



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**VALIDACIÓN DE MÉTODO SPE-HPLC-MS/MS Y DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS
CARBOXÍLICOS PERFLUORADOS EN EL COMPLEJO “LAGUNAS DE MONTEBELLO” EN
CHIAPAS, MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA

JOSE ANTONIO CASTRO GUTIERREZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Dra. Olivia Zamora Martínez
VOCAL: Profesor: Dra. Gema Luz Andraca Ayala
SECRETARIO: Profesor: Dra. Blanca Lucía Prado Pano
1er. SUPLENTE: Profesor: Dra. Evangelina Camacho Frías
2° SUPLENTE: Profesor: M. en C. Alejandra Mendoza Campos

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Blanca Lucía Prado Pano

SUPERVISOR TÉCNICO:

Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela

SUSTENTANTE:

José Antonio Castro Gutiérrez

AGRADECIMIENTOS:

Al proyecto DGAPA PAPIIT IV200122AELT - Efectos del cambio global y climático sobre la limnología y biodiversidad acuática por su apoyo y financiamiento para hacer posible este estudio.

A la Dra. Blanca Lucía Prado Pano por su gran apoyo a lo largo de este proyecto

A la Dra. Olivia Zamora por sus valioso conocimiento y experiencia para mejorar el presente trabajo.

A la Dra. Gema Luz Andraca por sus importantes contribuciones en la producción de este escrito.

Al Dr. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela por su valiosa experiencia y constante ayuda y orientación a lo largo de todo este proyecto. No pudiera haberlo hecho sin él.

Al Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica, LUCE-ICAT-UNAM, a la Dra. Selene R. Islas Sánchez por su apoyo en la asesoría de uso de espectroscopía de UV-Visible-NIR y centrífuga.

Al Dr. Óscar Arnoldo Escolero Fuentes por su labor técnica y social que permitió que se desarrollaran exitosamente las diversas actividades de todo el grupo de trabajo en Montebello, Chiapas. Que en paz descanse.

Al Dr. Luis Alberto Oseguera Pérez por su gran apoyo en la toma de muestras en el lago de Balamtetik, Montebello, Chiapas.

Al Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental, LUNA-ICAT-UNAM, a la M. en C. Viridiana Maturano Rojas por su apoyo en el uso y aplicación de preparación de muestras, así como las facilidades y asesoría para el uso general de equipos del laboratorio.

A los Técnicos Académicos M. en C. Alejandro Esparza García y Martín Briseño García por el apoyo técnico brindado en la reparación y uso de equipos de alto vacío para la preparación de muestras.

Al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía, LANGEM-IQ-UNAM, a la Dra. Maricarmen Salazar por el análisis de carbono total y nitrógeno de las muestras. Asimismo, agradezco a Lucero Verónica López Cabrera del departamento de Edafología Ambiental por el trabajo de las muestras.

A la Dra. Margarita Caballero Miranda por su asesoría en la toma de muestras de campo en las lagunas de Montebello, Chiapas y a la Dra. Lucy Mora Palomino por su apoyo en la toma de estas muestras.

A la MVZ Melisa Gallegos por su asesoría en cuestiones gráficas y de presentación, al igual que por proporcionarme la confianza y madurez suficiente para continuar.

A mis familiares y amigos por acompañarme en todo este proceso.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Capítulo I: Introducción	1
I.1 Hipótesis.....	3
I.2 Objetivo general	3
I.3 Objetivos Particulares.....	3
Capítulo II: Antecedentes	4
II.1 Ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs)	4
Propiedades de los PFCAs.....	6
Producción de PFCAs.....	7
Estudios ambientales de PFCAs realizados previamente.....	10
II.2 Metodología SPE-HPLC-MS/MS	14
Extracción en fase sólida (SPE)	14
Cromatografía.....	18
Espectrometría de masas	24
II.3 Historia del arte de metodologías para determinación de PFCAs en matrices de agua ambiental.....	27
Ventajas del uso de HPLC frente a la cromatografía de gases:	28
II.4 Validación	29
II.5 Sitio de Estudio.....	30
Capítulo III: Metodología	33
III.1 Selección de compuestos a analizar	33
III.2 Estándares, reactivos y disolventes	33
III.3 Instrumentación	33
III.4 Columnas y cartuchos	34
III.5 Materiales	34
III.6 Software	34
III.7 Sitios de muestreo de agua	35
III.8 Pre y tratamiento de muestra	37
III.9 Determinación de los compuestos mediante HPLC-MS/MS.....	38
Identificación y optimización de iones fragmento de seguimiento de los PFCAs en el equipo.....	39
Análisis cromatográfico.....	40

Optimización de los parámetros de HPLC-MS/MS dependientes de la fase móvil	41
Reducción de interferencias instrumentales	41
Corrección de impurezas	42
III.10 Validación de parámetros cromatográficos.....	43
Capítulo IV: Resultados de la optimización	46
IV.1 Espectros obtenidos y selección de iones cuantitativos y de confirmación.	46
IV.2 Optimización de parámetros espectrométricos	50
IV.3 Verificación de la validación del método HPLC	52
Linealidad	53
Precisión	55
Límite de detección.....	56
Límite de cuantificación	57
Exactitud	57
Efecto Matriz.....	58
Capítulo V: Resultados de la determinación en los lagos	60
V.1 Análisis del contenido de PFCAs en el complejo lacustre.....	62
V.2 Análisis de la concentración de los compuestos estudiados por profundidad del muestreo.....	63
V.3 Análisis por compuesto	63
Conclusiones.....	65
Referencias	66
Apéndice	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Comparación entre ácido octanoico y ácido perfluorooctanoico, perteneciente a la familia de los ácidos carboxílicos perfluorados de cadena lineal	5
Figura 2: Ácidos carboxílicos perfluorados estudiados en la tesis	6
Figura 3: Hitos importantes en la industria con respecto a producción y legislación de PFCAs, sus precursores y sustancias relacionadas	8
Figura 4: Países productores de PFCAs en diferentes años.	10
Figura 5: Ubicación geográfica de en dónde se han realizado estudios ambientales de PFCAs, acorde a la matriz estudiada	11
Figura 6; Matrices abióticas en las cuales se han realizado estudios	12
Figura 7: Principal PFCA encontrado en cada estudio previo.	13
Figura 8: Esquema de preparación de muestra por extracción en fase solida (SPE) ...	15
Figura 9: Estructuras de los cartuchos para extracción en fase sólida Oasis HLB y Strata-X	16
Figura 10: Estructura molecular del cartucho OASIS WAX.....	17
Figura 11: Cromatograma de PFCAs utilizados en el presente trabajo	19
Figura 12: Diagrama general de equipo de HPLC	23
Figura 13: Diagrama general de un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (MS/MS).....	26
Figura 14: Resumen de las metodologías utilizadas en la literatura para la medición de PFCAs en aguas de distinta índole	27
Figura 15: Análisis bibliográfico del número de estudios que reportan recobros de PFCAs.....	28
Figura 16: Diagrama de proceso general de validación de un método	30
Figura 17: Mapa de Las Lagunas de Montebello y su ubicación con respecto al Parque Nacional Lagunas de Montebello, al igual que su situación en Chiapas y Guatemala..	32
Figura 18: Fotografía de núcleo de sedimento	37
Figura 19: Espectro de masa obtenido de PFBA	46
Figura 20: Espectro de masa obtenido del PFHxA	47
Figura 21: Espectro de masa obtenido del PFHpA	47

Figura 22: Espectro de masa obtenido del PFOA.	48
Figura 23: Espectro de masa obtenido del PFUnA	48
Figura 24: Cromatograma obtenido en el que se muestran los picos obtenidos por cada PFCA.....	52
Figura 25: Curva de calibración de PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA en agua de grado HPLC	53
Figura 26: Curva de calibración de PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA en agua lacustre.....	54
Figura 27 -Figura 32: Gráficas de concentración (ng/L) de cada PFCA encontrados en cada lago, y en el fondo de los lagos Bosque Azul y Montebello	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas de los ácidos carboxílicos perfluorados	7
Tabla 2: Distintos modos de operación de un espectrómetro de masas y su relación con los modos de los tres componentes	25
Tabla 3: Iones precursor, fragmento y confirmación seleccionados de cada PFCA	40
Tabla 4: Parámetros evaluados en el espectrómetro de masas	40
Tabla 5: Niveles evaluados en la optimización de parámetros del equipo de HPLC.....	41
Tabla 6: Contribución en área de diversos parámetros en los blancos de muestra	42
Tabla 7: Masa de fragmentos utilizados en el análisis de PFCAs.....	49
Tabla 8: Lista de condiciones operativas independientes de la fase móvil en el espectrómetro de masas.....	50
Tabla 9: Parámetros obtenidos del cromatograma visto en la figura 24.....	52
Tabla 10: Resumen de pendientes, ordenadas al origen y coeficientes de correlación de las curvas de calibración de cada PFCA analizado en agua de grado HPLC y agua lacustre.....	55
Tabla 11: Porcentajes de desviación estándar relativa (% RSD) promedio de cada PFCA analizado (n=3).....	56
Tabla 12: Relación señal-ruido (SNR) y desviación estándar relativa intermedia (% RSD inter) en los tres niveles más bajos de la curva de calibración para los PFCAs estudiados.....	56
Tabla 13: Niveles mínimos y máximos de recobros por cada compuesto en cada matriz analizada.....	57
Tabla 14: Pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación de las curvas de recobro para cada componente tanto en agua HPLC como lacustre	59

ACRÓNIMOS

Siglas	Significado en español	Significado en inglés
% R	Porcentaje de recobro	Recovery percentage
% RSD	Porcentaje de desviación estándar relativa	Relative standard deviation percentage
AR	Agua residual	Wastewater
COE	Contaminantes orgánicos de interés emergente	Emerging organic pollutants
EtOH	Etanol	Ethanol
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento (o alta presión)	High performance (pressure) liquid chromatography
LC	Cromatografía de líquidos	Liquid chromatography
LDC	Límite de cuantificación	Limit of quantification
LDD	Límite de detección	Limit of detection
MeOH	Metanol	Methanol
MRM	Monitoreo de reacciones múltiples	Multiple reaction monitoring
MS	Espectrometría de masas	Mass spectrometry
PFAS	Sustancias perfluoroalquiladas	Perfluoroalkyl substances
PFBA	Ácido perfluorobutanoico	Perfluorobutanoic acid
PFCA	Ácidos carboxílicos perfluorados	Perfluoroalkyl carboxylic acids
PFHpA	Ácido perfluoroheptanoico	Perfluoroheptanoic acid
PFHxA	Ácido perfluorohexanoico	Perfluorohexanoic acid
PFNA	Ácido perfluorononanoico	Perfluorononanoic acid
PFOA	Ácido perfluorooctanoico	Perfluorooctanoic acid
PFSA	Ácidos sulfónicos perfluorados	Perfluoroalkyl sulphonic acids
PFUnA	Ácido perfluoroundecanoico	Perfluoroundecanoic acid
POP	Contaminantes orgánicos persistentes	Persistent organic pollutants
PTFE	Politetrafluoroetileno	Polytetrafluoroethylene
QqQ	Triple cuadrupolo	Triple quadrupole
SCAN	Barrido completo de fragmentos	Complete fragment scan
SNR	Relación señal/ruido	Signal-to-noise ratio
SPE	Extracción en fase sólida	Solid phase extraction
SPE-HPLC-MS/MS/QqQ	Extracción en fase sólida seguida de cromatografía de líquidos de alta presión acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo	Solid phase extraction followed by high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

Capítulo I: Introducción

A lo largo de los años, el ser humano ha dejado su huella en el entorno. Una de las diversas formas es a través de sus desechos, dentro de los cuales existe una amplia gama de sustancias desde las ampliamente estudiadas y reguladas, hasta especies que prácticamente no han sido estudiadas y carecen de regulación con respecto a su producción, emisión y destino ambiental, estas últimas son conocidas como contaminantes orgánicos de interés emergente (COEs).

Los COEs son compuestos utilizados por el ser humano de manera cotidiana, los cuales incluyen: fármacos, aditivos industriales tanto en materiales como alimenticios, productos de cuidado personal, entre otros. Algunos de los principales ejemplos son: la carbamazepina, el sulfametoxazol, la cafeína, el bisfenol A, y los ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs)

La importancia de establecer la presencia y niveles de los PFCAs en las diferentes matrices ambientales radica en que son sustancias cuya acumulación pueden llegar a tener efectos adversos en organismos acuáticos, y probablemente en los terrestres.

Estos contaminantes pueden dejar su huella a través del tiempo al encontrar como destino ambiental a los cuerpos de agua como ríos, lagos y lagunas. De este modo, la determinación de este tipo de compuestos en lagos permite estudiar el impacto antropogénico en el sitio. Un claro ejemplo de esto es el lago de Balamtetik, en el sistema lacustre Lagunas de Montebello, en Chiapas, el cual es el cuerpo receptor del Río Grande de Comitán, que recibe las descargas de desecho provenientes tanto de la población de Comitán como de poblaciones aledañas dentro de la cuenca de las Lagunas de Montebello, al centro-oriente del estado de Chiapas.

El proyecto de tesis tuvo como objetivo optimizar y validar un método de extracción en fase sólida seguido por una determinación mediante cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas de PFCAs en aguas lacustres en las Lagunas de Montebello en Chiapas, y por el otro, usar este método para establecer las concentraciones de estos compuestos.

Este proyecto es parte del proyecto del programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) IV200319, en el cual se realiza un estudio comparativo y multidisciplinario para poder entender las complejas interacciones de los distintos agentes forzantes involucrados que han conducido al deterioro de algunos cuerpos acuáticos de la región

I.1 Hipótesis

Mediante la técnica SPE-HPLC-MS/MS/QqQ es posible desarrollar y validar la metodología analítica para la determinación de ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs) en agua lacustre en concentraciones de ng/L.

La concentración de PFCAs en los lagos Balamtetik y Bosque Azul será en mayor concentración, en el orden de ng/L, gracias a su calidad como receptores directos de las aguas residuales provenientes de la cuenca de Comitán. A su vez, la concentración de PFCAs en los lagos Montebello y Tzisco, aunque será menor, no será despreciable, debido a diversos mecanismos de transporte de estos compuestos.

I.2 Objetivo general

Desarrollar una metodología analítica por medio de extracción en fase sólida seguida de cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada con espectrometría de masas de triple cuadrupolo (SPE-HPLC-MS/MS) para evaluar la presencia de cinco ácidos carboxílicos perfluorados lineales, con 4, 6, 7, 8 y 11 átomos de carbono, en aguas superficiales y de fondo en lagos del conjunto Lagunas de Montebello, Chiapas.

I.3 Objetivos Particulares

- Establecer las condiciones experimentales óptimas para extraer y cuantificar cinco ácidos carboxílicos perfluorados, a saber: ácido perfluorobutanoico (PFBA), ácido perfluorohexanoico (PFHxA), ácido perfluoroheptanoico (PFHpA), ácido perfluorooctanoico (PFOA) y ácido perfluoroundecanoico (PFUnA) siguiendo la metodología de purificación y concentración a través de extracción en fase sólida (SPE) y su análisis a través de cromatografía de líquidos de alta presión acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo (SPE-HPLC-MS/MS/QqQ).
- Validar y evaluar el desempeño del método en muestras de agua lacustre.
- Estudiar la presencia de los ácidos carboxílicos perfluorados en agua superficial y de fondo en cuatro lagunas del sistema lacustre.

Capítulo II: Antecedentes

II.1 Ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs)

Dentro de toda la amplia y compleja variedad de las sustancias orgánicas, existen aquellas que destacan por su alta resistencia térmica y química, conocidas como contaminantes orgánicos persistentes (POPs, por sus siglas en inglés). Los POPs permanecen por largos períodos de tiempo en el ambiente, llegando incluso a presentar vidas medias de varios días en la atmósfera y de años o décadas en suelos y sedimentos (Jones & De Voogt, 1999)

Los POPs, además de ser clasificados por sus propiedades físicas y químicas, también pueden catalogarse por su estatus legal. En este tenor, aquellos que no se encuentran bajo ningún tipo de regulación y se desconocen sus efectos nocivos a la salud y al medio ambiente, se denominan contaminantes orgánicos emergentes (COEs) (Murray et al., 2010). Dentro de este grupo existen contaminantes orgánicos que son persistentes y emergentes, tales como las sustancias perfluoroalquiladas (PFAS).

Las PFAS son aquellas moléculas orgánicas en las que los átomos de hidrógeno enlazados a los átomos de carbono (C-H) han sido completamente reemplazados por átomos de flúor (C-F) (Buck et al., 2011a). Algunos ejemplos de familias de PFAS incluyen a los ácidos sulfónicos perfluoroalquilados (PFSA) y los ácidos carboxílicos perfluoroalquilados (PFCAs), entre muchas más.

En particular, los PFCAs son la serie homóloga y análoga a los ácidos carboxílicos de cadena lineal. En la Figura 1 se observa al ácido octanoico y a su análogo, el ácido perfluorooctanoico (PFOA).

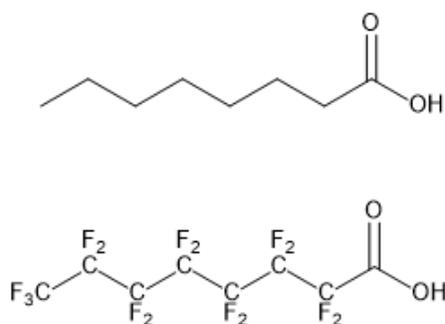


Figura 1. Comparación entre ácido octanoico (arriba) y ácido perfluorooctanoico (abajo), perteneciente a la familia de los ácidos carboxílicos perfluorados de cadena lineal.

Se pueden observar dos secciones bien diferenciadas en la estructura de los PFCAs. La primera de ellas es la cadena lineal de átomos de carbono enlazada completamente por los átomos de flúor (C-F). La segunda de ellas corresponde al grupo funcional ácido carboxílico terminal (-CO₂H). Este arreglo estructural le confiere propiedades tanto hidrofóbicas (cadena alquílica -CF₂-) como hidrofílicas (-CO₂H). Esta dualidad de comportamiento le otorga a la molécula características muy particulares, tal como la posibilidad de reducir significativamente la tensión superficial del agua, es decir, puede ser utilizada como un tensoactivo o surfactante (Buck et al., 2011a). Asimismo, la elevada energía de enlace C-F le otorga a los PFCAs una estabilidad térmica y química superior a la de sus homólogos sin flúor C-H (Banks et al., 1994).

Debido a estas propiedades, además de su capacidad de producir espumas estables, esta familia de compuestos es utilizada para limpiar y recubrir metales, espumas para combatir incendios, producción de polímeros, tintas, barnices, lubricantes, aceites, gasolina y repelentes de agua para cuero, papel y textiles (Prevedouros et al., 2006a).

Este tipo de compuestos son altamente recalcitrantes, bioacumulables y móviles. Además, han sido encontrados en seres vivos y en productos alimenticios (Z. Wang et al., 2014a), llegando incluso a detectarse en fauna tan aislada como en los lobos marinos antárticos y huevos de pingüino (Schiavone et al., 2009).

Se ha encontrado que estos compuestos tienen efectos adversos a la salud, tales como daño al hígado y al sistema inmunológico, y podrían tener efectos adicionales, por ejemplo: un incremento en los niveles de colesterol, cambios en las enzimas hepáticas, decremento en el peso de neonatos y disminución en la respuesta hacia las vacunas en niños. Se ha observado un aumento en el riesgo de padecer alta presión sanguínea en mujeres embarazadas y un incremento en el riesgo de padecer cáncer testicular o renal (ATSDR CDC, 2022).

Propiedades de los PFCAs

Los PFCAs estudiados en la tesis, con sus respectivas propiedades físicas y químicas, se muestran en la Figura 2 y en la Tabla 1

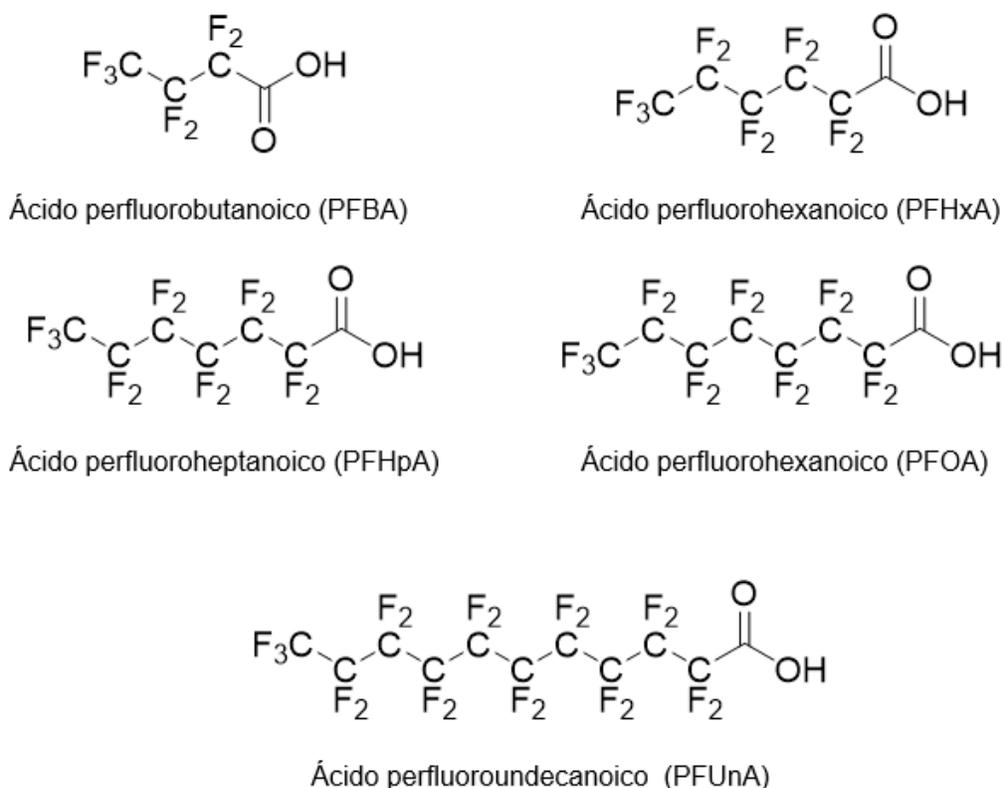


Figura 2. Ácidos carboxílicos perfluorados estudiados en la tesis.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los ácidos carboxílicos perfluorados. Datos obtenidos del National Center for Biotechnology Information, 2022; Royal Society of chemistry, 2020; De Voogt & Sáez, 2006.

Propiedad	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
Apariencia	líquido incolore	sólido blanco glutinoso	sólido blanco granular	sólido blanco granular	sólido blanco granular
Masa molecular	214.04	314.05	364.061	414.068	564.09
Presión de vapor a 25°C (mmHg)	6.37	1.98	0.13	0.032	-
Punto de fusión (°C)	-17.5	14	30	60	101
Punto de ebullición (°C)	121	157	176.01	189	239
Densidad (g/cm ³)	1.645	1.762	1.792	1.792	1.799

Debido a la baja presión de vapor, o alta volatilidad de los PFCAs de cadena corta, se ha reportado presencia de éstos en lugares tan remotos como la isla Baffin, en el ártico canadiense, demostrando la existencia de un transporte atmosférico de este tipo de compuestos (Lin et al., 2020; Macinnis et al., 2022; MacInnis et al., 2019).

Producción de PFCAs

En las figuras 3a y 3b se resumen los acontecimientos importantes relacionados con la producción y legislación de PFCAs, sus precursores y sustancias relacionadas.

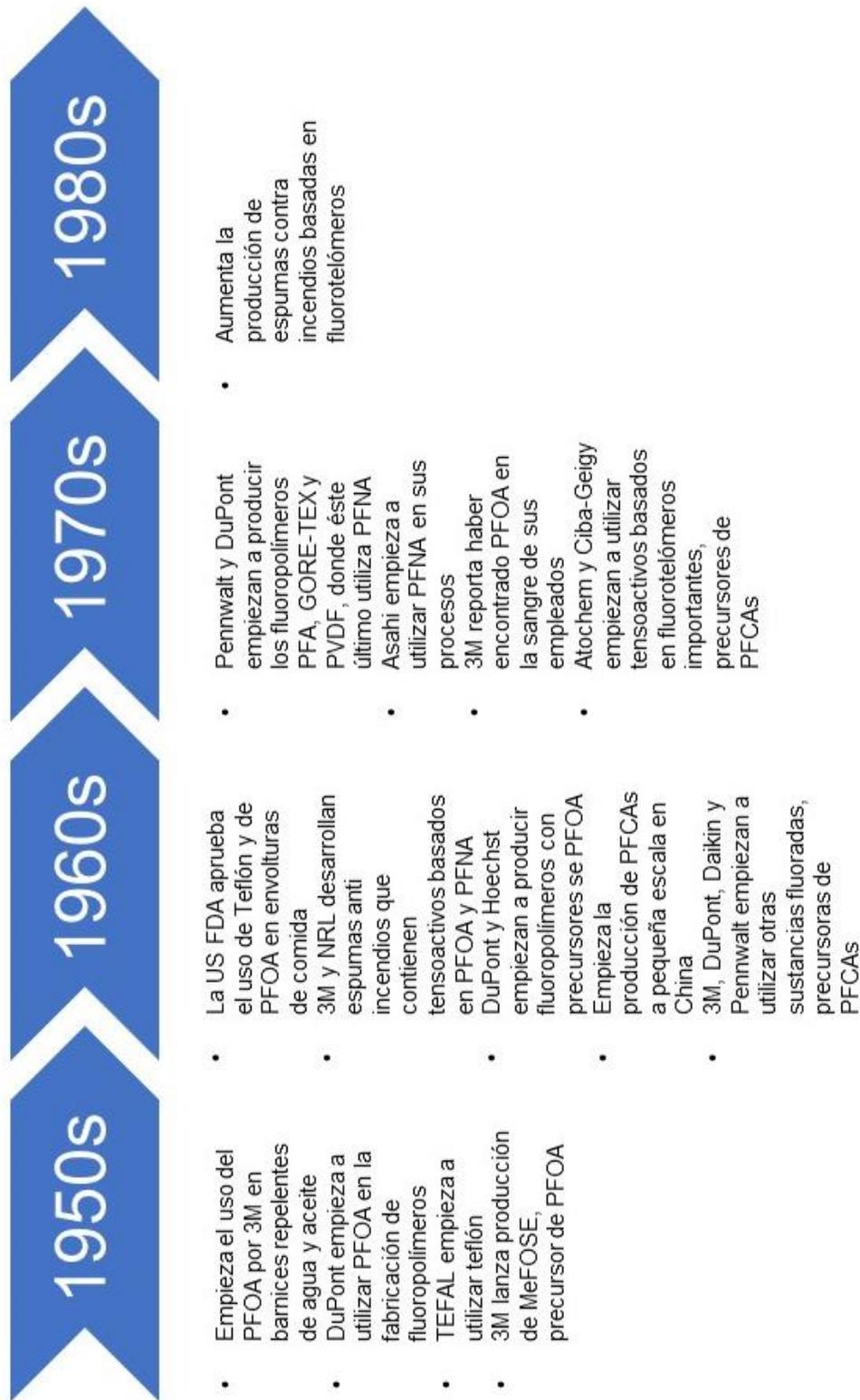


Figura 3a. Hitos importantes en la industria con respecto a producción y legislación de PFCAs, sus precursores y sustancias relacionadas (Z. Wang et al., 2014c; US EPA, 2020)

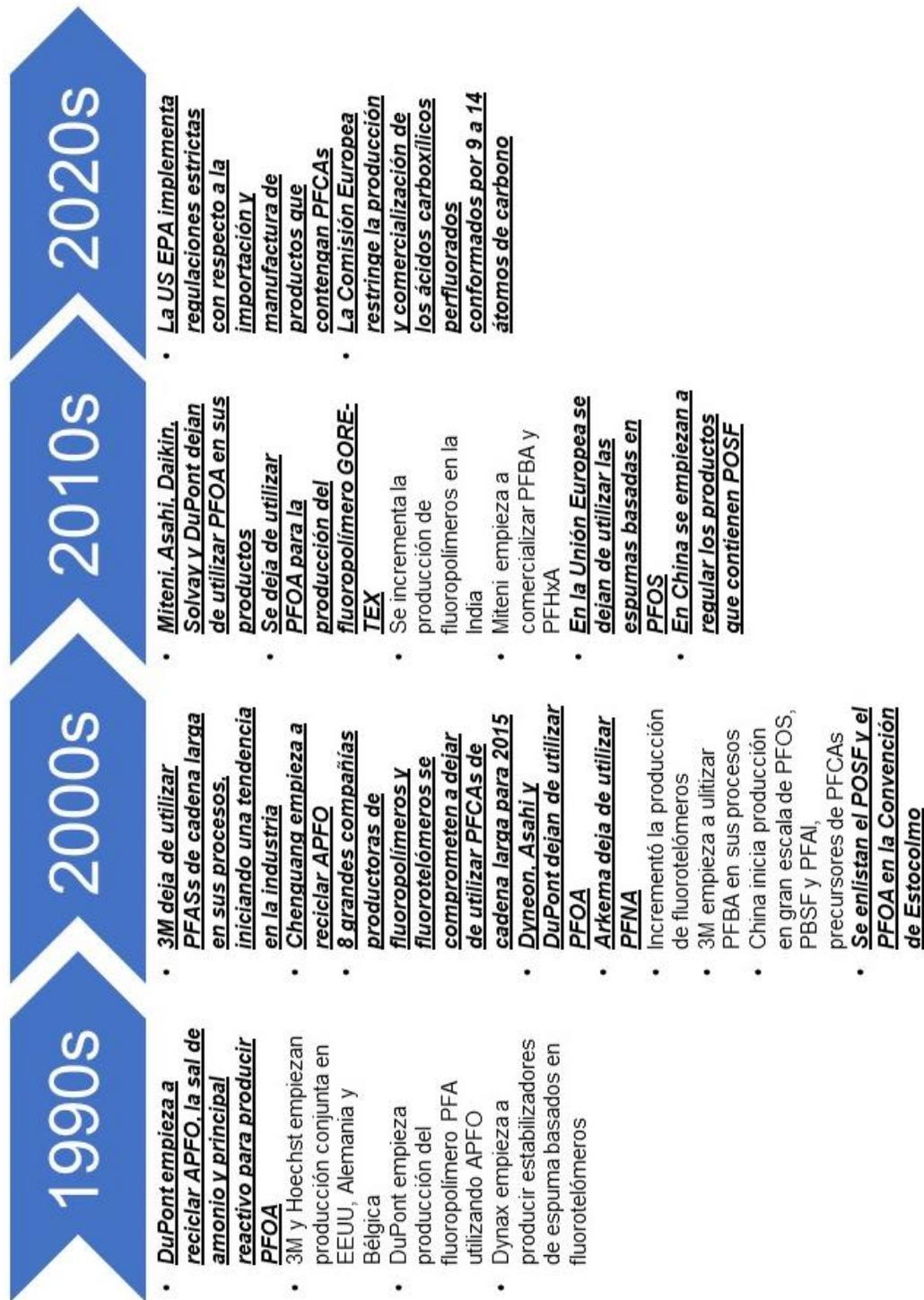


Figura 3b. Continuación de los hitos importantes en la industria con respecto a producción y legislación de PFCAs, sus precursores y sustancias relacionadas. (Z. Wang et al., 2014c; US EPA, 2020). Los eventos que causaron una reducción en la producción de PFCAs están subrayados.

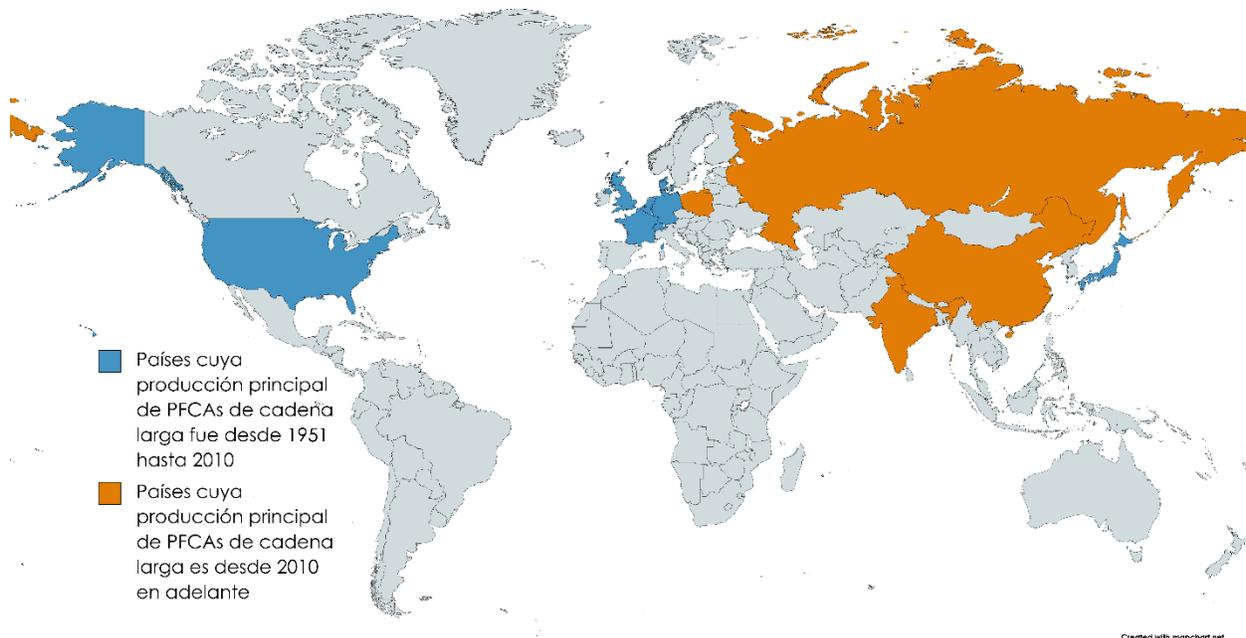


Figura 4. Países productores de PFCAs en diferentes años. Mapa creado en <https://mapchart.net> utilizando datos de Z. Wang et al. (2014a).

Como se aprecia en las figuras 3 y 4, la producción de PFCAs (principalmente PFOA y PFNA) entre 1951 y 2010 fue dominada por grandes compañías en Europa Occidental, Estados Unidos y Japón. En 2002, 3M reportó la presencia de PFOA en la sangre de sus trabajadores (Buck et al., 2011b), y la creciente preocupación por sus efectos en la salud, aunado a los cambios en métodos de producción de teflón, propició que se decidiera cambiar a este tipo de compuestos por PFCAs de menor longitud de cadena i.e., ácido perfluorobutanoico (PFBA), creando una tendencia de usar PFCAs de cadena corta entre las compañías en esta parte del mundo; mientras que la producción de PFCAs de cadena larga se focalizó en China, Rusia, India y, en menor grado, en Polonia. Un problema derivado de esto es que no se cuenta con suficiente información de estos últimos territorios, por lo que sólo se puede estimar su producción mediante métodos indirectos, tales como determinación en distintas matrices ambientales, como son: cuerpos de agua, suelos y sedimentos.

Estudios ambientales de PFCAs realizados previamente

La revisión bibliográfica realizada para este proyecto arroja que entre los años 2005 y 2022 existen 330 estudios, los cuales se encuentran resumidos en las figuras 6, 7 y 8.

En la Figura 5 se aprecian los lugares en donde se llevaron a cabo, al igual que las matrices que se analizaron. Se puede observar cómo los estudios están dominados por tres regiones: E.E.U.U, Europa y el Este asiático, mientras que existe una notable falta de estudios concernientes en África y Latinoamérica. Un desglose de número de estudios por país y región puede ser encontrado en la Tabla suplementaria 6.

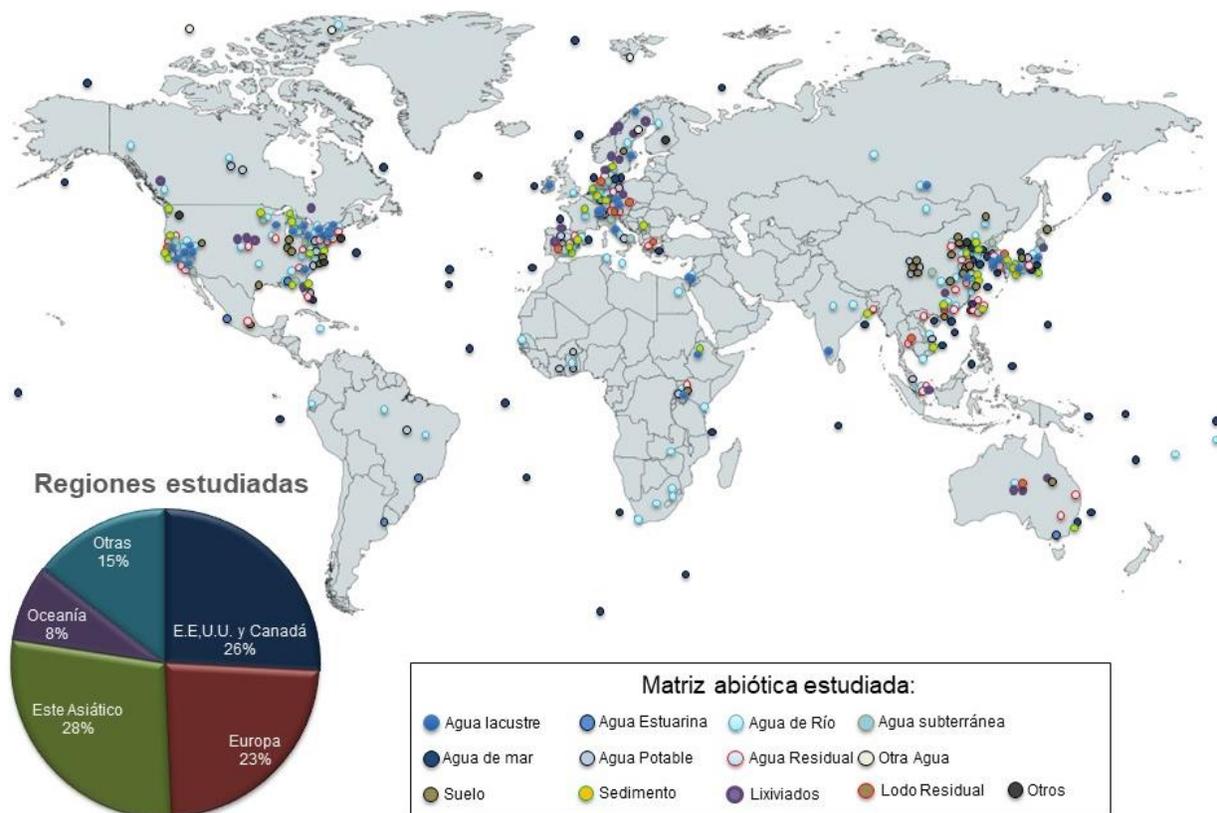


Figura 5. Ubicación geográfica de en dónde se han realizado estudios de PFCAs, en diferentes matrices ambientales (Abunada et al., 2020; Ahmadireskety et al., 2021; Ahrens et al., 2010, 2016; Allinson et al., 2019; Arinaitwe et al., 2021; Arvaniti & Stasinakis, 2015; Asaoka et al., 2020; Baabish et al., 2021; Bečanová et al., 2016; Beškoski et al., 2013; Björklund et al., 2021; Bräunig et al., 2019; Campo et al., 2015a, 2016a; Chen et al., 2017; Choi et al., 2019; Chow et al., 2021; Chu & Letcher, 2017; Coggan et al., 2019; Corsolini et al., 2012; Crane, 2019; Desclos & Gibson, 2021; Ding et al., 2018; Elmoznino et al., 2018; Gao et al., 2019; Gu et al., 2021; Hall et al., 2020; Hamid et al., 2018; Higgins et al., 2005; Hong et al., 2013; Hope, 2020; Janousek et al., 2019; Johnson, 2022; Kaboré et al., 2018; Kameoka et al., 2022; Lam et al., 2017; Lee et al., 2020; Li et al., 2022; Liu, 2018; Macinnis et al., 2022; Maclnnis et al., 2019; Morales-McDevitt et al., 2022; Naile et al., 2010; Olmsted et al., 2021; Pan et al., 2018; Pétré et al., n.d.; Pico et al., 2012; Rayne & Forest, 2009; Remucal, 2019; M. Rodríguez-Varela et al., 2021; Semerád et al., 2020; Si et al., 2021; Tavasoli et al., 2021; Thompson et al., 2011a; B. Wang et al., 2020; Q.

Wang et al., 2022; S. Wang et al., 2018; Y. Wang et al., 2019; Z. Wang et al., 2014d, 2014b, 2015; White et al., 2015; Winkens et al., 2018; Xie et al., 2021; Xu et al., 2021; Yamazaki et al., 2021; Yang et al., 2020; Yao et al., 2018; Zareitalabad et al., 2013; Zhao et al., 2016).

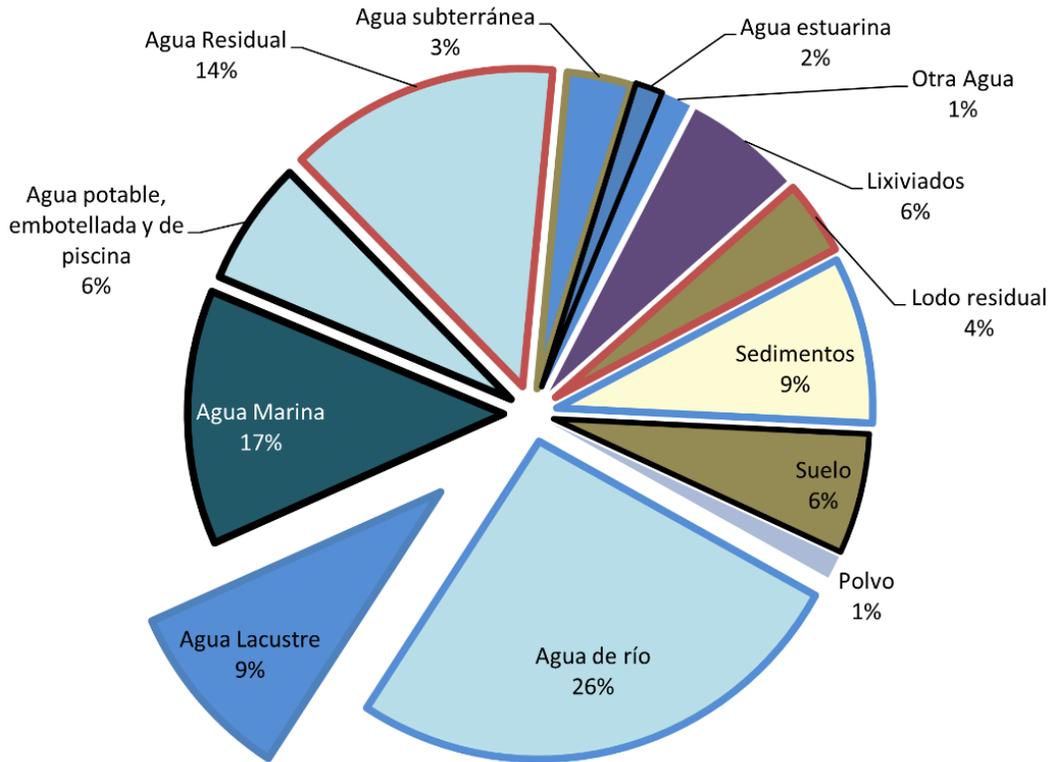


Figura 6. Matrices abióticas en las cuales se han realizado estudios (Abunada et al., 2020; Ahmadireskety et al., 2021; Ahrens et al., 2010, 2016; Allinson et al., 2019; Arinaitwe et al., 2021; Arvaniti & Stasinakis, 2015; Asaoka et al., 2020; Baabish et al., 2021; Bečanová et al., 2016; Beškoski et al., 2013; Björklund et al., 2021; Bräunig et al., 2019; Campo et al., 2015a, 2016a; Chen et al., 2017; Choi et al., 2019; Chow et al., 2021; Chu & Letcher, 2017; Coggan et al., 2019; Corsolini et al., 2012; Crane, 2019; Desclos & Gibson, 2021; Ding et al., 2018; Elmoznino et al., 2018; Gao et al., 2019; Gu et al., 2021; Hall et al., 2020; Hamid et al., 2018; Higgins et al., 2005; Hong et al., 2013; Hope, 2020; Janousek et al., 2019; Johnson, 2022; Kaboré et al., 2018; Kameoka et al., 2022; Lam et al., 2017; Lee et al., 2020; Li et al., 2022; Liu, 2018; Macinnis et al., 2022; Macinnis et al., 2019; Morales-McDevitt et al., 2022; Naile et al., 2010; Olmsted et al., 2021; Pan et al., 2018; Pétré et al., n.d.; Pico et al., 2012; Rayne & Forest, 2009; Remucal, 2019; M. Rodríguez-Varela et al., 2021; Semerád et al., 2020; Si et al., 2021; Tavasoli et al., 2021; Thompson et al., 2011a; B. Wang et al., 2020; Q. Wang et al., 2022; S. Wang et al., 2018; Y. Wang et al., 2019; Z. Wang et al., 2014d, 2014b, 2015; White et al., 2015; Winkens et al., 2018; Xie et al., 2021; Xu et al., 2021; Yamazaki et al., 2021; Yang et al., 2020; Yao et al., 2018; Zareitalabad et al., 2013; Zhao et al., 2016).

En la Figura 6 se logra observar cómo la mayoría de los estudios se enfocan en analizar múltiples cuerpos de agua, la primera siendo agua de río, y el agua lacustre pasando a

segundo plano, particularmente en Latinoamérica, región en la que la determinación de PFCA en medios ambientales es incipiente (Figura 5). Tal y como se ve en la Figura 6, sólo el 9 % de los estudios en matrices abióticas han sido en aguas lacustres y lagunares, ya que la mayoría de los estudios acuáticos se han hecho en ríos y las costas. Esto evidencia una falta de énfasis en las lagunas y lagos que, por sus características tales como largos tiempos de retención y actividad humana en sus costas, pueden llegar a acumular estos compuestos, facilitando estudios de persistencia ambiental, transporte, transformación, entre muchos otros.

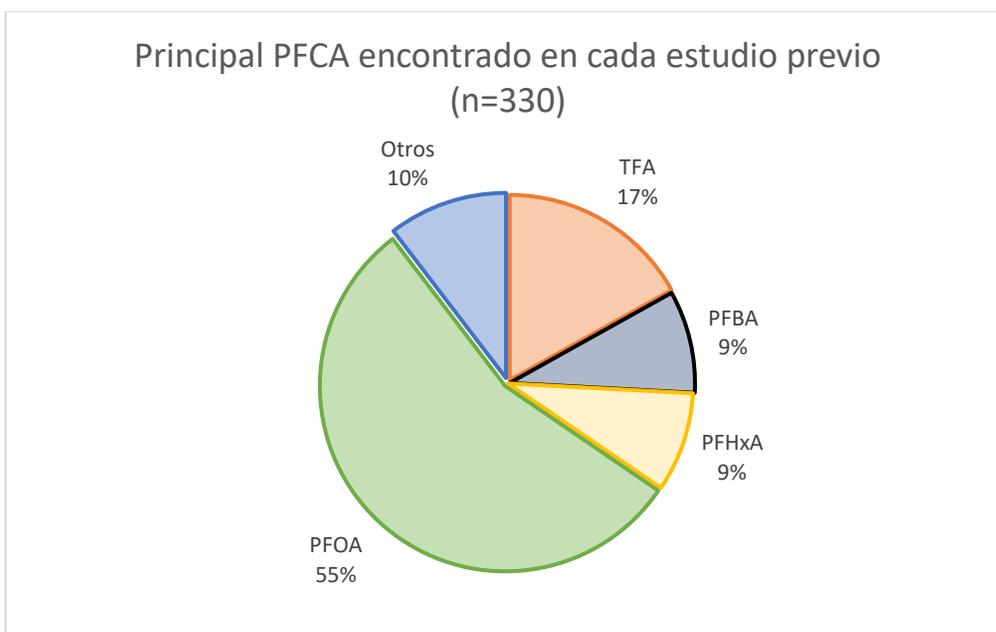


Figura 7: Principal PFCA encontrado en cada estudio previo. ATFA: Ácido trifluoroacético. Otros: PFBA, PFPeA, PFHpA, PFNA, PFDA, PFUnA, PFDoA, PFTTrDA, PFTeDA, PFODA (Abunada et al., 2020; Ahmadireskety et al., 2021; Ahrens et al., 2010, 2016; Allinson et al., 2019; Arinaitwe et al., 2021; Arvaniti & Stasinakis, 2015; Asaoka et al., 2020; Baabish et al., 2021; Bečanová et al., 2016; Beškoski et al., 2013; Björklund et al., 2021; Bräunig et al., 2019; Campo et al., 2015a, 2016a; Chen et al., 2017; Choi et al., 2019; Chow et al., 2021; Chu & Letcher, 2017; Coggan et al., 2019; Corsolini et al., 2012; Crane, 2019; Desclos & Gibson, 2021; Ding et al., 2018; Elmoznino et al., 2018; Gao et al., 2019; Gu et al., 2021; Hall et al., 2020; Hamid et al., 2018; Higgins et al., 2005; Hong et al., 2013; Hope, 2020; Janousek et al., 2019; Johnson, 2022; Kaboré et al., 2018; Kameoka et al., 2022; Lam et al., 2017; Lee et al., 2020; Li et al., 2022; Liu, 2018; Macinnis et al., 2022; MacInnis et al., 2019; Morales-McDevitt et al., 2022; Naile et al., 2010; Olmsted et al., 2021; Pan et al., 2018; Pétré et al., n.d.; Pico et al., 2012; Rayne & Forest, 2009; Remucal, 2019; M. Rodríguez-Varela et al., 2021; Semerád et al., 2020; Si et al., 2021; Tavasoli et al., 2021; Thompson et al., 2011a; B. Wang et al., 2020; Q. Wang et al., 2022; S. Wang et al., 2018; Y. Wang et al., 2019; Z. Wang et al., 2014d, 2014b, 2015; White et al., 2015; Winkens et

al., 2018; Xie et al., 2021; Xu et al., 2021; Yamazaki et al., 2021; Yang et al., 2020; Yao et al., 2018; Zareitalabad et al., 2013; Zhao et al., 2016).

Dentro de la familia de los PFCAs, el ácido perfluorooctanoico (PFOA) es el compuesto estudiado y encontrado con mayor frecuencia en concentraciones comprendidas entre los pg/L – mg/L. Seguidos por los compuestos de menor longitud de cadena (PFCAs C \leq 6) (Figura 7). Esto se debe a los patrones de producción de la industria, observados en la Figura 3.

II.2 Metodología SPE-HPLC-MS/MS

Dentro de la literatura, existen distintas metodologías útiles para determinar PFCAs en matrices acuosas, en donde la extracción en fase sólida (SPE) es la más utilizada para el tratamiento de muestra previo al análisis. Después de haberse realizado la SPE es posible usar dos técnicas cromatográficas para el análisis de PFCAs en agua lacustre: el primero de ellos es mediante un UHPLC acoplado a un espectrómetro de masas, y HPLC acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo. Ambas, son formas de cromatografía líquida y permiten observar las bajas concentraciones de los PFCAs presentes en matrices naturales, en el orden de ng/L.

Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida es una técnica en la cual se utiliza una matriz sólida dentro de un cartucho para retener el compuesto deseado a través de equilibrios de adsorción separándolo de los demás compuestos. Este método sigue el diagrama mostrado en la Figura 8.

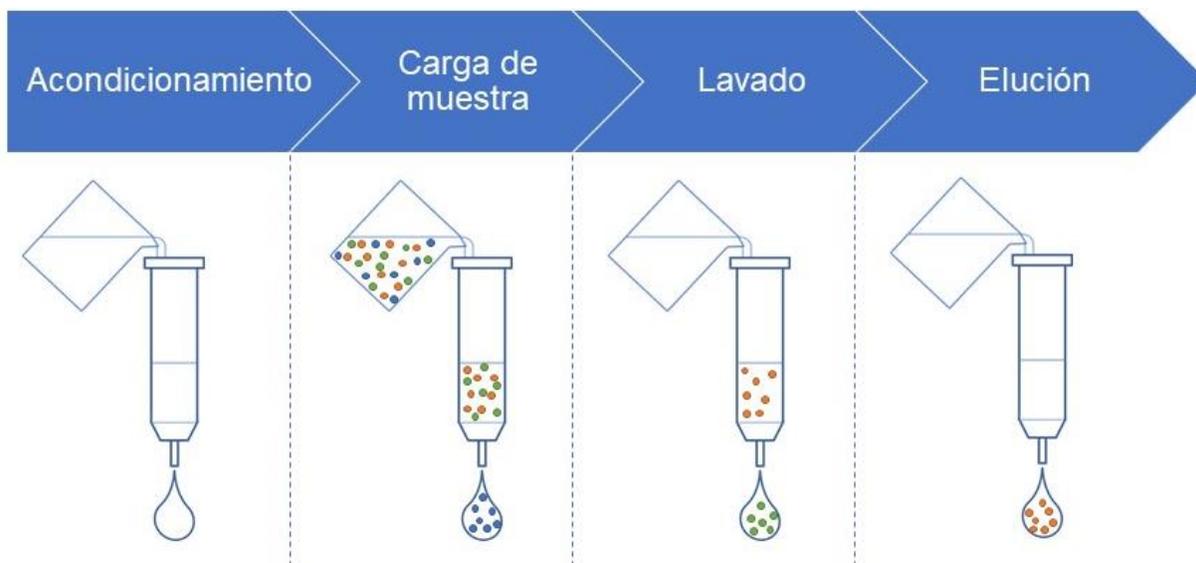


Figura 8. Esquema de preparación de muestra por extracción en fase sólida (SPE).

El primer paso de la extracción en fase sólida consiste en el acondicionamiento, en el que por medio de una o varias fases móviles se prepara al cartucho para retener al/los compuestos deseados. Usualmente al finalizar esta etapa se añade el disolvente en el que están las muestras, en un paso conocido como equilibrio.

Posteriormente se añade la muestra en la etapa de carga. En esta, el cartucho retendrá a los analitos de interés y otros compuestos indeseables. Con el objetivo de retirar la mayoría de los compuestos interferentes será necesario aplicar una etapa de lavado.

En este punto, idealmente sólo quedan los analitos de interés retenidos en la fase sólida del cartucho. Para retirarlo se recurre a la última etapa, la elución, en la que se utiliza un disolvente para eluir el analito deseado (Andrade-Eiroa et al., 2016).

Los cartuchos tienen distintas fases sólidas (adsorbentes) que hacen que retengan más distintos tipos de compuestos. Un cartucho común es el C18, que tiene una estructura idéntica a la de las columnas C18 en cromatografía, vistas más adelante en el acercamiento en la Figura 12.

Otros dos cartuchos comunes son los de la marca Oasis y Strata-X, que presentan una estructura polimérica y porosa tal como se observa en la Figura 9, en ellos existe una retención típica de la cromatografía en fase reversa en la que los compuestos menos

polares son retenidos. Ambos tipos de cartucho presentan una estructura lipofílica de divinilbenceno y en el caso de OASIS HLB, está copolimerizado con una molécula de mayor polaridad de vinil pirrolidona, lo que le confiere un mayor carácter hidrofílico.

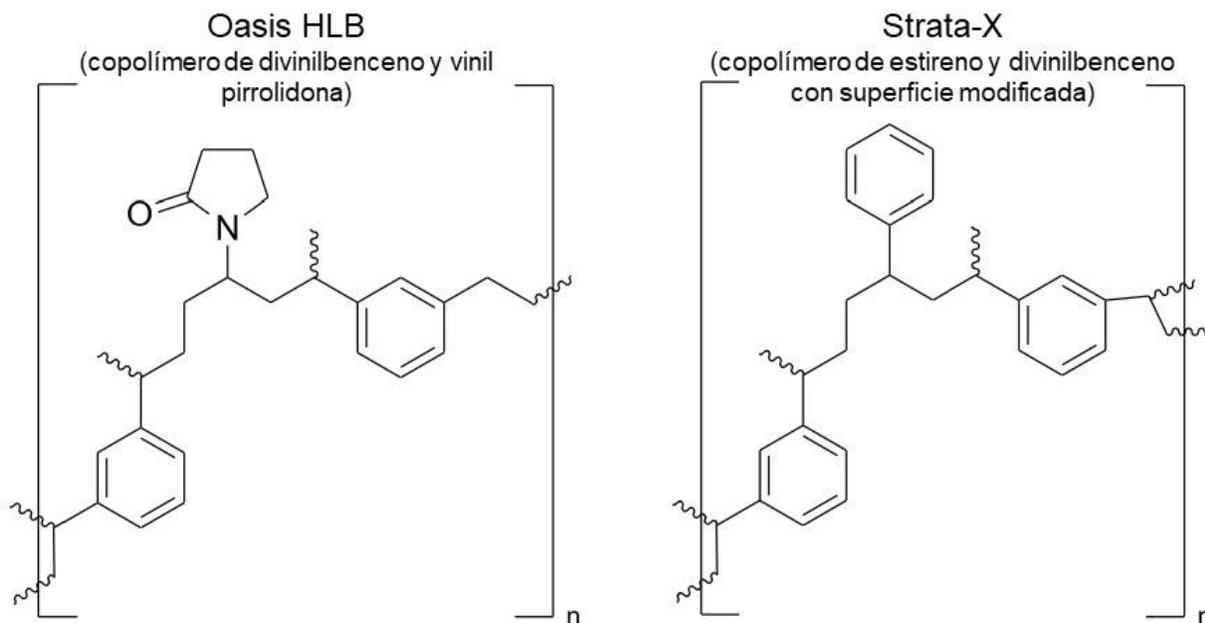


Figura 9. Estructuras de los cartuchos para extracción en fase sólida Oasis HLB y Strata-X (Qureshi et al., 2011).

En los casos en los que se desee retener selectivamente a un grupo de moléculas, los polímeros del material adsorbente pueden funcionalizarse. Particularmente, en el caso del cartucho de la marca Oasis, cuenta con otras cuatro variedades distintas, que se caracterizan por ser funcionalizaciones distintas del mismo copolímero de divinilbenceno y vinilpirrolidona. El cartucho más apto para retener ácidos fuertes, como lo son los PFCAs, es el “Oasis WAX” (Intercambio aniónico débil, por sus siglas en inglés), el cual tiene la estructura mostrada en la Figura 10 (Waters, 2004) . La piperazina de esta estructura tiene un pKa de 6.0, por lo que a valores de pH inferiores a este, se encuentra protonada e interacciona fácilmente con las bases débiles, favoreciendo la retención de los PFCAs.

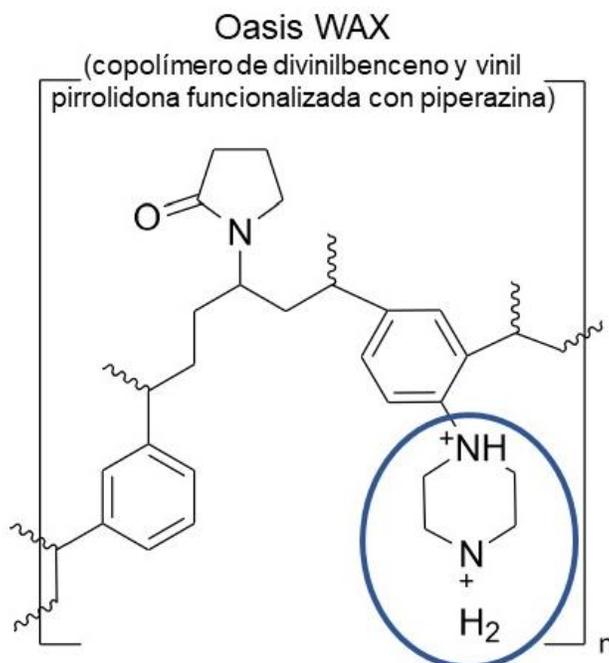


Figura 10. Estructura molecular del cartucho OASIS WAX. Se puede apreciar que se trata de la misma estructura que el cartucho OASIS HLB funcionalizado con piperazina (circulada en azul), la cual se protona en valores de pH ácidos permitiendo una retención de aniones negativos, usualmente provenientes de ácidos fuertes (Waters, 2004) .

Algunas de las ventajas de usar la SPE como método de preparación de muestra son las siguientes:

1. **Se limpia la muestra**, proporcionando menor interferencia al momento de hacer un análisis cuantitativo y reduce sustancialmente los componentes que pueden entrar el equipo y ensuciarlo o tapanlo.
2. **Se preconcentran** a los analitos de interés, ya que se puede eluir con un volumen menor al volumen de carga inicial.
3. **Se puede cambiar el disolvente inicial**, permitiendo así que se pueda controlar de una mejor forma la solución que entra en el equipo de análisis y maximizar la señal analítica obtenida.
4. **Se almacenan las** muestras que pueden ser inestables en una matriz líquida, no obstante, pueden brindar una mayor estabilidad al ser almacenados bajo congelación (Gallo et al., 1995).

5. **Se eliminan** interferencias analíticas propias de la matriz, mejorando así la sensibilidad y selectividad del método.

Entre sus desventajas están:

1. **Se reduce el recobro:** Al introducir más tratamientos previos al análisis, se introducen más procesos en los que hay pérdida de analito.
2. **Se disminuye la reproducibilidad:** De la misma forma, se presentan más lugares en los que puede haber errores aleatorios o sistemáticos, por lo que baja la reproducibilidad (Andrade-Eiroa et al., 2016).

Estas desventajas pueden ser reducidas al tener procesos optimizados, estandarizados y validados.

Cromatografía

La cromatografía es un método analítico que permite la separación física, identificación y cuantificación de analitos en una matriz líquida o gaseosa. Este proceso consiste en que los componentes por separar son disueltos en una fase fluida (llamada fase móvil) que fluye a través de una columna que contiene una fase sólida (denominada fase estacionaria). La primera se mueve a través de la segunda transportando a los componentes de una mezcla en una dirección definida favoreciendo diferencias entre los equilibrios de distribución entre los analitos y las fases involucradas. Estas diferencias en los equilibrios dependerán de las interacciones químicas involucradas y el flujo de la fase móvil, ocasionando que los componentes tengan distintas velocidades al pasar por la fase estacionaria, resultando en que, con el tiempo, se separen, en un proceso conocido como elución (Ahuja, 2003).

Una vez separadas las sustancias, son identificadas a través de un detector, el cual relaciona la concentración de cada sustancia con la señal analítica obtenida, la cual se grafica en función del tiempo con una forma similar a una curva normal (gaussiana), la cual es denominada pico cromatográfico. El conjunto de todos los picos obtenidos al realizar un análisis se conoce como cromatograma (Ahuja, 2003).

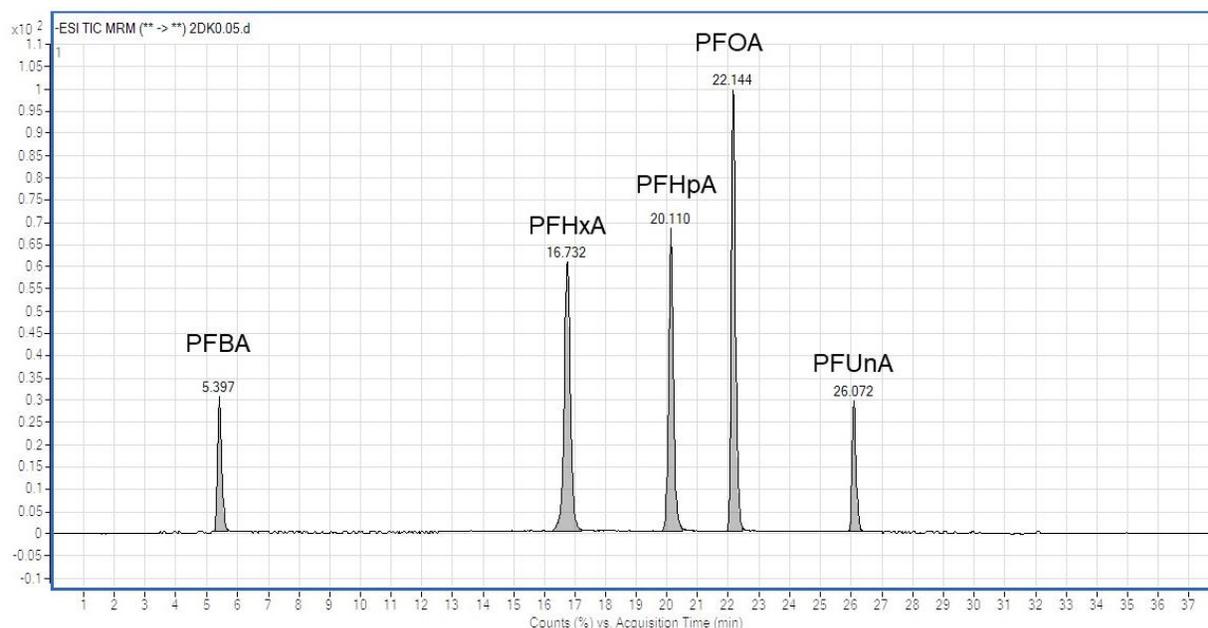


Figura 11. Cromatograma de PFCAs utilizados en el presente trabajo.

En el cromatograma observado en la Figura 11 se aprecia cómo los distintos compuestos se eluyen en tiempos distintos, y presentan una señal analítica de intensidad variable.

El área de cada pico es proporcional a su concentración, por lo que ésta se puede calcular usando análisis computacional para integrar cada pico.

No siempre los picos están bien definidos y separados los unos de los otros. Para obtener un cromatograma adecuado, es necesario optimizar las variables propias de la cromatografía, tales como los tipos de fase móvil y estacionaria utilizados, condiciones de presión y temperatura en la columna, tipo de detector, entre otros.

Para evaluar la eficiencia de una cromatografía, se puede hacer uso de variables típicas de un cromatograma, presentadas a continuación:

Tiempo muerto (t_0):

Es el tiempo requerido para que un componente que no haya sido retenido por la fase estacionaria salga de la columna y sea analizado.

Tiempo de retención (t_r):

Es el tiempo que transcurre entre que un analito es inyectado y analizado. Dado que los compuestos son representados por curvas normales, el tiempo de retención se refiere al tiempo en el que pasa el centro, o la punta, del pico, que en términos matemáticos es la media.

Tiempo de retención ajustado: (t'_r)

Es la diferencia entre el tiempo de retención y el tiempo muerto, representa el tiempo adicional que cada analito tomó para recorrer la columna comparado con un analito que no es retenido y se obtiene a través de la ecuación 1:

$$t'_r = t_r - t_0 \quad \text{Ecuación 1}$$

Factor de retención: (k)

Parámetro que relaciona la cantidad de analito en la fase estacionaria con el presente en la fase móvil. Cuando k es muy grande, el analito está predominantemente en la fase estacionaria, y es muy retenido, por lo que su tiempo de retención es alto. El caso contrario ocurre cuando el analito está predominantemente en la fase móvil. El parámetro k se puede obtener mediante las ecuaciones 2 y 3:

$$k = \frac{n_s}{n_m} \quad \text{Ecuación 2}$$

donde n_s es la cantidad de analito en la fase estacionaria y n_m es en la fase móvil. De igual forma se puede obtener este factor usando los tiempos muertos y de retención, mediante la siguiente ecuación:

$$k = \frac{t'_r}{t_0} \quad \text{Ecuación 3}$$

Ancho del pico en la base: (W)

Es la anchura medida en tiempo, usualmente minutos, de cada pico medida en su base, entre las dos tangentes de cada lado del pico. En un pico simétrico es igual a cuatro veces su desviación estándar (4σ).

Ancho del pico a la mitad de la altura: ($W_{1/2}$)

Es la anchura del pico medida a la mitad de su altura. En un pico simétrico corresponde a 2.354 veces la desviación estándar (2.354σ). Este valor es más fácil de calcular que el ancho del pico en la base.

Platos teóricos: (N)

Si se tratara a la columna cromatográfica como una columna de destilación, en la que se presentan múltiples platos, o espacios en donde ocurren equilibrios simultáneos de distribución entre la fase sólida y la estacionaria, este parámetro representaría cuántos platos habría en la columna. Esta es directamente una medida de la eficiencia de la columna. Entre mayor sea este número, mayor es la eficiencia de la columna. Se calcula con la ecuación 4:

$$N = \left(\frac{t_r}{\sigma}\right)^2 = 16 \left(\frac{t_r}{W}\right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_r}{W_{1/2}}\right)^2 \quad \text{Ecuación 4}$$

Altura de plato: (H)

Se refiere a la altura que tendría cada plato teórico en la columna (Ecuación 5). Un menor número indica una mejor eficiencia. Se obtiene dividiendo la longitud de la columna entre el número de platos teóricos:

$$H = \frac{L}{N} \quad \text{Ecuación 5}$$

Selectividad: (α)

Es la capacidad de medir con exactitud un analito en presencia de otros, para permitir una cuantificación confiable. Se obtiene con la ecuación 6.

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_2}{t'_1} \quad \text{donde } t'_2 > t'_1 \quad \text{Ecuación 6}$$

Resolución: (R_s)

La resolución de dos picos que se encuentran próximos es una magnitud que se refiere a qué tan separados están, permitiendo así analizar cada pico por su propia cuenta.

Cuando $R_s \geq 1.5$, se puede decir con certeza que los dos picos analizados están completamente separados. Cuando $R_s = 1$, existe un 2 % de traslape, asumiendo que sean picos gaussianos perfectos. Se calcula con la ecuación 7.

$$R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{(W_1 + W_2)} \quad \text{Ecuación 7}$$

La resolución también puede ser asociada a los factores de retención, selectividad y a los platos teóricos mediante la siguiente ecuación 8.

$$R_s = \frac{1}{4}(\alpha - 1)\sqrt{N} \frac{k}{(k+1)} \quad \text{Ecuación 8}$$

Se puede observar cómo mejorando las variables α , N o k se mejora el cromatograma. (Lundanes et al., 2014)

HPLC

La cromatografía líquida de alta presión (o alta eficiencia) (HPLC, por sus siglas en inglés) es un tipo de cromatografía en la que la fase líquida pasa a altas presiones a través de una columna sólida e impermeable facilitando así la separación de los componentes. La mayoría de las separaciones cromatográficas en HPLC son en lo que se conoce como fase reversa, en la que la fase estacionaria es no polar, y la fase móvil es polar. En la Figura 12 se muestra un esquema de un equipo común de HPLC.

Diagrama general de equipo de HPLC

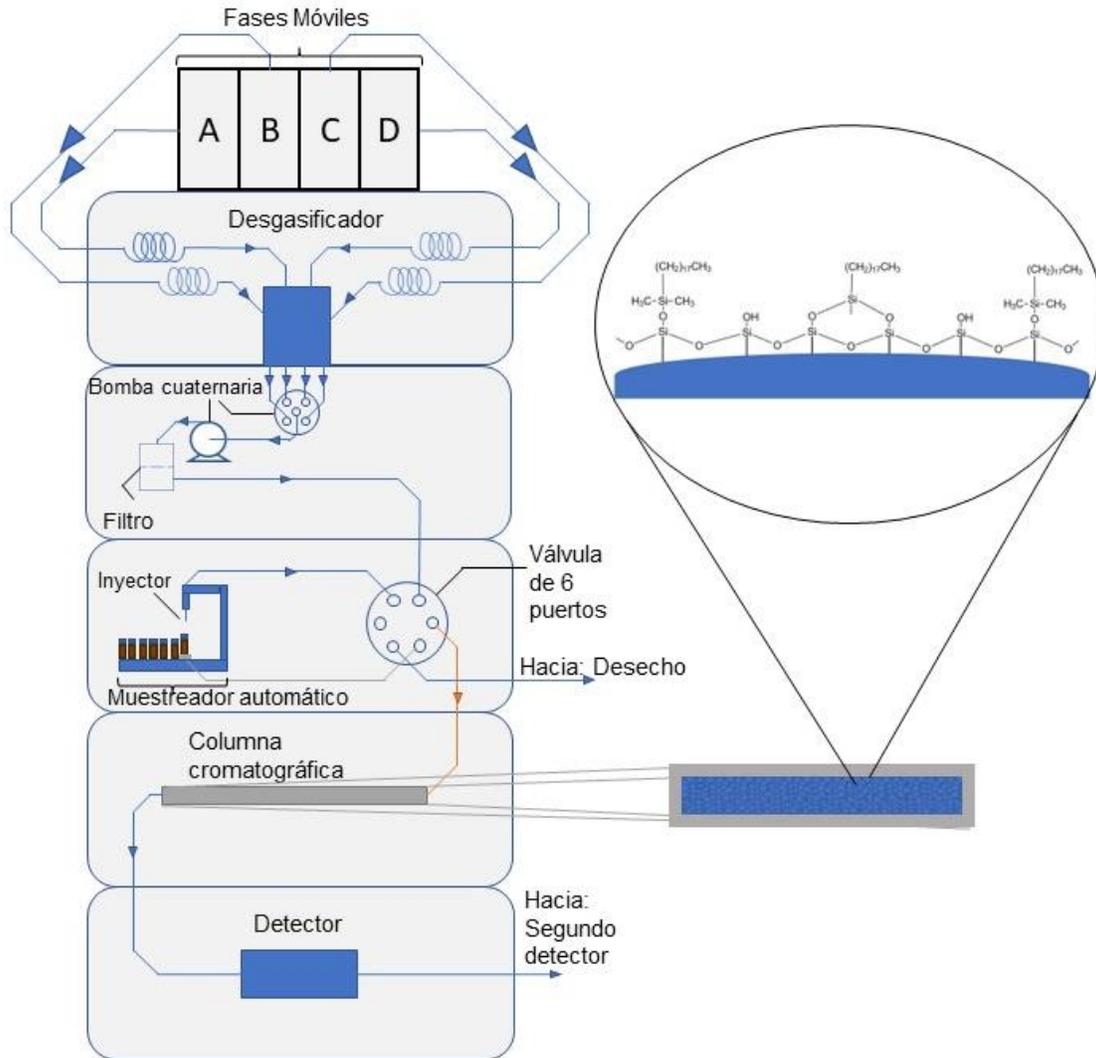


Figura 12. Diagrama general de equipo de HPLC, con un aumento en la columna y en la estructura superficial de cada una de sus partículas, que en este diagrama representa una columna conocida como C18, llamada así por ser cadenas alifáticas de 18 átomos de carbono enlazadas a una matriz de sílica.

Tal y como se ve en la Figura 12, el funcionamiento de un equipo de HPLC requiere de una o más fases móviles en diferentes proporciones, que pasan a través de un desgasificador para eliminar cualquier gas que tengan disuelto. Posteriormente se combinan y movilizan mediante una bomba, y después pasan a través de un filtro. Paralelamente, mediante un inyector, se introduce la muestra al sistema. Posteriormente, tanto la muestra como la fase móvil entran a la válvula de seis puertos, en donde se

combinan. Aquí pasan a través de la columna cromatográfica y posteriormente pasan por un detector, quién registra una señal analítica y la envía a una computadora para su graficación.

Al considerar estas diferencias y la naturaleza de volatilidad y polaridad variables de los PFCAs y con el objetivo de evitar el paso de derivatización, en el que puede haber pérdidas de analito, se optó por utilizar HPLC acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo.

Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una técnica que permite la detección de la masa molecular de un compuesto mediante la determinación de un ion característico dividido entre su carga eléctrica (m/z). Esta técnica permite la identificación de compuestos orgánicos que puedan ser transformados de fase líquida a gaseosa y susceptibles a ionización.

Análisis de masa

En este proceso la fase móvil que contiene a los analitos entra a un capilar al que se le aplica alto voltaje (+5kV o -5kV). En la salida del capilar un gas nebulizador entra a la mezcla para facilitar la formación de gotas. Estas gotas están altamente cargadas, y van explotando en pequeñas gotitas repetidamente hasta que quedan iones individuales en fase gaseosa. Una vez ionizada la muestra, el siguiente paso en la espectrometría de masas es discernir entre las distintas especies. Para esto existen distintos analizadores de masa, siendo el más utilizado el Analizador de cuadrupolo (MS).

En este analizador, los iones entran a un campo eléctrico oscilatorio generado por cuatro varillas posicionadas en un arreglo cuadrado. Ambos pares opuestos están conectados eléctricamente, y, al aplicar cierta corriente directa y frecuencia de radio a un par, y la corriente y frecuencia opuestas en el otro par, se genera un campo eléctrico oscilatorio que sólo permite a los iones con trayectoria estable atravesarlo. De modo que, sólo los

iones con una relación de masa/carga (m/z) definida son estables y pueden ser detectados.

Para alcanzar una mayor sensibilidad y selectividad en el análisis es posible acoplar dos cuadrupolos y una cámara de colisión, a este tipo de análisis se les llama análisis de masa tándem (MS/MS) (Waters Corporation, 2019). Los analizadores de masa tipo tándem (MS/MS) tienen la gran ventaja de gozar con diferentes modos de adquisición (Tabla 2), lo cual, brinda una versatilidad de análisis capaz de mejorar la sensibilidad y la selectividad sustancialmente, además de conducir experimentos tanto exploratorios como específicos que los convierte en la alternativa ideal para determinar PFCAs en el medio ambiente (Figura 13).

Tabla 2. Distintos modos de operación de un espectrómetro de masas y su relación con los modos de los tres componentes. Scan significa que el cuadrupolo está haciendo un barrido de un intervalo de masas que deja pasar, mientras que “estático” significa que el cuadrupolo sólo deja pasar un ion con una masa específica. Fuente: (Waters Corporation, 2019).

Modo	Cuadrupolo 1	Celda de colisión	Cuadrupolo 3
Full Scan	Sin filtrar	Apagada	Scan
Monitoreo de Ion Simple (SIM)	Sin filtrar	Apagada	Estático
Scan de Ion precursor	Scan	Encendida	Estático
Scan de ion producto	Estático	Encendida	Scan
Pérdida Neutral	Scan	Encendida	Scan
Monitoreo de reacciones múltiples (MRM)	Estático	Encendida	Estático

En la Figura 13, se ejemplifica el proceso de análisis de masas de un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (MS/MS) operado en el modo de adquisición de monitoreo de reacción múltiple (MRM). La muestra ingresa al equipo por medio del ionizador de

electrospray, el cual, mediante la aplicación de una diferencia de potencial entre la aguja y el orificio de entrada, separa la muestra en iones individuales. Posteriormente, los iones son acelerados e introducidos al analizador de masas (cuadrupolo), el cual deja pasar a los iones de una determinada relación masa/carga (m/z).

Posteriormente los iones seleccionados pasan a través de una celda de colisión, en donde se producen colisiones entre los iones con partículas de gas inerte (N_2) para promover la segunda fragmentación de los iones. Posteriormente, estos fragmentos pasan por un tercer cuadrupolo, que tiene un funcionamiento idéntico al primero, en él, los fragmentos seleccionados son separados hasta entrar en un detector, comúnmente un multiplicador de electrones y la señal pasa a una computadora para ser analizada.

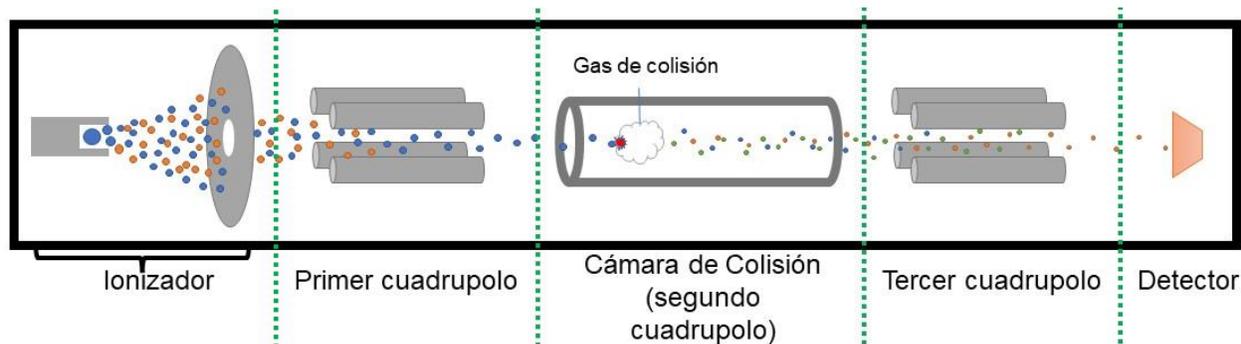


Figura 13. Diagrama general de un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (MS/MS).

Al acoplar el método HPLC con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo se obtiene un método de cuantificación sumamente eficiente, ya que combina la separación física de los analitos proporcionada por la HPLC con la separación, sensibilidad y especificidad ofrecida por el espectrómetro de masas, dando como resultado la obtención de cromatogramas y perfiles de masa altamente específicos, exactos y precisos.

II.3 Historia del arte de metodologías para determinación de PFCAs en matrices de agua ambiental

En la Figura 14, se aprecia que las metodologías analíticas utilizadas para determinar el contenido de PFCAs en matrices acuosas han sido conducidas en gran medida por extracción en fase sólida, seguida por la cromatografía líquida de alto rendimiento con detección mediante espectrometría de masas tándem (SPE-HPLC-MS/MS). La gran mayoría de estos estudios reportan recobros superiores al 60 % tal y como es visto en la Figura 15.

Acorde a la Figura 14 y Figura 15, de los 99 estudios consultados entre 2005 y 2022 que reportan PFCAs, 69 reportan su metodología, y de éstos, 25 estudios hicieron uso de la metodología SPE-HPLC-MS/MS.

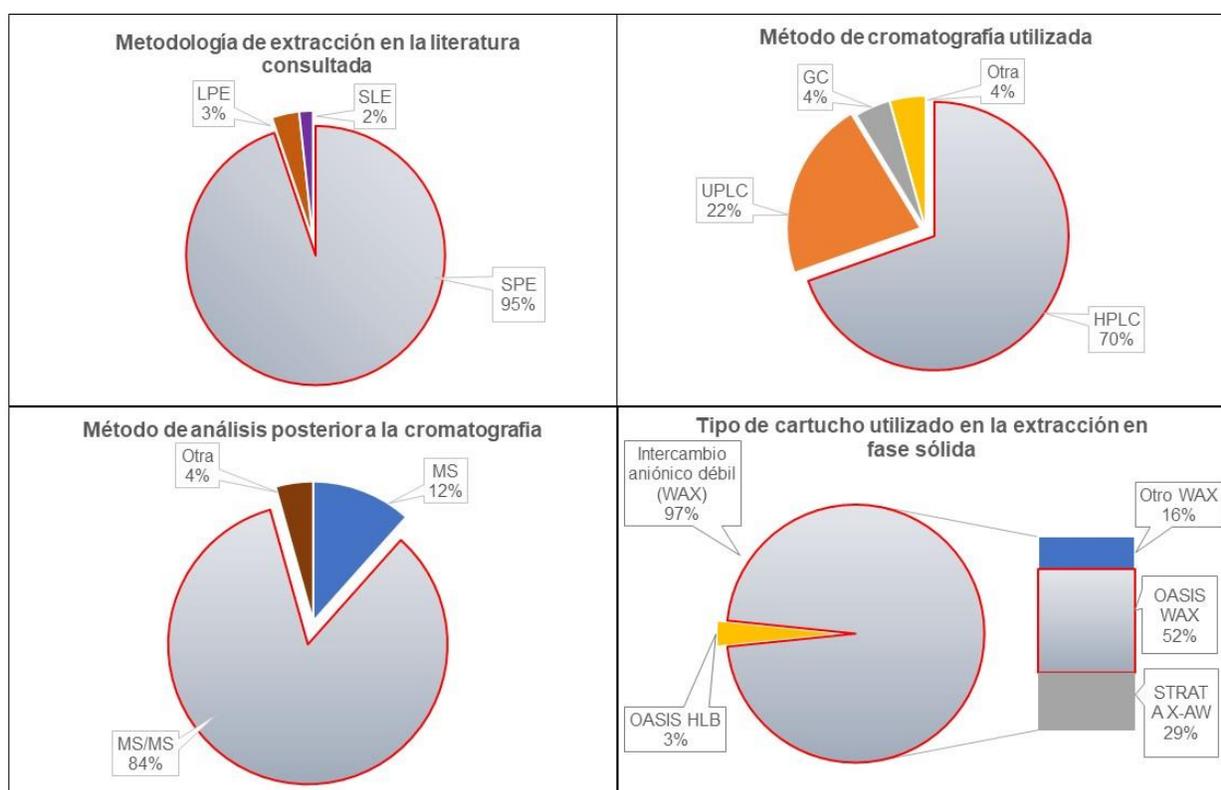


Figura 14: Resumen de las metodologías utilizadas en publicaciones sobre la medición de PFCAs en aguas de distinta índole, tales como agua marina, lacustre, de río, residual, residual tratada y potable. De las 99 fuentes utilizadas para elaborar las figuras 5, 6 y 7,

en 69 matrices distintas se menciona qué método de cromatografía y qué detector utilizaron. 58 mencionan la extracción y 31 mencionan el tipo de cartucho utilizado de extracción en fase sólida. De estos estudios, 25 hicieron uso de la metodología SPE-HPLC-MS/MS utilizada en este estudio (Ahrens et al., 2016; Allinson et al., 2019; Arinaitwe et al., 2021; Baabish et al., 2021; Campo et al., 2015b, 2016b; Chen et al., 2017; Chow et al., 2021; Coggan et al., 2019; Desclos & Gibson, 2021; Elmoznino et al., 2018; Gao et al., 2019; Gu et al., 2021; Hong et al., 2013; Hope, 2020; Kaboré et al., 2018; Kim et al., 2021; Lam et al., 2017; Lee et al., 2020; Li et al., 2022; Liu, 2018; Macinnis et al., 2022; Morales-McDevitt et al., 2022; Naile et al., 2010; Pan et al., 2018; Pico et al., 2012; Rayne & Forest, 2009; M. Rodríguez-Varela et al., 2021; Si et al., 2021; Tavasoli et al., 2021; Thompson et al., 2011b; S. Wang et al., 2018; Y. Wang et al., 2019; Xie et al., 2021; Xu et al., 2021; Yamazaki et al., 2021; Yang et al., 2020; Zhao et al., 2016).

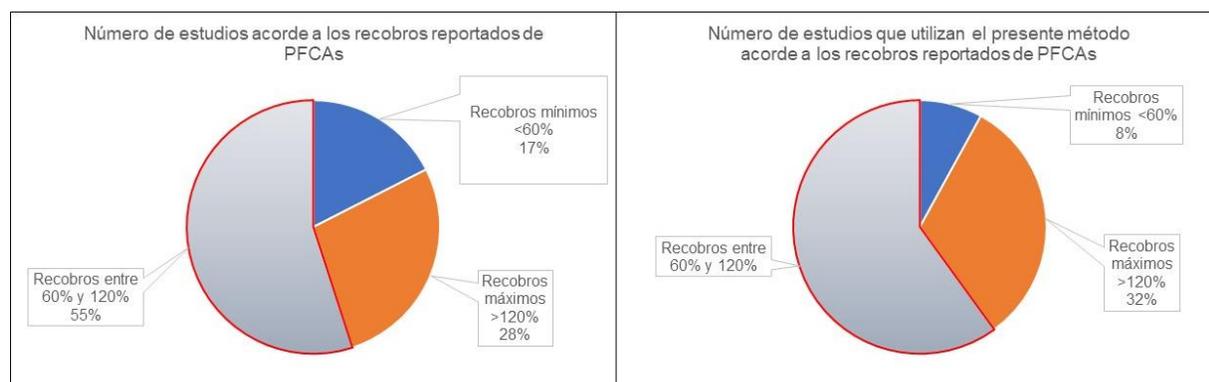


Figura 15: Análisis bibliográfico del número de estudios que reportan recobros de PFCAs. Cabe destacar que, de los 69 estudios que reportaron metodología, sólo 40 reportaron los recobros. De estos 40, 25 utilizaron el método SPE-HPLC-MS/MS utilizado en este trabajo (Ahrens et al., 2016; Allinson et al., 2019; Arinaitwe et al., 2021; Baabish et al., 2021; Campo et al., 2015b, 2016b; Chen et al., 2017; Chow et al., 2021; Coggan et al., 2019; Desclos & Gibson, 2021; Elmoznino et al., 2018; Gao et al., 2019; Gu et al., 2021; Hong et al., 2013; Hope, 2020; Kaboré et al., 2018; Kim et al., 2021; Lam et al., 2017; Lee et al., 2020; Li et al., 2022; Liu, 2018; Macinnis et al., 2022; Morales-McDevitt et al., 2022; Naile et al., 2010; Pan et al., 2018; Pico et al., 2012; Rayne & Forest, 2009; M. Rodríguez-Varela et al., 2021; Si et al., 2021; Tavasoli et al., 2021; Thompson et al., 2011b; S. Wang et al., 2018; Y. Wang et al., 2019; Xie et al., 2021; Xu et al., 2021; Yamazaki et al., 2021; Yang et al., 2020; Zhao et al., 2016).

Ventajas del uso de HPLC frente a la cromatografía de gases:

En la figura 14 se puede apreciar cómo la mayor parte de estudios de PFCAs en matrices ambientales utilizan las cromatografías de líquidos y de gases como estrategia de cromatografía.

Ambos tipos de cromatografía son muy utilizados para el análisis de distintos tipos de compuestos, sin embargo, para el caso particular de los compuestos a estudiar, se prefiere la de líquidos (Bootman, 2021). Esto se debe a los siguientes factores:

En la cromatografía de gases, es necesario:

- Derivatizar a los PFCAs para promover un incremento en la volatilidad de los derivados para promover su extracción y/o detección vía CG.
- Realizar un estudio de estabilidad de derivados que brinde información sobre las temperaturas en las que se debe conducir el análisis CG.

Mientras que en HPLC:

- Los PFCAs serán analizados directamente sin derivatización, reduciendo la preparación.
- Al evitarse la derivatización, se disminuyen pérdidas adicionales de analito.
- Los compuestos a analizar pueden o no ser volátiles, útil al considerar las volatilidades diversas de la serie homóloga de PFCAs a analizar.
- La separación puede ser conducida a temperatura ambiente, evitando degradación de los compuestos a temperaturas altas.

II.4 Validación

Acorde a la administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos (FDA) (Fda & Cder, 2018), para poder asegurar que un método de análisis es confiable, se debe brindar información experimental que demuestre que el método desarrollado sea capaz de: 1) Medir a los analitos que se desean medir en las condiciones que se requieran, 2) mostrar que la variabilidad, la repetibilidad y la reproducibilidad del método son aceptables de acuerdo a las necesidades del análisis y 3) describir el procedimiento experimental que permite obtener los resultados con el nivel de confianza deseado. En este sentido, la validación es un proceso en donde se desarrollan, optimizan, implementan y evalúan las condiciones experimentales de un método de cuantificación previo a su utilización para la determinación de analitos en una muestra, tal como se representa en la Figura 16. Este es un proceso constante en el que se mide mediante

pruebas de desempeño cuantitativas si el método cumple con las condiciones experimentales deseadas. Si estas no se cumplen, se modifica y corrige el desarrollo experimental, haciendo de esto un proceso iterativo hasta que se cumplan las condiciones requeridas y el método se considere validado.

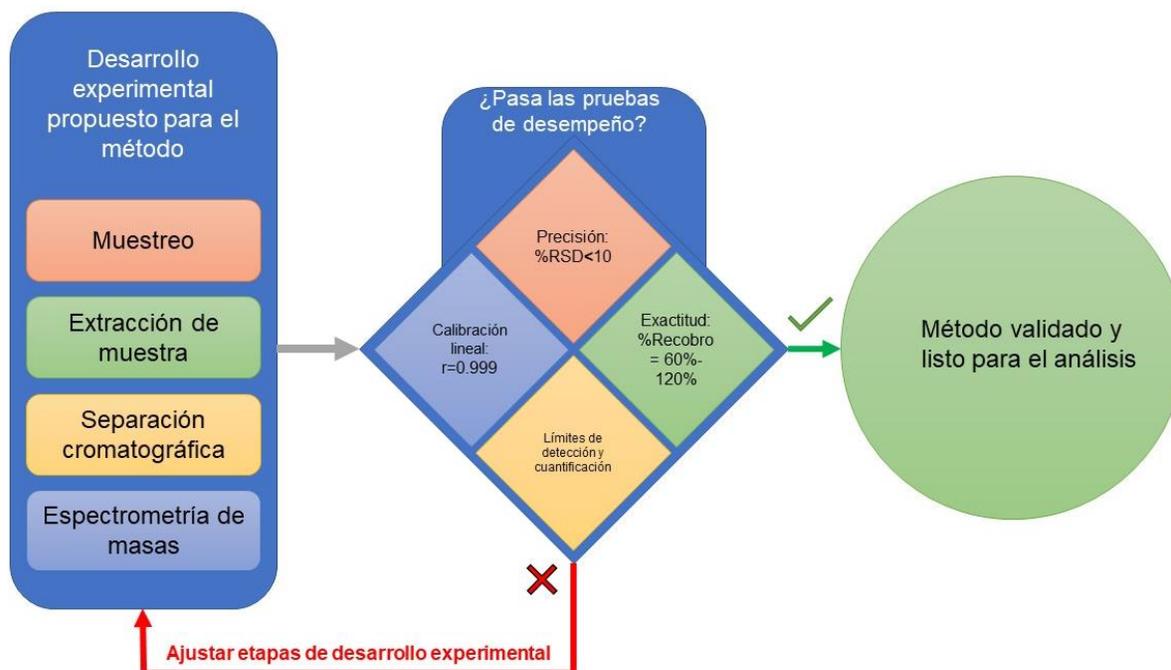


Figura 16. Diagrama de proceso general de validación de un método. Tomado de Lazos Martínez & Hernández Gutiérrez, 2004 y modificado para el presente trabajo.

II.V Sitio de Estudio

El complejo lacustre de Lagunas de Montebello está conformado por más de 60 lagos de origen Kárstico (Caballero, 2020) ubicados al sureste del estado de Chiapas, en los municipios de La Trinitaria y La Independencia, y al noroeste del departamento de Huehuetenango, Guatemala (Figura 17). Estos lagos son parte de un parque nacional y de un sitio RAMSAR.

Estos lagos reciben el flujo de agua residual (AR) de numerosas localidades de la cuenca del Río Grande de Comitán, siendo la ciudad de Comitán (la cuarta ciudad más poblada del estado) la que proporciona el mayor caudal. A partir del año 2003, los pobladores

locales notaron que una gran parte de los lagos se volvieron más turbios y empezaron a presentar olores fétidos (Alcocer, 2021). El complejo lacustre está dividido en dos grupos, el primero consiste en los lagos considerados como “afectados” por el AR de forma directa, los cuales se encuentran interconectados por cauces naturales y artificiales y son los que reciben las aguas de la cuenca. Éstos se encuentran en una zona de planicies al noroeste del conjunto. El primer lago de este grupo es Balamtetik y siguiendo la corriente río abajo, pasando por otra docena de cuerpos de agua, se llega al lago Bosque Azul, a partir del cual el flujo se vuelve subterráneo, moviéndose a través de la cuenca hasta llegar finalmente al río Usumacinta desembocando en el Golfo de México (CONAGUA, 2009).

El segundo grupo está conformado por los lagos que aparentemente no son afectados directamente por las AR de la cuenca y son denominados “lagos prístinos”. Estos lagos se encuentran a una mayor elevación que los del primer grupo al sureste del conjunto, en un terreno más accidentado, y no están interconectados de forma superficial. La mayoría de estos lagos no cuenta con actividad humana considerable, a excepción del lago Tziscaco, el cual, al estar localizado en el cruce de la frontera internacional entre México y Guatemala, hace que dicho lago sea el más poblado del grupo de los prístinos propiciando una posible contaminación antropogénica.



Figura 17. Ubicación de las Lagunas de Montebello en el Parque Nacional Lagunas de Montebello, al igual que su situación en Chiapas y Guatemala. Los lagos analizados en este estudio se encuentran subrayados con color rojo (Elaboración propia, usando datos de Open Street Maps y de Caballero et al. (2022)).

Capítulo III: Metodología

III.1 Selección de compuestos a analizar

Debido a su presencia en prácticamente todos los biomas y su estabilidad ambiental, se seleccionaron algunos PFCAs con diferente longitud de cadena alquílica como compuestos por monitorear. En particular, se eligieron aquellos compuestos que han sido producidos y utilizados mayoritariamente a través del tiempo como el PFOA; algunos que han sido implementados en los últimos 15 años, tales como el PFBA, PFHxA y el PFHpA; y compuestos vinculados al uso industrial como PFUnA. Se considera que los compuestos de este tipo de 4 y 6 átomos de carbono son de cadena corta, y de 8 y 11 carbonos de cadena larga, siendo el PFHpA de cadena intermedia de 7 átomos de carbono.

III.2 Estándares, reactivos y disolventes

Los estándares de los ácidos carboxílicos analizados se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri) y fueron los siguientes: ácido perfluorobutanoico (PFBA, ≥ 98 % pureza), ácido perfluorohexanoico (PFHxA, ≥ 98 % pureza), ácido perfluoroheptanoico (PFHpA, 99 % pureza), ácido perfluorooctanoico (PFOA, 98 % pureza) y ácido perfluoroundecanoico (PFUnA, 95 % de pureza).

Los reactivos y disolventes fueron comprados a la misma compañía, y son los siguientes: acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, ≥ 99 % pureza, HPLC), hidróxido de amonio (NH_4OH , 28-30 % pureza), metil ter-butil éter (MTBE, ≥ 99.8 % pureza, HPLC), el metanol, acetonitrilo y agua utilizados, fueron grado HPLC.

III.3 Instrumentación

- Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia Agilent 1620, Infinity series (Agilent Technologies ®) acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Agilent 6420 (Agilent Technologies®).
- Extractor multi-muestra Manifold marca Waters® (Milford, Massachusetts, USA).
- Centrífuga con rotor de 6 x 150 mL de 11, 000 rpm marca Eppendorf.
- Purificador y desionizador de agua Miling marca Merck®, modelo Elix reference 5.

- Balanza analítica con capacidad de 0.0001-250 g, marca Ohaus®, modelo explorer.
- Dispensador de nitrógeno de seis vías Mini-vap marca Supelco (Bellefonte, Pennsylvania, USA).
- Nucleador de Gravedad marca UWITEC, modelo USC 06000.
- Tubos de PVC transparentes para nucleador de 8.6 cm de diámetro.

III.4 Columnas y cartuchos

- Columna pre guarda Zorbax SB-C8 (2.1 x 30 mm, con un tamaño de partícula de 1.8 μm) marca Agilent Technologies.
- Columna cromatográfica Zorbax SB-C18 (4.6 x 150 mm, con 3.5 μm de tamaño de partícula) marca Agilent Technologies.
- Cartuchos de extracción en fase sólida Oasis WAX® 6 cc, con 150 mg de sorbente de extracción y 30 μm de tamaño de partícula, Waters® (Milford, Massachusetts, USA).

III.5 Materiales

- Filtros de acero inoxidable, Agilent Technologies®.
- Adaptador de bomba binaria de acero inoxidable, Agilent Technologies®.
- Tubos para centrífuga de polipropileno (PP) con una capacidad de 150 cc, Thermo Scientific.
- Filtros de Nylon de tamaño de poro de 0.45 μm marca Milipore®.
- Botellas de polipropileno (PP) color ámbar con capacidad de 250 mL.

III.6 Software

- El análisis de los espectros de masa se realizó con el programa MassHunter versión 5.3 (Agilent Technologies).
- El análisis estadístico de los resultados se hizo con el programa Statgraphics Centurion XVI.I (Statgraphics Inc.), al igual que con Microsoft Excel 2021.

III.7 Sitios de muestreo de agua

Se eligieron puntos de toma de muestra localizados tanto en los lagos afectados como en los prístinos. Asimismo, se tomaron muestras de agua superficial como columnas de agua en el fondo de cada lago. La Figura 17 muestra los sitios de muestreo considerados para esta investigación.

Los puntos de toma de muestra de aguas superficiales para el grupo de lagos prístinos fueron los lagos:

- Montebello.
- Tzisco.

Los puntos de toma de muestra de aguas superficiales para el grupo de lagos afectados fueron los lagos:

- Balamtetik.
- Bosque Azul.

De igual forma se tomó agua proveniente de la zona del fondo de los lagos Montebello y Bosque Azul (Figura 18), la cual se obtuvo a una profundidad de 30 metros en la zona más cercana posible al centro de cada lago.

Las muestras de agua se tomaron el mes de noviembre del 2019, para ello, se utilizaron botellas de polipropileno de 250 mL color ámbar, las cuales fueron previamente lavadas y acondicionadas de acuerdo con lo descrito por M. R. I. Rodríguez-Varela (2022), con el objetivo de reducir el número de interferentes propios de los materiales y efectos de contaminación cruzada. El lavado de los recipientes se hizo por triplicado, siendo el primero de ellos con una disolución de metil ter-butil éter, seguido por un lavado con una disolución de hidróxido de amonio en metanol (0.1 % v/v), finalizando con un lavado con agua de grado HPLC, todo esto acorde con las recomendaciones señaladas por Shoemaker et al. (2009).

La toma de las muestras de agua superficiales se hizo de acuerdo con lo señalado por el método 537 “Determinación de ácidos alquílicos perfluorados en agua potable por

extracción en fase sólida y cromatografía de líquidos en conjunto con espectrometría de masas” (LC/MS/MS) de la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) (Shoemaker et al., 2009) con algunas adaptaciones de la norma mexicana NMX-AA-014-1980, donde se especifican las condiciones de muestreo para cuerpos receptores con algunas adecuaciones dependiendo del sitio.

La toma de muestra de agua superficial se realizó tomando tres muestras aleatorias en el centro y costas del lago. Previo a la toma de muestra, los recipientes se lavaron por triplicado utilizando el agua del punto de muestra seleccionado. Posteriormente, se tomó 1 L de muestra asegurando que no quede aire en ella y se le adicionaron 2 mL de MeOH y 1 mL de ácido nítrico para evitar la formación de microorganismos.

Las tomas de muestras de agua del fondo se realizaron a una profundidad de 30 metros, lo más cercano posible de cada centro de los lagos Bosque Azul y Montebello por medio de un nucleador de gravedad, el cual es un equipo que, por medio de un sistema de pesas, logra obtener una columna, también llamada núcleo, de sedimento del fondo del lago, estabilizado en su parte superior con una capa de agua del fondo, como se ve en la Figura 18.



Figura 18. Fotografía de núcleo de sedimento. En la parte superior del cilindro se observa el agua del fondo analizada en este estudio (Laboratorio de Paleolimnología, UNAM, 2020).

III.8 Pre y tratamiento de muestra

Una vez tomadas las muestras, éstas deben adecuarse para su análisis. En una primera instancia, las muestras se centrifugaron a 10,500 RPM por 10 minutos, el remanente acuoso se filtró a través de dos membranas de nylon de 0.45 y 0.22 μm . Los filtros fueron

pretratados previamente por inmersión en el agua de los lagos durante 24 h antes de su uso.

Posteriormente los PFCAs se extrajeron, purificaron y reconcentraron por lotes mediante la técnica de extracción en fase sólida, acorde con lo descrito por M. Rodríguez-Varela et al. (2021).

Para ello, se utilizaron cartuchos de intercambio aniónico débil Oasis WAX[®] de 6 cc, los cuales se acondicionaron con 5 mL de hidróxido de amonio en metanol (NH₄OH 0.1 % v/v), seguidos por 5 mL de metanol y 5 mL de agua de grado HPLC. Posteriormente, se cargaron 250 mL de las muestras de agua superficial y del fondo lacustre a un flujo de 5 mL/min.

Después, los cartuchos cargados se purificaron haciendo pasar 5 mL de acetato de amonio en agua (NH₄CH₃CO₂ 0.1% v/v) ajustado a un pH = 9.2, seguido por 5 mL de una mezcla agua-metanol 95:5 % v/v.

La elución de los PFCAs objetivo de los cartuchos se realizó únicamente utilizando gravedad con 6 mL de hidróxido de amonio en metanol (NH₄OH 0.1 % v/v). Los extractos fueron evaporados con N₂ de ultra alta pureza con un flujo aproximado de 30 mL/min, posteriormente, se reconstituyeron con 250 µL de fase móvil cromatográfica y se transfirieron a insertos de análisis de 300 µL, los cuales se introdujeron en viales cromatográficos de 2 mL.

III.9 Determinación de los compuestos mediante HPLC-MS/MS

La separación cromatográfica se hizo utilizando un HPLC (Agilent 1620-Infinity Series, Agilent Technologies) acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (6420, Agilent Technologies), mediante una ionización por electrospray operado en modo negativo (ESI-).

Es importante señalar que debido a que algunas partes del sistema HPLC-MS pueden actuar como fuentes de ingreso de PFCAs al sistema, ya que posee aditamentos compuestos por politetrafluoroetileno (PTFE o Teflón[®]), el cual, es un compuesto

derivado de los ácidos carboxílicos perfluorados, fue importante cambiar los filtros de la fase móvil, la válvula de purga y la frita por sus homólogos de acero inoxidable y adaptando una columna de guarda Zorbax SC-C8 (2.1 × 30 mm, 1.8 µm de tamaño de partícula) con el objetivo de reducir la contribución de PFCAs del instrumento al método.

Identificación y optimización de iones fragmento de seguimiento de los PFCAs en el equipo

Para determinar los parámetros óptimos de operación del cromatógrafo y del espectrómetro de masas, primero se preparó una muestra de 1 mg/L de cada PFCA en metanol, se traspasó 1 mL de ésta a un vial ámbar de HPLC, y se inyectaron 10 µL por cada prueba realizada.

Posteriormente se optimizó el espectrómetro de masas. Para ello, se utilizó el modo de adquisición SCAN o barrido completo de iones, aplicado en el intervalo de 50 - 600 m/z. En esta etapa inicial se utilizó el modo de ionización con electrospray negativo, un voltaje de fragmentación de 70 V, un voltaje capilar de - 4000 V, una presión de nebulizador igual a 11 psi, temperatura de 300°C y flujo de gas de secado igual a 11 L/min.

Una vez identificados los iones moleculares, el pico base y los fragmentos más estables, se aplicó un barrido de ion fragmento utilizando el modo ion producto. En el cual se filtra únicamente un ion en el primer cuadrupolo, en este caso, el ion molecular de cada PFCA, posteriormente se fragmenta en el segundo y se cuentan todos los posibles fragmentos en un intervalo determinado de masa. En esta etapa se aplicó una energía de colisión de 20 eV, un voltaje de fragmentación de 135 V y un voltaje de aceleración de 4 V. El barrido de iones comprendió el intervalo 40 - 1000 m/z. En la Tabla 3 se muestran los iones precursores, fragmento y confirmación seleccionados para cada PFCA.

Tabla 3. Iones precursor, fragmento y confirmación seleccionados de cada PFCA.

Compuesto	Ion precursor (m/z)	Ion Fragmento (m/z)	Ion de confirmación (m/z)
PFBA	212.9	168.9	N.d.
PFHxA	313	269	119
PFHpA	362.9	319	169
PFOA	412.9	369	169
PFUnA	562.9	519	169

N.d.= No disponible. No existe un ion producto observable para este compuesto

Una vez seleccionados los iones producto, se utilizó el modo de adquisición de monitoreo de reacciones múltiples (MRM) con el cual se optimizaron los parámetros instrumentales del espectrómetro de masas procurando siempre maximizar la señal analítica obtenida mediante el uso de iones fragmento precursores y producto. Los parámetros evaluados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros evaluados en el espectrómetro de masas.

Parámetro Instrumental	Niveles evaluados
Voltaje de fragmentación (V)	65, 70, 75, 105, 135
Energía de colisión (eV)	0, 3, 5, 9
Voltaje de aceleración (V)	0, 2, 4, 7
Dwell (m/s)	50, 100, 200

Análisis cromatográfico

La separación cromatográfica se hizo de acuerdo con lo señalado por Rodríguez-Varela et al. (2021) y Rodríguez-Varela (2022). Para ello, se utilizó una columna cromatográfica ZORBAX SB-C18 (4.6 × 1500 mm y 3.5 μm de tamaño de partícula). La fase móvil estuvo compuesta por una mezcla de disolventes donde el disolvente A fue acetato de amonio en agua (NH₄CH₃CO₂, 0.001 M) y la fase B se conformó por acetato de amonio en metanol (NH₄CH₃CO₂, 0.001 M). La elución cromatográfica se condujo aplicando el siguiente gradiente:

- 40 % de B por 5 minutos.
- Incremento de B lentamente hasta 100 % durante 20 minutos.
- 100 % de B por 5 minutos.
- Decremento de B hasta 40 % durante 3 minutos.
- 40 % de B por 5 minutos.

Optimización de los parámetros de HPLC-MS/MS dependientes de la fase móvil

Terminado esto, se procedió a optimizar los parámetros que exhiben una dependencia con respecto a la fase móvil. Los niveles evaluados para estos parámetros son mostrados en la Tabla 5.

Tabla 5. Niveles evaluados en la optimización de parámetros del equipo de HPLC.

Parámetro Instrumental	Niveles evaluados
Temperatura del gas de secado (°C)	200, 250, 300
Flujo del gas de secado (L/min)	7, 9, 11, 13
Presión del nebulizador (psi)	9, 12, 15
Voltaje capilar (V)	1000, 4000, 7000
Volumen de inyección (µL)	5, 10

Reducción de interferencias instrumentales

Debido a la presencia de numerosos PFCAs y sus precursores en partes clave del equipo, se cambiaron piezas y se hicieron metodologías de ciclos de lavado y de análisis para reducir el ruido de fondo lo máximo posible, acorde a la metodología empleada en el equipo de trabajo, reportada en (Rodríguez-Varela, 2022) y descrita a continuación:

- 1) Entrada constante de una mezcla 50:50 de A (acetato de amonio en agua 1 mM) y B (acetato de amonio en metanol 1 mM) por 30 minutos.
- 2) 5 inyecciones de blanco instrumental.
- 3) Se realiza el análisis de 6 muestras, blancos o estándares, dependiendo el caso.
- 4) 8 ciclos de lavado usando fase móvil, sin inyección. Si se quiere seguir analizando muestras, regresar al paso 2, de lo contrario:

- 5) Entrada constante de una mezcla 50:50 de A (acetato de amonio en agua 1 mM) y B (acetato de amonio en metanol 1 mM) por 30 minutos.

Corrección de impurezas

Como última medida para eliminar la influencia de otros interferentes del equipo y de los materiales utilizados durante el muestreo y la preparación de muestras, se utilizaron datos de corrección de blancos obtenidos previamente por el equipo de trabajo (Rodríguez-Varela, 2021). Los datos de corrección de blancos son mostrados en la Tabla 6 y fueron obtenidos tras monitorear cada tipo de blanco de forma sistemática ($n > 20$). El análisis tuvo por objetivo calcular la contribución de la señal analítica en cada material utilizado para la determinación.

Tabla 6. Contribución en área de diversos parámetros en los blancos de muestra.

Tipo de Blanco	Área determinada (unidades de área)				
	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
HPLC	N. D	21.6±6.6	12.9±3.5	18.2±3.3	N.D.
Agujas del manifold SPE	14.3±3.7	15.5±4.7	N.D.	32.1±6.8	N.D.
Cartuchos SPE	N. D	N. D	N. D	11.3±3.5	N. D
Botes de polipropileno (muestreo)	16.6±3.1	N. D	N. D	18.2±3.9	N. D
Blancos ambientales de muestra	15.7±2.5	N. D	N. D	N. D	N. D

Posteriormente, se corrigieron las áreas de cada compuesto con la siguiente ecuación:

$$\bar{A}. corregida = \bar{A}. obtenida - \bar{X}_{\bar{A}. HPLC} - \bar{X}_{\bar{A}. agujas} - \bar{X}_{\bar{A}. Cartuchos} - \bar{X}_{\bar{A}. botes} - \bar{X}_{\bar{A}. atm}$$

Ecuación 9

Donde \bar{A} . se refiere a las áreas, \bar{X} se refiere a la media de áreas adicionales en cada categoría, “agujas” se refiere a las del manifold, “cartuchos” a los cartuchos OASIS WAX, “botes” a los botes de polipropileno usados para tomas muestras, y \bar{A} . atm se refiere al área atmosférica, la cual fue obtenida dejando un contenedor al aire libre al lado del sitio en que se realizaba el muestreo para evaluar si hubo transporte ambiental del analito en la etapa de monitoreo.

III.10 Validación de parámetros cromatográficos

Se validaron los siguientes parámetros: intervalo lineal, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud y evaluación de efecto matriz utilizando curvas de calibración de todos los PFCA's dentro del intervalo de 15 a 250 ng/L

Intervalo lineal y de trabajo

Se construyeron dos curvas de calibración, una en agua de grado HPLC, y otra en agua lacustre del cuerpo Balamtetik utilizando el método de adición de estándar o adición de patrón, el cual consiste en adicionar concentraciones conocidas de analito a una muestra en la matriz a analizar, la cual contiene en sí una concentración aún desconocida de dicho compuesto a analizar. Se crea una relación entre las concentraciones adicionadas y la respuesta analítica, posteriormente, se extrapola hasta la concentración igual a 0, y se obtiene la concentración inicial de analito desconocido (Bader & Morris, 1980)

La linealidad se evaluó inyectando curvas de calibración de PFCA's conformadas por diez niveles dentro del intervalo de concentración de 15-250 ng/L por triplicado. Esto fue tanto en agua lacustre como en agua de grado HPLC. Se consideró como linealidad aceptable, aquellas curvas que mostraran un coeficiente de determinación $r \geq 0.99$ y cuyos

residuales mostraran aleatoriedad en todos los niveles de concentración estudiados. (Figura suplementaria 24).

Precisión

Se inyectaron por triplicado tres mezclas de estándares de preparaciones independientes de los cinco PFCAs de las siguientes concentraciones: 30, 160 y 220 ng/L. Para cada compuesto se calcularon las medias (\bar{X}) y las desviaciones estándar (σ), con estos datos se calculó el porcentaje de desviación estándar relativa (% RSD) mediante la ecuación 10.

$$\%RSD = \left(\frac{\sigma}{\bar{X}}\right) * 100 \quad \text{Ecuación 10}$$

Límite de detección (LDD):

Para evaluar el límite de detección se inyectó una mezcla de estándares de PFCA por septuplicado en concentraciones de 3, 5 y 8 ng/L. Para obtener el límite se determinó la concentración a la cual la razón entre la señal analítica y el ruido de fondo fuera mayor o igual a 3 acorde con la ecuación 11.

$$LDD = \frac{\text{Señal analítica del analito}}{\text{Señal analítica del ruido de fondo}} \geq 3 \quad \text{Ecuación 11}$$

Límite de cuantificación (LDC)

El límite de cuantificación se determinó inyectando tres concentraciones de 15, 30 y 50 ng/L por triplicado. Se consideró un límite de cuantificación aceptable cuando la razón entre la señal del analito y el ruido de fondo fue mayor o igual a 10, de acuerdo con la ecuación 12.

$$LDC = \frac{\text{Señal analítica del analito}}{\text{Señal analítica del ruido de fondo}} \geq 10 \quad \text{Ecuación 12}$$

Exactitud

La exactitud del método se evaluó para tres niveles de concentración por triplicado. Los niveles evaluados fueron: 15, 130 y 250 ng/L. Posteriormente, se calculó el porcentaje

de recobro (% R) con la ecuación 13. Donde C_R se refiere a la concentración recobrada y C_C la concentración teórica inicial. Se consideró como un porcentaje de recobro aceptable para un nivel de concentración de ng/L aquellos que están comprendidos entre el 60-120 % de acuerdo con lo recomendado por Peters et al. (2007).

$$\% R = \frac{C_R}{C_C} * 100$$

Ecuación 13

El efecto matriz

El efecto matriz se evaluó mediante la construcción y comparación de las pendientes de las curvas de recobro a diez niveles de concentración comprendidos en el intervalo 15-250 ng/L para dos matrices, esto es: agua lacustre y agua grado HPLC.

Capítulo IV: Resultados de la optimización

IV.1. Espectros de masas de los PFCAs y selección de iones cuantitativos y de confirmación

Al emplear el modo de adquisición de barrido completo de iones (Full SCAN) del espectrómetro de masas, se obtuvieron los fragmentos de masa más abundantes y característicos de cada PFCa estudiado (Figura 19 a Figura 23), que posteriormente, en el modo ion producto, o fragmentación específica del tipo de barrido ion-fragmento, se evaluaron.

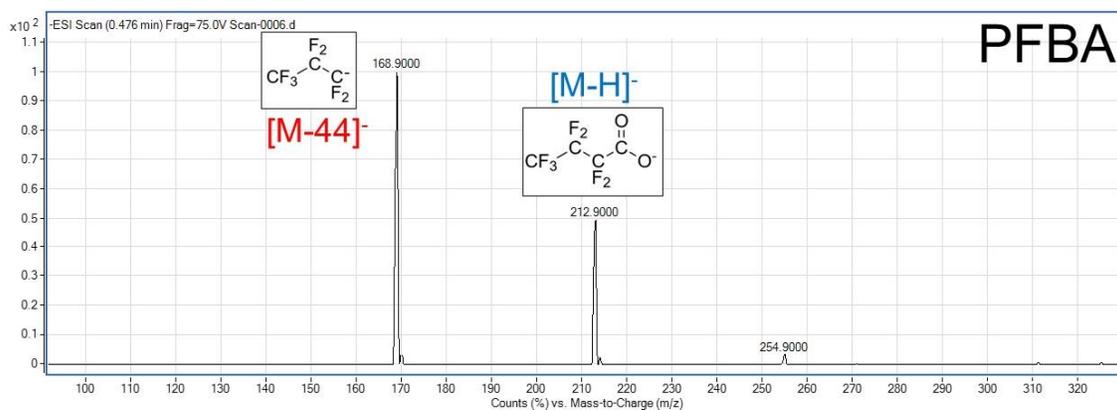


Figura 19. Espectro de masa obtenido de PFBA. El ion marcado con azul corresponde al ion molecular y el rojo al ion producto cuantitativo.

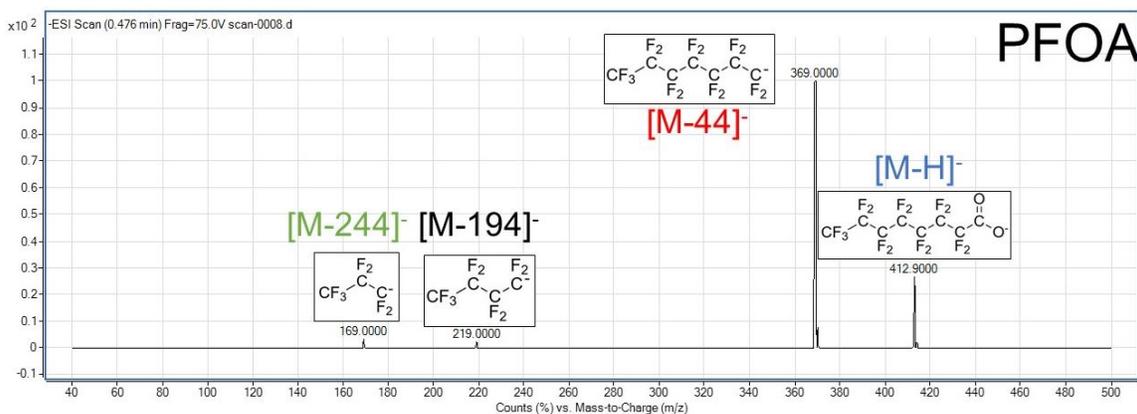


Figura 22. Espectro de masa del PFOA. El ion marcado con azul corresponde al ion molecular, el rojo al ion producto cuantitativo, y el verde al ion producto cualitativo.

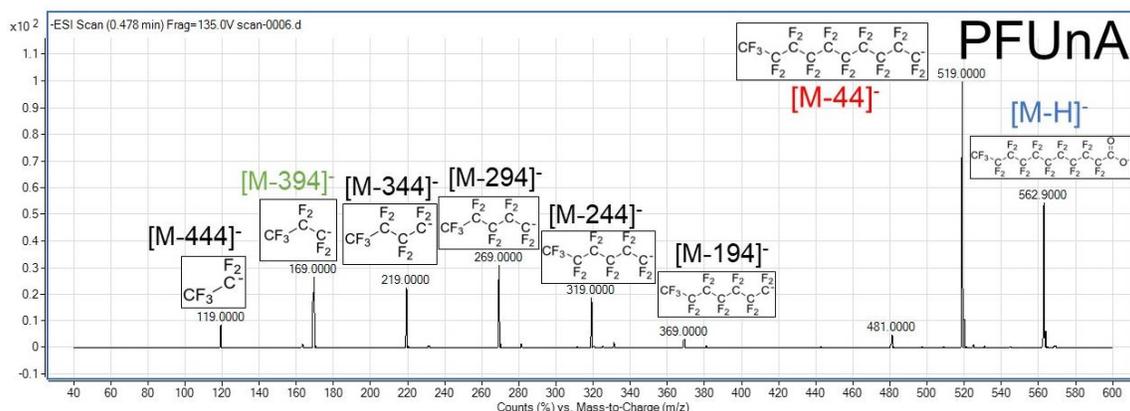


Figura 23. Espectro de masa obtenido del PFUnA. El ion marcado con azul corresponde al ion molecular, el rojo al ion producto cuantitativo, y el verde al ion producto cualitativo.

En los espectros de masa se puede apreciar cómo en todos los compuestos vistos entre la Figura 19 y la Figura 23 el ion molecular $[M-H]^-$ presenta abundancia importante, no obstante, el pico base corresponde con la fragmentación del ion carboxilato $[R-COO]^-$ $[M-44]^-$, correspondiente a una pérdida de 44 unidades de m/z . Posteriormente, se observaron fragmentaciones de grupos $(-CF_2)_n$. La segunda pérdida de 194 m/z corresponde a la pérdida de 3 conjuntos de CF_2 ($[M-194]^-$). En el caso de los PFCAs más pesados (PFOA y PFUnA), las siguientes fragmentaciones corresponden a la pérdida sucesiva de 50 m/z que conforman al grupo $(-CF_2-)$.

La ruptura del grupo carboxilato se debe a la conjunción de dos motivos concomitantes,

a saber: 1) que, debido a la densidad electrónica y el tamaño de los átomos de flúor, se introduce un ligero carácter iónico, y esto produce la formación de cargas parciales en el enlace $C^{\delta+}-C^{\delta-}$, lo que aumenta la fuerza del enlace y le proporciona una estabilidad superior. 2) el efecto inductivo por parte de los átomos de flúor y oxígeno enlazados a los átomos de carbono propicia el desplazamiento de la densidad electrónica de los enlaces C-C, lo cual se refleja en la energía de enlace C-F y C=O, que es superior a la del enlace F_3C-CF_3 (536 kJ/mol y 749 kJ/mol contra 406 kJ/mol, respectivamente (Cottrell, 1958). Considerando esta diferencia energética es posible establecer que la secuencia de fragmentos más estable será $(-CF_2-)$ ya que los enlaces menos energéticos y, por ende, los más sencillos de romper, son los C-C a lo largo de la cadena.

En el caso de PFBA, PFHxA y PFHpA, se logra observar un pico con masa 42 unidades de m/z mayor que el ion molecular y una abundancia relativa más baja que todos los demás picos. Esta masa sugiere que un fragmento molecular se unió al ion molecular, también conocido como aducto, probablemente C_3H_6 o C_2OH_2 en sus fórmulas mínimas.

En todos los casos, el fragmento con mayor abundancia relativa fue el resultante de la pérdida del carboxilo $[M-44]^-$, este fue el que se usó como ion cuantitativo. El fragmento resultante con la segunda mayor abundancia fue variable para todos los compuestos, no obstante, fueron útiles para complementar la identificación molecular al ser utilizados como iones de confirmación. En la Tabla 7 se muestra la masa de fragmentos cuantitativos y cualitativos en el análisis de cada PFCA.

Tabla 7. Masa de fragmentos utilizados en el análisis de PFCAs.

PFCA	Masa molecular (g/mol)	Ion precursor (m/z) $[M-H]^-$	Ion Producto (Cuantitativo) $[M-44]^-$	Ion producto (cualitativo)
PFBA	214	212.9	168.9	--
PFHxA	314	313.0	269.0	119.0 $[M-194]^-$
PFHpA	364	362.9	319.0	169.0 $[M-194]^-$
PFOA	414	412.9	369.0	169.0 $[M-244]^-$
PFUnA	564	562.9	519.0	169.0 $[M-394]^-$

IV.2 Optimización de parámetros espectrométricos

A lo largo de la optimización del espectrómetro de masas se utilizaron las mismas condiciones cromatográficas utilizadas por Rodríguez-Varela et al. (2021). Sin embargo, para corroborar su correcto funcionamiento en matrices de agua lagunar, se volvieron a optimizar las condiciones de operación espectrométricas que promueven la maximización de la señal analítica del equipo en el proceso de fragmentación molecular independiente de la fase móvil (voltaje de fragmentación, voltaje de aceleración, energía de colisión y dwell) para cada PFCA estudiado. Las magnitudes de cada parámetro evaluado se aprecian en la Tabla 8:

Tabla 8. Lista de condiciones operativas independientes de la fase móvil en el espectrómetro de masas.

Compuesto	Transición (m/z)	Voltaje de fragmentación (V)	Voltaje de aceleración (V)	Energía de colisión (eV)	Dwell (1/s)
PFBA	212.9→168.9	75	4	3	100
PFHxA	313.0→269.0	65	7		
	313.0→119.0				
PFHpA	362.9→319.0	65	4		
	362.9→169.0				
PFOA	412.9→369.0	65	2		
	412.9→169.0				
PFUnA	562.9→519.0	65	7		
	562.9→169.0				

De igual forma, se optimizaron los parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil (temperatura del gas de secado N₂, flujo del gas de secado N₂, voltaje del capilar, presión del nebulizador y el volumen de inyección). Los detalles pueden ser observados en las figuras suplementarias 10 a 18. Es importante señalar que para esta optimización ya se contaba con las condiciones de separación cromatográficas estipuladas por

Rodríguez-Varela, et al. (2021) y Rodríguez-Varela (2022). En este sentido, los parámetros espectrométricos que maximizaron la intensidad de la señal analítica en la mayor cantidad de PFCAs fueron:

- Temperatura de gas: 300 °C
- Voltaje del capilar: 1000 V
- Volumen de inyección: 10 µL
- Flujo de gas: 11 mL/min
- Presión del nebulizador: 20 psi

Con los parámetros espectrométricos dependientes e independientes de la fase móvil óptimos, se obtuvo el cromatograma correspondiente a la separación de los cinco PFCAs bajo estudio, el cual se presenta en la Figura 24. De igual manera se calcularon los parámetros cromatográficos para cada PFCa o par de PFCAs (Tabla 9). En esta tabla se observaron selectividades (α) mayores a 1 y resoluciones entre picos adyacentes (R_s) superiores a 3 para todos los casos. Estos resultados indican que las condiciones de separación cromatográfica fueron altamente eficientes y permiten la identificación específica de los cinco compuestos. Aunado a esto, el seguimiento de fragmentaciones ion precursor-ion producto aumenta sustancialmente la selectividad del sistema acoplado HPLC-MS/MS.

Las pruebas de optimización implementadas en el presente trabajo son mostradas entre la Figura suplementaria 1 y la Figura suplementaria 18

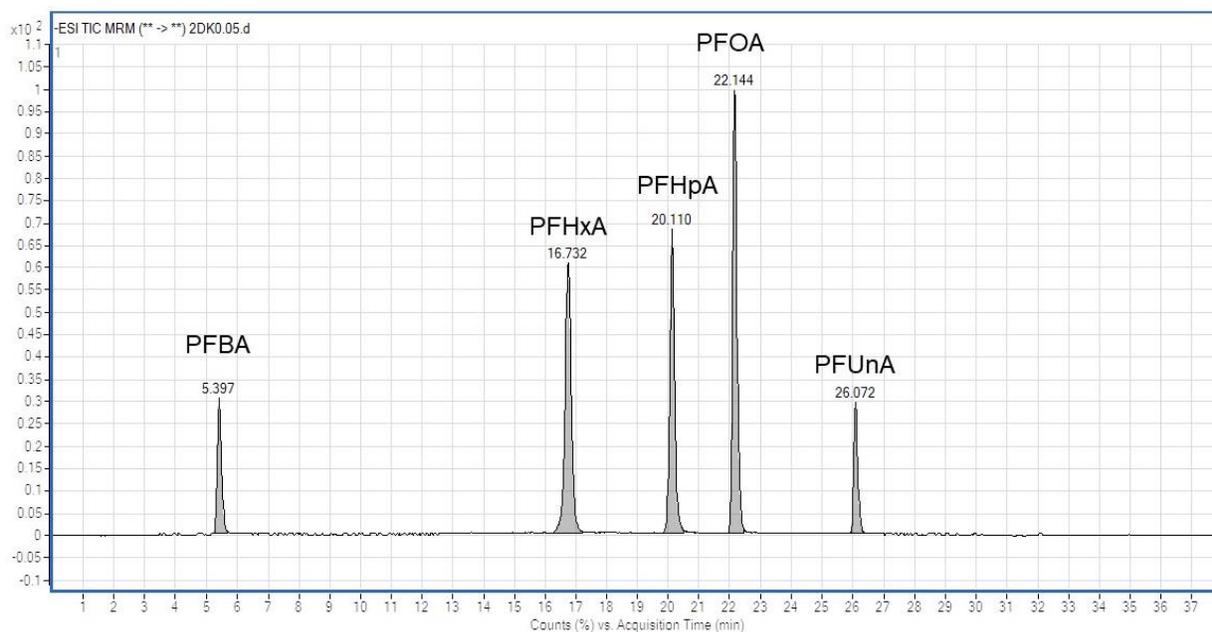


Figura 24. Cromatograma obtenido en el que se muestran los picos obtenidos por cada PFCA. Se pueden observar los tiempos de retención, y a simple vista una buena selectividad y resolución.

Tabla 9. Parámetros obtenidos del cromatograma de la figura 24.

Compuesto	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
tr	5.39	16.73	20.11	22.14	26.07
t'r	1.89	13.23	16.61	18.64	22.57
k	0.542	3.78	4.74	5.33	6.45
α	n/a	6.98	1.26	1.12	1.21
W*	0.6	1	0.85	0.5	0.6
Rs	n/a	14.17	3.66	3.01	7.14

IV.3 Verificación de la validación del método HPLC

Se verificó la validación del método SPE-HPLC-MS/MS desarrollada por Rodríguez-Varela et al. (2022) en agua de grado HPLC. Asimismo, se evaluó, validó y comparó la aplicabilidad del método para el agua lacustre procedente del sistema Lagunas de Montebello.

La validación del método SPE-HPLC-MS/MS consideró la evaluación de los siguientes parámetros: 1) la linealidad e intervalo de trabajo del método, 2) la precisión, 3) los límites de detección, 4) los límites de cuantificación, 5) la certeza (exactitud), y 6) el efecto matriz.

Linealidad

Para determinar la linealidad se hicieron curvas de calibración de estándar externo y adiciones patrón de los cinco PFCAs por analizar en agua de grado HPLC y lacustre, respectivamente. Las curvas de calibración son mostradas en la Figura 25 y la Figura 26

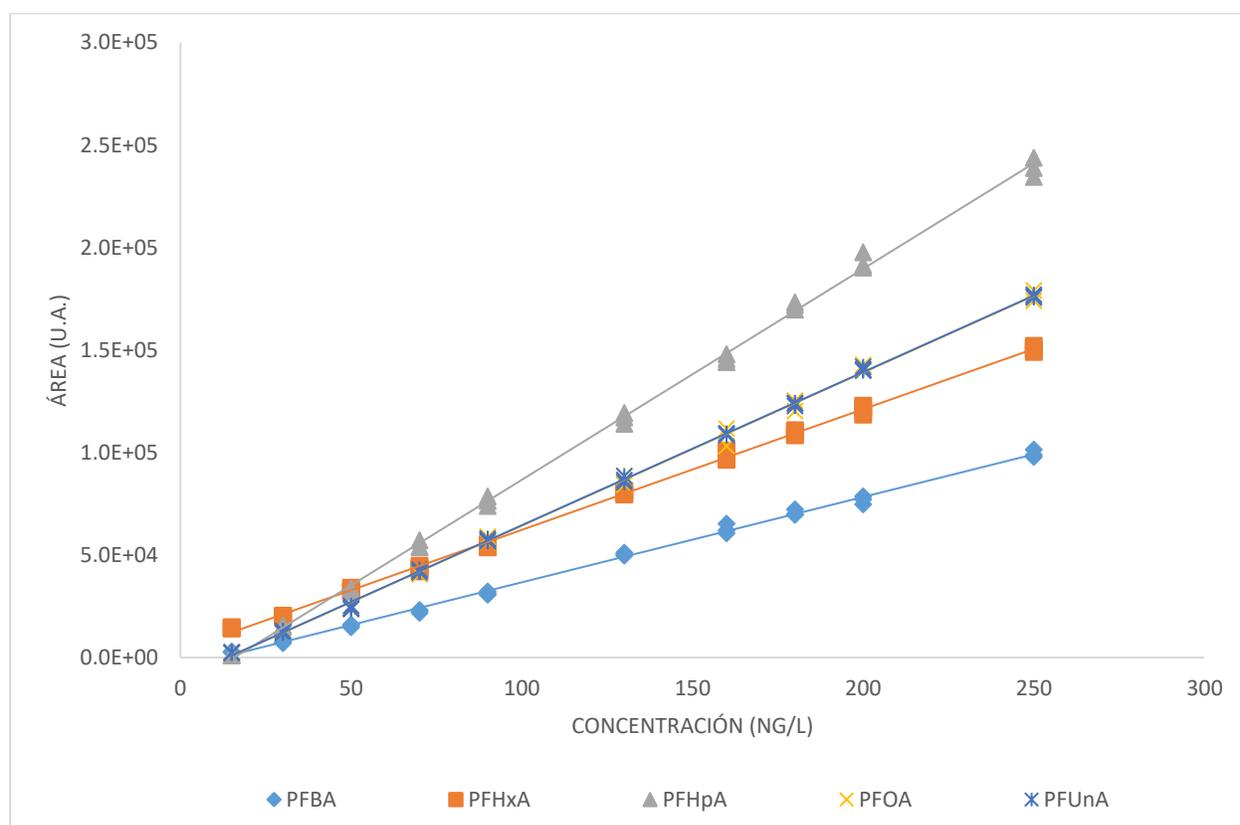


Figura 25. Curva de calibración de PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA en agua de grado HPLC.

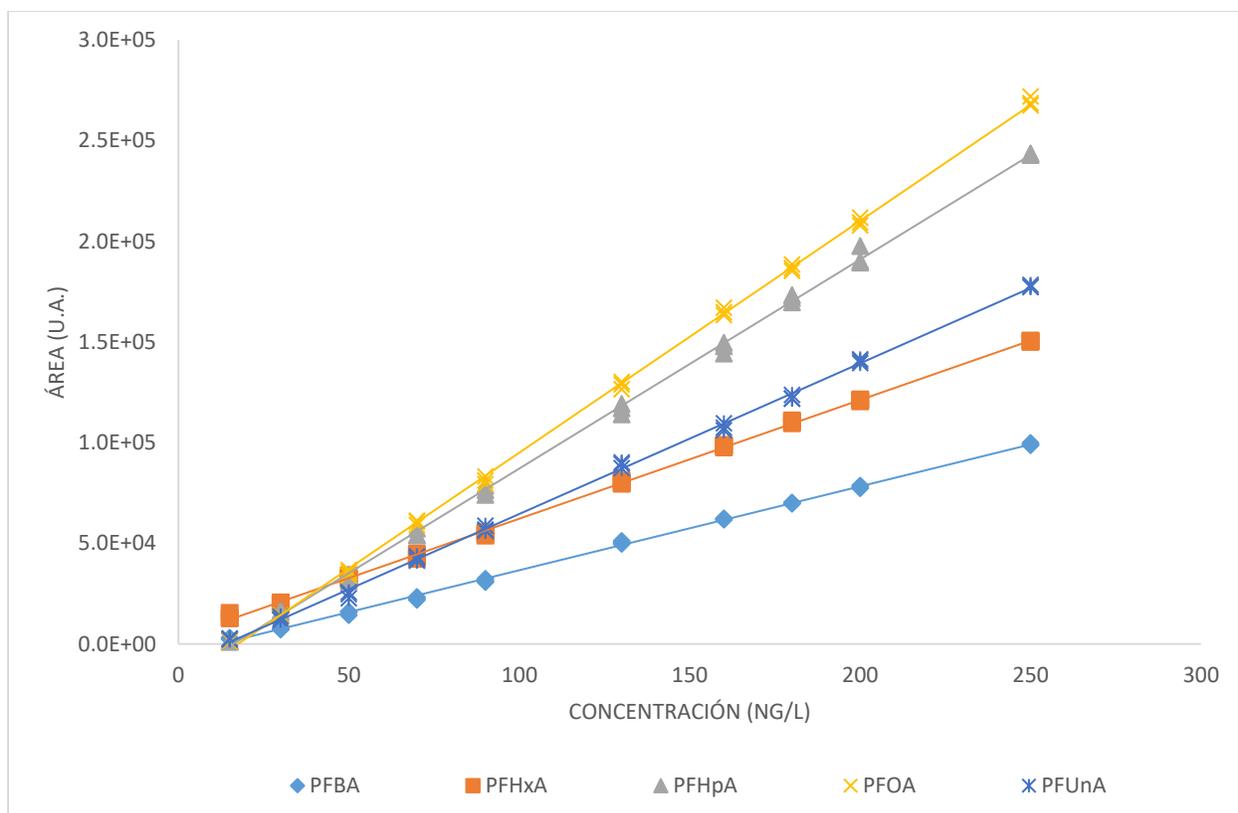


Figura 26. Curva de calibración de PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA en agua lacustre.

Las curvas de calibración para cada PFCA son mostradas entre la Figura suplementaria 19 y la Figura suplementaria 23. Mientras que los valores de la ordenada, la pendiente y el coeficiente de correlación determinados para todos los compuestos en las matrices de agua HPLC y agua lacustre son resumidos en la Tabla 11.

Se puede apreciar cómo para todos los PFCA estudiados en ambos tipos de matrices, las pendientes determinadas fueron iguales entre las curvas de las aguas residuales en comparación con las de HPLC, aceptando las H_0 en las pruebas de hipótesis, por lo que se demuestra que el equipo es sensible a los ácidos carboxílicos perfluorados. En este sentido, las sensibilidades del método hacia los compuestos aumentan conforme incrementa la longitud de la cadena alquílica de éstos. En todos los casos el coeficiente de correlación fue superior a 0.998, además, las gráficas de residuales obtenidas para cada compuesto en ambos tipos de matriz exhiben una distribución aleatoria en todos los niveles de concentración comprendidos entre 20-250 ng/L (Figura suplementaria 24).

Al realizar las pruebas estadísticas sobre la ordenada al origen de cada curva de calibración, el PFOA exhibió diferencias significativas al contrastarse mediante pruebas de hipótesis (aceptando H_0 para todas las pruebas exceptuando la de dicho compuesto). Esto indica que para este analito el efecto producido por la matriz produce una alteración en la señal analítica sustancialmente, de modo que, si bien para todos los demás compuestos a analizar es posible utilizar ambas curvas de concentración para calcular su nivel, es necesario usar la curva de agua lagunar para obtener la concentración del PFOA.

Se pueden encontrar las gráficas de residuales completas en la Figura suplementaria 24.

En la Tabla 10 se muestra el resumen de las pendientes, ordenadas al origen, y coeficientes de correlación de la curva de calibración de cada compuesto. Es notable que, para todos los compuestos en ambas matrices, r es mayor o igual a 0.9988, indicando una tendencia lineal.

Tabla 10. Resumen de pendientes, ordenadas al origen y coeficientes de correlación de las curvas de calibración de cada PFCA analizado en agua de grado HPLC y agua lacustre.

Compuesto	Agua HPLC			Agua lacustre		
	m	b	r	m	b	r
PFBA	416.3	-4930.5	0.9988	416.3	-5027.6	0.9995
PFHxA	588.48	3437.8	0.9994	589.87	3228.4	0.9996
PFHpA	1029.5	-16229	0.9993	1038.6	-16719	0.9995
PFOA	746.91	-10305	0.9992	1151.5	-20115	0.9996
PFUnA	747.26	-10206	0.9997	748.57	10295	0.9995

Precisión

Para los análisis para la matriz de agua lacustre se llevó a cabo un análisis de precisión. Esto se hizo en tres niveles de concentración: 30, 160 y 250 ng/L y por triplicado. La respuesta analítica obtenida para cada nivel de concentración se utilizó para calcular el porcentaje de desviación estándar relativa (% RSD), la cual está presentada en la Tabla

11. En dicha tabla se puede apreciar cómo todos los porcentajes exhiben $\% \text{RSD} \leq 10\%$, siendo los niveles más bajos los que demostraron mayor variabilidad. Sin embargo, estos porcentajes son aceptables de acuerdo con Peters et al. (2007) y Taverniers et al., (2004) para niveles de concentración en ng/L.

Tabla 11. Porcentajes de desviación estándar relativa ($\% \text{RSD}$) promedio de cada PFCA analizado ($n=3$).

% RSD	Agua HPLC			Agua Lacustre		
	30 ng/L	160 ng/L	250 ng/L	30 ng/L	160 ng/L	250 ng/L
PFBA	9.6	1.7	2.0	13.0	2.0	1.3
PFHxA	2.1	2.2	1.0	2.8	0.5	1.1
PFHpA	2.3	1.3	1.9	6.8	1.9	1.1
PFOA	5.2	4.1	1.4	6.2	1.1	2.1
PFUnA	5.2	0.3	0.4	6.8	1.9	1.1

Límite de detección

Tabla 12. Relación señal-ruido (SNR) y desviación estándar relativa intermedia ($\% \text{RSD}_{\text{inter}}$) en los tres niveles más bajos de la curva de calibración para los PFCAs estudiados.

Nivel de concentración (ng/L)	PFBA		PHHxA		PFHpA		PFOA		PFUnA	
	SNR	$\% \text{RSD}_{\text{inter}}$	SNR	$\% \text{RSD}_{\text{inter}}$	SNR	$\% \text{RSD}_{\text{inter}}$	SNR	$\% \text{RSD}_{\text{inter}}$	SNR	$\% \text{RSD}_{\text{inter}}$
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	ND	ND	2.7	11.4	3.1	7.6	3	6.9	ND	ND
5	3.9	7.6	3.4	8.2	5.1	5.3	9.7	3.9	4.5	6.5

Para obtener el límite de detección, se hicieron pruebas en las que se medía la relación señal/ruido (SNR, por sus siglas en inglés) y la desviación estándar relativa intermedia ($\% \text{RSD}_{\text{inter}}$) en los tres niveles de concentración más bajos de la parte inferior de la curva de calibración. Como se puede observar en la tabla 12, el PFBA, PFHxA y PFUnA cumplen los requisitos de $\text{SNR} \geq 3$ y que, $\% \text{RSD} \leq 10\%$ en el nivel de concentración de

5 ng/L. Mientras que los compuestos PFHpA y PFOA cumplieron las condiciones en el nivel de 3 ng/L.

Límite de cuantificación

Para obtener el límite de cuantificación, se utilizó la concentración más baja de la curva de calibración, a saber, 15 ng/L. De igual forma se verificó que su SNR fuera mayor o igual a 10 acorde a los datos observados en las Tablas 11 y 12.

Exactitud

Se evaluó la exactitud del método calculando los porcentajes de recobro en una curva de recobros en agua de grado HPLC y agua lacustre analizada en 10 puntos 15 hasta 250 ng/L por triplicado. Los niveles mínimos y máximos de recobro en cada matriz se presentan en la Tabla 13. En general, los recobros mínimos se obtuvieron en los puntos de menos concentración (15 ng/L y 30 ng/L)

Tabla 13. Intervalos de recobros por cada compuesto en cada matriz analizada.

Analitos	% Recobros			
	HPLC		Lacustre	
	min	max	min	max
PFBA	63	83	66	84
PFHxA	78	109	73	110
PFHpA	88	106	86	108
PFOA	86	110	79	106
PFUnA	87	110	86	113

Acorde a Rodríguez Varela, et al. (2021), en su estudio posterior a la realización experimental del presente trabajo, en el cual realizó una comparación en el paso de secado al finalizar la extracción en fase sólida (flujo de nitrógeno de 5 mL/min contra 30 mL/min), determinó que el flujo alto, como el aquí utilizado, deriva en una alta pérdida de PFCAs de cadena baja. Esto es evidente en los bajos recobros del PFBA y, en menor medida, del PFHxA. La tabla que describe este comportamiento se encuentra en el

material suplementario de dicho estudio y también se presenta en este trabajo en la Tabla Suplementaria 7.

Inicialmente no se realizaron estas pruebas en la presente tesis debido al supuesto de que la influencia de este factor no era significativa. Posteriormente siguieron sin realizarse por severas limitantes, tales como la dificultad controlando el flujo de nitrógeno y la situación por la pandemia de SARS-CoV-2, que derivó en una incapacidad de utilizar el equipo y en una escasez de nitrógeno.

Otra consecuencia de esta pérdida se puede apreciar en la baja pendiente de las curvas de recobro del PFBA, vistas en la Tabla 14.

Aún con estos obstáculos, todos los valores de recobro se encuentran en el intervalo de 63 a 113 %, lo cual es aceptable para los niveles de concentración estudiados, acorde a (CCAYAC, 2017)

Efecto Matriz

El efecto matriz se estudió a través de curvas de recobro y mediante la comparación estadística de las pendientes a cada una de las curvas de recobro entre la matriz lacustre y la curva de recobro del agua HPLC con la metodología descrita por Oxford Academic (2015). Después de la comparación, se observó que para 4 de los 5 compuestos, a saber, PFBA, PFHxA, PFHpA y PFUnA, las pendientes eran iguales, mientras que para el para PFOA eran distintas. Esto hace ver que sí existe un efecto matriz para el PFOA que se hace prominente en concentraciones particularmente bajas. La prueba y ecuaciones utilizadas pueden ser encontradas en la Figura suplementaria 24. Esto nos informa que no es posible utilizar las curvas hechas en agua HPLC para obtener la concentración de PFOA en los lagos. Sin embargo, al utilizarse las curvas de calibración hechas con el método de adición patrón en agua lacustre para este analito, se elimina el efecto matriz y es posible realizar la cuantificación de PFOA en las matrices de trabajo.

Los parámetros de las curvas de recobros se presentan en la Tabla 14

Tabla 14. Pendiente, ordenada al origen y coeficiente de correlación de las curvas de recobro para cada componente tanto en agua HPLC como lacustre.

	Agua HPLC			Agua lacustre		
	m	b	r	m	b	r
PFBA	0.6636	1.0978	0.9997	0.6774	1.9642	0.9996
PFHxA	1.0000	7.00E-05	0.9997	1.0000	5.00E-05	0.9998
PFHpA	1.0000	0.0005	0.9996	1.0000	0.0002	0.9998
PFOA	1.0000	0.0002	0.9997	1.0000	4.00E-06	0.9997
PFUnA	1.0000	0.0004	0.9998	1.0000	0.0002	0.9996

Capítulo V: Resultados de la determinación de PFCAs en muestras de agua lacustre

A continuación, en los apartados A-F de la figura 27 se presentan las concentraciones de PFCAs determinadas en los seis conjuntos de muestras dentro del complejo lacustre Lagunas de Montebello. De forma general se observó la presencia de 3 de los 5 PFCAs estudiados en las muestras lacustres, los cuales corresponden a los ácidos carboxílicos perfluorados de cadena corta PFBA, PFHxA y PFHpA, mientras que sus análogos de mayor longitud no fueron identificados en ninguno de los sitios. Los valores numéricos de estos resultados se presentan en la tabla suplementaria 4.

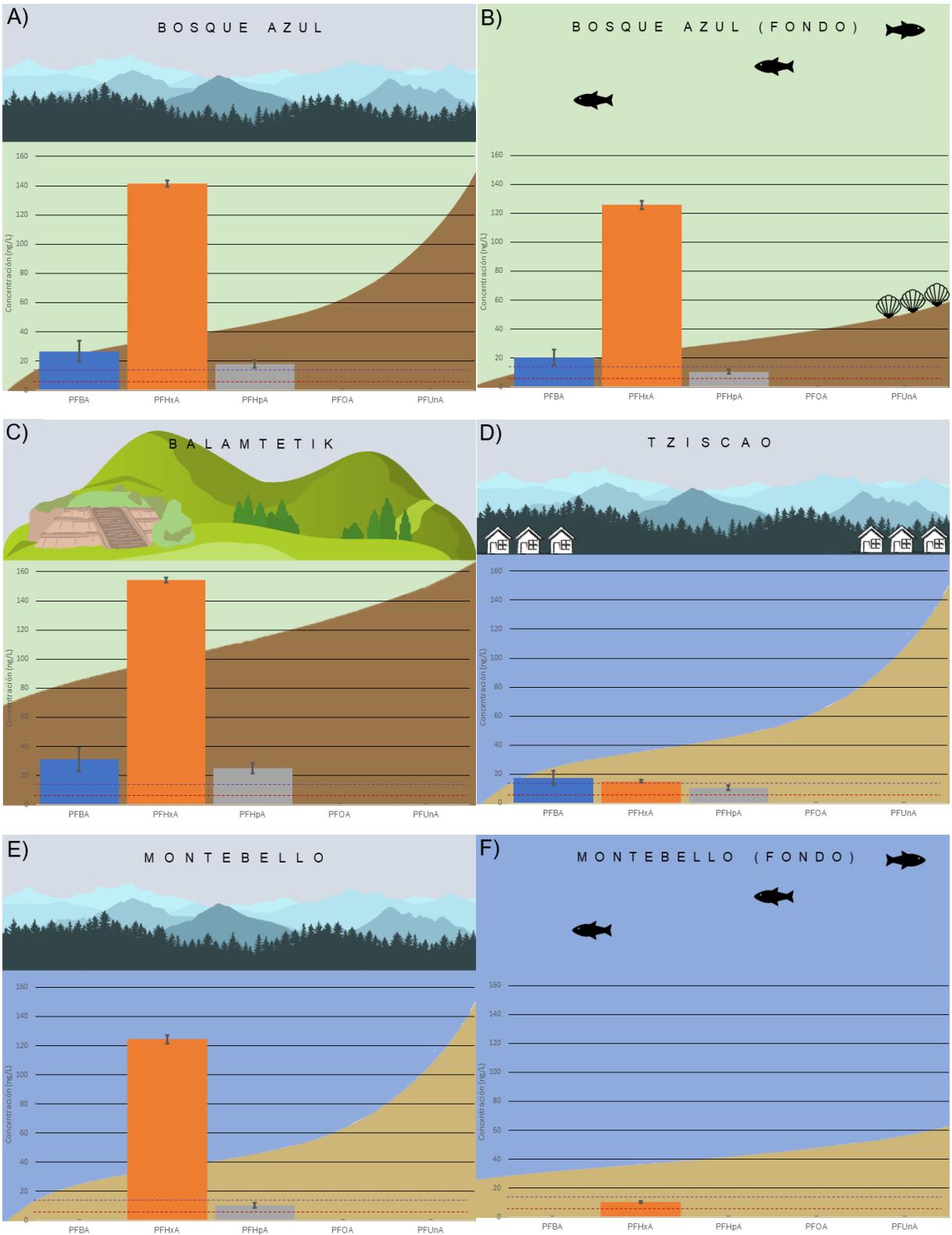


Figura 27: Gráficas de concentración (ng/L) de cada PFCA encontrados en cada lago, y en el fondo de los lagos Bosque Azul y Montebello. La línea punteada morada representa el límite de cuantificación (15 ng/L). La línea punteada roja representa el límite de detección (6 ng/L). Las barras de error están calculadas en base a dos veces el % RSD en la concentración de cada

analito. Estos valores se encuentran en la tabla suplementaria 5. A) Aguas superficiales del lago Bosque Azul. B) Aguas de fondo del lago Bosque Azul. C) Aguas superficiales del lago Balamtetik. D) Aguas superficiales del lago Tziscaco. E) aguas superficiales del lago Montebello. F) Agua del fondo del lago Montebello. El color del lago en cada figura varía en función si se considera prístino (azul) o afectado (verde). De igual forma se incluyeron como elementos gráficos algunos elementos contextuales de cada lago.

V.1 Análisis del contenido de PFCAs en el complejo lacustre

En el lago Balamtetik se determinaron las concentraciones más elevadas de PFCAs, seguido por Bosque Azul con concentraciones ligeramente más bajas. Esto se debe, a que Balamtetik es el primer lago del complejo lacustre y por tanto recibe la descarga de aguas residuales del Río Grande de Comitán, mientras que la determinación de PFCAs en el lago Bosque Azul, quien es el último lago del complejo que recibe estas descargas (Caballero et al., 2020) sugiere que existe una conexión entre ambos lagos; este aumento en la concentración de compuestos perfluorados concuerda con estudios previos conducidos en el complejo lacustre, en donde se adjudicó al Agua Residual el incremento en la concentración de iones de Cl^- , Na^+ y K^+ . No obstante, la reducción en la concentración de los PFCAs en el lago Bosque Azul (aguas abajo del sistema lacustre) puede estar relacionada con una pérdida de los analitos por volatilización o retención de los mismos en el sedimento, de igual forma, esto podría indicar una pérdida de PFCAs a lo largo del flujo de agua, ya sea por volatilización o adsorción en el sedimento.

En cuanto a los lagos que no reciben aguas residuales de forma directa, se logró identificar la presencia de PFBA en Tziscaco y una elevada concentración de PFHxA en la Laguna de Montebello. La presencia de estos compuestos puede ser explicada por dos razones, la primera está ligada a la actividad humana en sus costas, ya que el lago Tziscaco está rodeado por al menos tres pequeños complejos turísticos, zonas de restaurantes y habitacionales, mientras que en las costas del lago Montebello la actividad humana está limitada a unos cuantos locales de alimentos y de renta de lanchas no motorizadas. La segunda posibilidad está fuertemente ligada al transporte atmosférico tanto de los PFCAs de cadena corta (PFBA y PFHxA) (National Center for Biotechnology Information, 2022; Royal Society of chemistry, 2020; De Voogt & Sáez, 2006) como de sustancias precursores (tales como Alcoholes fluorotelomerizados (FTOHs), ácidos carboxílicos fluorotelomerizados insaturados (FTUCAs), entre otros, que encuentran

como estructura final de procesos de biodegradación a los PFCAs (Lin et al., 2020; Macinnis et al., 2022).

V.2 Análisis de la concentración de los compuestos estudiados por profundidad del muestreo

Los únicos lagos donde se evaluó la presencia de los compuestos tanto en el fondo como en la superficie fueron Montebello y Bosque Azul. Los resultados muestran que en la parte más profunda del lago Montebello no se determinó la presencia de ningún compuesto. En contraste, en el agua del fondo del lago Bosque Azul se detectó la presencia de PFHxA y PFBA en concentraciones entre los 5 y 15 ng/L. En ambos lagos, este contenido de PFCAs en el agua del fondo es menor a la concentración determinada en su superficie. Este comportamiento puede estar ligado al carácter hidrofóbico de los PFCAs, el cual sugiere que estos compuestos tenderían a desplazarse hacia el agua superficial; lo cual es lo esperado de los compuestos tensoactivos (Buck et al., 2011a).

V.3 Análisis por compuesto

Es notable la ausencia de PFOA y PFUnA de la totalidad de los lagos. Esto podría deberse a que la producción de materiales basados en estos compuestos está regulada y/o prohibida en distintas regiones del mundo desde los años 2010- 2015 por lo que su arribo al medio ambiente, especialmente al medio acuoso se ha reducido gradualmente (Z. Wang et al. 2014).

Entretanto, el compuesto PFHxA se determinó en todos los lagos y en concentraciones de un orden de magnitud superior a los demás PFCAs. De manera análoga, el PFBA fue otro compuesto encontrado en todas las muestras, aunque en concentraciones sustancialmente menores a su contraparte de seis carbonos. Esta tendencia incremental de los compuestos de cadena corta es consistente con el constante incremento de la síntesis de materiales con PFCAs de cadena corta dentro del desarrollo industrial, tendencia que comenzó desde los años 80's pero que se potenció en la década de los años 2000, en la cual se promovió la manufactura de productos perfluorados de cadena

corta como sustitución de sus homólogos de mayor longitud. (Z. Wang et al., 2014b, 2014d)

Por último, el PFHpA se alcanzó a detectar en el complejo lacustre, pero en menor medida que el PFBA y el PFHxA. La identificación del PFHpA puede vincularse a la falta de regulación y amplio uso industrial de este compuesto (Rodríguez-Varela et al, 2022).

Conclusiones

Se desarrolló y verificó la validación de una metodología analítica SPE-HPLC-MS/MS/QqQ para la determinación de PFCAs en agua lacustre en concentraciones de ng/L.

Se encontraron ácidos carboxílicos perfluorados de cadena corta y mediana en las aguas tanto superficiales como de fondo de todos los lagos analizados del complejo Lagunas de Montebello en concentraciones del orden de las decenas de ng/L. Sin embargo, la mayor concentración de PFCAs se observó en los lagos que reciben directamente aguas residuales. Mientras que la presencia de PFCAs de cadena corta en los lagos que no reciben descarga de drenaje de forma directa sugiere que estos podrían arribar mediante un mecanismo de transporte atmosférico o la presencia de una fuente puntual.

Perspectivas

Entre los posibles pasos a seguir para ampliar y monitorear estos compuestos en distintas matrices ambientales se proponen los siguientes:

- Realizar un estudio de los demás lagos del complejo lacustre, tanto prístinos como afectados.
- Utilizar la metodología descrita para analizar otros complejos lacustres.
- Adecuar el método para otras matrices, tales como agua de mar y sedimentos marinos.
- Validar el método para más compuestos de la misma familia de los PFCAs.
- Desarrollar métodos para analizar compuestos de familias similares, tales como los PFSA y fluorotelómeros.
- Realizar un monitoreo constante a lo largo de todo el año, para tomar en consideración otros efectos, tales como la temporada de secas y de lluvias, al igual que temporadas altas y bajas de turismo.

Referencias

- Abunada, Z., Alazaiza, M. Y. D., & Bashir, M. J. K. (2020). An overview of per-and polyfluoroalkyl substances (Pfas) in the environment: Source, fate, risk and regulations. In *Water (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/w12123590>
- Ahmadireskety, A., da Silva, B. F., Awkerman, J. A., Aufmuth, J., Yost, R. A., & Bowden, J. A. (2021). Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in sediments collected from the Pensacola Bay System watershed. *Environmental Advances*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100088>
- Ahrens, L., Gashaw, H., Sjöholm, M., Gebrehiwot, S. G., Getahun, A., Derbe, E., Bishop, K., & Åkerblom, S. (2016). Poly- and perfluoroalkylated substances (PFASs) in water, sediment and fish muscle tissue from Lake Tana, Ethiopia and implications for human exposure. *Chemosphere*, 165, 352–357. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.007>
- Ahrens, L., Taniyasu, S., Yeung, L. W. Y., Yamashita, N., Lam, P. K. S., & Ebinghaus, R. (2010). Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere*, 79(3), 266–272. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.045>
- Ahuja, S. (2003). *CHROMATOGRAPHY AND SEPARATION SCIENCE*.
- Allinson, M., Yamashita, N., Taniyasu, S., Yamazaki, E., & Allinson, G. (2019). Occurrence of perfluoroalkyl substances in selected Victorian rivers and estuaries: An historical snapshot. *Heliyon*, 5(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02472>
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., & Cerdà, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review. part ii. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 80). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.014>
- Arinaitwe, K., Keltsch, N., Taabu-Munyaho, A., Reemtsma, T., & Berger, U. (2021). Perfluoroalkyl substances (PFASs) in the Ugandan waters of Lake Victoria: Spatial distribution, catchment release and public exposure risk via municipal water consumption. *Science of the Total Environment*, 783. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146970>
- Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2015). Review on the occurrence, fate and removal of perfluorinated compounds during wastewater treatment. In *Science of the Total Environment* (Vols. 524–525, pp. 81–92). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.023>
- Asaoka, S., Yoshiki, R., Haga, Y., Matsumura, C., Umehara, A., & Takeda, K. (2020). Spatial distribution of perfluorinated organic compounds in surface marine sediments from the seto inland sea, Japan. *Journal of Water and Environment Technology*, 18(4), 226–237. <https://doi.org/10.2965/jwet.19-146>

- ATSDR CDC. (2022). *What are the health effects of PFAS?* CDC. <https://www.atsdr.cdc.gov/pfas/health-effects/index.html>
- Baabish, A., Sobhanei, S., & Fiedler, H. (2021). Priority perfluoroalkyl substances in surface waters - A snapshot survey from 22 developing countries. *Chemosphere*, 273. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129612>
- Bader, & Morris. (1980). *A systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis*.
- Banks, R. E., Smart, B., & Tatlow, J. C. (1994). *Organofluorine chemistry: principles and commercial applications* (First). Plenum.
- Bečanová, J., Komprdová, K., Vrana, B., & Klánová, J. (2016). Annual dynamics of perfluorinated compounds in sediment: A case study in the Morava River in Zlín district, Czech Republic. *Chemosphere*, 151, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.081>
- Beškoski, V. P., Takemine, S., Nakano, T., Slavković Beškoski, L., Gojgić-Cvijović, G., Ilić, M., Miletić, S., & Vrvic, M. M. (2013). Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Pančevo (Serbia) industrial area. *Chemosphere*, 91(10), 1408–1415. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.079>
- Björklund, S., Weidemann, E., Yeung, L. W., & Jansson, S. (2021). Occurrence of per- and polyfluoroalkyl substances and unidentified organofluorine in leachate from waste-to-energy stockpile - A case study. *Chemosphere*, 278. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130380>
- Bootman, V. (2021, April 15). *Liquid Chromatography vs Gas Chromatography*. LC Services. <https://www.lcservicesltd.co.uk/liquid-chromatography-vs-gas-chromatography/>
- Bräunig, J., Baduel, C., Barnes, C. M., & Mueller, J. F. (2019). Leaching and bioavailability of selected perfluoroalkyl acids (PFAAs) from soil contaminated by firefighting activities. *Science of the Total Environment*, 646, 471–479. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.231>
- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., Voogt, P. De, Jensen, A. A., Kannan, K., Mabury, S. A., & van Leeuwen, S. P. J. (2011a). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513–541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>
- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., Voogt, P. de, Jensen, A. A., Kannan, K., Mabury, S. A., & van Leeuwen, S. P. J. (2011b). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and

- origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513–541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>
- Caballero, M., Mora, L., Muñoz, E., Escolero, O., Bonifaz, R., Ruiz, C., & Prado, B. (2020). Anthropogenic influence on the sediment chemistry and diatom assemblages of Balamtetik Lake, Chiapas, Mexico. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(14), 15935–15943. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04581-9>
- Caballero, M., Prado, B., Mora, L., & Muñoz, E. (2022). *Paleolimnología: una herramienta para conocer la historia del cambio ambiental. Caso de estudio Lagos de Montebello, Chiapas.*
- Campo, J., Lorenzo, M., Pérez, F., Picó, Y., Farré, M. la, & Barceló, D. (2016a). Analysis of the presence of perfluoroalkyl substances in water, sediment and biota of the Jucar River (E Spain). Sources, partitioning and relationships with water physical characteristics. *Environmental Research*, 147, 503–512. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.03.010>
- Campo, J., Lorenzo, M., Pérez, F., Picó, Y., Farré, M. la, & Barceló, D. (2016b). Analysis of the presence of perfluoroalkyl substances in water, sediment and biota of the Jucar River (E Spain). Sources, partitioning and relationships with water physical characteristics. *Environmental Research*, 147, 503–512. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.03.010>
- Campo, J., Pérez, F., Masiá, A., Picó, Y., Farré, M. la, & Barceló, D. (2015a). Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Science of the Total Environment*, 503–504, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.094>
- Campo, J., Pérez, F., Masiá, A., Picó, Y., Farré, M. la, & Barceló, D. (2015b). Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Science of the Total Environment*, 503–504, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.094>
- CCAYAC. (2017). *Criterios para la Validación Interna y Confirmación de Métodos Físicoquímicos.*
- Chen, H., Reinhard, M., Nguyen, T. V., You, L., He, Y., & Gin, K. Y. H. (2017). Characterization of occurrence, sources and sinks of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in a tropical urban catchment. *Environmental Pollution*, 227, 397–405. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.091>
- Choi, Y. J., Kim Lazcano, R., Yousefi, P., Trim, H., & Lee, L. S. (2019). Perfluoroalkyl Acid Characterization in U.S. Municipal Organic Solid Waste Composts. *Environmental Science and Technology Letters*, 6(6), 372–377. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00280>

- Chow, S. J., Ojeda, N., Jacangelo, J. G., & Schwab, K. J. (2021). Detection of ultrashort-chain and other per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in U.S. bottled water. *Water Research*, 201. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117292>
- Chu, S., & Letcher, R. J. (2017). Side-chain fluorinated polymer surfactants in aquatic sediment and biosolid-augmented agricultural soil from the Great Lakes basin of North America. *Science of the Total Environment*, 607–608, 262–270. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.252>
- Coggan, T. L., Moodie, D., Kolobaric, A., Szabo, D., Shimeta, J., Crosbie, N. D., Lee, E., Fernandes, M., & Clarke, B. O. (2019). An investigation into per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in nineteen Australian wastewater treatment plants (WWTPs). *Heliyon*, 5(8). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02316>
- Corsolini, S., Sarkar, S. K., Guerranti, C., Bhattacharya, B. D., Rakshit, D., Jonathan, M. P., & Godhantaraman, N. (2012). Perfluorinated compounds in surficial sediments of the Ganges River and adjacent Sundarban mangrove wetland, India. *Marine Pollution Bulletin*, 64(12), 2829–2833. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.09.019>
- Cottrell, T. L. (1958). *Strengths of chemical bonds: Vol. 2nd edition* (2nd edition).
- Crane, J. L. (2019). Distribution, Toxic Potential, and Influence of Land Use on Conventional and Emerging Contaminants in Urban Stormwater Pond Sediments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 76(2), 265–294. <https://doi.org/10.1007/s00244-019-00598-w>
- De Voogt, P., & Sáez, M. (2006). Analytical chemistry of perfluoroalkylated substances. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 25(4), 326–342. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.10.008>
- Desclos, A., & Gibson, J. M. (2021). *EVALUATION OF DRINKING WATER CONTAMINANTS IN A PERI-URBAN NEIGHBORHOOD AFTER CONNECTION TO MUNICIPAL WATER SERVICE*.
- Ding, G., Xue, H., Zhang, J., Cui, F., & He, X. (2018). Occurrence and distribution of perfluoroalkyl substances (PFASs) in sediments of the Dalian Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 285–288. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.020>
- Elmoznino, J., Vlahos, P., & Whitney, M. (2018). Occurrence and partitioning behavior of perfluoroalkyl acids in wastewater effluent discharging into the Long Island Sound. *Environmental Pollution*, 243, 453–461. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.076>
- Fda, & Cder. (2018). *Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry Biopharmaceutics Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry Biopharmaceutics Contains Nonbinding Recommendations*. <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/d>

efault.htm and/or <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/default.htm>

- Gallo, B., Berrueta, L. A., Gallo, / B., & Vicente, / F. (1995). *A review of solid phase extraction: Basic principles and new developments* Cite this paper *A Review of Solid Phase Extraction: Basic Principles and New Developments*.
- Gao, Y., Liang, Y., Gao, K., Wang, Y., Wang, C., Fu, J., Wang, Y., Jiang, G., & Jiang, Y. (2019). Levels, spatial distribution and isomer profiles of perfluoroalkyl acids in soil, groundwater and tap water around a manufactory in China. *Chemosphere*, 227, 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.027>
- Gu, C., Xu, C., Zhou, Q., Shen, C., Ma, C., Liu, S., Yin, S., & Li, F. (2021). Congener- and isomer-specific Perfluorinated compounds in textile wastewater from Southeast China. *Journal of Cleaner Production*, 320. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128897>
- Hall, S. M., Patton, S., Petreas, M., Zhang, S., Phillips, A. L., Hoffman, K., & Stapleton, H. M. (2020). Per- And Polyfluoroalkyl Substances in Dust Collected from Residential Homes and Fire Stations in North America. *Environmental Science and Technology*, 54(22), 14558–14567. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04869>
- Hamid, H., Li, L. Y., & Grace, J. R. (2018). Review of the fate and transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. In *Environmental Pollution* (Vol. 235, pp. 74–84). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.030>
- Higgins, C. P., Field, J. A., Criddle, C. S., & Luthy, R. G. (2005). Quantitative determination of perfluorochemicals in sediments and domestic sludge. *Environmental Science and Technology*, 39(11), 3946–3956. <https://doi.org/10.1021/es048245p>
- Holland, R., Khan, M. A. H., Chhantyal-Pun, R., Orr-Ewing, A. J., Percival, C. J., Taatjes, C. A., & Shallcross, D. E. (2020). Investigating the atmospheric sources and sinks of perfluorooctanoic acid using a global chemistry transport model. *Atmosphere*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/ATMOS11040407>
- Hong, S., Khim, J. S., Park, J., Kim, M., Kim, W. K., Jung, J., Hyun, S., Kim, J. G., Lee, H., Choi, H. J., Codling, G., & Giesy, J. P. (2013). In situ fate and partitioning of waterborne perfluoroalkyl acids (PFAAs) in the Youngsan and Nakdong River Estuaries of South Korea. *Science of the Total Environment*, 445–446, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.040>
- Hope, K. (2020). *Hope2020ThesisEastArfricanCoast*.
- Janousek, R. M., Mayer, J., & Knepper, T. P. (2019). Is the phase-out of long-chain PFASs measurable as fingerprint in a defined area? Comparison of global PFAS concentrations and a monitoring study performed in Hesse, Germany from 2014 to

2018. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 120). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.017>
- Johnson, G. R. (2022). PFAS in soil and groundwater following historical land application of biosolids. *Water Research*, 211. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.118035>
- Jones, K. C., & De Voogt, P. (1999). Persistent organic pollutants (POPs): State of the science. *Environmental Pollution*, 100(1–3), 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00098-6)
- Kaboré, H. A., Vo Duy, S., Munoz, G., Méité, L., Desrosiers, M., Liu, J., Sory, T. K., & Sauvé, S. (2018). Worldwide drinking water occurrence and levels of newly-identified perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances. *Science of the Total Environment*, 616–617, 1089–1100. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.210>
- Kameoka, H., Ito, K., Ono, J., Banno, A., Matsumura, C., Haga, Y., Endo, K., Mizutani, S., & Yabuki, Y. (2022). Investigation of perfluoroalkyl carboxylic and sulfonic acids in leachates from industrial and municipal solid waste landfills, and their treated waters and effluents from their closest leachate treatment plants. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 24(1), 287–296. <https://doi.org/10.1007/s10163-021-01319-z>
- Kim, K. Y., Ndabambi, M., Choi, S., & Oh, J. E. (2021). Legacy and novel perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in industrial wastewater and the receiving river water: Temporal changes in relative abundances of regulated compounds and alternatives. *Water Research*, 191. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116830>
- Lam, N. H., Cho, C. R., Kannan, K., & Cho, H. S. (2017). A nationwide survey of perfluorinated alkyl substances in waters, sediment and biota collected from aquatic environment in Vietnam: Distributions and bioconcentration profiles. *Journal of Hazardous Materials*, 323, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.010>
- Lazos Martínez, R. J., & Hernández Gutiérrez, I. (2004). *LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS: UN ENFOQUE PRÁCTICO*.
- Lee, Y. M., Lee, J. Y., Kim, M. K., Yang, H., Lee, J. E., Son, Y., Kho, Y., Choi, K., & Zoh, K. D. (2020). Concentration and distribution of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the Asan Lake area of South Korea. *Journal of Hazardous Materials*, 381. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120909>
- Li, X., Fatowe, M., Cui, D., & Quinete, N. (2022). Assessment of per- and polyfluoroalkyl substances in Biscayne Bay surface waters and tap waters from South Florida. *Science of the Total Environment*, 806. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150393>
- Lin, Y., Jiang, J. J., Rodenburg, L. A., Cai, M., Wu, Z., Ke, H., & Chitsaz, M. (2020). Perfluoroalkyl substances in sediments from the Bering Sea to the western Arctic:

- Source and pathway analysis. *Environment International*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105699>
- Liu, L. (2018). *An UHPLC-MS/MS Quantitative Method for Trace Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) in Environmental Media from Alabama Estuaries*.
- Lundanes, E., Reubaset, L., & Greibrokk, T. (2014). *Chromatography - Basic principles, sample preparations and related methods* (1st ed.). Wiley-VCH.
- Macinnis, J., De Silva, A. O., Lehnerr, I., Muir, D. C. G., St. Pierre, K. A., St. Louis, V. L., & Spencer, C. (2022). Investigation of perfluoroalkyl substances in proglacial rivers and permafrost seep in a high Arctic watershed. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 24(1), 42–51. <https://doi.org/10.1039/d1em00349f>
- MacInnis, J. J., Lehnerr, I., Muir, D. C. G., St. Pierre, K. A., St. Louis, V. L., Spencer, C., & De Silva, A. O. (2019). Fate and Transport of Perfluoroalkyl Substances from Snowpacks into a Lake in the High Arctic of Canada. *Environmental Science and Technology*, 53(18), 10753–10762. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03372>
- Morales-McDevitt, M. E., Dunn, M., Habib, A., Vojta, S., Becanova, J., & Lohmann, R. (2022). Poly- and Perfluorinated Alkyl Substances in Air and Water from Dhaka, Bangladesh. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(2), 334–342. <https://doi.org/10.1002/etc.5255>
- Murray, K. E., Thomas, S. M., & Bodour, A. A. (2010). Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental Pollution*, 158(12), 3462–3471. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.08.009>
- Naile, J. E., Khim, J. S., Wang, T., Chen, C., Luo, W., Kwon, B. O., Park, J., Koh, C. H., Jones, P. D., Lu, Y., & Giesy, J. P. (2010). Perfluorinated compounds in water, sediment, soil and biota from estuarine and coastal areas of Korea. *Environmental Pollution*, 158(5), 1237–1244. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.01.023>
- NMX-AA-014-1980, Pub. L. No. NMX-AA-014-1980 (1980).
- Olmsted, J. L., Ahmadireskety, A., da Silva, B. F., Robey, N., Aristizabal-Henao, J. J., Bonzongo, J.-C. J., & Bowden, J. A. (2021). Using Regulatory Classifications to Assess the Impact of Different Land Use Types on Per- and Polyfluoroalkyl Substance Concentrations in Stormwater Pond Sediments. *Journal of Environmental Engineering*, 147(10). [https://doi.org/10.1061/\(asce\)ee.1943-7870.0001906](https://doi.org/10.1061/(asce)ee.1943-7870.0001906)
- Oxford Academic. (2015). *Difference in slopes*. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=myL_qzuLHTQ&t=21s
- Pan, Y., Zhang, H., Cui, Q., Sheng, N., Yeung, L. W. Y., Sun, Y., Guo, Y., & Dai, J. (2018). Worldwide Distribution of Novel Perfluoroether Carboxylic and Sulfonic Acids in

- Surface Water. *Environmental Science and Technology*, 52(14), 7621–7629. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00829>
- Peters, F. T., Drummer, O. H., & Musshoff, F. (2007). Validation of new methods. *Forensic Science International*, 165(2–3), 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.021>
- Pétre, M.-A., Salk-Gundersen, K., Knappe, D. R. U., Ferguson, P. L., Obenour, D. R., Stapleton, H. M., & Genereux, D. P. (n.d.). *Composition and river export of per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS) upstream and downstream of a manufacturing plant in the Cape Fear River basin (North Carolina, USA)*.
- Pico, Y., Blasco, C., Farré, M., & Barceló, D. (2012). Occurrence of perfluorinated compounds in water and sediment of L'Albufera Natural Park (València, Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 19(4), 946–957. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0560-y>
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., & Korzeniowski, S. H. (2006a). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology*, 40(1), 32–44. <https://doi.org/10.1021/es0512475>
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., & Korzeniowski, S. H. (2006b). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. In *Environmental Science and Technology* (Vol. 40, Issue 1, pp. 32–44). <https://doi.org/10.1021/es0512475>
- Qureshi, M. N., Stecher, G., Huck, C., & Bonn, G. K. (2011). Preparation of polymer based sorbents for solid phase extraction of polyphenolic compounds. *Central European Journal of Chemistry*, 9(2), 206–212. <https://doi.org/10.2478/s11532-011-0006-x>
- Rayne, S., & Forest, K. (2009). Perfluoroalkyl sulfonic and carboxylic acids: A critical review of physicochemical properties, levels and patterns in waters and wastewaters, and treatment methods. In *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* (Vol. 44, Issue 12, pp. 1145–1199). <https://doi.org/10.1080/10934520903139811>
- Remucal, C. K. (2019). Spatial and temporal variability of perfluoroalkyl substances in the Laurentian Great Lakes. In *Environmental Science: Processes and Impacts* (Vol. 21, Issue 11, pp. 1816–1834). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c9em00265k>
- Rodríguez-Varela, M., Durán-Álvarez, J. C., Jiménez-Cisneros, B., Zamora, O., & Prado, B. (2021). Occurrence of perfluorinated carboxylic acids in Mexico City's wastewater: A monitoring study in the sewerage and a mega wastewater treatment plant. *Science of the Total Environment*, 774. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145060>
- Rodríguez-Varela, M. R. I. (2022). *Optimización y validación de un método cromatográfico para determinar ácidos carboxílicos perfluoroalquilados en muestras ambientales: análisis de su movilidad y retención de los compuestos en un*

pedemonte regado con agua residual [Tesis de Doctorado]. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Schiavone, A., Corsolini, S., Kannan, K., Tao, L., Trivelpiece, W., Torres, D., & Focardi, S. (2009). Perfluorinated contaminants in fur seal pups and penguin eggs from South Shetland, Antarctica. *Science of the Total Environment*, 407(12), 3899–3904. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.12.058>
- Semerád, J., Hatasová, N., Grasserová, A., Černá, T., Filipová, A., Hanč, A., Innemanová, P., Pivokonský, M., & Cajthaml, T. (2020). Screening for 32 per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) including GenX in sludges from 43 WWTPs located in the Czech Republic - Evaluation of potential accumulation in vegetables after application of biosolids. *Chemosphere*, 261. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128018>
- Shoemaker, J. A., Grimmett, P. E., & Boutin, B. K. (2009). *EPA Document #: EPA/600/R-08/092 METHOD 537. DETERMINATION OF SELECTED PERFLUORINATED ALKYL ACIDS IN DRINKING WATER BY SOLID PHASE EXTRACTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY/TANDEM MASS SPECTROMETRY (LC/MS/MS)* The National Council on Aging, Senior Environmental Employment Program NATIONAL EXPOSURE RESEARCH LABORATORY OFFICE OF RESEARCH AND DEVELOPMENT U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY CINCINNATI, OHIO 45268.
- Si, Y., Huang, J., Liang, Z., Liu, G., Chen, D., Guo, Y., & Wang, F. (2021). Occurrence and Ecological Risk Assessment of Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in Water and Sediment from an Urban River in South China. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(1), 133–141. <https://doi.org/10.1007/s00244-021-00855-x>
- Tavasoli, E., Luek, J. L., Malley, J. P., & Mouser, P. J. (2021). Distribution and fate of per- And polyfluoroalkyl substances (PFAS) in wastewater treatment facilities. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 23(6), 903–913. <https://doi.org/10.1039/d1em00032b>
- Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 23(8), 535–552. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.04.001>
- Thompson, J., Roach, A., Eaglesham, G., Bartkow, M. E., Edge, K., & Mueller, J. F. (2011a). Perfluorinated alkyl acids in water, sediment and wildlife from Sydney Harbour and surroundings. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2869–2875. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.002>
- Thompson, J., Roach, A., Eaglesham, G., Bartkow, M. E., Edge, K., & Mueller, J. F. (2011b). Perfluorinated alkyl acids in water, sediment and wildlife from Sydney

- Harbour and surroundings. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2869–2875. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.002>
- US EPA. (2020). Federal Register /Vol. 85, No. 144 /Monday, July 27, 2020 /Rules and Regulations. *Federal Register*, 85(144).
- Wang, B., Yao, Y., Chen, H., Chang, S., Tian, Y., & Sun, H. (2020). Per- and polyfluoroalkyl substances and the contribution of unknown precursors and short-chain (C2–C3) perfluoroalkyl carboxylic acids at solid waste disposal facilities. *Science of the Total Environment*, 705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135832>
- Wang, Q., Ruan, Y., Zhao, Z., Zhang, L., Hua, X., Jin, L., Chen, H., Wang, Y., Yao, Y., Lam, P. K. S., Zhu, L., & Sun, H. (2022). Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the Three-North Shelter Forest in northern China: First survey on the effects of forests on the behavior of PFAS. *Journal of Hazardous Materials*, 427. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128157>
- Wang, S., Cao, X., Zhang, H., Yang, Y., & Zhang, M. (2018). Oxidative conversion of potential perfluoroalkyl acid precursors in Jiaozhou Bay and nearby rivers and sewage treatment plant effluent in China. *Marine Pollution Bulletin*, 136, 481–490. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.045>
- Wang, Y., Shi, Y., & Cai, Y. (2019). Spatial distribution, seasonal variation and risks of legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances in urban surface water in Beijing, China. *Science of the Total Environment*, 673, 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.067>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., Buck, R. C., & Hungerbühler, K. (2014a). Global emission inventories for C4-C14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, Part I: Production and emissions from quantifiable sources. *Environment International*, 70, 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.013>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., Buck, R. C., & Hungerbühler, K. (2014b). Global emission inventories for C4-C14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, Part I: Production and emissions from quantifiable sources. In *Environment International* (Vol. 70, pp. 62–75). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.013>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., Buck, R. C., & Hungerbühler, K. (2014c). Global emission inventories for C4-C14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, part II: The remaining pieces of the puzzle. *Environment International*, 69, 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.006>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., Buck, R. C., & Hungerbühler, K. (2014d). Global emission inventories for C4-C14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues

- from 1951 to 2030, part II: The remaining pieces of the puzzle. *Environment International*, 69, 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.006>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., & Hungerbuehler, K. (2015). Hazard assessment of fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl acids (PFAAs) and their precursors: Status quo, ongoing challenges and possible solutions. *Environment International*, 75, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.013>
- Waters. (2004). *Solid Phase Extraction Sample Preparation*. Retrieved November 15, 2022, from <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/lcSP.pdf>
- Waters Corporation. (2019, August 22). *LC-MS/MS Education Series: Quadrupole Theory and Use*. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=iZH-oxP-OJO>
- White, N. D., Balthis, L., Kannan, K., de Silva, A. O., Wu, Q., French, K. M., Daugomah, J., Spencer, C., & Fair, P. A. (2015). Elevated levels of perfluoroalkyl substances in estuarine sediments of Charleston, SC. *Science of the Total Environment*, 521–522, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.078>
- Winkens, K., Giovanoulis, G., Koponen, J., Vestergren, R., Berger, U., Karvonen, A. M., Pekkanen, J., Kiviranta, H., & Cousins, I. T. (2018). Perfluoroalkyl acids and their precursors in floor dust of children's bedrooms – Implications for indoor exposure. *Environment International*, 119, 493–502. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.06.009>
- Xie, L. N., Wang, X. C., Dong, X. J., Su, L. Q., Zhu, H. J., Wang, C., Zhang, D. P., Liu, F. Y., Hou, S. S., Dong, B., Shan, G. Q., Zhang, X., & Zhu, Y. (2021). Concentration, spatial distribution, and health risk assessment of PFASs in serum of teenagers, tap water and soil near a Chinese fluorochemical industrial plant. *Environment International*, 146. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106166>
- Xu, C., Liu, Z., Song, X., Ding, X., & Ding, D. (2021). Legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in multi-media around a landfill in China: Implications for the usage of PFASs alternatives. *Science of the Total Environment*, 751. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141767>
- Yamazaki, E., Taniyasu, S., Wang, X., & Yamashita, N. (2021). Per- and polyfluoroalkyl substances in surface water, gas and particle in open ocean and coastal environment. *Chemosphere*, 272. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129869>
- Yang, Q. Q., Wang, S. L., Liu, W. J., Yang, Y. W., & Jiang, S. Q. (2020). Spatial distribution of perfluoroalkyl acids (PFAAs) and their precursors and conversion of precursors in seawater deeply affected by a city in China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 194. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110404>
- Yao, Y., Zhao, Y., Sun, H., Chang, S., Zhu, L., Alder, A. C., & Kannan, K. (2018). Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) in Indoor Air and Dust from Homes and

Various Microenvironments in China: Implications for Human Exposure. *Environmental Science and Technology*, 52(5), 3156–3166. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04971>

Zareitalabad, P., Siemens, J., Hamer, M., & Amelung, W. (2013). Perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) in surface waters, sediments, soils and wastewater - A review on concentrations and distribution coefficients. In *Chemosphere* (Vol. 91, Issue 6, pp. 725–732). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.024>

Zhao, P., Xia, X., Dong, J., Xia, N., Jiang, X., Li, Y., & Zhu, Y. (2016). Short- and long-chain perfluoroalkyl substances in the water, suspended particulate matter, and surface sediment of a turbid river. *Science of the Total Environment*, 568, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.221>

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Perfluorohexanoic acid, CID=67542, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluorohexanoic-acid> (accessed on Mar. 7, 2020)

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Perfluoroheptanoic acid, CID=67818, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluoroheptanoic-acid> (accessed on Mar. 7, 2020)

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Perfluorooctanoic acid, CID=9554, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluorooctanoic-acid> (accessed on Mar. 7, 2020)

National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Perfluoroundecanoic acid, CID=77222, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluoroundecanoic-acid> (accessed on Mar. 7, 2020)

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 9777, Heptafluorobutyric acid. Retrieved December 15, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Heptafluorobutyric-acid>.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 67542, Perfluorohexanoic acid. Retrieved December 15, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluorohexanoic-acid>.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 67818, Perfluoroheptanoic acid. Retrieved December 15, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluoroheptanoic-acid>.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 9554, Perfluorooctanoic acid. Retrieved December 15, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluorooctanoic-acid>.

- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 77222, Perfluoroundecanoic acid. Retrieved December 15, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluoroundecanoic-acid>.
- Royal Society of Chemistry (2020). ChemSpider, Heptafluorobutyric acid. Recuperado 7 de marzo de 2020, de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.9394.html>
- Royal Society of Chemistry (2020). ChemSpider, Perfluorohexanoic acid. Recuperado 7 de marzo de 2020, de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.60864.html>
- Royal Society of Chemistry (2020). ChemSpider, Perfluoroheptanoic acid. Recuperado 7 de marzo de 2020, de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.61135.html>
- Royal Society of Chemistry (2020). ChemSpider, Perfluorooctanoic Acid. Recuperado 7 de marzo de 2020, de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.9180.html>
- Royal Society of Chemistry (2020). ChemSpider, PFUnDA. Recuperado 7 de marzo de 2020, de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.69649.html>

Apéndice

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFBA

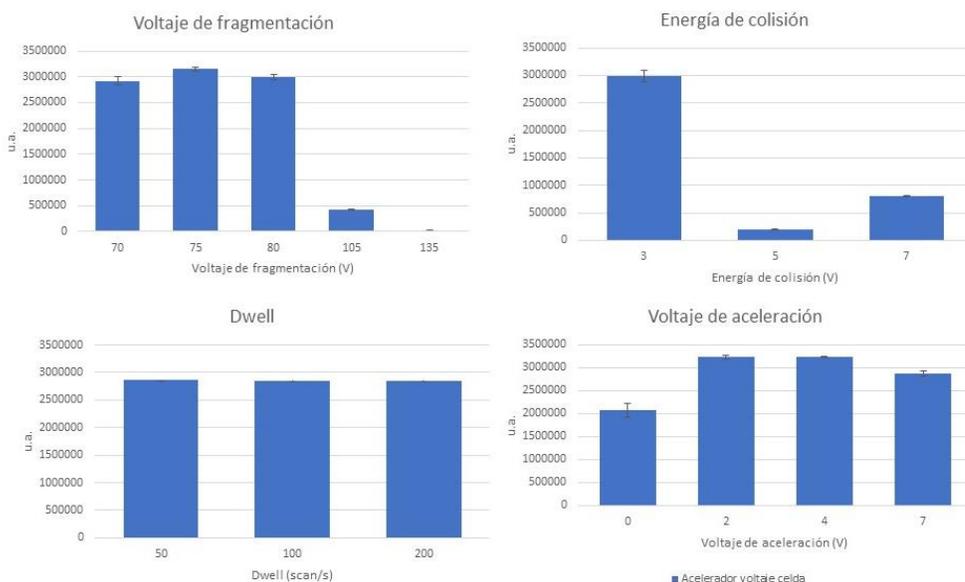


Figura suplementaria 1. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFBA.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHxA en agua HPLC

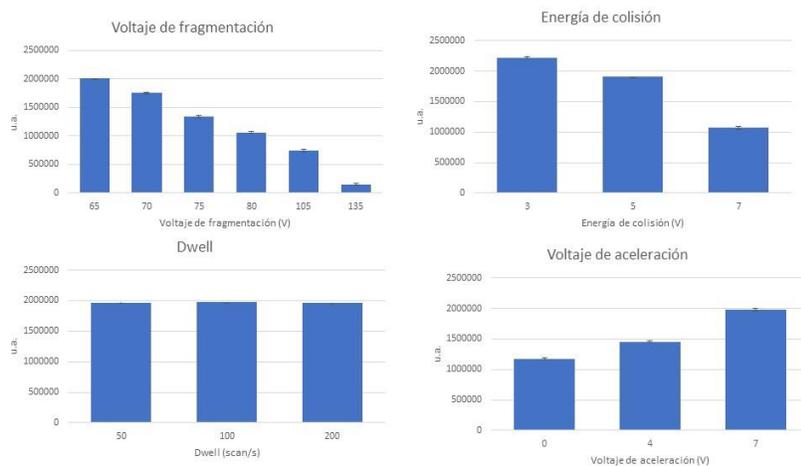


Figura suplementaria 2. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHxA en agua de grado HPLC.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHxA en agua lagunar

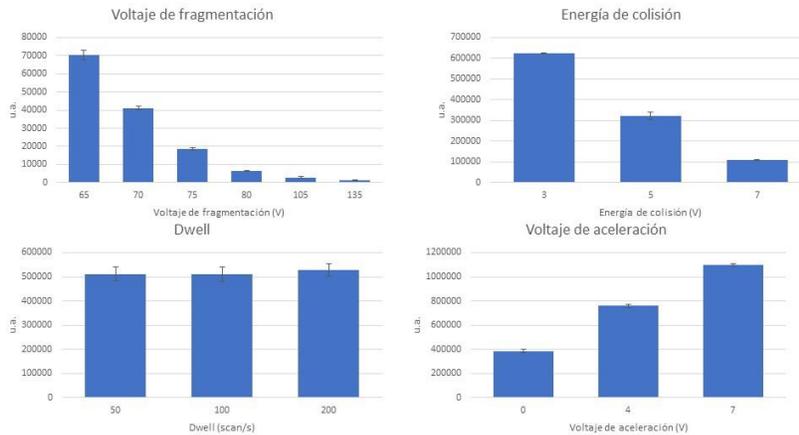


Figura suplementaria 3. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHxA en agua de grado lacustre.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHpA en agua HPLC

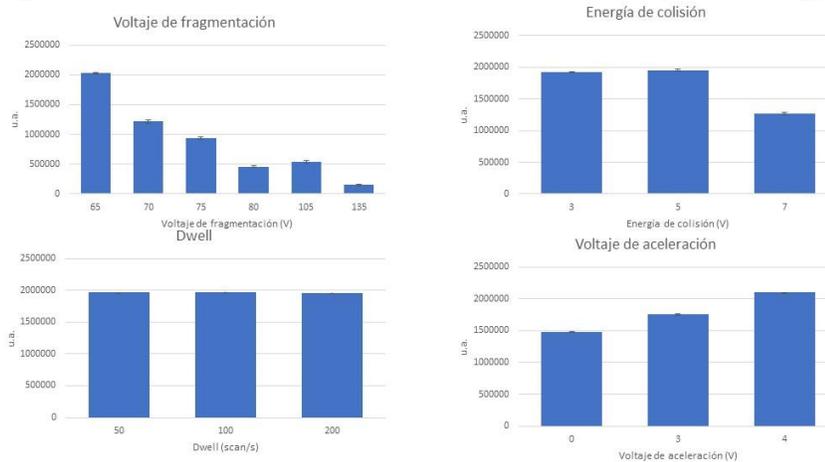


Figura suplementaria 4. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHpA en agua de grado HPLC.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHpA en agua lagunar

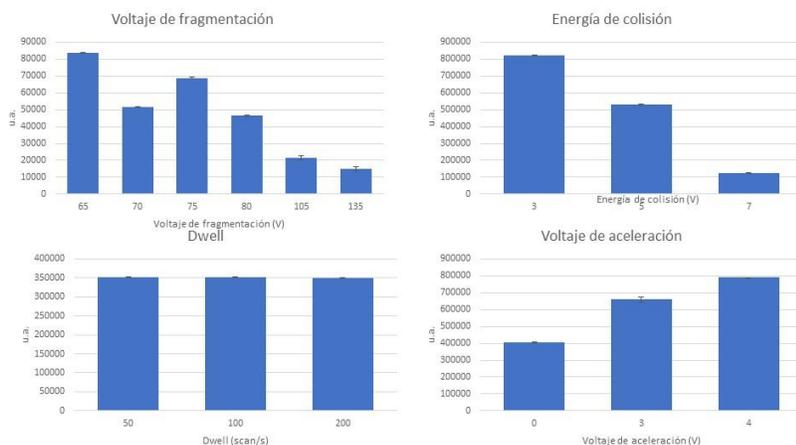


Figura suplementaria 5. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFHpA en agua lacustre.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFOA en agua HPLC

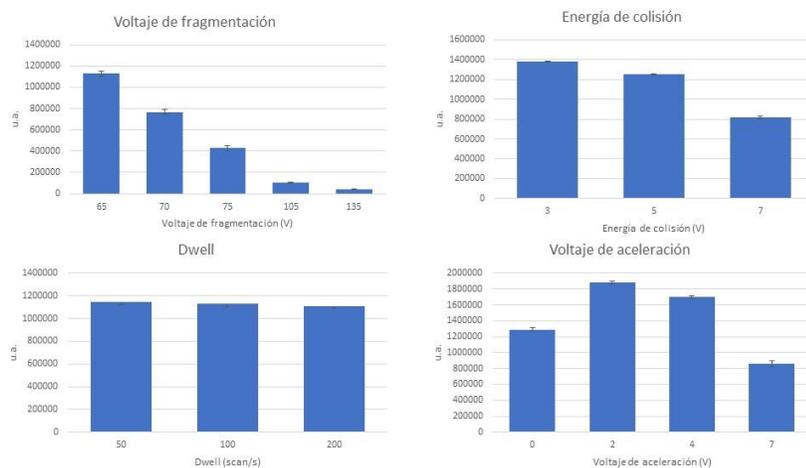


Figura suplementaria 6. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFOA en agua de grado HPLC.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFOA en agua lagunar

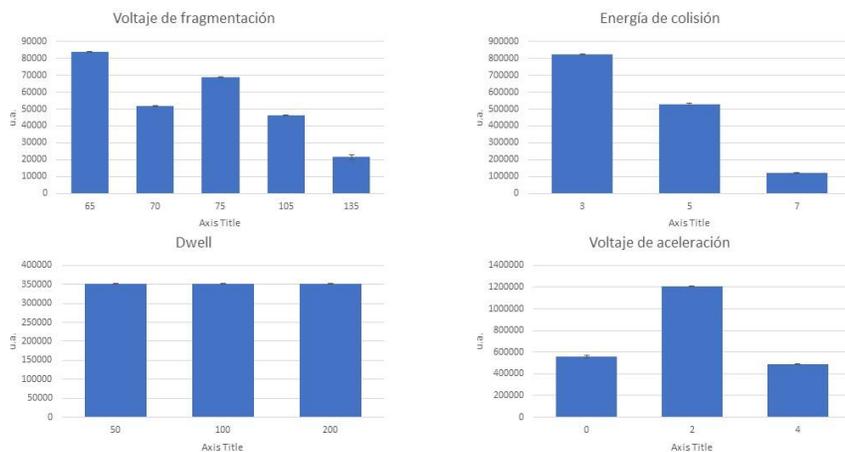


Figura suplementaria 7. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFOA en agua lacustre.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFOA en agua HPLC

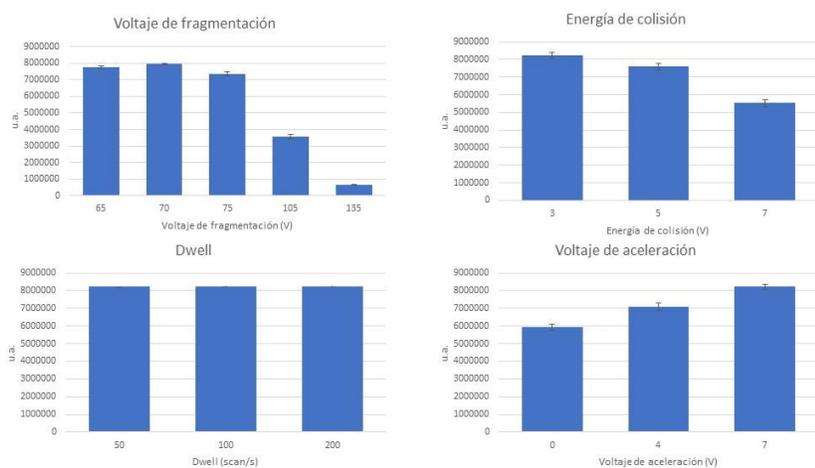


Figura suplementaria 8. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFOA en agua de grado HPLC.

Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFUnA en agua lagunar

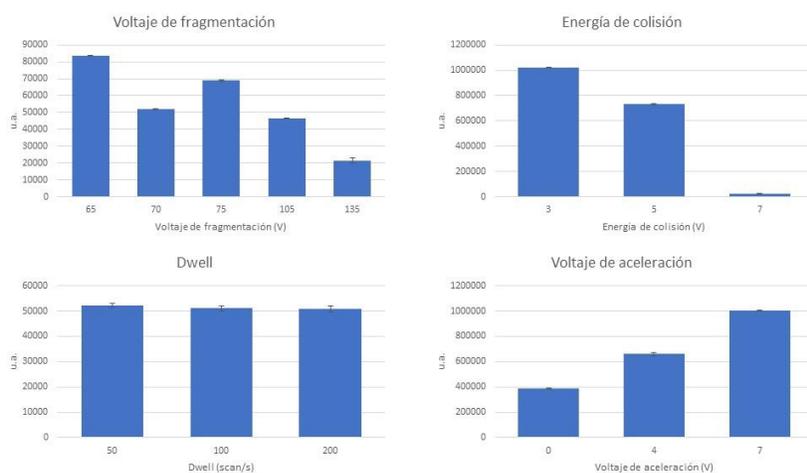


Figura suplementaria 9. Optimización de parámetros espectrométricos independientes de la fase móvil en PFUnA en agua lacustre.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion producto de PFBA

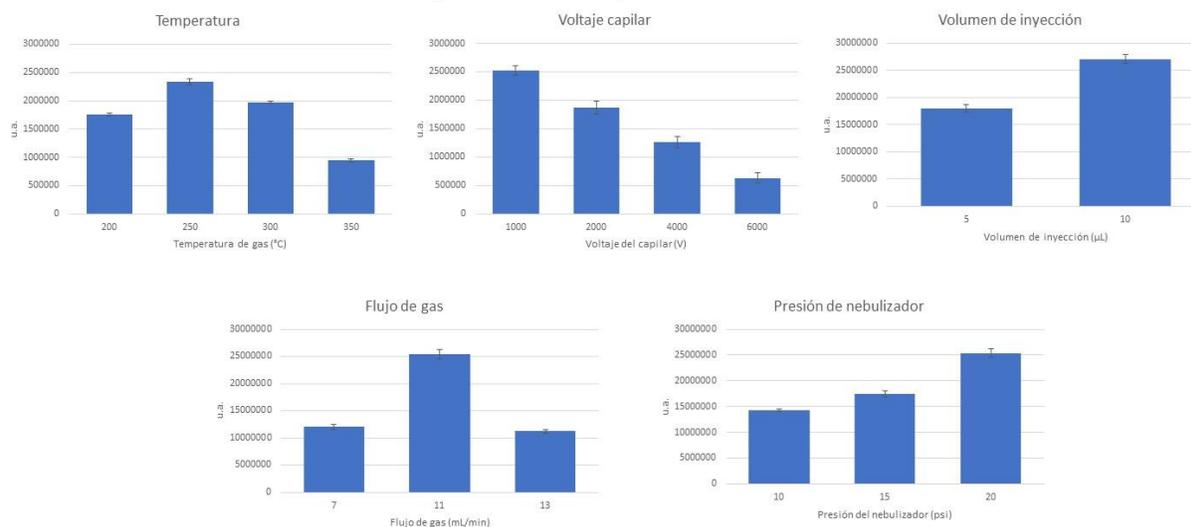


Figura suplementaria 10. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion producto de PFBA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion producto de PFHxA

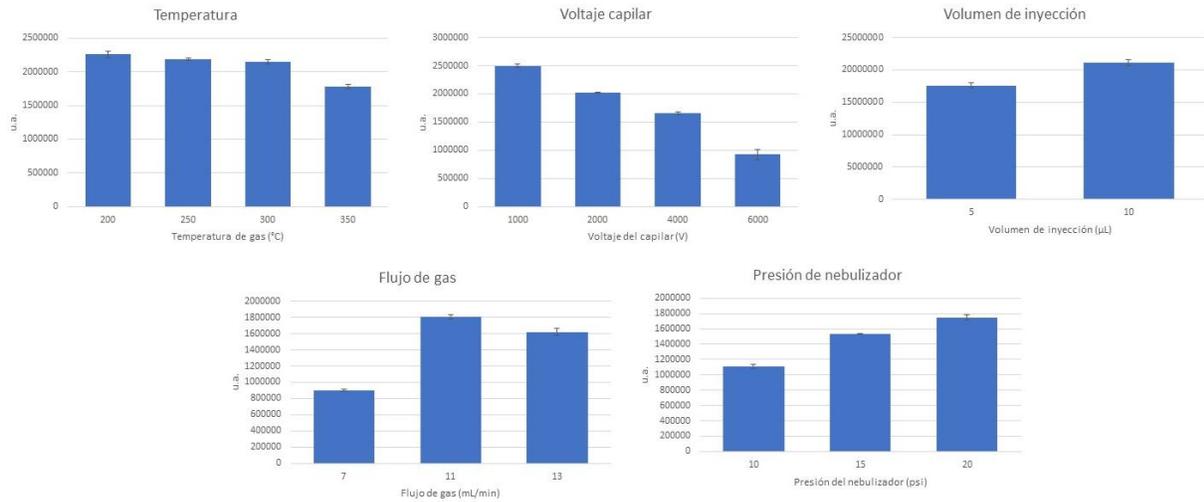


Figura suplementaria 11. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion producto de PFHxA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion de confirmación de PFHxA

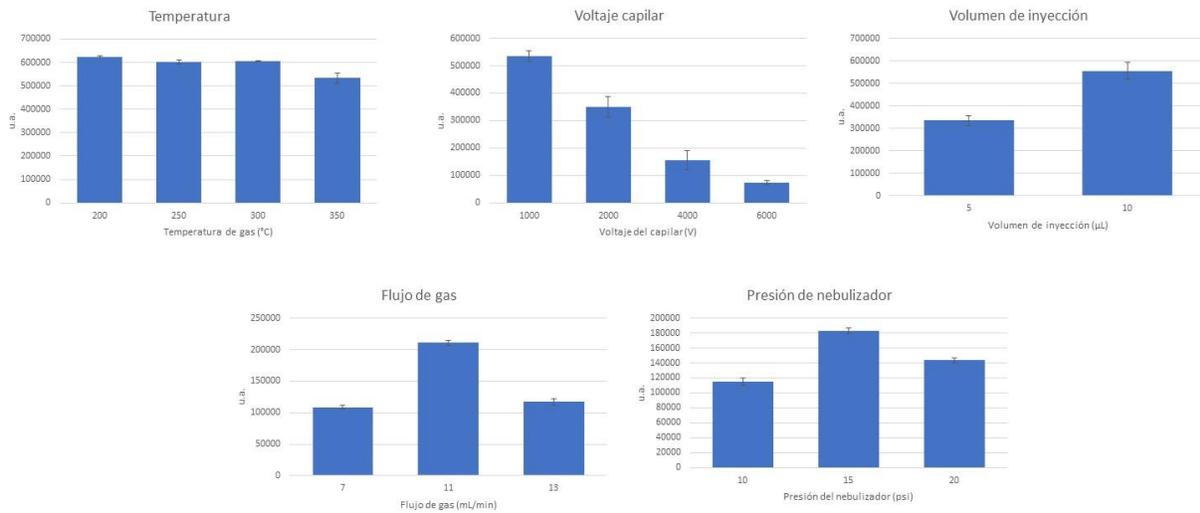


Figura suplementaria 12. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion de confirmación de PFHxA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion producto de PFHpA

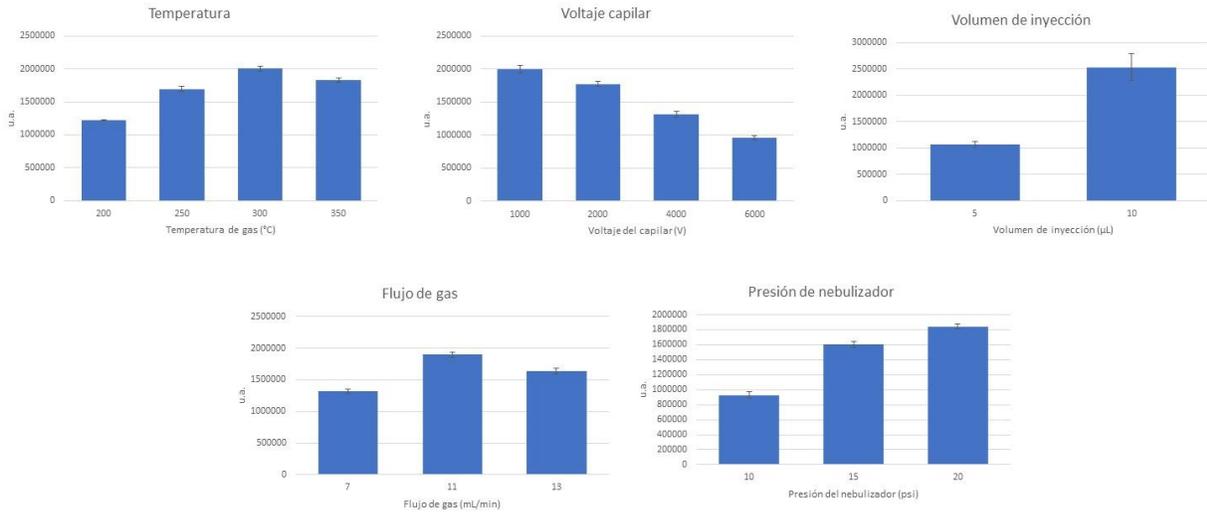


Figura suplementaria 13. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion producto de PFHpA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion de confirmación de PFHpA

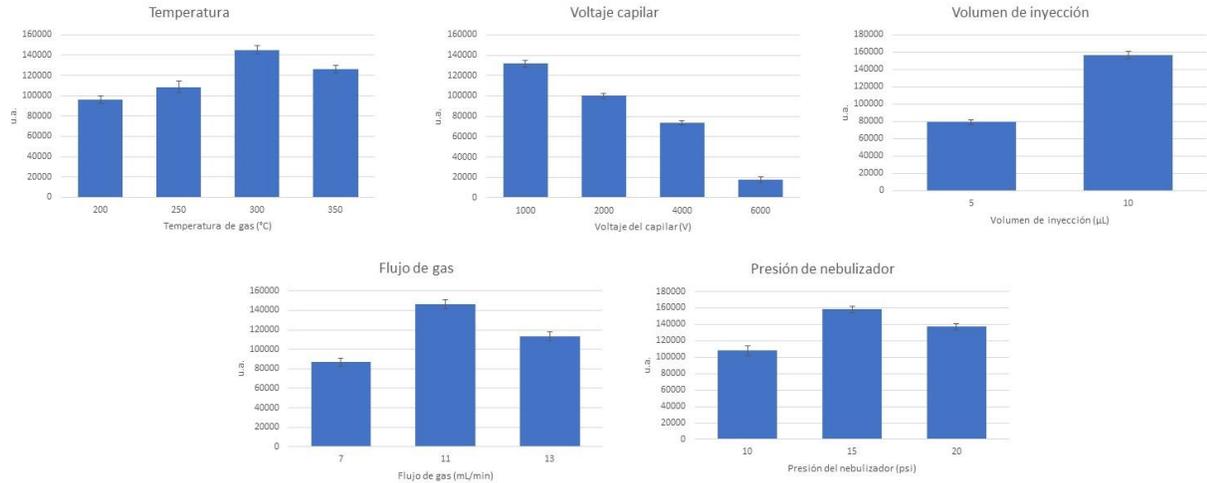


Figura suplementaria 14. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion de confirmación de PFHpA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion producto de PFOA

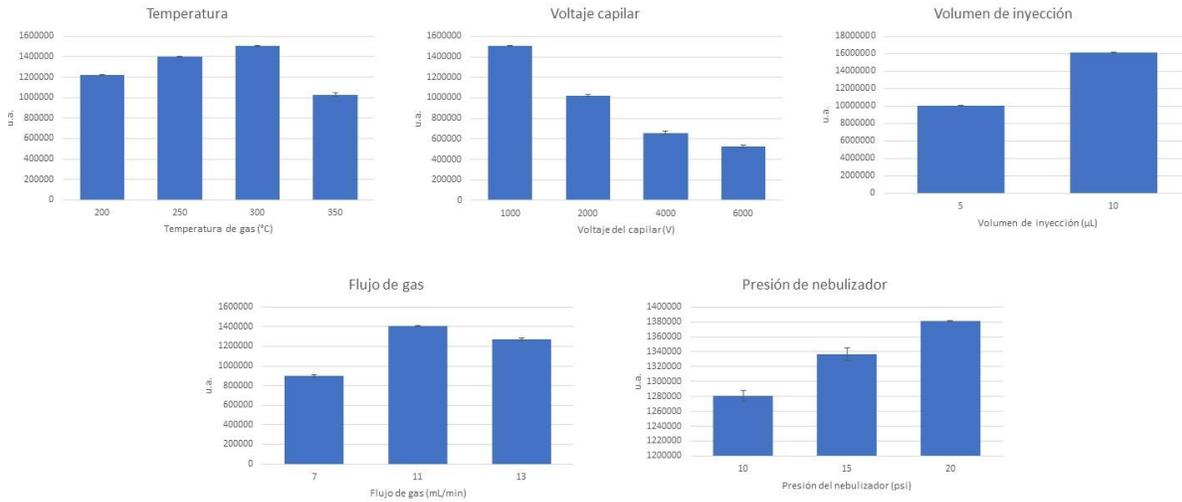


Figura suplementaria 15. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion producto de PFOA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion de confirmación de PFOA

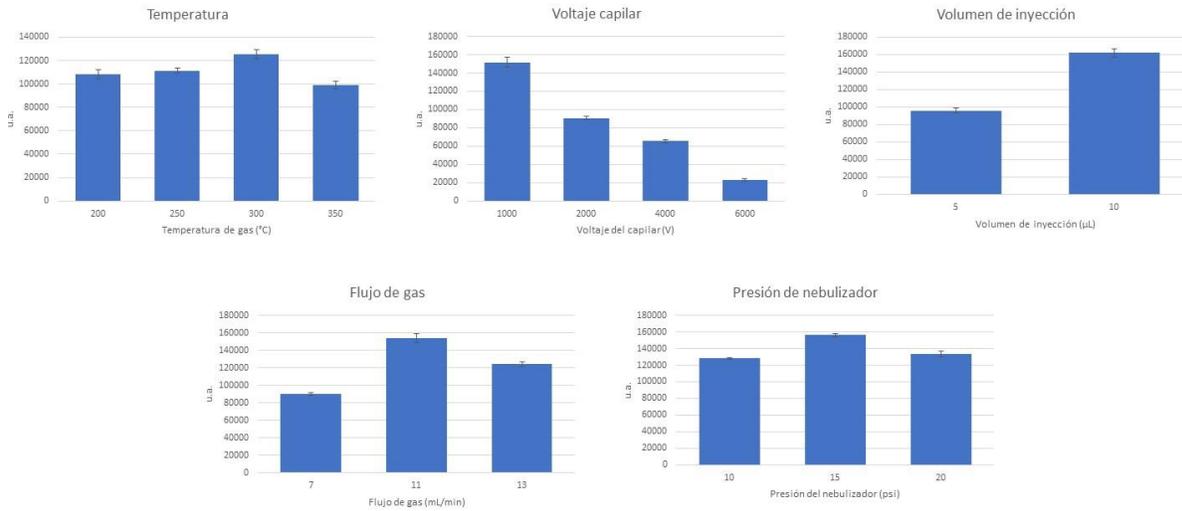


Figura suplementaria 16. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion de confirmación de PFOA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion producto de PFUnA

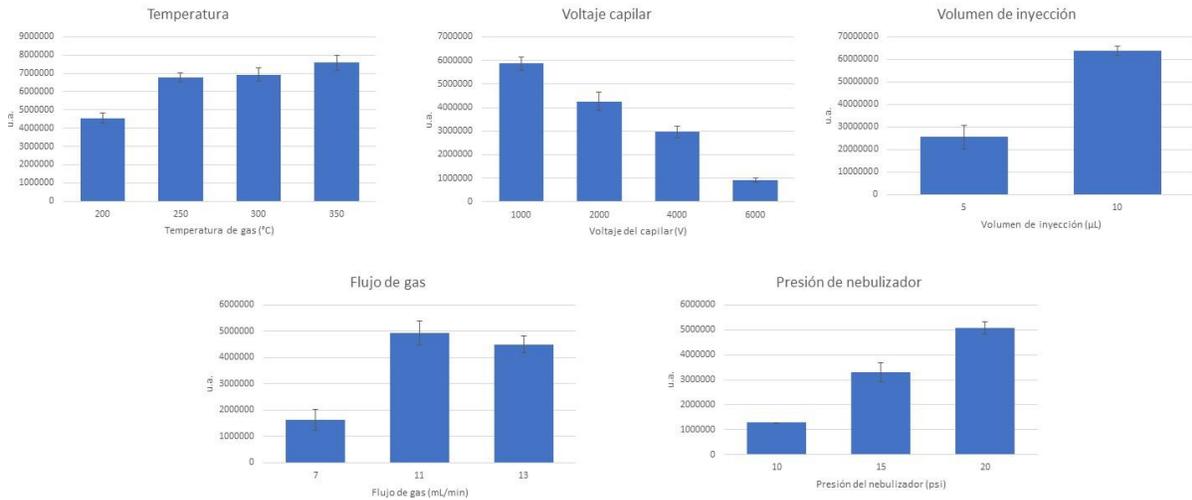


Figura suplementaria 17. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion producto de PFUnA en agua de grado HPLC.

Parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil que optimizan el ion de confirmación de PFUnA

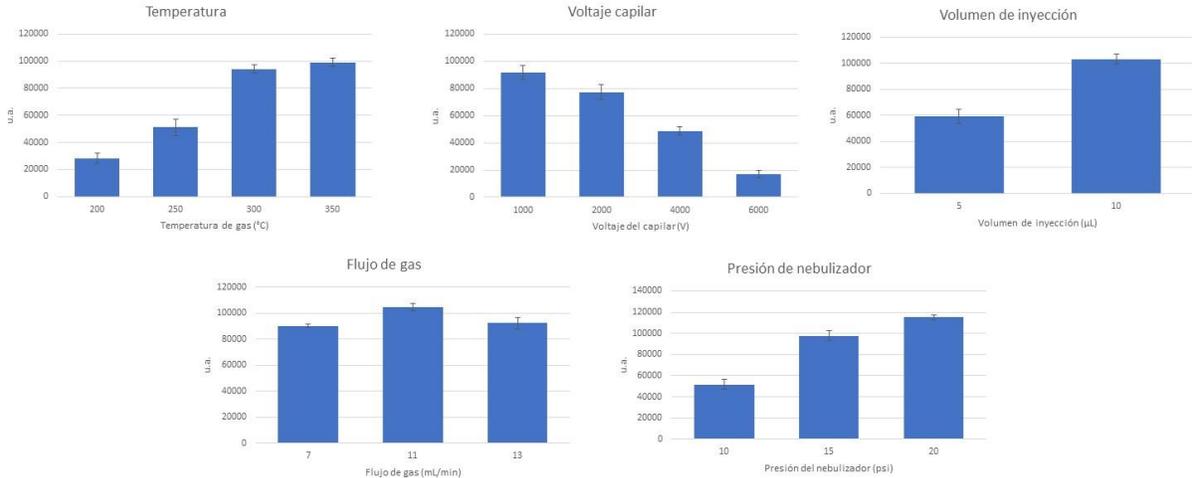


Figura suplementaria 18. Optimización de parámetros espectrométricos dependientes de la fase móvil para optimizar el ion de confirmación de PFUnA en agua de grado HPLC.

Tabla suplementaria 1: Detalles de parámetros dependientes de la fase móvil del espectrómetro de masas óptimos, al igual que el valor elegido como conclusión, para abarcar la mayor área o respuesta analítica en todos los compuestos.

Compuesto	Transición	Temperatura de gas (°C)	Voltaje del capilar (V)	Volumen de inyección (µL)	Flujo de gas (mL/min)	Presión del nebulizador (psi)
PFBA	212.9→168.9	200	1000	10	11	20
PFHxA	313.0→269.0 313.0→119.0	200 200	1000 1000	10 10	11 11	20 15
PFHpA	362.9→319.0 362.9→169.0	300 300	1000 1000	10 10	11 11	20 15
PFOA	412.9→369.0 412.9→169.0	300 300	1000 1000	10 10	11 11	20 15
PFUnA	562.9→519.0 562.9→169.0	350 350	1000 1000	10 10	11 11	20 20
Conclusión :	--	300°C	1000 V	10 µL	11 mL/min	20 psi

Curvas de calibración y recobros de PFBA en agua de grado HPLC y lagunar

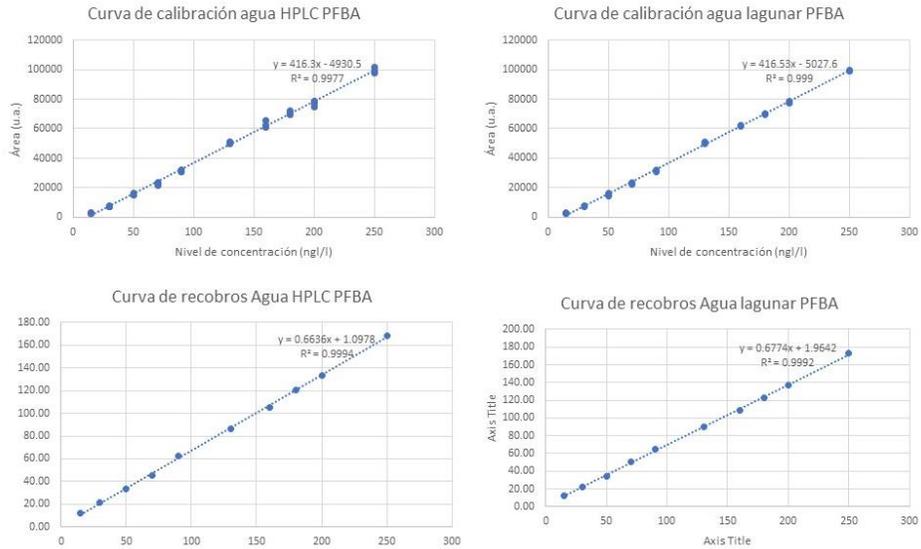


Figura suplementaria 19: Curvas de calibración y recobros de PFBA en agua de grado HPLC y lacustre.

Curvas de calibración y recobros de PFHxA en agua de grado HPLC y lagunar

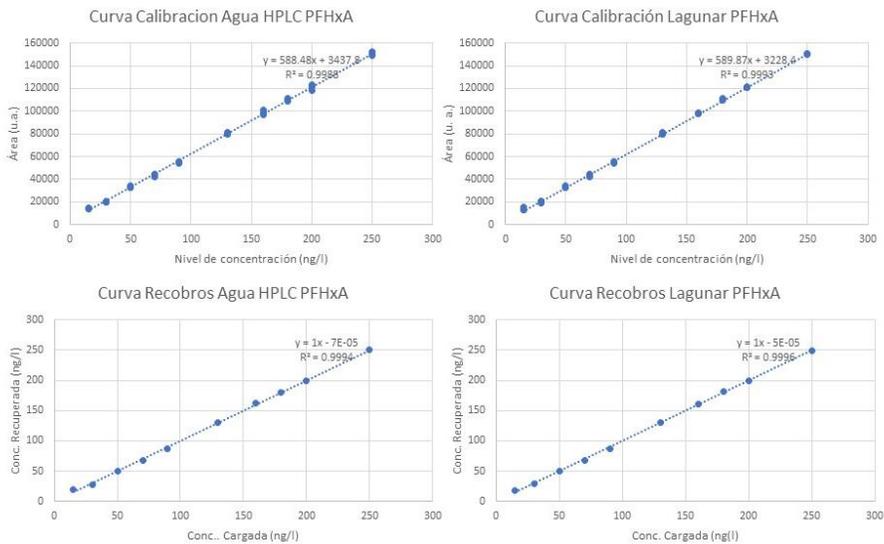


Figura suplementaria 20: Curvas de calibración y recobros de PFHxA en agua de grado HPLC y lacustre.

Curvas de calibración y recobros de PFHpA en agua de grado HPLC y lagunar

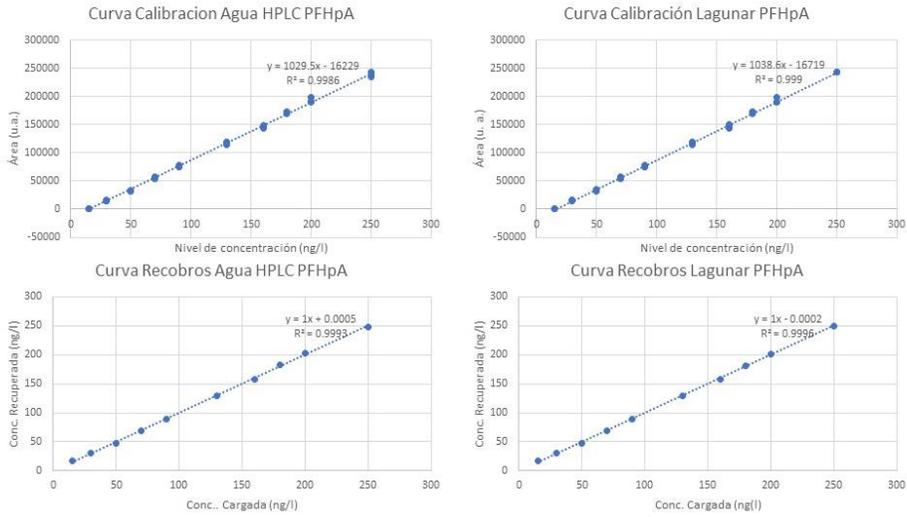


Figura suplementaria 21: Curvas de calibración y recobros de PFHpA en agua de grado HPLC y lacustre.

Curvas de calibración y recobros de PFOA en agua de grado HPLC y lagunar

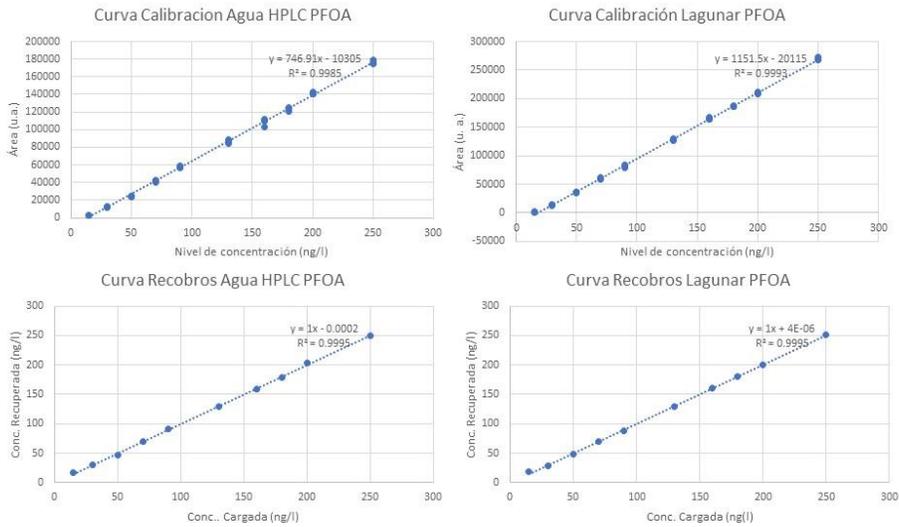


Figura suplementaria 22: Curvas de calibración y recobros de PFOA en agua de grado HPLC y lacustre.

Curvas de calibración y recobros de PFUnA en agua de grado HPLC y lagunar

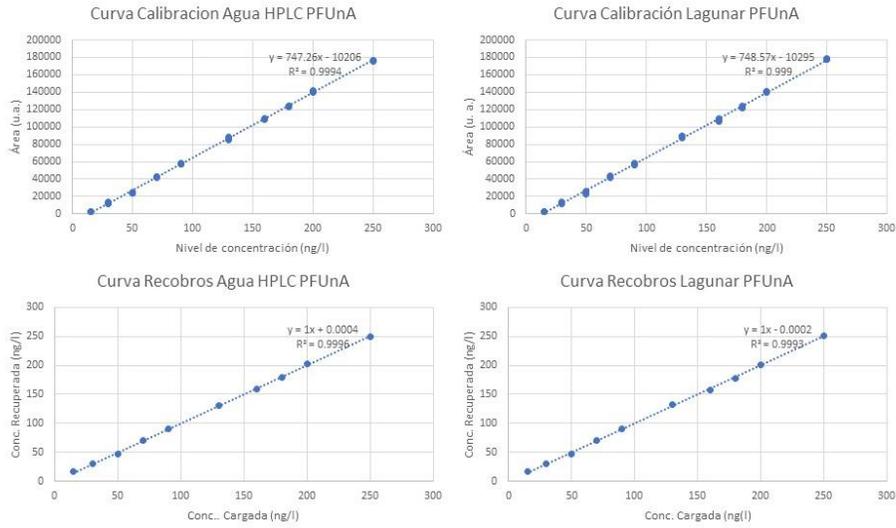


Figura suplementaria 23: Curvas de calibración y recobros de PFUnA en agua de grado HPLC y lacustre.

Gráficos de distribución de residuales de las curvas de calibración de los PFCAs en agua de grado HPLC y lagunar

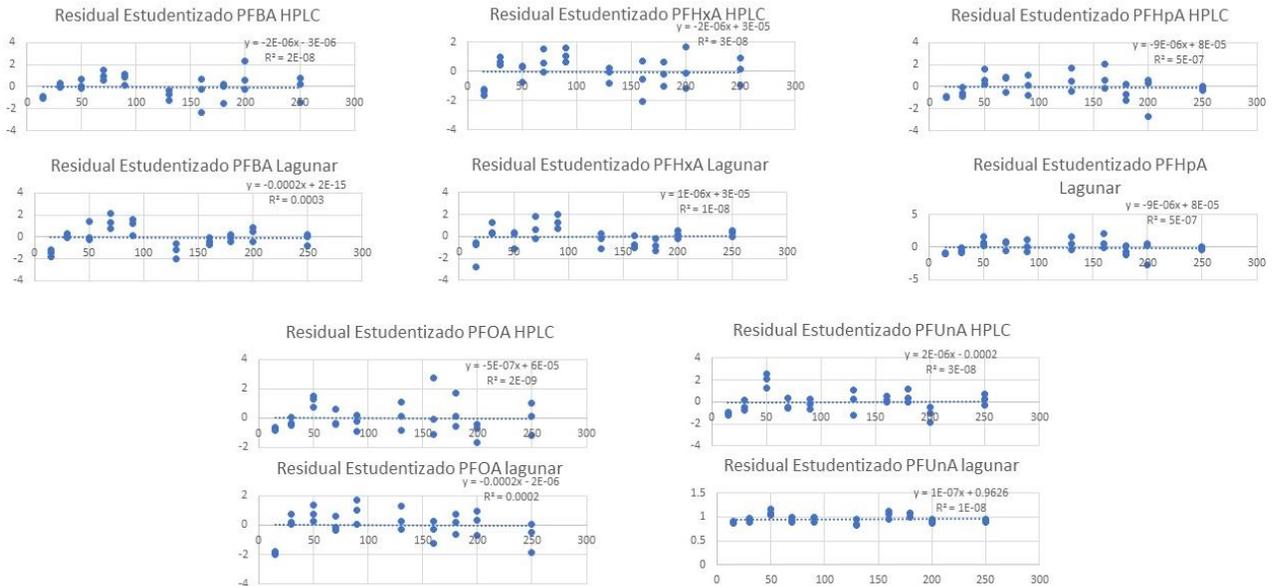


Figura suplementaria 24: Gráficos de distribución de residuales de las curvas de calibración de los PFCAs en agua de grado HPLC y lacustre.

En la siguiente tabla suplementaria, se realizaron pruebas de t-Student para comprobar estadísticamente si las pendientes en agua lacustre y en agua de grado HPLC eran iguales en cada PFCA. Las fórmulas utilizadas son:

H₀: Las pendientes son iguales, es decir: $m_1 - m_2 = 0$

H_A: Las pendientes son diferentes, es decir: $m_1 - m_2 \neq 0$

Por lo que se trata de una prueba de t-Student de 2 colas.

La pendiente fue obtenida mediante la regresión lineal

n es el número de datos de cada curva (30)

SER (el error estándar de la regresión) es calculado mediante la siguiente fórmula:

$$SER = \sqrt{\frac{\sum(\hat{y} - y)}{n - 2}}$$

Donde \hat{y} se refiere a la concentración obtenida teóricamente de la curva de calibración mientras que "y" se refiere al valor experimental obtenido. A la resta $\hat{y} - y$ se le conoce como residual

SEP (el error estándar de la pendiente) es calculado con la siguiente fórmula:

$$SEP = \frac{SER}{\sqrt{\sigma^2 \cdot (n - 1)}}$$

Donde σ^2 se refiere a la varianza de las concentraciones utilizadas en la curva, es decir, el eje x

Para obtener SED (el error estándar de la diferencia entre las dos curvas), se utiliza la siguiente fórmula:

$$SED = \sqrt{SEP_1^2 + SEP_2^2}$$

El parámetro estadístico t utilizado es calculado dividiendo la diferencia entre pendientes entre el SED. En una tabla de dos colas de t-Student se obtiene un valor p

que debe superar a un valor arbitrario α para poder aceptar la hipótesis nula. En caso contrario, se acepta la hipótesis alterna.

Tabla suplementaria 2: Parámetros obtenidos de la estudentización de los residuales de las curvas de calibración.

Residuales						
	Agua HPLC			Agua lagunar		
	m	b	r	m	b	r
PFBA	-2.00E-06	-3.00E-06	1.41E-04	-2.00E-04	2.00E-15	1.73E-02
PHHxA	-2.00E-06	3.00E-05	1.73E-04	1.00E-06	3.00E-05	1.00E-04
PFHpA	-9.00E-06	8.00E-05	7.07E-04	9.00E-06	8.00E-05	7.07E-04
PFOA	-5.00E-07	6.00E-05	4.47E-05	-2.00E-04	-2.00E-06	1.41E-02
PFUnA	2.00E-06	-2.00E-04	1.73E-04	1.00E-07	9.63E-01	1.00E-04

Tabla suplementaria 3: Pruebas de t de Student para comprobar la igualdad de pendientes de cada PFCA en agua de grado HPLC y en agua lacustre. Los datos utilizados son los de las curvas de calibración. $\alpha=0.05$ (95 % de intervalo de confianza).

Prueba t-student para confirmar igualdad de pendientes	PFBA		PFHxA		PFHpA		PFOA		PFUnA	
	HPLC	Lagunar	HPLC	Lagunar	HPLC	Lagunar	HPLC	Lagunar	HPLC	Lagunar
Cálculos										
pendiente	416.30	416.53	588.48	589.87	1029.49	1038.62	746.91	1151.45	747.26	748.57
n	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
SER (error estándar de la regresión)	1558.07	1045.63	1573.21	1220.83	2959.08	2503.09	2213.91	2375.76	1390.81	1851.99
SEP (error estándar de la pendiente)	3.80	2.55	3.84	2.98	7.22	6.11	5.40	5.80	3.39	4.52
diferencia entre pendientes	0.23		1.38		9.13		404.54		1.31	
SED (error estándar de la diferencia)	4.58		4.86		9.46		7.93		5.65	
t-stat	0.05		0.28		0.97		51.04		0.23	
df (grados de libertad)	56		56		56		56		56	
p	0.96		0.78		0.34		1.1927E-48		0.82	
α	0.05		0.05		0.05		0.05		0.05	
$p > \alpha$	1		1		1		0		1	
Conclusión:	Se acepta la hipótesis nula de que las pendientes son iguales		Se acepta la hipótesis nula de que las pendientes son iguales		Se acepta la hipótesis nula de que las pendientes son iguales		Se niega la hipótesis nula, por lo que las pendientes son diferentes		Se acepta la hipótesis nula de que las pendientes son iguales	

Tabla suplementaria 4: Concentraciones observadas de los distintos PFCAs en las distintas lagunas. Clave: MB Lago Montebello. IMBII: Agua del fondo en Montebello. BA: Lago Bosque Azul. IBAI: Agua Del fondo del lago Bosque Azul. BT: Lago

Balamtetik. TZ: Lago Tzisco. <LDD: Debajo del límite de detección: (6ng/L); <LDC: Debajo del límite de cuantificación (15ng/L).

Clave de la muestra	Concentración (ng/L)				
	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
Balamtetik 1	28.3	152.9	28.7	<LDD	<LDD
Balamtetik 2	38.3	155.7	24.2	<LDD	<LDD
Balamtetik 3	26.4	154.3	22.3	<LDD	<LDD
Bosque Azul 1	25.5	146.3	17.7	<LDD	<LDD
Bosque Azul 2	24.8	133.9	16.7	<LDD	<LDD
Bosque Azul 3	29.5	144.2	19.2	<LDD	<LDD
Bosque Azul Fondo	20.3	125.7	<LDC	<LDD	<LDD
Tzisco 1	18.2	<LDC	<LDC	<LDD	<LDD
Tzisco 2	16.6	15.1	<LDC	<LDD	<LDD
Tzisco 3	17.1	<LDC	<LDC	<LDD	<LDD
Montebello 1	<LDD	125.4	<LDC	<LDD	<LDD
Montebello 2	<LDD	123.3	<LDC	<LDD	<LDD
Montebello 3	<LDD	124.6	<LDC	<LDD	<LDD
Montebello Fondo	<LDD	<LDC	<LDD	<LDD	<LDD
Leyenda:					
Lagos afectados			Agua de fondo de lago afectado		
Lago prístino			Agua de fondo de lago prístino		

Tabla suplementaria 5: % RSD calculado para las concentraciones obtenidas en los resultados. Los resultados en rojo representan un valor por debajo del límite de

cuantificación (15 ng/L) pero por encima del límite de detección (6 ng/L). El valor de 10.5 ng/L fue usado para obtener las barras de error.

Lago	PFBA		PFHxA		PFHpA		PFOA		PFUnA	
	Concentración Promedio (ng/L)	% RSD								
Balamtetik	31.00	12.83	154.30	0.60	25.07	7.00	0	0	0	0
Bosque Azul	26.60	13.20	141.47	0.83	17.87	7.27	0	0	0	0
Bosque Azul Fondo	20.30	13.73	125.70	1.11	10.50	7.55	0	0	0	0
Tziscaco	17.30	13.98	15.10	3.09	10.50	7.55	0	0	0	0
Montebello	0.00	0.00	124.33	1.13	10.50	7.55	0	0	0	0
Montebello Fondo	0.00	0.00	10.50	3.17	0.00	0.00	0	0	0	0

Tabla suplementaria 6: Desglose por regiones y países de los estudios previos de análisis de PFCAs en matrices ambientales

Norteamérica		Europa		Este y Sureste Asiático		África subsahariana		Oceanía		Territorio Internacional		Latinoamérica		Sur Asiático		Medio Oriente y Norte de África	
EEUU	94	Alemania	33	China	56	Uganda	6	Australia	13	-	15	Brasil	4	India	5	Israel	3
Canadá	15	España	17	Japón	21	Sudáfrica	5	Fiji	1			México	4	Bangladesh	1	Egipto	1
Canadá/EEUU	2	Suiza	8	Corea del Sur	15	Etiopía	2	Islas Salomón	1			Argentina	1			Marruecos	1
Jamaica	1	Suecia	7	Hong Kong	3	Ghana	2	Kiribati	1			Ecuador	1			Túnez	1
		Dinamarca	5	Corea del Norte	1	Turkmenistán	1	Palau	1								
		Italia	5	Filipinas	1	Yemen	1	Samoa	1								
		Noruega	5	Malasia	1	Kenia	1	Tuvalu	1								
		Rusia	5	Mongolia	1	Senegal	1	Vanuatu	1								
		Francia	3			Tanzania	1										
		Grecia	3			Zambia	1										
		Finlandia	2														
		Irlanda	2														
		Austria	1														
		Chequia	1														
		Malta	1														
		Países Bajos	1														
		Países Nórdicos	1														
		Reino Unido	1														
		Serbia	1														
Total de la región	112		102		99		21		20		15		10		6		6

Tabla suplementaria 7: Tabla reportada por Rodríguez-Varela et al. (2021) del efecto del flujo de nitrógeno para evaporar en la extracción en fase sólida. La matriz utilizada fue agua residual proveniente de la Ciudad de México. Es notable la gran pérdida de PFBA, aunque no es una sorpresa, ya que es el componente más volátil de los analizados.

Nivel de concentración	Valor medido	Evaporación suave (5 mL/min)					Evaporación fuerte (30 mL/min)				
		PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
100 ng/L	Área del pico (u.a.)	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
		39810	51109	103215	98325	80304	30212	44362	102015	108563	78542
		38910	50077	95632	113221	84521	33512	42251	98632	99352	81102
		38123	48693	97521	109882	82213	31885	43321	88201	104330	79332
		41004.0	45202.0	94021.0	99505	81302	32760	46021	97885	114521	83001
	38642.0	47412.0	90014.0	112503	79885	31312	45743	87663	100738	86203	
	Concentración (ng/L)	96.8	104.7	94.6	89.4	97.7	75.9	93.3	93.5	98.3	95.4
		94.8	103.0	87.3	102.3	103.4	83.1	89.7	90.2	90.3	98.8
		93.1	100.6	89.1	99.4	100.3	79.6	91.5	80.1	94.6	96.4
		99.4	94.7	85.7	90.4	99.1	81.5	96.1	89.5	103.5	101.3
		94.3	98.5	81.8	101.7	97.2	78.3	95.6	79.5	91.5	105.6
	Pérdida (%)	3.2	-4.7	5.4	10.6	2.3	24.1	6.7	6.5	1.7	4.6
		5.2	-3.0	12.7	-2.3	-3.4	16.9	10.3	9.8	9.7	1.2
		6.9	-0.6	10.9	0.6	-0.3	20.4	8.5	19.9	5.4	3.6
		0.6	5.3	14.3	9.6	0.9	18.5	3.9	10.5	-3.5	-1.3
5.7		1.5	18.2	-1.7	2.8	21.7	4.4	20.5	8.5	-5.6	