and bisphenol A in surface water and fish brain tissue from the Greater Pittsburgh area. *Ecotoxicology*. Vol. 22 pp.632-641.
58. Mikula P, Kružíková K, Dobsíková R, Harustiaková D, Svodová Z (2009) Influence of propylparaben on vitellongenesis and sex ratio in juvenile Zebrafish (*Danio rerio*). *Acta Veterinaria*. BRNO. Vol.78 pp 319-326.
59. Song C, Lin J, Huang X, Wu Y, Lui J, Wu C (2016) Effect of butyl paraben on the development and microbial composition of periphyton. *Ecotoxicology*. Vol 25 pp.342-349.
60. Juliano C, Magrini A (2017) Cosmetic ingredients as emerging pollutants of environmental and health concern. A mini-review. *Cosmetics*. Vol. 4 Iss 2 pp 11-29.
61. Dobbins L, Usenko S, Breain R, Brooks B (2009) Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia Magna* and *Pimephales Promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 28 No.12 pp 2744-2753.
62. Kim J , Ramasamy B, Chang K, Isobe T, Tanabe S (2011) Multiresidue analytical method for the determination of antimicrobials, preservatives, benzotriazole UV stabilizers, flame retardants and plasticizers in fish using ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol 1218 pp 3511-3520.

63. Ramaswamy B, Kim J, Isobe T, Chang K, Amano A, Miller T, Siringan E, Tanabe S (2011) Determination of preservative and antimicrobial compounds in fish from Manila Bay, Philippines using ultra High-Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry, and assessment of human dietary exposure. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 192 pp1739-1745.
64. Xue J, Kannan K (2016) Accumulation profiles of parabens and their metabolites in fish, black bear and birds, including bald eagles and albatrosses. *Environmental International*. Vol. 94 pp. 546-553.
65. Xue J, Sasaki N, Elangovan M, Diamond G, Kannan K (2015) Elevated accumulation of parabens and their metabolites in marine mammals from the United States coastal waters. *Environmental Science Technology*. Vol.49 pp 12071-12079.
66. ASE 300 Accelerated solvent extractor operator's manual. (2000) DIONEX. Tomado de :  
<http://unitylabservices.org/content/dam/tfs/ATG/CMD/CMD%20Documents/Product%20Manuals%20&%20Specifications/Chromatography/Liquid%20Chromatography/Liquid%20Chromatography%20Modules/Detectors/57731-31672-01.pdf>. Consultado el 19/febrero/2019
67. Mottaleb MA, Sarker SD (2012) Accelerated solvent extraction for natural products Isolation. *Methods in Molecular Biology*. Clifton, N.J. Vol 864 pp 75-87
68. Richter B, Jones B, Ezzel J, Porter N; (1996) Accelerated Solvent Extraction : A technique for sample preparation . *Analytical Chemistry*. Vol 68 (6) pp 1033-1039

69. Mol H, Sunarto S, Steijger O (2000) Determination of endocrine disruptors in water after derivatization with N-methyl-N-(tert butyldimethyltrifluoroacetamide) using gas chromatography with mass spectrometric detection. Journal of Chromatography A. Vol. 879 pp 97-112
70. Pindado O, Pérez R, García S (2006) Desarrollo de metodologías para la determinación de componentes orgánicos del aerosol atmosférico. Informes técnicos Ciemat, tomado de:  
[www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/ Public/38/030/38030361.pdf](http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/Public/38/030/38030361.pdf)  
df Consultado el 08/febrero/2019
71. Botero Coy, A. M. (2016). Aplicaciones de LC - MS/MS en la determinación de residuos de plaguicidas y drogas de abuso en muestras de Latinoamérica. Énfasis en la problemática analítica del glifosato. Universidad Jaume.
72. Lenehan CE. Chromatography: Basic Principles. Encyclopedia of forensic sciences. Australia: Elsevier. Vol. 2013 pp 573-578
73. Dettmer-Wilde K, Engewald W (2014). Practical gas chromatography. A comprehensive reference. Ed. Springer. Holanda
74. McNair H, Miller J. (1998) Basic gas chromatography. Ed. John Wiley & Sons Inc. EUA
75. Hefmann E (2004). Chromatography: Fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods. Ed. Elsevier sexta edición. Holanda
76. Museo nacional de ciencias naturales. Investigación: Cromatografía de gases. Tomado de :

[http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf) Consultado el 10/febrero/2019

77. Rubio N (2018) Análisis de esteroides en agua residual mediante extracción en fase sólida (SPE) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC - MS). Tesis grado licenciatura. UNAM
78. Olguín L, Rodríguez H. (2004) Cromatografía de gases. Métodos en Biotecnología. Instituto de Biotecnología. UNAM. Tomado de: [http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf) consultado el 10/febrero/2019
79. Museo nacional de ciencias naturales. Investigación: Espectrometría de masas. Tomado de [:http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria\\_de\\_masas.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria_de_masas.pdf) consultado el : 10/febrero/2019
80. Dosal A, Villanueva M (2008) Introducción a la metrología química. Curvas de calibración en los métodos analíticos. Tomado de: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION\\_23498.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/CURVASDECALIBRACION_23498.pdf) . Consultado el: 12/febrero/2019
81. Altuzar P. Análisis Cuantitativo. Tomado de: [http://xml.cie.unam.mx/xml/ms/Doctos/FRX\\_CUANTITATIVO.pdf](http://xml.cie.unam.mx/xml/ms/Doctos/FRX_CUANTITATIVO.pdf) . Consultado el: 12 /febrero/2019
82. Galano A. Rojas A. Sustancias patrones para estandarización de ácidos y bases. Química Analítica 1. Universidad Autónoma Metropolitana. Tomado de: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/DOCUMENTOPATRONESPRIMARIOSACIDOBASE\\_34249.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/DOCUMENTOPATRONESPRIMARIOSACIDOBASE_34249.pdf) . Consultado el: 12 /febrero/2019

83. Museo nacional de ciencias naturales. Investigación: Conceptos fundamentales de cromatografía. Tomado de: [http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/principios\\_de\\_cromatografia.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/principios_de_cromatografia.pdf) . Consultado el 12 /febrero/2019
84. Eurachem. La adecuación al uso de métodos analíticos. Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. Segunda edición inglesa. Primera edición española. Eurolab. España
85. Gobierno de España, Ministerio de industria, turismo y comercio (2008) Vocabulario internacional de metrología. Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados. 3ra edición en español. Centro de metrología.
86. Sánchez A. Métodos de calibrado. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Venezuela. Tomado de: [http://webdelprofesor.ula.ve/ciencias/angelisa/Downloads/tecnicascalibracion\\_vr1.pdf](http://webdelprofesor.ula.ve/ciencias/angelisa/Downloads/tecnicascalibracion_vr1.pdf) . Consultado el :13 /febrero/2019
87. COY A, Bojaca R, Duque M (2006) Estandarización de métodos analíticos. Instituto de Hidrología, metrología y estudios ambientales. República de Colombia. Tomado de: [http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38152/Estandarizacion\\_metodos\\_analaticos.pdf/934bd941-dd47-4501-8507-d2721ef4f316](http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38152/Estandarizacion_metodos_analaticos.pdf/934bd941-dd47-4501-8507-d2721ef4f316) . Consultado el :13 /febrero/2019
88. Canosa P. Pérez D, Garrido A, Tena M, Rodríguez I, Rubí E, Cela R (2007) Pressurized liquid extraciton with in-cell clean up followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry for the selective determination



of parabens and triclosan in indoor dust. *Journal of Chromatography A*. Vol.1161 pp. 105-112

89. Núñez L, Tadeo J.L, García-Valcárcel A.I, Turiel E, (2008) Determination of parabens in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol.1214, pp 178-182.
90. Casas Ferreira A, Möder M, Fernández M. (2011) Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl triclosan from soil, sediment and sludge with in situ derivatization and determination by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1218, pp 3837-3844.
91. Jinglan F, Jiahui Z, Nannan X, Wei G, Jianhui S. (2019) Parabens and their metabolite in surface water and sediment from the Yellow River and the Huai River in Henan province: Spatial distribution, seasonal variation and risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 172, pp 480-487.
92. Jae-Won L, Hyun L, Hyo-Bang M. (2019) Contamination and spatial distribution of parabens, their metabolites and antimicrobials in sediment from Korean coastal waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 180, 185-191
93. Chunyang L, Sunggyu L, Hyo-Bang M, Nobuyoshi Y, Kurunthachalam K. (2013) Parabens in sediment and sewage Sludge from the United States, Japan and Korea: Spatial Distribution and temporal trends. *Environmental Science & Technology*. Vol. 47. Issue 19. pp 10805-10902
94. Gorga M, Insa S, Petrovic M, Barceló D. (2015) Occurrence and spatial distribution of EDCs and related compounds in waters and sediments of Iberian rivers. *Science of Total Environment*. Vol. 503-504. pp 69-86.

95. Eurachem-Citac "Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement" 2nd. Edition, 2000.pag. 26, 74,75 y 106.
96. CENAM, Guía técnica de trazabilidad metrológica e incertidumbre de medida en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de cromatografía de gases (CG) y cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). México 2010, pág. 52-62
97. M. Aaron (2012) Estadística y probabilidades. Universidad católica de la santísima concepción. Chile. Tomado de: <http://www.x.edu.uy/inet/EstadisticayProbabilidad.pdf> Consultado el 19/ Diciembre/2019

**ANEXO I.** Modelos para el cálculo de la incertidumbre asociada a las mediciones y mínimos cuadrados.

Tabla I. Lista de abreviaturas utilizadas en el anexo I.

Alq.	Alquil
$b_1$	Pendiente de la curva de calibración
Dis.	Disolución.
E. parabeno	Etil parabeno.
fort.	Fortificado.
F. D	Factor de dilución.
g	Gramo (s).
$k=2$	Incertidumbre expandida con factor de cobertura =2
kg	Kilogramo(s).
L	Litro (s).
mat.	Matriz (muestra no fortificada).
M. parabeno	Metil parabeno
mg	Miligramo (s).
m.pip.	Micropipeta.
$\mu\text{L}$	Microlitro (s).
n	Número de muestras/repeticiones
p	Numero de replicas $y_i$ de la muestra
P. parabeno	Propil parabeno.
Parab.	Parabeno.
Res.	Resolución.
$S_b$	Desviación estándar de los residuales
Tot.	Total.
U	Termino de incertidumbre.
$U_A$	Incertidumbre tipo A.
$U_B$	Incertidumbre tipo B.
$U_c$	Incertidumbre combinada
$U_{\text{muestra}}$	Incertidumbre atribuida a la muestra
$U_{\text{balanza}}$	Termino de incertidumbre asociado a la balanza analítica.
$U_{\text{est.}}$	Termino de incertidumbre asociado a la disolución estándar.
$U_{\text{matraz}}$	Termino de incertidumbre asociado a matraz aforado 10.0 mL.
$U_{\text{m.pip.100 } \mu\text{L}}$	Termino de incertidumbre asociado a la micropipeta 10-100 $\mu\text{L}$ .
$U_{\text{m.pip.20 } \mu\text{L}}$	Termino de incertidumbre asociado a la micropipeta 2-20 $\mu\text{L}$ .
$U_{\text{probeta}}$	Termino de incertidumbre asociado a la probeta 50 mL.

Var $x_{pred}$	Varianza del valor obtenido con la curva de calibración
Vol.	Volumen.
$X_{prom}$	Media de los b valores $x_1, x_2 \dots$ de los calibrantes
$X_i$	i-esimo valor del calibrante x
$Y_{fort.}$	Respuesta cromatográfica obtenida para la muestra fortificada (Recobro).
$Y_i$	i-esimos valores de respuesta cromatográfica

Tabla II. Términos de incertidumbre (no expandida) asociados a los instrumentos de trabajo. Para la pipeta de 1.0-10.0 mL, la probeta de 50 mL y el matraz aforado de 10.0 mL el término de la incertidumbre fue determinado en base a la clase de material.

INSTRUMENTO	Término de incertidumbre (U)	Resolución	inexactitud [%]	imprecisión [%]	Volumen medio [ $\mu$ L]
Balanza [g]	0.00006	0.0001			
Matraz 10.0 mL	0.020	1			
Micropipeta 2-20 $\mu$ L	0.023	1	0.23	0.23	10
Micropipeta 10- 100 $\mu$ L	0.045	0.5	0.18	0.46	25
Pipeta 1.0-10.0 mL	0.06	0.1			
probeta 50 mL	0.4	1			

Donde:

- $U_{balanza} = \frac{\text{Res. balanza analitica}}{\sqrt{3}}$
- $U_{m.pip} = \frac{\text{Inexactitud [\%]}(\text{Vol. medio})}{100}$

**1. Modelo para el cálculo de las incertidumbres para las disoluciones madre (1000 ppm), stock (10 ppm) y los estándares para la curva de calibración (0.2-1.6 ppm) para cualquier Alquil parabeno.**

**1.1 Disolución madre (para cualquier Alquil parabeno): (Ver apartado 4.5.1)**

Modelo para el cálculo de la concentración de la disolución madre:

$$\text{Conc. de dis. madre} = \frac{\text{masa Alquil parabeno [mg]} (\text{Pureza del analito})}{\text{Vol. de la disolución*[L]}}$$

Modelo para el cálculo de la incertidumbre:

$$U_{Tot} = \sqrt{U_B^2 + U_A^2}$$

Para este caso:

$$S_A = \frac{S_{x-1}}{\sqrt{n}} = 0$$

Por lo tanto:

$$U_{Tot} = U_B$$

$$U_B = \text{Conc. de dis. madre} \sqrt{\left(\frac{U_{balanza}}{\text{masa Alq. parab.}}\right)^2 + \left(\frac{U_{matraz}}{\text{Vol. del matraz}}\right)^2}$$

Los que se encuentra contenido en la raíz debe ser un factor adimensional, por lo tanto, los numeradores deben de tener las mismas unidades que los denominadores.

$$U_{Tot k=2} = U_B (2)$$

## 1.2 Disolución stock (para cualquier alquil parabeno): (Ver apartado 4.5.1)

Modelo para el cálculo de la concentración de la disolución stock:

$$\text{Conc. de dis. stock} = \frac{\text{Conc. dis madre} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] (\text{Vol. alicuota mL})}{\text{Vol. de la disolución [mL]}}$$

Simplificando: (Ver apartado anterior)

$$U_{Tot} = U_B$$

$$U_B = \text{Conc. dis. stock} \sqrt{\left( \frac{U_{dis.madre}}{\text{Conc. dis madre}} \right)^2 + \left( \frac{U_{matraz}}{\text{Vol. del matraz}} \right)^2 + \left( \frac{U_{m.pip100\mu\text{L}}}{\text{Vol. Alicuota}} \right)^2}$$

Los que se encuentra contenido en la raíz debe ser un factor adimensional, por lo tanto, los numeradores deben de tener las mismas unidades que los denominadores.

$$U_{Tot k=2} = U_B (2)$$

## 1.3 Disoluciones estándar para cualquier alquil parabeno en el intervalo de 0.2-1.6 ppm (Ver tabla.10):

Modelo para el cálculo de la concentración de cualquier concentración de estándar:

$$\text{Conc. de estandar} = \frac{\text{Conc. dis stock} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] (\text{Vol. alicuota mL})}{\text{Vol. de la disolución [mL]}^*}$$

\* Vol. de la disolución = Vol. de disolvente + Vol. de alicuota

Simplificando: (Ver apartado 1.1)

$$U_{Tot} = U_B$$

$$U_B = \text{Conc. dis. stock} \sqrt{\left(\frac{U_{\text{dis. stock}}}{\text{Conc. dis stock}}\right)^2 + \left(\frac{U_{m.pip20\mu\text{L}}}{\text{Vol. Alicuota}}\right)^2 + \left(\frac{U_{m.pip100\mu\text{L}}}{\text{Vol. disolvente}}\right)^2}$$

$$U_{\text{Tot } k=2} = U_B (2)$$

**2. Modelo para el cálculo de la concentración de Alquil parabeno en las muestras de sedimentos.)**

$$\text{Conc. parabeno} = \frac{\left(\left(\frac{Y_{\text{muestra}} - b}{m}\right) - \text{Conc. Estandar}\right) \text{Vol. muestra [L]}}{\text{Masa muestra [kg]}} \quad (\text{F. D})$$

Donde F.D está definido por  $FD = \left(\frac{100\mu\text{L}}{92\mu\text{L}}\right)$

$Y_{\text{muestra}}$  = Respuesta cromatográfica de la muestra

$b$  = Ordenada al origen de la ecuación de la curva de calibración

$m$  = Pendiente de la ecuación de la curva de calibración

**3. Cálculo de la ecuación de la recta ( $y = m x + b$ ) para las curvas de calibración y sus factores de incertidumbre asociados mediante ajuste de mínimos cuadrados.**

El ajuste de mínimos cuadrados se realizó con los valores de  $X_i$  y  $Y_i$  utilizados para la construcción de las curvas de calibración posteriores al ajuste reportado en el apartado 4.6.1.

Para el cálculo de la pendiente:

$$m = \frac{n \sum x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}$$

Para el cálculo de la ordenada al origen:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 \sum_{i=1}^n y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left( \sum_{i=1}^n x_i \right)^2}$$

Para el cálculo de la desviación estándar de los residuales:

$$S_{y_i}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - (mx_i + b))^2}{n - 2}$$

En este caso  $y_i$  se refiere a las respuestas cromatográficas para los calibrantes,  $m$  corresponde a la pendiente de la curva de calibración,  $b$  corresponde a la ordenada al origen de la curva de calibración y  $x_i$  corresponde al  $i$ -ésimo valor del calibrante  $x$  utilizado para la construcción de la curva de calibración.

#### 4. Incertidumbre debida al modelo matemático de la regresión lineal.

La expresión que permite estimar la incertidumbre de la regresión lineal es el siguiente:

$$\text{var}(x_{pred}) = \frac{s^2}{b_1^2} \left( \frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x_{pred} - x_{prom})^2}{\sum(x_i^2) - \frac{(\sum x_i)^2}{n}} \right)$$

$b_1$  pendiente de la curva de calibración

$n$  número de datos de la curva de calibración



$x_i$  i-esimo valor del calibrante  $x$

$x_{pred}$  Valor obtenido con la curva de calibración

$x_{prom}$  Media de los  $n$  valores  $x_1, x_2, \dots$  de los calibrantes

$s$  Desviación estándar de los residuales

$x$  numero de replicas  $y_i$  de la muestra

$var_{x_{pred}}$  Varianza del valor obtenido con la curva de calibración

## 5. Estimación de la incertidumbre estándar combinada debido al factor de dilución.

$$FD = \left( \frac{100 \mu\text{L}}{92 \mu\text{L}} \right) = \left( \frac{92 \mu\text{L} + 8 \mu\text{L}}{92 \mu\text{L}} \right) = 1.08$$

Se separo en dos contribuciones el numerador debido a que se agregaron 8  $\mu\text{L}$  de estándar y se completó a con 92  $\mu\text{L}$  de la matriz de los sedimentos para tener un volumen total de 100  $\mu\text{L}$

$$U_{cF.D} = 1.08 \sqrt{\left( \frac{U_{m.pip\ 100\ \mu\text{L}} + U_{m.pip\ 20\ \mu\text{L}}}{100\ \mu\text{L}} \right)^2 + \left( \frac{U_{m\ pip\ 100\ \mu\text{L}}}{92\ \mu\text{L}} \right)^2}$$

## 6. Modelo de la estimación de la incertidumbre para cualquier Alquil parabeno en las muestras de sedimentos.

$$U_{muestra} = (\text{Conc. Alquil parabeno}) \sqrt{\left( \frac{U_{regresión}}{\text{Conc. de la regresión}} \right)^2 + \left( \frac{U_{c(F.D)}}{F.D} \right)^2 + \left( \frac{U_{est.}}{\text{Conc.est.}} \right)^2 + \left( \frac{U_{probeta}}{\text{Vol.muestra [mL]}} \right)^2 + \left( \frac{U_{balanza}}{\text{Masa muestra [g]}} \right)^2}$$

La estimación de la incertidumbre asociada al estándar utilizado para la determinación de la concentración en las muestras ( $U_{est.}$ ) puede realizarse de la misma manera que en el apartado 1.3

La determinación de la incertidumbre mediante el modelo anterior, no toma en cuenta el término de incertidumbre debido a la variabilidad de la repetibilidad en la medición.<sup>96</sup>

Modelo para el cálculo de la incertidumbre expandida factor de cobertura k=2:

$$U_{exp\ k=2} = U_{muestra} (2)$$

**Se debe tomar en cuenta que para las concentraciones de Metil, etil y propil parabeno calculadas se realizó un ajuste a la respuesta cromatográfica obtenida debido al efecto matriz observado con Acenafteno d-10. (Ver apartado 5.1).**

$$Respuesta\ cromatografica\ corregida = \frac{Respuesta\ cromatografica}{Factor\ de\ corrección}$$

**Al ser un factor de corrección no figura dentro de los términos de incertidumbre.**

## Anexo II. Graficas de residuales.

Figura I. Gráfico de residuales para metil parabeno con los 5 puntos utilizados en la construcción de la curva de calibración.

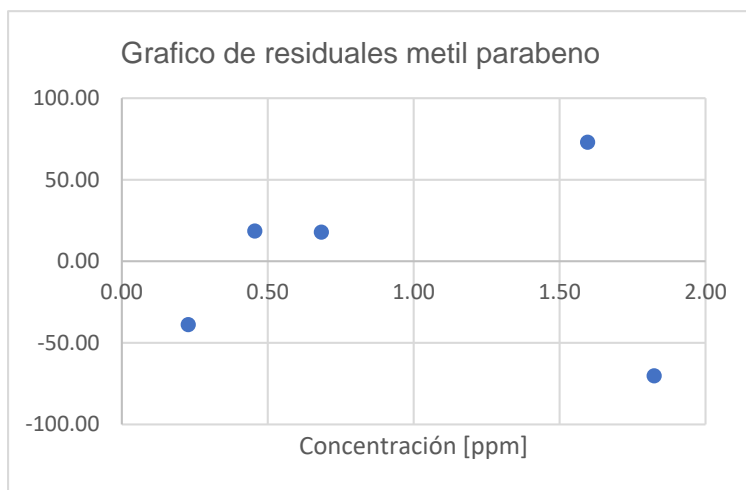


Figura II. Gráfico de residuales para etil parabeno con los 5 puntos utilizados en la construcción de la curva de calibración.

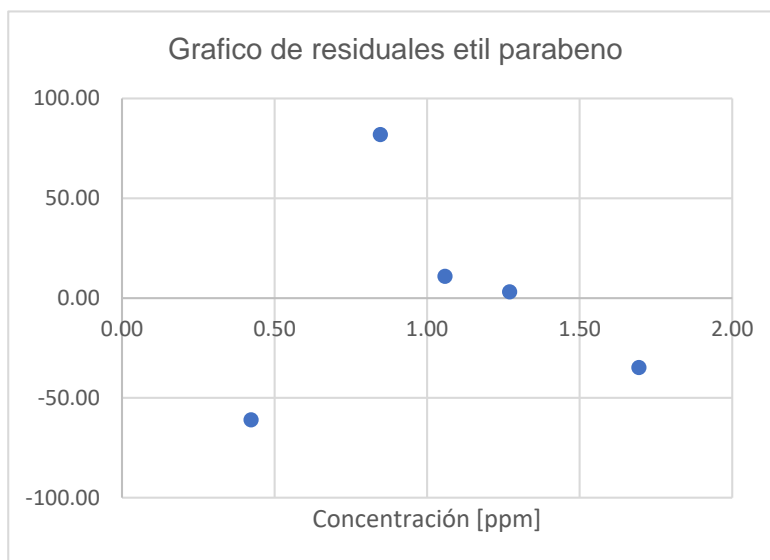
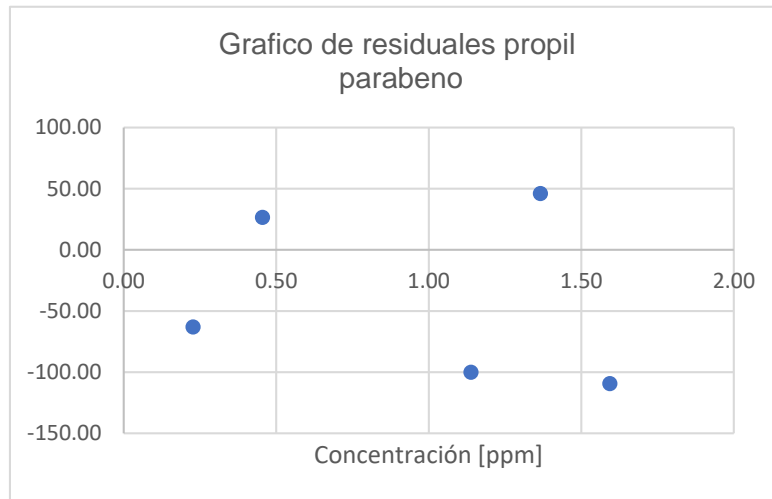


Figura III. Gráfico de residuales para propil parabeno con los 5 puntos utilizados en la construcción de la curva de calibración.



En las gráficas de residuos presentadas podemos ver que ninguna sigue alguna tendencia específica en la ubicación de los puntos , además de que las gráficas de residuos no presentan valores lejanos al eje “x” en comparación con las respuestas obtenidas en “y” evaluando “x” para los modelos lineales propuestos, por tanto podemos concluir que el modelo propuesto ajusta bien a los datos presentados, además de que hay una relación de tipo lineal entre las variables “x” y “y”<sup>97</sup>.