



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS
MINIATURIZADAS Y SU APLICACIÓN AL ANÁLISIS AMBIENTAL Y
BIOLÓGICO: AGUA, SEDIMENTO Y PESCADO.**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. LUIS ALEJANDRO DÍAZ FLORES

DRA. ARACELI PATRICIA PEÑA ÁLVAREZ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., ENERO DEL 2019



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Implementación de técnicas de preparación de muestras miniaturizadas y su aplicación al análisis ambiental y biológico: agua, sedimento y pescado.

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. Luis Alejandro Díaz Flores

Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez
Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM



Ciudad de México, Enero del 2019

Jurado

PRESIDENTE: Dr. Germán Buitrón Méndez
VOCAL: Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda
VOCAL: Dr. Alberto Rojas Hernández
VOCAL: Dra. Telma Gloria Castro Romero
SECRETARIO: Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero

Lugar donde se desarrolló el trabajo:

Laboratorio 101, Departamento de Química Analítica, Estudios de Posgrado, Edificio B, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, UNAM.

TUTOR(A): Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez _____

SUSTENTANTE: M. en C. Luis Alejandro Díaz Flores _____

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante los estudios de doctorado: No. Becario: 245402.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por el presupuesto otorgado mediante el proyecto PAPIIT-IN216114 para la realización de este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por 13 años de conocimiento ilimitado.

A la Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez por fomentar mi desarrollo a nivel personal y académico.

A la Dra. María Aurora Armienta Hernández del Instituto de Geofísica (UNAM), por su apoyo y colaboración en los muestreos de agua y sedimento del Río Tula (2015).

Al Dr. Martín López Hernández del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (UNAM), por las muestras de agua del Río Tula (2016) que complementaron y enriquecieron los datos experimentales de este trabajo.

A los miembros del jurado, quienes enriquecieron este trabajo con su conocimiento y amplia experiencia.

Dedicatoria

A mi familia: Aarón Díaz Flores, Alejandra Flores Flores y José Luis Díaz Santillán, porque siempre me han apoyado e impulsado en cada decisión.

A mis abuelos: Ocotlán Flores Flores y Petra Flores y Montaña, por enseñarme a ser valiente, incluso frente a la muerte.

A mis profesores: Silvia de Jesús Mendoza Arellano, Adolfo García Osuna, Ernestina Cervera Flores y Francisco Rojo Callejas porque siempre creyeron en mí.

A todos mis amigos, muchas gracias.

Los productos de esta investigación se muestran a continuación:

Congresos

Peña Álvarez Araceli Patricia, Díaz Flores Luis Alejandro. Desarrollo de una metodología para la determinación de fármacos y productos de cuidado personal (PPCPs) en agua y sedimento utilizando microextracción en fase sólida, seguido de cromatografía de gases-espectrometría de masas (SPME-GC-MS). En: XXVII Congreso Nacional de Química Analítica: 25-27 de junio del 2014. Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México.

Peña Álvarez Araceli, Díaz Flores Luis Alejandro. Determination of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in river water and sediment by solid phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS). En: XVI Latin-American Congress on Chromatography and 9th National Meeting on Chromatography: 5-9 de enero del 2016. Lisboa, Portugal.

Publicación

Díaz A, Peña-Alvarez A. A Simple Method for the Simultaneous Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in River Sediment by Ultrasound-Assisted Extraction Followed by Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 2017 55(9):946-953. doi: 10.1093/chromsci/bmx058

Abreviaturas

AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
CEs	Contaminantes emergentes
CV	Coefficiente de variación
DE	Desviación estándar
EG/PDMS	Etilenglicol/polidimetilsiloxano
GC	Gas chromatography/Cromatografía de gases
HSSE	Head-space sorptive extraction/Extracción por sorción en espacio de cabeza
$K_{o/w}$	Coefficiente de distribución octanol/agua
LD	Límite de detección
LC	Límite de cuantificación
MS	Mass spectrometry/Espectrometría de masas
MTBSTFA	N-[tert-butil(dimetil)silil]-2,2,2-trifluoro-N-metilacetamida
PA	Poliacrilato
PPCPs	Pharmaceuticals and personal care products/Fármacos y productos de cuidado personal
PTAR	Planta de tratamiento de agua residual
R	Coefficiente de correlación lineal
SBSE	Stir bar sorptive extraction/Extracción por sorción con barra de agitación
DI-SBSE	Direct immersion-SBSE/SBSE por inmersión directa
SCAN	Barrido total de iones
SIM	Single ion monitoring/Monitoreo selectivo de iones
SPME	Solid phase microextraction/Microextracción en fase sólida
DI-SPME	Direct immersion-SPME/Microextracción en fase sólida por inmersión directa
HS-SPME	Head-Space-SPME/Microextracción en fase sólida en espacio de cabeza
TBDMS	tert-butildimetilsililado
TD	Thermal desorption/Desorción térmica
TDU	Thermal desorption unit/Unidad de desorción térmica
UAE	Ultrasound assisted extraction/Extracción asistida con ultrasonido

Índice

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Contaminantes emergentes	3
2.2. Fármacos y productos de cuidado personal (PPCPs)	3
2.2.1. Riesgos ambientales, persistencia, bioacumulación y toxicidad de los PPCPs	5
2.3. Legislación de contaminantes	6
2.4. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), antisépticos y desinfectantes y disruptores endócrinos (EDs)	6
2.5. Distribución de PPCPs en el ambiente	7
2.6. Métodos analíticos para la determinación de PPCPs	7
2.7. Preparación de muestra para matrices complejas	8
2.8. Técnicas de preparación de muestras exhaustivas vs no exhaustivas	10
2.9. Técnicas de preparación de muestras miniaturizadas	11
2.9.1. Microextracción en fase sólida (SPME)	11
2.9.2. Teoría de la SPME	11
2.9.3. Optimización de los métodos de SPME	12
2.9.3.1. Fibras de SPME	12
2.9.3.2. Agitación	13
2.9.3.3. Tiempo de extracción	13
2.9.3.4. Temperatura de la muestra	13
2.9.3.5. Volumen de muestra	14
2.9.3.6. Ajuste de pH	14
2.9.3.7. Adición de una sal inerte (Fuerza iónica)	14
2.9.3.8. Adición de disolvente	15
2.9.3.9. Derivatización en SPME	15
2.9.3.10. Extracción de los analitos en SPME	15
2.9.3.10.1. SPME por inmersión directa (DI-SPME)	16
2.9.3.10.2. SPME en espacio de cabeza (HS-SPME)	16
2.9.3.11. Consideraciones de la extracción por SPME en muestras complejas	16

2.9.3.12.	Desorción de los analitos en SPME	17
2.9.3.12.1.	Desorción térmica (SPME-TD)	17
2.9.3.12.2.	Desorción líquida (SPME-LD)	17
2.9.3.13.	Aplicaciones de la SPME.....	17
2.9.3.14.	SPME en el análisis ambiental.....	17
2.9.4.	Extracción por sorción con barra de agitación (SBSE)	18
2.9.5.	Teoría de la SBSE.....	18
2.9.6.	Optimización de los métodos de SBSE	20
2.9.6.1.	Barras de SBSE.....	20
2.9.6.2.	Agitación.....	21
2.9.6.3.	Tiempo de extracción.....	21
2.9.6.4.	Ajuste de pH.....	21
2.9.6.5.	Adición de sal (Fuerza iónica)	21
2.9.6.6.	Extracción de los analitos en SBSE	21
2.9.6.6.1.	SBSE por inmersión directa (DI-SBSE).....	22
2.9.6.6.2.	SBSE en espacio de cabeza (HSSE).....	22
2.9.6.7.	Desorción de los analitos en SBSE.....	22
2.9.6.7.1.	Desorción térmica (SBSE-TD)	22
2.9.6.7.2.	Desorción líquida (SBSE-LD).....	23
2.9.6.8.	Derivatización en SBSE.....	23
2.9.6.9.	Aplicaciones de la SBSE.....	23
2.9.7.	Extracción asistida con ultrasonido (UAE)	24
2.9.7.1.	Tipos de ultrasonido.....	24
2.9.7.2.	Optimización de la UAE.....	24
2.9.7.2.1.	Cantidad de muestra.....	24
2.9.7.2.2.	Disolvente de extracción.....	25
2.9.7.2.3.	Volumen de disolvente	25
2.9.7.3.	Aplicaciones de la UAE.....	25
2.10.	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).....	26
2.11.	Derivatización en cromatografía de gases.....	28
3.	OBJETIVOS	29
3.1.	Objetivo principal.....	29

3.2. Objetivos particulares	29
4. JUSTIFICACIÓN	29
5. HIPÓTESIS.....	29
6. EXPERIMENTACIÓN.....	30
6.1. Materiales y reactivos.....	30
6.1.1. Estándares y disolventes	30
6.1.2. Material de vidrio	31
6.1.2.1. Limpieza del material de vidrio	31
6.1.3. Materiales de preparación de muestra	31
6.1.4. Instrumentación	32
6.1.5. Agua y sedimento de referencia	32
6.1.5.1. Agua	32
6.1.5.2. Sedimento.....	32
6.1.5.3. Músculo de pescado	32
6.1.5.3.1. Tipo de pescado	32
6.1.5.3.2. Tratamiento del pescado	33
6.2. Análisis cromatográfico.....	33
6.3. Identificación de los TBDMS-derivados por GC-MS.....	34
6.4. Desarrollo del método para análisis de agua por SPME-GC-MS	35
6.4.1. Acondicionamiento de la fibra de SPME	35
6.4.2. Optimización de la SPME en agua	35
6.4.2.1. Diseño experimental 2^3 para la SPME en agua.....	35
6.5. Análisis de agua por SPME-GC-MS.....	35
6.6. Desarrollo del método para análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS.....	36
6.6.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento	36
6.6.1.1. Cantidad de muestra.....	36
6.6.1.2. Volumen del disolvente de extracción	36
6.6.1.3. Disolvente de extracción	36
6.6.1.4. Diseño experimental 2^3 para la UAE en sedimento	36
6.7. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS	37
6.8. Desarrollo del método para análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS	38
6.8.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en pescado	38

6.8.1.1.	Cantidad de muestra.....	38
6.8.1.2.	Volumen del disolvente de extracción	38
6.8.1.3.	Disolvente de extracción	38
6.8.1.4.	pH de extracción	39
6.8.1.5.	Adición de disolvente orgánico.....	39
6.8.1.6.	Tiempo de extracción	39
6.8.1.7.	Porcentaje de NaCl.....	39
6.9.	Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS	39
6.10.	Desarrollo del método para análisis de agua por SBSE-GC-MS	40
6.10.1.	Acondicionamiento de la barra de SBSE.....	40
6.10.2.	Optimización de la SBSE en agua.....	40
6.10.2.1.	Diseño experimental 2 ³ para la SBSE en agua.....	40
6.10.3.	Disolvente de desorción para la SBSE	40
6.10.4.	Tiempo de desorción con disolvente orgánico	41
6.11.	Análisis de agua por SBSE-GC-MS	41
6.12.	Desarrollo del método para análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS.....	42
6.12.1.	Extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento	42
6.13.	Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS	42
6.14.	Desarrollo del método para análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS	42
6.15.	Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS.....	42
6.16.	Métodos para análisis de agua, sedimento y pescado por SPME y SBSE: Validación.....	43
6.17.	Sitio de muestreo	44
6.17.1.	Valle del Mezquital.....	44
6.17.1.1.	Localización	44
6.17.1.2.	Geografía descriptiva	44
6.17.1.3.	Flora y fauna	45
6.17.1.4.	Hidrografía	45
6.17.1.4.1.	Río Tula	46
6.17.1.5.	Contaminación ambiental.....	46
6.17.2.	Xochimilco	47
6.17.2.1.	Localización	47
6.17.2.2.	Geografía descriptiva	47

6.17.2.3. Flora y fauna	48
6.17.2.4. Contaminación	48
6.18. Análisis de agua y sedimento del Río Tula (año 2015).....	49
6.18.1. Muestreo de agua y sedimento	49
6.19. Análisis de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula (año 2015).....	51
6.20. Análisis de agua del Río Tula (año 2016)	51
6.21. Análisis de agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco.....	52
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
7.1. Identificación de los TBDMS-derivados por GC-MS.....	54
7.1.1. Espectros de masas de los TBDMS-derivados	54
7.2. Método para análisis de agua por SPME-GC-MS.....	60
7.2.1. Optimización de la SPME en agua	60
7.2.1.1. Diseño experimental 2 ³ para la SPME en agua.....	60
7.2.1.2. Caso del ibuprofeno	60
7.2.2. Superficie de respuesta de la SPME en agua.....	62
7.2.3. Tiempo de extracción y porcentaje de cloruro de sodio (NaCl).....	62
7.3. Condiciones experimentales óptimas para la SPME en agua.....	63
7.4. Método para análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS	64
7.4.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento	64
7.4.1.1. Disolvente de extracción	64
7.4.2. Diseño experimental 2 ³ para la UAE en sedimento.....	65
7.4.3. Superficie de respuesta de la UAE en sedimento	66
7.4.4. Tiempo de extracción	67
7.4.4.1. Cantidad de muestra	68
7.4.5. Eficiencia de extracción en sedimento fortificado.....	69
7.5. Condiciones experimentales óptimas para la UAE en sedimento	70
7.6. Método para análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS.....	71
7.6.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en pescado	71
7.6.1.1. Cantidad de muestra.....	71
7.6.1.2. pH de extracción	71
7.6.1.3. Adición de metanol y acetona	71
7.6.1.4. Características físicas de los extractos de pescado	71

7.6.1.4.1.	Formación de espuma	72
7.6.1.4.2.	Heterogeneidad del extracto	72
7.6.1.4.3.	Resistencia al flujo.....	73
7.6.1.5.	Tiempo de extracción.....	73
7.6.2.	Análisis de los extractos de pescado por SPME.....	74
7.6.2.1.	Porcentaje de NaCl.....	76
7.6.2.2.	Recobro de los analitos en el extracto de pescado	76
7.6.2.3.	Condiciones óptimas de la UAE en pescado fresco.....	77
7.6.2.4.	Eficiencia de extracción en pescado fortificado.....	77
7.7.	Método para análisis de agua por SBSE-GC-MS.....	78
7.7.1.	Optimización de la SBSE en agua.....	78
7.7.1.1.	Diseño experimental 2 ³ para la SBSE agua	78
7.7.2.	Superficie de respuesta de la SBSE en agua.....	79
7.7.3.	Tiempo de extracción	80
7.7.4.	Porcentaje de cloruro de sodio (NaCl).....	81
7.8.	Condiciones experimentales óptimas para la SBSE en agua.....	82
7.9.	Disolvente de desorción para la SBSE	82
7.9.1.	Tiempo de desorción con disolvente orgánico	84
7.10.	Condiciones experimentales para la desorción líquida en la SBSE	84
7.11.	Método para análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS	85
7.12.	Método para análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS.....	85
7.13.	Optimización de métodos utilizando diseños experimentales.....	85
7.14.	Sensibilidad de los métodos para análisis de agua, sedimento y pescado por SPME y SBSE.....	86
7.14.1.	Agua.....	86
7.14.2.	Sedimento.	86
7.14.3.	Pescado.	86
7.15.	Métodos para análisis de agua, sedimento y pescado.....	88
7.16.	Análisis de agua por SPME-GC-MS: Validación del método	91
7.16.1.	Precisión	91
7.16.2.	Linealidad	91
7.16.3.	Límites de detección	91
7.16.4.	Límites de cuantificación.....	91

7.16.5. Recobro.....	91
7.17. Análisis de agua por SBSE-GC-MS: Validación del método	92
7.17.1. Precisión	92
7.17.2. Linealidad	92
7.17.3. Límites de detección	92
7.17.4. Límites de cuantificación.....	92
7.17.5. Recobro.....	92
7.18. Análisis de agua: SPME-GC-MS vs SBSE-GC-MS	93
7.19. Determinación de PPCPs en muestras de agua: comparación de los métodos desarrollados vs otros métodos descritos	95
7.20. Ventajas de los métodos desarrollados por SPME y SBSE	95
7.21. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: Validación del método.....	98
7.21.1. Precisión	98
7.21.2. Linealidad	98
7.21.3. Límites de detección	98
7.21.4. Límites de cuantificación.....	98
7.21.5. Recobro.....	98
7.22. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS: Validación del método.....	99
7.22.1. Precisión	99
7.22.2. Linealidad	99
7.22.3. Límites de detección	99
7.22.4. Límites de cuantificación.....	99
7.22.5. Recobro.....	99
7.23. Análisis de sedimento: UAE-SPME-GC-MS vs UAE-SBSE-GC-MS	100
7.24. Determinación de PPCPs en muestras de sedimento: comparación de los métodos desarrollados vs otros métodos descritos	102
7.25. Ventajas de los métodos desarrollados por SPME y SBSE	102
7.26. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS: Validación del método	105
7.26.1. Precisión	105
7.26.2. Linealidad	105
7.26.3. Límites de detección	105
7.26.4. Límites de cuantificación.....	105

7.26.5. Recobro.....	105
7.27. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS: Validación del método	106
7.27.1. Precisión	106
7.27.2. Linealidad	106
7.27.3. Límites de detección	106
7.27.4. Límites de cuantificación.....	106
7.27.5. Recobro.....	106
7.28. Análisis de pescado: UAE-SPME-GC-MS vs UAE-SBSE-GC-MS	107
7.29. Determinación de PPCPs en muestras de pescado: comparación de los métodos desarrollados vs otros métodos descritos.....	109
7.30. Ventajas de los métodos desarrollados por SPME y SBSE	109
7.31. Validación del sistema cromatográfico para la determinación de PPCPs.....	112
7.31.1. Precisión	112
7.31.2. Linealidad	112
7.31.3. Límites de detección	112
7.31.4. Límites de cuantificación.....	112
7.31.5. Recobro.....	112
7.32. Aplicación de los métodos desarrollados en el análisis de muestras de agua, sedimento y pescado	114
7.32.1. Análisis de agua y sedimento del Río Tula (año 2015).....	114
7.32.1.1. Agua	114
7.32.1.1.1. Muestras de temporada de lluvias.....	114
7.32.1.1.2. Muestras de temporada seca	114
7.32.1.2. Sedimento de temporada seca	117
7.32.1.3. Distribución de los PPCPs en las muestras de agua y sedimento	118
7.32.2. Análisis de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula.....	120
7.32.3. Análisis de agua del Río Tula (año 2016)	121
7.32.3.1. Análisis por SPME-GC-MS	121
7.32.3.2. Análisis por SBSE-GC-MS.....	123
7.32.4. Análisis de agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco	124
7.32.4.1. Agua	124
7.32.4.1.1. Análisis por SPME-GC-MS.....	124

7.32.4.1.2. Análisis por SBSE-GC-MS	125
7.32.4.2. Sedimento.....	125
7.32.4.2.1. Análisis por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS ..	125
7.32.4.3. Pescado.....	126
7.32.4.3.1. Análisis por UAE-SPME-GC-MS	126
7.32.4.3.2. Análisis por UAE-SBSE-GC-MS	126
8. CONCLUSIONES	129
9. PERSPECTIVAS	131
10. BIBLIOGRAFÍA	132
11. ANEXOS	143
11.1. Regresiones lineales	143
11.1.1. Análisis de agua por SPME-GC-MS	143
11.1.2. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS.....	143
11.1.3. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS	143
11.1.4. Análisis de agua por SBSE-GC-MS	144
11.1.5. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS.....	144
11.1.6. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS	144
11.1.7. Validación del sistema cromatográfico GC-MS.....	144
11.2. Curvas de calibración	145
11.2.1. Análisis de agua por SPME-GC-MS	145
11.2.2. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS.....	146
11.2.3. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS	147
11.2.4. Análisis de agua por SBSE-GC-MS	148
11.2.5. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS.....	149
11.2.6. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS	150
11.2.7. Análisis de PPCPs por GC-MS	151
11.3. Cromatogramas.....	152
12. ARTÍCULO	183

Resumen

En este trabajo se desarrollaron, optimizaron y validaron seis métodos analíticos basados en microextracción en fase sólida (SPME), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE), y extracción asistida con ultrasonido (UAE) seguido del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas GC-MS para la determinación de fármacos y productos de cuidado personal (PPCPs) en muestras de agua, sedimento y pescado de río.

Los PPCPs analizados fueron cuatro fármacos ácidos (ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco), un desinfectante (clorofeno), un antiséptico (triclosán), un plastificante (bisfenol A) y una hormona (estrone).

La detección de los analitos se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas mediante la formación de los derivados sililados volátiles, utilizando N,N-tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA).

El método para análisis de agua por SPME-GC-MS se optimizó evaluando el tiempo de extracción, temperatura de extracción, pH del medio de extracción y adición de cloruro de sodio.

Los métodos para análisis de sedimento y pescado requirieron de una extracción asistida con ultrasonido (UAE) previa al análisis por SPME. Las variables estudiadas para la UAE fueron: disolvente de extracción, tiempo de extracción, temperatura de extracción y amplitud de la sonda. Los extractos de sedimento y pescado se analizaron con el método para análisis de agua (SPME-GC-MS).

El método para análisis de agua por SBSE-GC-MS se optimizó evaluando el tiempo de extracción, temperatura de extracción, adición de cloruro de sodio, disolvente de desorción y tiempo de desorción.

La UAE en sedimento y pescado se implementó a partir de los métodos por SPME y se analizaron con el método para análisis de agua (SBSE-GC-MS).

El sistema cromatográfico y cada método desarrollado se validaron en función de su precisión, linealidad, recobro, límites de detección y límites de cuantificación.

Los métodos desarrollados se aplicaron en muestras de agua y sedimento del Río Tula (Hidalgo), agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula (Culiacán, Sinaloa), agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco (Ciudad de México).

Las muestras de agua, sedimento y pescado de los sitios estudiados evidenciaron la presencia de PPCPs como ibuprofeno, naproxeno, triclosán y diclofenaco a nivel de trazas (ng L^{-1} y ng g^{-1}), demostrando que los métodos desarrollados son sensibles para la determinación de PPCPs polares y no polares.

Los métodos desarrollados con SPME fueron más sensibles y precisos con respecto a los métodos con SBSE, sin embargo, se demostró que los métodos desarrollados por ambas técnicas son una alternativa analítica para la determinación simultánea de PPCPs con propiedades fisicoquímicas diversas, siendo rápidos, sencillos, sensibles y amigables con el ambiente.

1. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes orgánicos persistentes (POPs, por sus siglas en inglés) han generado una preocupación creciente en los últimos años, ya que continuamente se generan nuevos compuestos químicos que contribuyen a la contaminación del aire, agua, suelo, sedimento y organismos vivos. Entre los POPs más comunes se encuentran: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), plaguicidas, herbicidas, fármacos y productos de cuidado personal (PPCPs, por acrónimo en inglés), surfactantes, ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs), entre otros (1).

Los PPCPs son xenobióticos que se producen por la actividad humana en aplicaciones terapéutica, higiénica y cosmética (2). Dichos compuestos complementan una lista de contaminantes orgánicos no regulados denominados contaminantes emergentes.

El uso de PPCPs resulta en su desecho hacia los sistemas de drenaje, los cuales pueden entrar en contacto con el ambiente. El uso de aguas tratadas y residuales es la vía principal de distribución de PPCPs en el ambiente (3, 4).

Actualmente, existe una preocupación creciente por la presencia de los PPCPs en el ambiente y su impacto ecotoxicológico se desconoce en su totalidad. La problemática ambiental radica en que los PPCPs pueden permanecer activos durante su desecho e incorporación en el ambiente. Diversos estudios han demostrado que los PPCPs se encuentran en agua residual, superficial (ríos, lagos, mares) y subterránea, así como suelo, sedimento y organismos vivos (4-8).

La determinación de PPCPs en el ambiente ha sido una línea de investigación desde hace 40 años y continuamente se desarrollan nuevos métodos de análisis para distintas matrices ambientales. Debido a esto, la importancia de estudiar el efecto que ocasionan los PPCPs en el ambiente se ha incrementado en los últimos 20 años.

Normalmente, la determinación de contaminantes orgánicos se enfoca a muestras acuosas, por su aparente simplicidad; sin embargo, el desarrollo de métodos robustos para el análisis agua puede implicar un procedimiento laborioso, debido a la complejidad y diversidad entre las muestras ambientales. La variabilidad de una muestra puede poner en riesgo el desempeño analítico de un método, limitándolo a una aplicación muy específica y para un número de muestras reducido.

Por otra parte, las muestras de suelo, sedimento y organismos representan un reto analítico aún mayor, ya que las características físicas, químicas y fisicoquímicas de estas matrices provocan que los contaminantes interaccionen de manera compleja con la matriz. Adicionalmente, se debe considerar el contacto entre compartimentos ambientales como aire, agua, escorrentías, micro y macro-organismos, los cuales provocan cambios continuos en las matrices ambientales.

El agua, sedimento y pescado son compartimentos ambientales que comúnmente se encuentran en contacto. Debido a esto, la presencia de PPCPs en cualquiera de estos compartimentos puede distribuirse de manera diferencial hacia los otros compartimentos. Por tanto, es importante estudiar la distribución de PPCPs en muestras ambientales para evaluar el posible impacto ecotoxicológico (9, 10). La problemática de contaminantes emergentes se relaciona con las capacidades analíticas para monitorear su ocurrencia en diversos compartimentos ambientales. Los nuevos procedimientos analíticos han permitido el desarrollo de técnicas y sistemas de detección más eficientes con los que se pueden determinar un mayor número de PPCPs.

Existen dos necesidades de mejoramiento para desarrollar métodos analíticos rápidos y sensibles: Mayor sensibilidad a niveles traza (ng L^{-1} , $\mu\text{g L}^{-1}$, ng g^{-1}) y versatilidad para el análisis simultáneo de una gran variedad de compuestos con propiedades fisicoquímicas diferentes (solubilidad en agua, $K_{o/w}$, pK_a , masa molecular).

La aplicación de un solo método de análisis para diferentes clases de analitos es preferencial, ya que esto reduce el tiempo total de análisis, el muestreo y los costos experimentales. Adicionalmente, la información analítica sobre las distintas clases de PPCPs que coinciden en una muestra ambiental sirve para establecer planes de monitoreo de contaminantes, evaluar los riesgos y elucidar los efectos tóxicos, ya que se puede estudiar la interacción sinérgica de los distintos contaminantes.

Aún cuando la mayoría de los métodos analíticos están diseñados para una sola clase de PPCPs, existen muchos métodos para análisis simultáneo de contaminantes orgánicos en el ambiente acuático.

Se han desarrollado diversos métodos para determinar PPCPs en agua, sedimento y pescado, mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas, las cuales identifican y cuantifican fármacos, desinfectantes, antimicrobianos y disruptores endocrinos en muestras ambientales complejas (11).

Existen algunos métodos para la determinación simultánea de PPCPs en muestras ambientales, sin embargo, la mayoría de los métodos descritos utilizan procedimientos de limpieza de muestra complejos y el uso de grandes volúmenes de disolvente orgánico. Debido a esto, los métodos para análisis simultáneo requieren de mayor tiempo y representan mayor costo (12-16).

En este trabajo se propuso el desarrollo de nuevos métodos para la determinación simultánea de PPCPs polares y no polares (ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco, clorofeno, triclosán, bisfenol A y estrona) en agua, sedimento y pescado, utilizando técnicas de preparación de muestra miniaturizadas (microextracción en fase sólida (SPME), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE), extracción asistida con ultrasonido (UAE)) seguido del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Los métodos desarrollados se validaron y aplicaron a muestras ambientales, aportando información sobre la presencia y distribución de los PPCPs en las matrices estudiadas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Contaminantes emergentes

Los contaminantes emergentes (CEs) son compuestos orgánicos antropogénicos que carecen de legislación y por sus características químicas son futuros candidatos a la regulación ambiental. Los CEs tienen una tasa de degradación baja por ser extraños al ambiente (xenobióticos), lo que provoca su persistencia y acumulación en los sistemas ambientales.

Diversos estudios han demostrado que los CEs son nocivos y su presencia en el ambiente implica un riesgo potencial ya que muchos de estos compuestos permanecen químicamente activos, afectando los ciclos naturales en los compartimentos ambientales.

La contaminación emergente impacta principalmente en el ambiente acuático, sin embargo aun se desconoce el efecto ecotoxicológico por CEs en organismos superiores como los mamíferos (17-32).

2.2. Fármacos y productos de cuidado personal (PPCPs)

Los PPCPs son sustancias utilizadas en la vida diaria con fines terapéuticos, higiénicos y cosméticos. Los fármacos son compuestos prescritos para prevenir o tratar enfermedades humanas o animales, mientras que los productos de cuidado personal ayudan a mejorar la calidad de la vida diaria. Los PPCPs son ampliamente utilizados en medicina, industria, ganadería y agricultura, lo que implica su continuo desecho por las vías de drenaje (2, 30, 33-39).

Los PPCPs son contaminantes pseudopersistentes y representan un riesgo similar a los contaminantes orgánicos persistentes, debido a su baja tasa de degradación y su desecho continuo en el ambiente.

Existe una preocupación creciente por la presencia de PPCPs en varios compartimentos ambientales (como agua, sedimento y biota), debido a los efectos ecotoxicológicos en organismos acuáticos.

La mayoría de los PPCPs permanecen activos después de su desecho y han demostrado efectos nocivos sobre el ambiente y algunos seres vivos (2, 26, 36, 38, 40-45).

Los PPCPs se dividen en clases que incluye un número creciente de sustancias. En el **Cuadro 1** se muestran algunos ejemplos de estos contaminantes.

Cuadro 1. Clasificación de PPCPs (34).

PPCPs	Funciones	Compuestos representativos
Fármacos		
<i>Antibióticos</i>	Combatir desarrollo de microorganismos	Sulfametoxazol
<i>Anticonvulsivos</i>	Combatir o prevenir episodios convulsivos	Carbamazepina
<i>Antidepresivos</i>	Combatir desórdenes anímicos	Diazepam
<i>Antiinflamatorios no esteroideos</i>	Combatir dolor e inflamación	Ibuprofeno* Naproxeno* Ketoprofeno* Diclofenaco*
<i>Antineoplásicos</i>	Combatir células tumorales	Tamoxifen
<i>Hormonas</i>	Regular metabolismo, controlar desarrollo sexual, mantener homeostasis	Estrona*
<i>Medios de contraste para diagnóstico</i>	Mejorar visibilidad de órganos o fluidos corporales	Iomeprol
<i>Reguladores lipídicos</i>	Regular triglicéridos y colesterol en sangre	Ácido clofibrico
<i>β-bloqueadores</i>	Inhibir adrenalina y noradrenalina	Metoprolol
Productos de cuidado personal		
<i>Fragancias</i>	Generar olor placentero	Galaxolide
<i>Antimicrobiano</i>	Combatir microorganismos	Triclosán*
<i>Desinfectantes</i>	Reducir la carga microbiana a niveles no perjudiciales	Clorofeno*
<i>Bloqueadores solares</i>	Proteger la piel y disminuir el daño por radiación UV	Octocrileno
<i>Conservadores</i>	Prevenir descomposición por actividad microbiana o enzimática	Metilparabeno
Plastificantes		
<i>Aromáticos</i>	Proveer flexibilidad a los materiales	Bisfenol A*

*PPCPs estudiados

2.2.1. Riesgos ambientales, persistencia, bioacumulación y toxicidad de los PPCPs

La detección de compuestos orgánicos en cualquier matriz ambiental no necesariamente es de preocupación. Sin embargo, la preocupación surge a partir de la detección de compuestos con evidencias que podrían causar efectos perjudiciales en la vida acuática.

Actualmente, la atención de la comunidad científica se ha posicionado en la distribución de los PPCPs en el ambiente. La ubicuidad de los PPCPs en el ambiente es resultado del uso y desecho continuo de estos compuestos, lo cual ha permitido el desarrollo de tecnología analítica para detectar a los PPCPs a nivel de trazas (2, 38, 41-43, 45).

El uso extensivo de PPCPs a nivel mundial y la introducción de nuevos fármacos comerciales contribuye sustancialmente a la ubicuidad de estos compuestos y sus metabolitos en el ambiente acuático.

Los fármacos tienen mayor presencia ambiental aun cuando hayan ocurrido procesos de biodegradación, fotodegradación o sorción parcial de estos compuestos (1, 2, 17, 33, 42-44, 46, 47).

Aunque las concentraciones de PPCPs y sus metabolitos sean relativamente bajas, estas sustancias pueden causar impacto en los organismos acuáticos.

Diversos estudios han investigado el efecto de los PPCPs en organismos acuáticos, especialmente en peces. Algunos compuestos como ibuprofeno, triclosán y bisfenol A han demostrado sus efectos nocivos en especies acuáticas (2, 48-51).

La mayor preocupación sobre la toxicidad de los fármacos es que fueron específicamente diseñados para maximizar el efecto terapéutico a bajas concentraciones e intervenir en procesos metabólicos, enzimáticos o de señalización celular, incrementando la posibilidad de actividad farmacológica no específica en otros organismos.

Este concepto, se aplica a la biota acuática, la cual está expuesta a los fármacos de manera no intencional en su ambiente natural, incrementando los riesgos toxicológicos.

Los PPCPs en el ambiente acuático incrementan la preocupación por su capacidad para interferir en el sistema endócrino de los organismos, produciendo efectos de disrupción homeostática.

La Organización Mundial de la Salud (WHO) ha definido a los disruptores endocrinos (EDs) como sustancias exógenas o mezclas de sustancias que alteran la función del sistema endocrino y consecuentemente causan efectos adversos en la salud de un organismo, su prole o subpoblación.

La toxicidad de las mezclas de PPCPs a bajas concentraciones podría derivar en interacciones sinérgicas. Los PPCPs a baja concentración pueden no provocar efectos tóxicos mientras se encuentren de manera individual, sin embargo, la presencia de múltiples PPCPs pueden ejercer ecotoxicidad considerable por sinergismo farmacológico (2, 26, 44, 50-58).

Con base en lo anterior, diversos estudios han investigado las concentraciones de los PPCPs en el ambiente acuático (2, 33).

Los estudios de los riesgos ambientales por los PPCPs se han conducido a comparar las diferencias entre la concentración predicha, medida o adversa para algunos organismos. Adicionalmente, el riesgo ambiental por PPCPs se ha clasificado en términos de bioacumulación, toxicidad y persistencia.

2.3. Legislación de contaminantes

La Unión Europea (UE) y la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) han desarrollado listas de contaminantes prioritarios en agua residual que representan una amenaza para los cuerpos de agua receptores.

En el año 2000 se emitió una lista inicial de 33 sustancias prioritarias en el Marco de la Directiva de Agua (WDF) de la UE (2000/60/EC) para utilizarse como una medida de control para los siguientes 20 años.

En el 2007, el diclofenaco, los almizcles y la carbamazepina fueron clasificados como futuros compuestos contaminantes prioritarios emergentes (2, 50, 55, 57, 58).

Así mismo, el ibuprofeno, ácido clofíbrico, triclosán, ftalatos y bisfenol A son compuestos propuestos para añadirse a las listas de contaminantes.

La agencia ambiental de Inglaterra y Gales (EA) propuso un sistema de clasificación de riesgo relativo percibido (RPR), con el objetivo de identificar sustancias que planteen un riesgo potencial para el ambiente acuático. Dicha clasificación se realizó en respuesta a la gran diversidad química de los PPCPs. El sistema de clasificación combina procedimientos de evaluación de riesgo tradicional, criterios de persistencia, bioacumulación, toxicidad (PBT), datos de ocurrencia en distintos países, disponibilidad de métodos analíticos adecuados e identificación de compuestos representativos para cada clase de contaminante (2).

2.4. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), antisépticos y desinfectantes y disruptores endócrinos (EDs).

Los antiinflamatorios no esteroideos han sido objeto de múltiples líneas de investigación desde hace más de 20 años. Los fármacos ácidos en muestras ambientales han sido un punto central para el desarrollo de nuevos métodos para su determinación. Algunos de los AINEs que comúnmente se determinan son: ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco, acetaminofen, codeína y ketorolaco (13, 33, 34, 50, 51, 57, 59-63).

La determinación de desinfectantes y antimicrobianos es otra línea de investigación relevante que incluye PPCPs como el clorofeno, triclosán y sus derivados.

El triclosán es un compuesto antimicrobiano ampliamente utilizado en productos de cuidado personal. Los estudios de triclosán en muestras de agua superficial, agua residual han demostrado los efectos de toxicidad crónica aguda en organismos acuáticos.

Los disruptores endócrinos (EDs) son un grupo de compuestos químicos naturales y de origen sintético que se incluyen en una variedad de productos comerciales. Los fármacos disruptores endocrinos incluyen las hormonas sexuales, glucocorticoides, hormonas crecimiento para uso veterinario y algunas sustancias farmacéuticas no esteroideas.

La determinación de EDs ha sido otra línea de investigación relevante para el análisis ambiental. Algunos ejemplos de disruptores endócrinos son el bisfenol A, la estrona y sus derivados, los cuales se han detectado en muestras ambientales como agua superficial, residual, subterránea, suelo, sedimento y organismos vivos (64-69).

2.5. Distribución de PPCPs en el ambiente

Desde los años 2000, la presencia de PPCPs en el ambiente ha generado una preocupación creciente por su ocurrencia, transformación, destino y riesgos ecotoxicológicos en los compartimentos ambientales (2, 34, 38, 41, 70, 71).

Los PPCPs pueden distribuirse en el ambiente por vías directas o indirectas como:

- Descarga de agua residual (doméstica, industrial, hospitalaria) en cuerpos de agua superficial
- Recarga de acuíferos con agua tratada
- Irrigación de suelos con agua tratada, residual o agua superficial potencialmente contaminada
- Lixiviación a través del suelo
- Escorrentía de biosólidos utilizados en agricultura
- Deposición atmosférica

La presencia de PPCPs en agua tratada es la causa principal de la ubicuidad de estos contaminantes, ya que por sus propiedades fisicoquímicas no son removidos eficientemente durante los procesos convencionales de depuración de las aguas residuales (3, 4, 72-75). Esta ineficiencia implica un riesgo potencial para los cuerpos de agua receptores, los organismos acuáticos y la salud pública (45). En consecuencia, se han investigado ampliamente los procesos físicos, químicos y biológicos para remover los PPCPs del agua residual (76).

La concentración de los PPCPs en agua superficial y agua subterránea puede alcanzar niveles traza y ultratrasa (mg L^{-1} , $\mu\text{g L}^{-1}$, ng L^{-1}). Aunque la concentración de PPCPs en agua superficial es relativamente baja, su presencia afecta la calidad del agua e impacta sobre los recursos hídricos potables (5-8, 77-81).

En suelo y sedimento la concentración de PPCPs puede alcanzar el orden de ng g^{-1} y $\mu\text{g kg}^{-1}$ (5).

Aunque la concentración de PPCPs en el ambiente es baja, la presencia de estos compuestos ha generado preocupación, ya que se desconocen los efectos por exposición continua o eventual a largo plazo. Así mismo, se desconoce el impacto ecotoxicológico que puedan ocasionar en el ambiente. Por ello, nuevas líneas de investigación se han enfocado en la determinación de PPCPs en matrices ambientales y biológicas (11).

2.6. Métodos analíticos para la determinación de PPCPs

El desarrollo de técnicas analíticas como la cromatografía de gases y la cromatografía de líquidos acopladas a la espectrometría de masas tandem (GC-MS/MS y LC-MS/MS) han permitido detectar los PPCPs a nivel de ultratrazas ($\mu\text{g L}^{-1}$ y ng L^{-1}). En este contexto, las nuevas tecnologías han permitido desarrollar nuevos métodos de análisis para detectar y monitorear la distribución de los PPCPs en el ambiente (77, 78).

El método analítico es un requisito para investigar el destino de los PPCPs. El análisis de los compuestos de interés usualmente incluye 3 pasos:

- Extracción del analito
- Eliminación las impurezas e interferencias de la matriz
- Selección del instrumento adecuado para la detección

Los requerimientos de un método analítico para la correcta determinación de los PPCPs son:

- Precisión y exactitud
- Límites de detección y cuantificación bajos
- Robustez
- Capacidad para diferenciar la variación de la concentración de los analitos entre las muestras
- Muestreo representativo

2.7. Preparación de muestra para matrices complejas

El procedimiento analítico para muestras complejas consiste en varios pasos que típicamente incluyen el muestreo, la preparación de la muestra, la separación, el análisis de los datos cromatográficos, y la evaluación estadística. Cada paso es crítico para obtener resultados confiables e informativos.

El paso de muestreo consiste en decidir el sitio para tomar las muestras que definan el objetivo o el problema caracterizado y después se realiza un muestreo representativo adecuando que precise el número y dimensión de las muestras.

La preparación de muestras permite transformar la muestra en un formato adecuado para su análisis por una técnica instrumental. Este procedimiento consiste en realizar la extracción, concentración y aislamiento de los componentes de interés, así como la limpieza y eliminación de los interferentes de la matriz. La pre-concentración de los componentes de interés durante el proceso de extracción es una característica deseable para mejorar la sensibilidad de la detección.

La preparación de la muestra es indispensable ya que la mayoría de los instrumentos analíticos no pueden procesar la muestra directamente (11, 79-82).

El proceso de separación implica dividir la muestra en sus componentes, lo cual típicamente se efectúa con técnicas cromatográficas o electroforéticas.

La determinación conlleva la identificación y cuantificación de los componentes de la muestra. La identificación puede basarse en el tiempo de retención combinado con una detección selectiva y específica. En respuesta a esta necesidad, se utilizan instrumentos como los espectrómetros de masas para evitar posibles errores en la determinación analítica por la presencia de interferencias.

La evaluación estadística de los resultados provee un estimado de la concentración de los analitos estudiados en la muestra analizada. Los datos obtenidos permiten la toma de decisiones apropiadas, las cuales pueden incluir el análisis de diversas muestras, para una futura investigación.

Los pasos del proceso analítico son secuenciales y, debido a esto, el paso más lento determina la velocidad general del proceso analítico. Acelerar alguno de los pasos del proceso probablemente no resulte en la mejoría del rendimiento. Para mejorar el rendimiento del procedimiento, se deben evaluar todos los pasos para identificar los posibles errores que afectan su desempeño.

El desarrollo de la instrumentación analítica ha mejorado significativamente en los últimos 20 años, los avances tecnológicos incluyen la miniaturización de los dispositivos analíticos y la secuenciación en línea con el sistema de análisis. Un instrumento ideal debe ejecutar todos los pasos analíticos sin intervención manual y preferentemente en el sitio del sistema estudiado. Sin embargo, esta idealidad es muy lejana a la realidad para muchas técnicas analíticas. Esta aproximación podría eliminar los errores metodológicos, el tiempo de transporte y almacenamiento de la muestra, resultando en la producción de datos analíticos rápidos, precisos y confiables.

Los instrumentos de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) o cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (HPLC-MS), pueden separar mezclas complejas y determinar los componentes de interés de manera inequívoca. El muestreo y la preparación de muestra complican el análisis en línea, debido a los múltiples pasos de cada operación. La integración de la preparación de muestra a las técnicas de análisis hace más complejo el desarrollo de los métodos y su automatización. Como resultado, más del 80% del tiempo de análisis se invierte en el muestreo y la preparación de la muestra.

El progreso de la preparación de muestra ha sido lento debido a que los fundamentos de extracción en muestras complejas son adaptaciones de los sistemas fisicoquímicos de extracción simple. Por lo anterior, el desarrollo y optimización de los métodos analíticos para aplicaciones en matrices complejas requiere de mucho tiempo.

La tendencia analítica prefiere el uso de técnicas de preparación de muestra exhaustivas, aunque implique procedimientos analíticos más complejos (12, 79-91).

2.8. Técnicas de preparación de muestras exhaustivas vs no exhaustivas

El objetivo de las técnicas exhaustivas es remover completamente al analito de la matriz muestra y transferirlo a una fase extractora. La mayoría de los métodos exhaustivos utilizan volúmenes importantes de disolvente orgánico, implicando mayor consumo de reactivos, mayor costo y no son amigables con el ambiente.

La ventaja principal de las técnicas exhaustivas es que son robustas y no requieren de calibración cuando la eficiencia de extracción es cercana al 100%.

Las técnicas de microextracción se han desarrollado para atender la necesidad de una preparación de muestra miniaturizada y rápida, reduciendo el tamaño de los dispositivos de extracción, la cantidad o volumen de muestra y el consumo de reactivos y disolventes. Una ventaja de los sistemas de microextracción es que minimizan la perturbación del sistema muestreado, debido a la configuración miniaturizada de los dispositivos (12). El diseño de los dispositivos de preparación de muestras miniaturizada habilita su uso en el laboratorio o en el campo y sus configuraciones permiten la introducción directa en el instrumento analítico.

Algunos de los diseños abordan aspectos como la agitación, mientras que otros facilitan el análisis *in situ* o la introducción de muestras al instrumento analítico.

Las técnicas de microextracción no exhaustivas poseen una ventaja única porque sólo una pequeña porción del analito es removido de la matriz. Esta característica permite monitorear los cambios químicos y fisicoquímicos del sistema investigado, ya que el muestreo ocasiona una perturbación mínima en el sistema.

Las técnicas de microextracción permiten obtener información más precisa para la caracterización del sistema analizado en comparación con las técnicas exhaustivas. Las técnicas de microextracción no exhaustivas proveen magnitudes de señal proporcionales a la concentración del analito libre, definiendo la fracción del analito disponible. Esta característica permite calcular constantes de distribución en matrices complejas y aporta información adicional sobre el sistema investigado. Sin embargo, el uso de técnicas miniaturizadas requiere un proceso cuidadoso de optimización y calibración. Por tal razón, el desarrollo de métodos cuantitativamente robustos basados en microextracción requiere de mayor tiempo. Cuando los métodos basados en microextracción están optimizados son más convenientes y efectivos en tiempo y costo, en comparación con la aproximación de la extracción exhaustiva convencional.

La microextracción tiene ventajas sustanciales en cuanto a selectividad, porque la extracción está secuenciada con la separación y la detección específica (como la espectrometría de masas), la cual habilita la identificación y cuantificación de muchos componentes de manera simultánea (12, 92).

2.9. Técnicas de preparación de muestras miniaturizadas (93-99)

La preparación de muestras complejas es un requisito indispensable para proveer una fracción de muestra enriquecida con los analitos, libre de interferencias y componentes de la matriz.

Actualmente, la tendencia de las técnicas de preparación de muestra está enfocada a la disminución de la operación manual y el tiempo de análisis.

Existe una variedad de métodos de preparación de muestra disponibles para la extracción y pre-concentración de contaminantes en agua, algunos de ellos son la microextracción en fase sólida (SPME), la extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) y la extracción asistida con ultrasonido (UAE).

2.9.1. Microextracción en fase sólida (SPME)

La microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica de preparación de muestra que utiliza una fibra de sílice fundida recubierta con un sorbente (sólido, polimérico o la combinación de ambos), que funciona como una fase extractora de atrapamiento.

En la SPME, los componentes de la muestra se distribuyen entre la fase extractora y muestra por equilibrios de sorción (adsorción, absorción), los cuales están controlados por los coeficientes de distribución $K_{o/w}$ de los analitos.

La SPME combina la extracción, concentración y limpieza de la muestra en un sólo paso debido a su elevada selectividad. Es una técnica innovadora por ser rápida, sensible, versátil y libre de disolventes.

2.9.2. Teoría de la SPME

En la SPME, la eficiencia de extracción depende principalmente del coeficiente de distribución (K_{es}) entre el recubrimiento de la fibra (fase extractora) y la matriz muestra. El coeficiente de distribución depende de la composición química de la fase extractora y determina la magnitud del factor de enriquecimiento. La constante K_{fs} , es similar al coeficiente de distribución octanol-agua $K_{o/w}$, la cual considera las propiedades y características de la fase extractora, el analito y la matriz. La constante de distribución entre el medio líquido de extracción y la matriz de la muestra se expresa con la ecuación:

$$K_{es} = \frac{C_e^\infty}{C_s^\infty}$$

Donde:

C_e^∞ = Concentración del analito al equilibrio en la fase extractora (recubrimiento de la fibra)

C_s^∞ = Concentración del analito al equilibrio en la matriz de la muestra

El número de moles del analito extraído en el equilibrio (n_e) en un sistema de dos fases (fase extractora y muestra) puede determinarse a través de la siguiente ecuación:

$$n_e = \frac{K_{es} V_e V_s C_0}{K_{es} V_e + V_s}$$

Donde:

V_e = Volumen de fase extractora

V_s = Volumen de muestra

C_0 = Concentración inicial de analito

Con base en lo anterior, el número de moles extraído depende del coeficiente de distribución, el producto de los volúmenes de fase extractora/muestra y la concentración del analito. Por ello, es importante seleccionar un recubrimiento de fibra adecuado, controlar las propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas de la muestra y conocer el intervalo de concentración del analito en la muestra.

2.9.3. Optimización de los métodos de SPME

En las aplicaciones de la SPME, se deben evaluar y optimizar los factores experimentales para un sistema de investigación en particular. La eficiencia de extracción de la SPME depende de los parámetros experimentales que involucran las propiedades de los analitos, la matriz de la muestra y los objetivos del análisis.

2.9.3.1. Fibras de SPME

La selección de la fibra es la primera etapa de la optimización del método de SPME. La sensibilidad del método es proporcional a una constante de distribución que involucra la composición química de la fase extractora y la matriz.

Las fibras comerciales poseen recubrimientos poliméricos puros o copolímeros de diferentes polaridades, grosores (7-100 μm) y longitudes (1-2 cm). Los polímeros se colocan en soportes sólidos que consisten en sílice fundida, Stableflex (sílice fundida flexible y de mayor resistencia) o núcleos con una aleación de níquel-titanio.

La selectividad de la fibra para un analito en particular se determina con base en el principio de polaridad. Existen diversos recubrimientos como polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA), carbowax-polietilenglicol (PEG), polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB), carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) y octadecil (C_{18}).

La sensibilidad del método se incrementa conforme disminuye el grosor de la fase extractora, ya que a mayor grosor de fase extractora, mayor tiempo de equilibrio por difusión de los analitos hacia la fase extractora.

2.9.3.2. Agitación

La agitación durante el proceso de extracción favorece la transferencia de masa (analitos) entre la fase extractora (recubrimiento de la fibra) y la matriz. La agitación reduce el grosor de la capa límite que rodea la fase extractora, disminuyendo los tiempos de equilibrio. La agitación más eficiente permite mayor tasa de extracción y mayor masa de analito extraído en condiciones previas al equilibrio.

La eficiencia de agitación es especialmente crítica para analitos con coeficientes de distribución de mayor magnitud. Si la agitación es eficiente y la capa alrededor de fase extractora es muy delgada, incluso los compuestos de alto peso molecular pueden extraerse eficientemente con tiempos de extracción cortos.

En los análisis de laboratorio, la agitación se controla utilizando parrillas de agitación magnética y barras magnéticas recubiertas de teflón.

La agitación constante y eficiente influye en el desempeño del método, por esta razón se debe seleccionar un sistema de agitación de calidad.

2.9.3.3. Tiempo de extracción

El tiempo de extracción es un parámetro esencial en el desarrollo de los métodos con SPME. La selección del tiempo de extracción óptimo depende de una aplicación en particular y siempre hay un compromiso entre rapidez, precisión, sensibilidad y rendimiento. El tiempo de extracción óptimo se obtiene a partir de un perfil de extracción, donde se correlaciona la masa de analito extraído con respecto al tiempo. La máxima sensibilidad de extracción se alcanza en las condiciones de equilibrio. El tiempo de equilibrio depende del coeficiente de distribución del analito entre la matriz de la muestra y la fase extractora, el coeficiente de difusión del analito, el grosor de la fase extractora y el grosor de la capa límite entre la matriz y la fase extractora. Sin embargo, los tiempos de extracción en condiciones previas al equilibrio pueden utilizarse si se obtienen resultados repetibles, precisos, confiables y con sensibilidad aceptable.

2.9.3.4. Temperatura de la muestra

La temperatura de la muestra es otro parámetro que se debe considerar en forma cuidadosa. Desde el punto de vista cinético el incremento de temperatura incrementa los coeficientes de difusión y los equilibrios de distribución ocurren más rápido. Consecuentemente, la transferencia de masa entre la fase extractora y la muestra es más rápida, las tasas de extracción son más rápidas y los tiempos de equilibrio disminuyen.

Sin embargo, la teoría de la SPME predice una disminución de los coeficientes de distribución fase extractora-muestra cuando se incrementa la temperatura, ya que el proceso de sorción es un proceso exotérmico. En dichas circunstancias, la cantidad de analito extraído en el equilibrio será menor y la sensibilidad del método disminuye.

2.9.3.5. Volumen de muestra

El volumen de muestra es un parámetro que debe optimizarse, ya que el número de moles extraído es proporcional al volumen de la muestra. En consecuencia, es posible incrementar la sensibilidad de método al incrementar el volumen de muestra. Sin embargo, la cantidad de analito extraído incrementa con el volumen de la muestra, hasta que dicho volumen es significativamente mayor al producto del coeficiente de distribución (K_{es}) y el volumen de fase extractora (V_e), lo que implica la simplificación de la ecuación:

$$n_e \approx K_{es} V_e C_0$$

La ecuación indica que bajo ciertas condiciones la cantidad de analito extraído por la fase extractora es independiente del volumen de muestra. La ecuación es válida cuando el producto de K_{es} y V_e es insignificante comparado con la cantidad de analito presente en la muestra original. Lo que permite omitir el paso de muestreo y abre la posibilidad de realizar una determinación directa en campo.

2.9.3.6. Ajuste de pH

El ajuste de pH es un parámetro que se modifica para incrementar la sensibilidad del método. Por lo general, se promueve la conversión del analito a su forma molecular ya que la mayoría de los recubrimientos utilizados en SPME extraen analitos en su forma neutra no dissociada. La disminución del pH mejora la eficiencia de extracción de compuestos ácidos, por consiguiente, la extracción de compuestos básicos es más adecuada a un pH mayor. Para compuestos con propiedades ácidas y básicas, el pH óptimo debe determinarse experimentalmente.

2.9.3.7. Adición de una sal inerte (Fuerza iónica)

La adición de sales solubles incrementa la fuerza iónica de la disolución muestra y disminuye la solubilidad acuosa de los compuestos orgánicos. En consecuencia, las solubilidades acuosas disminuidas de los analitos incrementan los coeficientes de distribución fase extractora-matriz, mejorando la sensibilidad del método. Las sales inertes que comúnmente se utilizan para el ajuste de la fuerza iónica son: cloruro de sodio (NaCl), sulfato de sodio (Na_2SO_4), carbonato de potasio (K_2CO_3) y sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). La eficiencia de extracción y la cantidad óptima de sal es dependiente de las propiedades fisicoquímicas del analito y ambos parámetros se deben estudiar experimentalmente.

2.9.3.8. Adición de disolvente

Con base en la termodinámica de la teoría de la SPME, la proporción de disolvente orgánico en la muestra debe mantenerse al mínimo para que el coeficiente de distribución entre la fase extractora y la matriz no disminuya su valor. La adición de disolventes orgánicos a la muestra puede ocasionar: [1] la disminución de los coeficientes de distribución entre la matriz y la fase extractora, [2] el incremento de la solubilidad del analito en medio acuoso, eliminando o disminuyendo la adsorción de analito en las paredes del vial o [3] la formación de micelas que reducen la disponibilidad de analito en la extracción. También, pequeños volúmenes de disolvente orgánico pueden liberar a los analitos de los sitios activos de la matriz muestra.

2.9.3.9. Derivatización en SPME

La técnica de SPME con derivatización se ha utilizado ampliamente para el análisis de compuestos polares, mejorando la selectividad, sensibilidad y recobro del método de SPME. Esta aproximación hace posible identificar sustancias con desempeño cromatográfico pobre, altamente reactivas o térmicamente inestables.

La derivatización en SPME se utiliza para transformar al analito en una forma química más adecuada para la extracción y análisis. La derivatización del analito permite mejorar sus propiedades para su detección y desempeño cromatográfico, disminuyendo su polaridad e incrementando la estabilidad térmica y volatilidad. Por ello, la derivatización puede mejorar la eficiencia de extracción y selectividad del método (100-104).

Las derivatización en SPME puede efectuarse de tres maneras:

- Derivatización preextracción
- Derivatización posextracción
- Extracción y derivatización simultánea

Elegir el método de derivatización más apropiado depende de las propiedades fisicoquímicas de los analitos, el tipo de reactivo derivatizante, así como el tipo de matriz muestra (63, 102, 104-106).

2.9.3.10. Extracción de los analitos en SPME

La extracción en la SPME puede efectuarse por inmersión directa (DI-SPME) o en espacio de cabeza (HS-SPME).

2.9.3.10.1. SPME por inmersión directa (DI-SPME)

La DI-SPME es adecuada para extraer compuestos de polaridad media-alta y volatilidad media-baja. En la DI-SPME, la fibra se sumerge en una muestra acuosa por un tiempo determinado. Después del proceso de extracción, la fibra se retira y los analitos atrapados en la fase extractora son removidos mediante desorción térmica o líquida.

Las muestras acuosas que se analizan por DI-SPME deben tener características químicas controladas para inducir la distribución de los analitos hacia la fase extractora. Por ello, es necesario controlar la reología de la disolución, temperatura, pH, fuerza iónica y la adición de modificadores orgánicos.

Las muestras que contiene altas concentraciones de disolventes, detergentes o reactivos se deben diluir previamente para no deteriorar la fibra de SPME.

2.9.3.10.2. SPME en espacio de cabeza (HS-SPME)

La HS-SPME es adecuada para extraer compuestos de polaridad media-baja y volatilidad media-alta. En la HS-SPME, la fibra se expone al vapor confinado por encima de la muestra (espacio de cabeza) durante un tiempo determinado. Después del proceso de extracción, la fibra se retira y se efectúa la desorción térmica de los analitos.

La HS-SPME se aplica a muestras gaseosas, líquidas y sólidas. Al igual que la DI-SPME, las muestras líquidas que se analizan por HS-SPME deben tener características químicas controladas para inducir la distribución de los analitos hacia el vapor del espacio de cabeza.

Las muestras gaseosas y sólidas deben someterse a un pre-tratamiento de secado previo a su análisis por HS-SPME. Así mismo, las muestras sólidas se deben triturar, tamizar, homogenizar y derivatizar según la aplicación.

2.9.3.11. Consideraciones de la extracción por SPME en muestras complejas

Cuando los analitos se extraen de muestras complejas, una complicación potencial es el desprendimiento de la fase extractora. La presencia de componentes no volátiles y de alto peso molecular como proteínas, materiales húmicos y otras macromoléculas en muestras heterogéneas, complican el proceso de extracción ya que estas interferencias pueden extraerse junto con los analitos. Adicionalmente, las interferencias de alto peso molecular pueden sorberse y acumularse en la superficie de la fibra de manera irreversible, imposibilitando su remoción durante el proceso de desorción. En consecuencia, el recubrimiento de la fibra pierde capacidad y eficiencia de extracción, disminuyendo la repetitividad y la reproducibilidad del método de SPME. Por tal razón, el análisis de muestras complejas por inmersión directa usualmente se efectúa diluyendo la muestra. Como una alternativa, es necesario efectuar un lavado de la fibra entre el proceso de extracción y desorción para remover los compuestos interferentes acumulados y evitar la formación de agregados carbonizados en el inyector del cromatógrafo que ocasionen perfiles analíticos no representativos (1, 83, 84, 93-98).

2.9.3.12. Desorción de los analitos en SPME

La desorción en la SPME puede efectuarse por vía térmica (SPME-TD) o líquida (SPME-LD).

2.9.3.12.1. Desorción térmica (SPME-TD)

La desorción térmica se utiliza para el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles térmicamente estables. En la desorción térmica, la fibra se coloca en el inyector del cromatógrafo de gases a alta temperatura (150-300 °C) y se expone durante un tiempo determinado (tiempo de desorción). El gas acarreador desorbe a los analitos atrapados en la fibra y los transfiere al inyector del cromatógrafo de gases. La desorción térmica es una alternativa eficiente para el desplazamiento de los analitos de la fase extractora sin el uso de disolventes orgánicos.

2.9.3.12.2. Desorción líquida (SPME-LD)

La desorción líquida es una alternativa a la desorción térmica cuando se analizan compuestos por cromatografía de líquidos. En la desorción líquida, la fibra se expone en una interface que se conecta en línea con el cromatógrafo de líquidos. Los analitos atrapados en el recubrimiento de la fibra son desorbidos por la fase móvil.

La elución de los analitos por desorción líquida depende de las constantes de distribución $K_{o/w}$, la fuerza eulotrópica de la fase móvil y la temperatura. Por ello, es necesario optimizar las propiedades del disolvente de desorción.

2.9.3.13. Aplicaciones de la SPME

El formato de la SPME habilita la extracción de compuestos volátiles y semivolátiles en muestras gaseosas, líquidas y sólidas.

Estudios múltiples han demostrado preferencia por la técnica debido a su amplia aplicación en matrices alimentarias, ambientales y biológicas.

2.9.3.14. SPME en el análisis ambiental

La SPME se utiliza ampliamente para el análisis de contaminantes ambientales en muestras de aire, agua, suelo y sedimento con aproximaciones analíticas para el sitio de muestreo o el laboratorio.

Con el desarrollo de la teoría de la SPME, se han propuesto muchos métodos de calibración para la cuantificación de analitos y se han desarrollado dispositivos de SPME para muestreos rápidos en campo o para el monitoreo a largo plazo de contaminantes ambientales.

La SPME puede utilizarse en línea con las técnicas cromatográficas y la extracción eficiente de los analitos puede alcanzarse seleccionando la fibra adecuada y ajustando los parámetros experimentales. El método de SPME optimizado puede asegurar resultados sensibles y cuantitativos altamente consistentes, incluso a nivel de trazas (14, 46, 66, 105, 107-114).

2.9.4. Extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) (85, 115-119)

La extracción por sorción con barra de agitación es una técnica de preparación de la muestra que utiliza una barra de agitación recubierta de vidrio, la cual soporta una fase extractora polimérica.

Al igual que la SPME, los componentes de la muestra se distribuyen entre la fase extractora y el medio de extracción por equilibrios de sorción (adsorción, absorción), los cuales están controlados por los coeficientes de distribución de los analitos.

La SBSE es otra técnica que combina la extracción, concentración y limpieza en un sólo paso. Es una técnica innovadora por ser rápida, sencilla y más sensible con respecto a SPME.

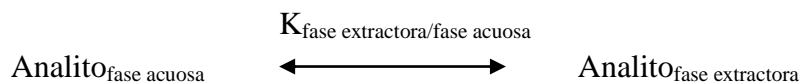
La selectividad y sensibilidad de la SBSE junto con el formato libre de disolventes ha demostrado alto rendimiento en la preparación de muestra previo al análisis por técnicas cromatográficas.

La técnica de SBSE fue patentada como Twister® y comercializada por GERSTEL®.

2.9.5. Teoría de la SBSE

En la SBSE, la eficiencia de extracción depende de las propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas de los analitos y de la muestra.

El proceso de distribución se rige por la constante de distribución entre las fases extractora y de extracción.



Ecuación 1.

$$K_{\text{fe/fa}} = \frac{C_{\text{fe}}}{C_{\text{fa}}}$$

Donde:

$K_{\text{fe/fa}}$ = Coeficiente de distribución fase extractora/fase acuosa

C_{fe} = Concentración del analito en la fase extractora

C_{fa} = Concentración del analito en la fase acuosa

Al alcanzar el equilibrio, el rendimiento de extracción se estima del balance de masa y coeficiente de distribución.

Ecuación 2.

$$m_{\text{a0/fa}} = m_{\text{a/fe}} + m_{\text{a/fa}}$$

$m_{\text{a0/fa}}$ = Masa inicial del analito en la fase acuosa

$m_{\text{a/fe}}$ = Masa del analito en la fase extractora

$m_{\text{a/fa}}$ = Masa final del analito en la fase acuosa

$$\text{Ecuación 3.} \quad K_{fe/fa} = \frac{C_{fe}}{C_{fa}} = \frac{m_{a/fe}}{m_{a/fa}} \times \frac{V_{fa}}{V_{fe}} = \frac{m_{a/fe}}{m_{a/fa}} \times \beta$$

$\beta = V_{fa}/V_{fe}$ = Relación de volúmenes de las fases acuosa y extractora

Al combinar las ecuaciones 2 y 3 se obtiene la ecuación 4, la cual indica el recobro teórico porcentual (R%) dependiente del coeficiente de distribución y la relación de volúmenes de las fases acuosa y extractora.

$$\text{Ecuación 4.} \quad (R\%) = \frac{m_{a/fe}}{m_{a0}} = \frac{\frac{K_{fe/fa} \times m_{a/fa}}{\beta}}{\frac{K_{fe/fa} \times m_{a/fa}}{\beta} + m_{a/fa}} = \frac{\beta \times m_{a/fa} (K_{fe/fa})}{\beta \times m_{a/fa} (K_{fe/fa} + \beta)} = \frac{K_{fe/fa}}{K_{fe/fa} + \beta}$$

La ecuación 4 indica que el porcentaje de recobro incrementa conforme la relación de fases es menor, obteniendo mayor recobro de los compuestos no polares. En SPME, el volumen de la fase extractora es generalmente de 0.5 μL y en la SBSE, el volumen es de 24 μL mínimo. Considerando un volumen de extracción de 10 mL, la relación de fases en la SBSE es aproximadamente de 400 con respecto a SPME, cuya relación es de 20000.

La fase extractora (fe) se asocia al polidimetilsiloxano (PDMS), una fase no polar e inmisible en la fase acuosa (w). La ecuación 4 cambia de la siguiente manera:

$$(R\%) = \frac{K_{PDMS,w}}{K_{PDMS,w} + \beta}$$

La **Fig. 1** muestra el recobro teórico porcentual en función del $\log K_{PDMS,w}$

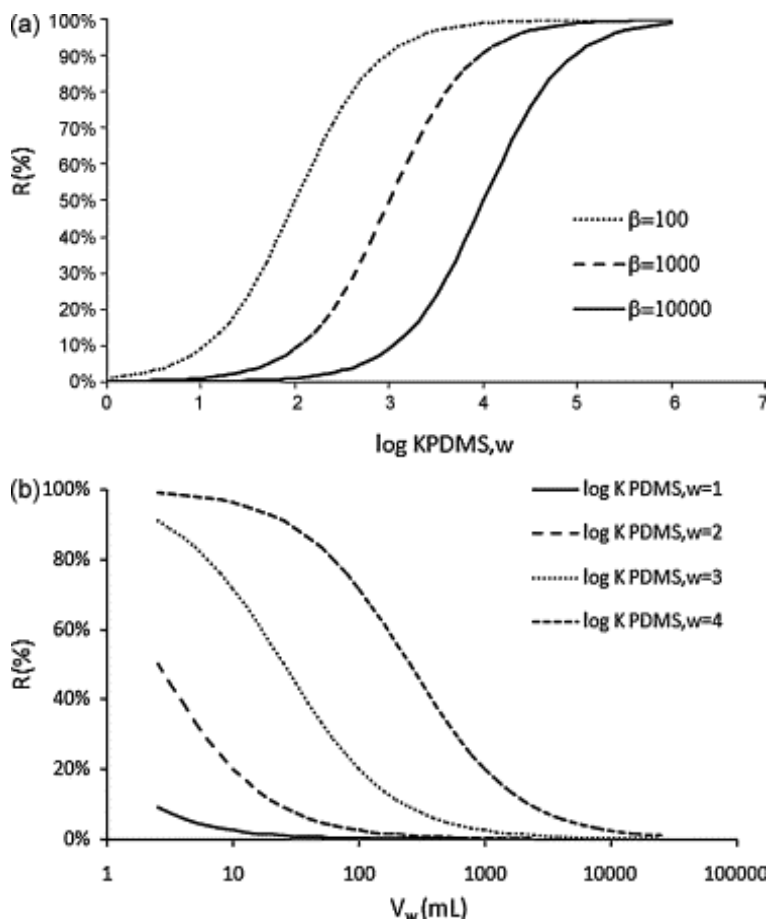


Figura 1. Recobro teórico porcentual versus $\log K_{PDMS,w}$ (a) y recobro teórico porcentual con un volumen de 24 μL de PDMS y un volumen de agua con concentración inicial de analito de 1 ng mL^{-1} .

2.9.6. Optimización de los métodos de SBSE

Los parámetros que afectan la extracción en la SBSE son: el tiempo de extracción, temperatura de extracción, velocidad de agitación, volumen de muestra, pH del medio de extracción, adición de una sal inerte (fuerza iónica) y adición de modificadores orgánicos. Las variables físicas como el tiempo de extracción, velocidad de agitación y volumen de muestra afectan la transferencia de masa de analito, mientras que las variables fisicoquímicas como la temperatura, pH, adición de sal y modificadores orgánicos afectan el equilibrio de distribución y aceleran la cinética de transferencia del analito hacia la fase extractora.

2.9.6.1. Barras de SBSE

Las barras Twister típicamente miden 10-30 mm y están recubiertas de 24-47 μL de fase extractora.

2.9.6.2. Agitación

La agitación es un proceso físico que homogeniza la muestra mediante convección. Al incrementar la velocidad de agitación, la distribución de los analitos se favorece hacia la fase extractora, salvo algunas excepciones. La convección favorece la transferencia de masa evitando una zona de agotamiento entre la fase extractora y la muestra acuosa.

2.9.6.3. Tiempo de extracción

El tiempo de extracción es el tiempo que tardan en igualarse las velocidades de transferencia de masa entre la fase extractora y la muestra. Propiamente, el tiempo de extracción se establece en la condición de equilibrio, donde la masa de analito se distribuye a la misma velocidad entre la fase extractora y la muestra (proceso de extracción completo). Sin embargo, los tiempos de extracción de las técnicas no exhaustivas pueden establecerse en condiciones de no equilibrio, siempre y cuando exista repetitividad, reproducibilidad y sensibilidad adecuada para los objetivos del método. El tiempo de extracción se elige con base en la concentración de los analitos.

2.9.6.4. Ajuste de pH

El ajuste de pH de la muestra es una variable importante en el proceso de extracción. Los analitos con propiedades ácido-base deben permanecer en estado molecular para distribuirse hacia la fase extractora. El control del pH incrementa la selectividad de la extracción, induciendo la ionización de algunos componentes de la muestra y favoreciendo la distribución de los analitos hacia la fase extractora.

2.9.6.5. Adición de sal (Fuerza iónica)

La adición de una sal inerte modifica la fuerza iónica de la disolución y favorece el equilibrio de distribución hacia la fase extractora por efecto de solubilidad (salting in, salting out). Los compuestos más polares se distribuyen hacia la fase extractora con mayor eficiencia. Sin embargo al adicionar una sal, la viscosidad y polaridad de la disolución aumentan, disminuyendo la transferencia de masa a través de la disolución y provocando que los compuestos menos polares se desplacen hacia la superficie de la muestra, evitando el contacto con la fase extractora. Por lo anterior, es importante optimizar la cantidad de sal para mejorar la eficiencia de extracción sin comprometer la transferencia de los analitos hacia la fase extractora.

2.9.6.6. Extracción de los analitos en SBSE

La extracción en la SBSE puede efectuarse por inmersión directa (DI-SBSE) o en espacio de cabeza (HSSE).

2.9.6.6.1. SBSE por inmersión directa (DI-SBSE)

En la DI-SBSE, la barra de agitación se sumerge en una muestra acuosa y se hace rotar a velocidad constante durante un tiempo determinado (tiempo de extracción). Posteriormente, la barra se retira con pinzas, se enjuaga con agua destilada para eliminar componentes indeseables de la muestra y se seca con un paño de laboratorio. Los analitos retenidos en la fase extractora son removidos mediante desorción térmica o líquida.

La DI-SBSE se aplica a muestras acuosas y al igual que la DI-SPME, se deben controlar las propiedades químicas de la muestra (reología de la disolución, temperatura, pH, fuerza iónica y adición de modificadores orgánicos) para inducir la distribución de los analitos hacia la fase extractora. Las muestras que contienen altas concentraciones de disolventes, detergentes o reactivos se deben diluir previamente para no deteriorar o dañar la fase extractora de la barra.

2.9.6.6.2. SBSE en espacio de cabeza (HSSE)

En la HSSE, la barra de agitación se expone al vapor confinado por encima de la muestra durante un tiempo determinado (tiempo de extracción). Posteriormente, la barra se retira y se efectúa la desorción térmica de los analitos.

La HSSE se aplica a muestras gaseosas, líquidas o sólidas. Al igual que la DI-SBSE, las propiedades químicas de las muestras líquidas se deben controlar para inducir la distribución de los analitos hacia el vapor del espacio de cabeza.

Las muestras gaseosas y sólidas deben someterse a un pre-tratamiento de secado previo a su análisis por HSSE. Así mismo, las muestras sólidas se deben triturar, tamizar, homogenizar y derivatizar según la aplicación.

2.9.6.7. Desorción de los analitos en SBSE

La desorción en la SBSE puede efectuarse en forma térmica (SBSE-TD) o líquida (SBSE-LD).

2.9.6.7.1. Desorción térmica (SBSE-TD)

La desorción térmica se utiliza para el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles térmicamente estables.

En la SBSE-TD, la barra de agitación se coloca en un vial y se introduce a una unidad de desorción térmica (TDU), la cual se conecta en línea con el cromatógrafo de gases. La desorción térmica se efectúa a temperaturas entre 150 y 300 °C y los analitos atrapados en la fase extractora son desplazados y transferidos al inyector del cromatógrafo mediante un flujo de gas acarreador.

El inyector con temperatura programable (PTV) efectúa un enfoque criogénico (-150 °C) para condensar el vapor de la desorción y posteriormente realizar una vaporización selectiva de los analitos. Este tipo de enfoque garantiza la captación cuantitativa de los analitos en el inyector del cromatógrafo, logrando un incremento en la sensibilidad y eficiencia cromatográfica.

La desorción térmica desplaza de manera eficiente a los analitos de la fase extractora sin el uso de disolventes orgánicos.

2.9.6.7.2. Desorción líquida (SBSE-LD)

La desorción líquida es una alternativa a la desorción térmica cuando se analizan compuestos termolábiles o no se cuenta con la unidad de desorción térmica.

En la SBSE-LD, la barra de agitación se sumerge en un volumen de disolvente orgánico y se hace rotar a velocidad constante por un tiempo determinado. Los analitos retenidos en la fase extractora son desorbidos por la fuerza eulotrópica del disolvente.

El volumen de disolvente de desorción debe garantizar la elución completa de los analitos. Los disolventes orgánicos que se utilizan comúnmente son acetonitrilo, metanol, acetona, agua o disoluciones reguladoras.

La elución de los analitos por desorción líquida depende de las constantes de distribución $K_{o/w}$, la fuerza eulotrópica del disolvente, la temperatura y velocidad de agitación. Por ello, es necesario controlar las condiciones físicas y químicas del proceso de desorción.

2.9.6.8. Derivatización en SBSE

Existen diversas aplicaciones que combinan la SBSE con derivatización *in situ* para mejorar el recobro de los analitos más polares cuando las $K_{o/w}$ son bajas. Las reacciones de derivatización pueden efectuarse en medio acuoso, incluyendo acilación, esterificación y oximación.

2.9.6.9. Aplicaciones de la SBSE

La SBSE es una técnica de preparación de muestra miniaturizada rápida, sencilla y sensible para el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles en muestras gaseosas, líquidas y sólidas.

Diversos estudios han demostrado preferencia por la SBSE debido a sus múltiples aplicaciones en matrices ambientales y biológicas (15, 16, 22, 47, 59, 116-126).

2.9.7. Extracción asistida con ultrasonido (UAE) (127-132)

La extracción asistida con ultrasonido es una técnica de preparación de muestra que utiliza ondas acústicas de alta frecuencia (20-40 kHz) para disgregar una muestra sólida.

Las ondas ultrasónicas se propagan a través de un disolvente produciendo ciclos de compresión y rarefacción. Los ciclos de presión producen burbujas que incrementan su tamaño sucesivamente e implotan (cavitación), propulsando el disolvente con elevadas tasas de velocidad, presión y temperatura (puntos calientes). El disolvente colisiona con la muestra sólida, erosionando y disgregando su estructura. La disgregación incrementa el área superficial de la muestra, favoreciendo la difusión de los componentes hacia el disolvente.

La UAE es una técnica que permite extracciones sólido-líquido altamente eficientes, debido a la ultragitación de la muestra con el disolvente. Adicionalmente, la UAE puede utilizarse para efectuar extracciones líquido-líquido miniaturizadas, utilizando un disolvente dispersante.

La disgregación de muestras biológicas no requiere de amplitudes elevadas, debido a que la cavitación puede disgregar el material celular rápidamente. Por el contrario, la disgregación de muestras sólidas requiere de mayor amplitud para erosionar el material sólido. Sin embargo, el exceso de emisión ultrasónica puede inducir la resorción y/o descomposición de los compuestos de interés.

Las extracciones por ultrasonido se deben optimizar en términos del tiempo de emisión (tiempo de extracción), temperatura de extracción, amplitud ultrasónica, emisión continua o en pulsos, cantidad de muestra, disolvente de extracción y volumen de disolvente de extracción.

2.9.7.1. Tipos de ultrasonido

La UAE puede efectuarse en dos formatos:

- UAE con baño ultrasónico
- UAE con sonda ultrasónica

Los baños ultrasónicos proyectan la emisión ultrasónica de forma omnidireccional, produciendo interferencia ondulatoria ultrasónica.

La sonda ultrasónica ha demostrado mayor eficiencia en la extracción de componentes de matrices sólidas, ya que la emisión ultrasónica se concentra en una punta de titanio y se proyecta en forma unidireccional en comparación con los baños ultrasónicos.

2.9.7.2. Optimización de la UAE

2.9.7.2.1. Cantidad de muestra

La cantidad de muestra es una variable que influye en la sensibilidad del método. El tamaño de muestra se determina con base en una aplicación específica y su proporción depende de la concentración de los analitos.

Una muestra de mayor tamaño puede facilitar la detección de los analitos, sin embargo, este hecho podría implicar un mayor número de interferentes que rebasen la capacidad del método y comprometan su desempeño durante la extracción, limpieza y detección.

En general, es deseable utilizar un tamaño de muestra representativo que pueda manipularse fácilmente, por esta razón, los tamaños de muestra reducidos son una cualidad para el desarrollo de métodos miniaturizados.

2.9.7.2.2. Disolvente de extracción

El tipo de disolvente de extracción es una variable que influye significativamente en la eficiencia de extracción, ya que la disolución y distribución del analito en el disolvente implica la formación de una esfera de solvatación, donde las moléculas de disolvente se orientan e interaccionan con el analito mediante fuerzas de Van Der Waals, fuerzas de London, puentes de hidrógeno, entre otras.

2.9.7.2.3. Volumen de disolvente

El volumen de disolvente es una variable que influye en la capacidad de extracción del analito. El volumen de disolvente se determina con base en una aplicación específica y depende del factor de enriquecimiento que se desea. En el caso de la extracción sólido-líquido, el analito contenido en la muestra se transfiere hacia el disolvente por solubilidad facilitada; el disolvente de extracción difunde a la muestra sólida y desplaza al analito de los sitios activos de la matriz.

Normalmente, la extracción exhaustiva de los analitos de una muestra sólida se efectúa mediante extracciones sucesivas. Sin embargo, la eficiencia de extracción depende de las propiedades fisicoquímicas del disolvente y la técnica de agitación durante el proceso de extracción.

2.9.7.3. Aplicaciones de la UAE

La UAE es una técnica de preparación de muestra ampliamente utilizada para la extracción en matrices sólidas ambientales, biológicas, farmacéuticas y alimentarias.

Diversos estudios han demostrado las múltiples aplicaciones y efectividad de la UAE en matrices ambientales y biológicas ([131-137](#)).

2.10. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (79, 81, 138, 139)

La cromatografía de gases (GC) es una técnica de separación, donde los componentes a separar se distribuyen entre una fase estacionaria (sólida o líquida) y una fase móvil (gaseosa). La separación de los componentes depende de la presión de vapor y la afinidad de los analitos por la fase estacionaria.

Existen múltiples aplicación de la GC, sin embargo, se limita al análisis de compuestos volátiles y semivolátiles termoestables con bajo peso molecular.

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica, donde una molécula se ioniza y fragmenta por métodos eléctricos, químicos o de radiación. Después de la fragmentación, los iones fragmento resultantes se filtran y tabulan con base en una relación de masa y carga. La detección de los analitos por espectrometría de masas, permite identificar al analito por su espectro de masas.

El instrumento GC-MS consta de un cromatógrafo de gases conectado en línea con un espectrómetro de masas mediante una línea de transferencia a alta temperatura. En el cromatógrafo, la muestra es vaporizada en el inyector, separada en la columna y transferida a la cámara de ionización del espectrómetro. Los componentes de la muestra son ionizados a 70 eV y los iones fragmento formados se aceleran y enfocan hacia el analizador másico, donde son separados con base en su relación de masa carga. Como resultado se obtiene un espectro de masas por cada compuesto analizado.

La eficiencia de la separación cromatográfica y la especificidad de la espectrometría de masas han permitido obtener un instrumento acoplado con gran capacidad para identificar compuestos conocidos y desconocidos. La espectrometría de masas complementa la información de identidad después de la separación cromatográfica.

Comúnmente, el sistema de espectrometría de masas acoplado utiliza como método de ionización la electroionización (EI) y un analizador másico cuadrupolar simple. La electroionización positiva es muy utilizada para el análisis de PPCPs en muestras ambientales con elevada selectividad y sensibilidad a niveles de ng L^{-1} y ng g^{-1} .

Las principales ventajas de la EI es la pequeña influencia de la estructura molecular sobre la respuesta analítica y la identificación inequívoca mediante un gran número de iones fragmento característicos.

Los métodos de identificación más utilizados en espectrometría de masas son: barrido total de iones (SCAN, del inglés) o monitoreo selectivo de iones (SIM, por su acrónimo en inglés). El análisis por SCAN permite obtener el espectro de masas completo, cuya información representa la fragmentación del analito y constituye un perfil de identificación inequívoco. El espectro de barrido total de iones (SCAN) se obtiene mediante la señal de la corriente total de iones (TIC, por sus siglas en inglés) en un intervalo de relación de masa y carga (m/z) específico.

La identificación por MS requiere la elución del compuesto a un tiempo de retención específico, el espectro de masas y la relación en la abundancia de sus iones, que posteriormente se comparan con un estándar de referencia. La identificación por SCAN se efectúa comparando los tiempos de retención y el patrón de fragmentación de los analitos y sus estándares respectivos. La cuantificación por SCAN o SIM se realiza correlacionando la respuesta analítica en función de la concentración, utilizando disoluciones estándar de concentración conocida. Para cada analito, la respuesta analítica se obtiene integrando el área del pico cromatográfico o midiendo la abundancia relativa de uno o más iones fragmento diagnóstico.

El análisis por SIM incrementa la selectividad y sensibilidad de los análisis cuantitativos, evitando determinaciones erróneas por la presencia de compuestos interferentes.

En una gran cantidad de métodos publicados, la detección por MS se efectúa en modo SIM, utilizando las relaciones de masa/carga más prominentes (determinadas por el análisis en modo SCAN) de un compuesto específico.

La determinación de los PPCPs se efectúa mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), inmunoensayos o la combinación de estas técnicas. En específico, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) es ampliamente utilizada para el análisis de mezclas complejas.

Escoger entre GC-MS y LC-MS generalmente se realiza con base en las cualidades fisicoquímicas de los analitos. La LC-MS normalmente se utiliza para determinar compuestos mas polares y menos volátiles mientras que la GC-MS se utiliza para determinar compuestos volátiles y semivolátiles, específicamente cuando la resolución es esencial en para separar isómeros o congéneres.

La GC-MS es una de las técnicas más apropiadas para el análisis de contaminantes, si el objetivo es determinar el máximo nivel de residuos, identificar y cuantificar de manera simultánea un gran número de analitos. El análisis por GC-MS permite suprimir el ruido de fondo de la matriz para alcanzar excelente selectividad y sensibilidad. Por lo anterior, es posible cuantificar contaminantes a niveles traza en matrices con un gran número de interferencias.

La combinación de la SPME o SBSE con GC-MS es particularmente adecuada para la determinación de compuestos volátiles y semivolátiles de distinta polaridad. Existen diversos métodos publicados que utilizan SPME y SBSE para extraer diferentes clases de PPCPs en matrices ambientales.

2.11. Derivatización en cromatografía de gases

La formación de derivados es un proceso donde se modifican los grupos funcionales y propiedades fisicoquímicas de un analito (volatilidad, estabilidad térmica, presión de vapor, polaridad) para mejorar su detección, sensibilidad y/o desempeño cromatográfico.

En cromatografía de gases, la derivatización se utiliza comúnmente para formar los derivados volátiles termoestables de analitos no volátiles y termolábiles. Así mismo, se emplea para incrementar la sensibilidad y mejorar la detección de los analitos.

Un gran número de los PPCPs de interés ambiental son compuestos altamente polares y termolábiles, por lo que requieren una transformación química para hacerlos más adecuados para sus análisis por GC.

La formación de derivados implica la optimización de muchas variables como: el reactivo derivatizante, tiempo de reacción, temperatura de reacción y disolvente de reacción.

En los métodos para análisis simultáneo, la eficiencia de la reacción debe investigarse de manera individual para cada analito y posteriormente se compara con la mezcla de los analitos.

La formación de derivados volátiles incrementa la aplicación de la GC, ya que se pueden analizar compuestos más polares y con propiedades fisicoquímicas que afectan su desempeño cromatográfico durante el análisis. Usualmente, la formación de un derivado seguido del análisis por GC-MS es una alternativa analítica que aumenta la sensibilidad y disminuye los límites de detección del método.

Los reactivos sililantes son ampliamente utilizados para formar los derivados de PPCPs debido a la rapidez y cuantitatividad de la reacción. Los productos de reacción con agentes sililantes son éteres o ésteres de silicio, los cuales se caracterizan por su alta estabilidad y buenas propiedades cromatográficas.

Existen diversos agentes sililantes como el BSTFA (N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida), MSTFA (N-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida), HDMS (hexametildilazano), TMCS (trimetilclorosilano) y TBDMS (tert-butildimetilsililclorosilano) y MTBSTFA (N-tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida).

Para la formación de derivados, existen técnicas de derivatización *in-situ*, preextracción y posextracción. Las técnicas *in-situ* y preextracción que permiten incrementar la selectividad durante el proceso de extracción (100-103, 140).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

Desarrollar y optimizar métodos analíticos basados en microextracción en fase sólida (SPME), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) y extracción asistida con ultrasonido (UAE), seguidos del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para la determinación de fármacos y productos de cuidado personal (PPCPs) en agua, sedimento y pescado.

3.2. Objetivos particulares

1. Validar los métodos desarrollados para el análisis de PPCPs a nivel de trazas (ng L^{-1} y ng g^{-1}) en agua, sedimento y pescado.
2. Aplicar los métodos desarrollados en muestras de agua, sedimento y pescado de sitios potencialmente contaminados con PPCPs.
3. Comparar las ventajas y desventajas de los métodos con SPME y SBSE en la determinación de PPCPs en las muestras analizadas.

4. JUSTIFICACIÓN

En atención a la creciente demanda de procedimientos analíticos para determinar una gran variedad de PPCPs en matrices ambientales y biológicas, es necesario desarrollar métodos rápidos, sencillos, sensibles y robustos que permitan la identificación y la cuantificación de dichos contaminantes a niveles traza ($\mu\text{g L}^{-1}$, ng L^{-1} y ng g^{-1}). Así mismo, es importante que los métodos desarrollados sean económicos y disminuyan el consumo de reactivos y disolventes orgánicos.

Este estudio busca contribuir con nuevos métodos con cualidades innovadoras para la determinación simultánea de PPCPs en muestras de agua, sedimento y pescado, los cuales puedan aplicarse en el análisis rutinario de estos contaminantes.

5. HIPÓTESIS

Los métodos desarrollados basados en microextracción en fase sólida (SPME), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) y extracción asistida con ultrasonido (UAE), seguidos del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, permitirán la determinación simultánea de PPCPs (ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco, clorofeno, triclosán, bisfenol A, estrona) en agua, sedimento y pescado, de manera rápida, sencilla y sensible con respecto a otros métodos descritos en la bibliografía.

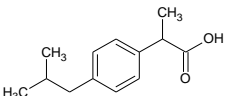
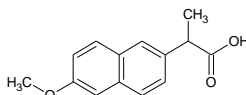
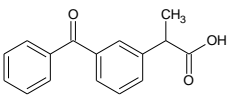
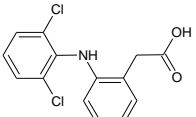
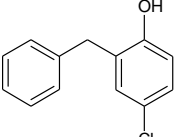
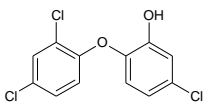
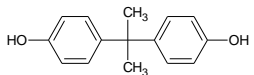
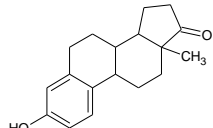
6. EXPERIMENTACIÓN

6.1. Materiales y reactivos

6.1.1. Estándares y disolventes

Los estándares: ibuprofeno (99%), naproxeno (98%), ketoprofeno ($\geq 98\%$), diclofenaco ($>99\%$), clorofeno (95%), bisfenol A (99%), estrona ($\geq 99\%$) y N-metil-N-(tertbutildimetilsilil)trifluoroacetamida (MTBSTFA) se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) y triclosán (97%) se adquirió de Fluka (Buchs, Suiza). El **Cuadro 2** muestra la estructura química y algunas propiedades fisicoquímicas de los PPCPs estudiados:

Cuadro 2. Estándares de los PPCPs (141).

Compuesto	Estructura química	Masa molecular (g mol ⁻¹)	pka	K _{ow}
1. Ibuprofeno		206.3	4.9	4.0
2. Naproxeno		230.3	4.2	3.2
3. Ketoprofeno		254.3	4.4	3.1
4. Diclofenaco		296.2	4.1	4.5
5. Clorofeno		218.7	9.8	3.6
6. Triclosán		289.5	7.9	4.8
7. Bisfenol A		228.3	9.6	3.3
8. Estrona		270.4	10.3	3.1

Los disolventes grado HPLC y espectrofotométrico (hexano, isopropanol, acetona, metanol, acetonitrilo) se adquirieron de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA). Para las diluciones se utilizó agua Tipo 1.

Las disoluciones estándar de los PPCPs se prepararon en metanol y se almacenaron en viales ámbar a 4 °C. Las disoluciones se prepararon en las siguientes concentraciones: ibuprofeno 1000 mg L⁻¹, clorofeno 3000 mg L⁻¹, naproxeno 1000 mg L⁻¹, triclosán 2000 mg L⁻¹, ketoprofeno 1000 mg L⁻¹, diclofenaco 1000 mg L⁻¹, bisfenol A, 1000 mg L⁻¹, estrona 1000 mg L⁻¹.

6.1.2. Material de vidrio

- Botellas de vidrio ámbar de 1 L
- Jeringas Hamilton 10, 100 y 250 µL
- Matraces aforados Pyrex de 1, 5 y 10 mL
- Matraces Kitasato Pirex de 50, 250 y 500 mL
- Pipetas Pasteur de tallo largo
- Pipetas volumétricas de 0.5, 1, 3, 4, 6, 8 y 10 mL
- Sistema de filtración Millipore, Merck Millipore (USA)
- Vasos de precipitados de 20, 50 y 100 mL
- Viales de vidrio ámbar (4 y 15 mL) con tapón horadado y septas de PTFE (teflón)/silicón
- Viales de vidrio transparente (8 y 11 mL) con tapón horadado y septas de PTFE (teflón)/silicón

6.1.2.1. Limpieza del material de vidrio

El material de vidrio se lavó con jabón líquido EXTRAN® y se enjuagó abundantemente con agua del grifo. El material no volumétrico se enjuagó con agua desionizada caliente y se secó en una estufa a 110 °C. Antes de utilizar el material, se enjuagó con metanol y se secó con vacío.

6.1.3. Materiales de preparación de muestra

- Fibras de poliacrilato (PA) de 85 µm, SUPELCO (Bellefonte, PA, USA)
- Soporte de fibras manual para SPME, SUPELCO (Bellefonte, PA, USA)
- Membranas de nylon de 0.45 µm, PHENOMENEX (CA, USA)
- Barras magnéticas de agitación de teflón (13 mm)
- Barras magnéticas de etilenglicol-polidimetilsiloxano (EG-PDMS) de 1 cm con 32 µL de fase extractora, GERSTEL (Alemania)

6.1.4. Instrumentación

- Balanza Sartorius, modelo CP124S
- Procesador ultrasónico Cole-Parmer de 130 W, modelo 04714-53
- Parrilla de agitación magnética Thermolyne, modelo SP131825
- Centrífuga clínica (International Equipment Co., Boston, MA, USA)

6.1.5. Agua y sedimento de referencia

El agua y sedimento de referencia se recolectaron en el manantial del Parque Nacional Fuentes Brotantes (19°17'03.7"N, 99°10' 54.7"O), Ciudad de México. Los materiales se utilizaron como blanco de matriz, así como para el desarrollo de los métodos por SPME, SBSE y UAE.

6.1.5.1. Agua

El agua se recolectó en el brote de manantial a 30 cm bajo la superficie y se almacenó en frascos de vidrio ámbar. Las muestras de agua se conservaron en baño de hielo durante su transporte hacia el laboratorio. El agua se filtró con membrana de nylon de 0.45 µm y se almacenó a 4 °C.

El agua se analizó para descartar la presencia de los analitos y, eventualmente, se fortificó con los analitos para optimizar la extracción por SPME y SBSE.

6.1.5.2. Sedimento

El sedimento se recolectó a 50 cm de profundidad y se almacenó en frascos de vidrio ámbar. Las muestras de sedimento se conservaron en baño de hielo durante su transporte hacia el laboratorio.

El sedimento húmedo permaneció en el frasco hasta su deposición y compactación por gravedad. El exceso de agua se eliminó por decantación.

El sedimento se liofilizó a -20 °C durante 12 h, se tamizó con malla 80/100 y se almacenó en frascos de vidrio ámbar a temperatura ambiente. El sedimento se analizó para descartar la presencia de los analitos y eventualmente se fortificó con los analitos para optimizar la extracción por UAE.

6.1.5.3. Músculo de pescado

6.1.5.3.1. Tipo de pescado

El pescado utilizado en este estudio fue tilapia azul (*Oreochromis aureus*), cuya especie es de importancia económica a nivel mundial. La tilapia es un pescado blanco de bajo contenido graso y se puede encontrar fácilmente en los mercados y supermercados de la Ciudad de México. Se adquirieron 3 pescados congelados de aproximadamente 0.35 kg cada uno.

6.1.5.3.2. Tratamiento del pescado

Previo a la eviseración y corte de la fracción muscular, el pescado se lavó con agua del grifo. El músculo se extrajo con un cuchillo, se descartó la piel, huesos y aletas. El músculo se trituro y homogenizó en un procesador de alimentos y se almacenó en bolsas grado alimenticio a -18°C .

El pescado se analizó para descartar la presencia de los analitos y eventualmente se fortificó con los analitos para optimizar la extracción por UAE.

El pescado se descongeló previo a cada extracción con ultrasonido.

6.2. Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico se realizó con un cromatógrafo de gases HP5890 acoplado a un espectrómetro de masas selectivo HP5971. El gas acarreador fue Helio a flujo constante (1 mL min^{-1}) y el inyector se utilizó en modo splitless (1 min) a 250°C . La separación de los analitos se efectuó en una columna capilar ZB-5 (95% dimetilpolisiloxano, 5% fenil; 30 m, 0.25 mm d.i., $0.25\text{ }\mu\text{m}$ de fase estacionaria), el programa de temperatura fue 70°C (2 min), $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 230°C (4 min), $14^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 300°C (6 min). La ionización de los analitos se efectuó por impacto electrónico a 70 eV. Las temperaturas de la línea de transferencia, fuente de ionización y cuadrupolo fueron: 280, 230 y 175°C , respectivamente. La identificación de los PPCPs se realizó mediante los espectros de masas de los derivados tert-butildimetilsililados (TBDMS), que se obtuvieron por barrido total de iones (SCAN), en un intervalo de m/z 50 a 550. La cuantificación se realizó por monitoreo selectivo de iones (SIM), utilizando dos iones fragmento diagnóstico para cada analito. Los iones fragmento diagnóstico se muestran en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Iones fragmento diagnóstico para el análisis por monitoreo selectivo de iones (SIM).

Compuesto	Iones fragmento diagnóstico (m/z)
Ibuprofeno	263 , 320
Clorofeno	275 , 332
Naproxeno	287 , 344
Triclosán	200, 345
Ketoprofeno	295, 311
Diclofenaco	352 , 409
Bisfenol A	441 , 456
Estrona	327 , 384

***Ión fragmento de cuantificación**

6.3. Identificación de los TBDMS-derivados por GC-MS

Los PPCPs estudiados son compuestos no volátiles y termolábiles, lo cual inhabilita su análisis directo por GC-MS. Debido a esto, se formaron los derivados tert-butildimetilsililados (TBDMS) mediante la reacción con MTBSTFA. El procedimiento describe a continuación:

100 μL de la disolución estándar de PPCPs (1 ppm) se transfieren a un vial de reacción de fondo cónico, el disolvente se evapora a sequedad con flujo de nitrógeno y se adicionan 100 μL de MTBSTFA. El vial se cierra de manera hermética, se coloca en una estufa a 80°C durante 30 min y del producto de reacción se inyecta 1 μL al GC-MS.

6.4. Desarrollo del método para análisis de agua por SPME-GC-MS

6.4.1. Acondicionamiento de la fibra de SPME

Para la extracción por SPME se utilizaron fibras de poliacrilato (PA) de 85 μm con un dispositivo manual para SPME. Las fibras de SPME se acondicionaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Previo al primer uso, la fibra de PA se acondicionó en el inyector del GC-MS a 280 °C durante 1 h.

6.4.2. Optimización de la SPME en agua

6.4.2.1. Diseño experimental 2^3 para la SPME en agua

La extracción por SPME en agua se optimizó estudiando el efecto del tiempo de extracción (30 y 60 min), temperatura de extracción (25 y 40 °C) y porcentaje de cloruro de sodio (30 y 60% sobre saturación del agua). El efecto de las variables se evaluó con un diseño experimental lineal 2^3 que se muestra en el **Cuadro 4**.

Cuadro 4. Diseño experimental 2^3 para optimizar la SPME en agua.

Experimento	Tiempo de extracción (min)	Temperatura (°C)	Porcentaje de NaCl (%)
1	30	25	30
2	60	25	30
3	30	40	30
4	60	40	30
5	30	25	60
6	60	25	60
7	30	40	60
8	60	40	60

6.5. Análisis de agua por SPME-GC-MS

5 mL de agua se ajustan a $\text{pH} = 3$ con ácido fórmico concentrado, se adiciona 1 g de NaCl y la mezcla se agita a 1200 rpm; la SPME se efectúa a 25 °C durante 60 min. Después de la extracción, la fibra de SPME se expone a los vapores de 100 μL de MTBSTFA a temperatura ambiente durante 30 min. La desorción de los analitos se efectúa exponiendo la fibra de SPME en el inyector del GC-MS a 250 °C durante 10 min.

6.6. Desarrollo del método para análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS

6.6.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento

Para el análisis de sedimento, se optimizó la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento fortificado. Para ello se utilizó sonda ultrasónica de 130 W con punta de 3 mm.

Previo a la optimización de la UAE, se seleccionó la cantidad de muestra, el volumen de extracción y el disolvente de extracción.

6.6.1.1. Cantidad de muestra

La cantidad de muestra para la UAE se evaluó con 100, 200 y 500 mg de sedimento fortificado con los analitos. La UAE se realizó por duplicado para cada cantidad de muestra (n=2).

6.6.1.2. Volumen del disolvente de extracción

El volumen de disolvente se seleccionó con base en la especificación de la sonda ultrasónica, cuya punta (3 mm) se utiliza para un volumen máximo de 10 mL. El volumen de disolvente para la UAE en sedimento fueron 7 mL.

6.6.1.3. Disolvente de extracción

En este proyecto se propuso extraer los PPCPs con una disolución acuosa. La eficiencia de extracción en sedimento fortificado se evaluó con: agua desionizada (pH = 7), ácido fórmico al 0.1% en agua (pH = 3) y ácido fórmico al 0.1% con 1% de metanol (pH = 3).

Cada extracto de sedimento se analizó por SPME-GC-MS (**apartado 6.5**).

6.6.1.4. Diseño experimental 2^3 para la UAE en sedimento

Las variables de la UAE se optimizaron estudiando el efecto del tiempo de extracción (1 y 3 min), amplitud de la sonda (30 y 60 %) y temperatura de extracción (25 y 40 °C). El efecto de las variables se evaluó con el diseño experimental lineal 2^3 que se muestra en el **Cuadro 5**.

Cuadro 5. Diseño experimental 2^3 para optimizar la UAE en sedimento.

Experimento	Tiempo de extracción (min)	Amplitud (%)	Temperatura (°C)
1	1	30	25
2	3	30	25
3	1	60	25
4	3	60	25
5	1	30	40
6	3	30	40
7	1	60	40
8	3	60	40

6.7. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS

100 mg de sedimento se transfieren a un vial de vidrio de 8 mL, se adicionan 7 mL de ácido fórmico al 0.1% en agua con 1% de metanol y la mezcla se calienta a 40 °C; la UAE se efectúa al 60% de amplitud durante 3 min. El extracto se filtra a través de una membrana de nylon de 0.45 µm. 5 mL del filtrado se analizan por SPME-GC-MS (**apartado 6.5**).

6.8. Desarrollo del método para análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS

6.8.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en pescado

Para el análisis de pescado, se optimizó la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en pescado fortificado. Para ello, se utilizó una sonda ultrasónica de 130 W al 60% de amplitud con punta de 3 mm. Las variables de la UAE se optimizaron estudiando el efecto de la cantidad de muestra, disolvente de extracción, tiempo de extracción, pH de extracción, adición de disolvente orgánico y porcentaje de NaCl.

6.8.1.1. Cantidad de muestra

La cantidad de muestra se evaluó con 50, 100 y 250 mg de músculo de pescado fortificado con los analitos. La UAE se realizó por duplicado para cada cantidad de muestra (n=2).

6.8.1.2. Volumen del disolvente de extracción

El volumen de disolvente se seleccionó con base en la especificación de la sonda ultrasónica, cuya punta (3 mm) se utiliza para un volumen máximo de 10 mL. El volumen de disolvente para la UAE en pescado fueron 7 mL.

6.8.1.3. Disolvente de extracción

El disolvente de extracción se seleccionó considerando dos aspectos importantes: la extracción de los analitos con una disolución acuosa y la obtención de un extracto homogéneo fácil de manipular. Las disoluciones acuosas evaluadas fueron:

D1: Ácido fórmico al 0.1% c en agua

D2: Ácido fórmico al 0.1% en agua con 1% de metanol

D3: Hidróxido de sodio al 0.1% en agua

D4: Hidróxido de sodio al 0.1% en agua con 1% de metanol

D5: Hidróxido de sodio al 0.1% en agua:metanol 90:10 V/V

D6: Hidróxido de sodio al 0.1% en agua con 1% de acetona

D7: Hidróxido de sodio al 0.1% en agua:acetona 90:10 V/V

Los extractos de pescado se analizaron por SPME-GC-MS (**apartado 6.5**) sin adición de NaCl. Los extractos con NaOH se ajustaron a pH = 3 con ácido fórmico concentrado previo al análisis por SPME-GC-MS.

6.8.1.4. pH de extracción

El pH del disolvente de extracción se ajustó para desnaturalizar y precipitar a las proteínas del pescado. El ajuste de pH se realizó con ácido fórmico concentrado e hidróxido de sodio (NaOH). El pH de las disoluciones de ácido fórmico y NaOH fue 3.0 ± 0.2 y 12.5 ± 0.2 unidades, respectivamente.

6.8.1.5. Adición de disolvente orgánico

Para al UAE en pescado, se propuso adicionar disolvente orgánico (metanol o acetona) al disolvente de extracción para incrementar la solubilidad de los analitos en el extracto. La adición de disolvente orgánico se evaluó al 1 y 10%.

6.8.1.6. Tiempo de extracción

El tiempo de extracción con ultrasonido se evaluó a 1, 3 y 5 min de ultrasonido.

6.8.1.7. Porcentaje de NaCl

Como se mencionó anteriormente, la adición de NaCl es una variable a optimizar en la SPME. Como prueba preliminar, se evaluó la adición de 30% de NaCl (0.54 g) al extracto de pescado.

6.9. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS

50 mg de pescado se transfieren a un vial de vidrio de 8 mL, se adicionan 7 mL de NaOH al 0.1% en agua:acetona 90:10 V/V; la UAE se efectúa a 25 °C durante 3 min. El extracto se ajusta a pH = 3 con ácido fórmico concentrado y se filtra a través de una membrana de nylon de 0.45 µm. Un volumen de 5 mL del filtrado se agitan a 1200 rpm y se analizan por SPME a temperatura ambiente (25 °C) durante 60 min. Después de la extracción, la fibra de SPME se expone a los vapores de 100 µL de MTBSTFA a temperatura ambiente (25 °C) durante 30 min. La desorción de los analitos se efectúa exponiendo la fibra de SPME en el inyector del GC-MS a 250 °C durante 10 min.

6.10. Desarrollo del método para análisis de agua por SBSE-GC-MS

6.10.1. Acondicionamiento de la barra de SBSE

Para la extracción por SBSE se utilizaron barras magnéticas de etilenglicol-polidimetilsiloxano (EG-PDMS) de 1 cm con 32 μ L de fase extractora.

La barra de agitación se acondicionó con 2 mL de acetonitrilo (AcCN) y 2 mL de agua desionizada. En cada disolvente, la barra se agitó a 1000 rpm durante 2 h.

Después de cada análisis, la barra se re-acondicionó con 1 mL de metanol durante 5 min a 1000 rpm.

El acondicionamiento de la barra magnética se efectuó conforme al procedimiento reportado por Ochiai y colaboradores (142).

6.10.2. Optimización de la SBSE en agua

6.10.2.1. Diseño experimental 2^3 para la SBSE en agua

La extracción por SBSE en agua se optimizó estudiando el efecto del tiempo de extracción (30 y 45 min), temperatura de extracción (25 y 40 °C) y porcentaje de NaCl (0 y 30 % sobre saturación del agua). El efecto de las variables se evaluó con el diseño experimental lineal 2^3 que se muestra en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Diseño experimental 2^3 para optimizar la SBSE en agua.

Experimento	Tiempo de extracción (min)	Temperatura (°C)	Porcentaje de NaCl (%)
1	30	25	0
2	45	25	0
3	30	40	0
4	45	40	0
5	30	25	30
6	45	25	30
7	30	40	30
8	45	40	30

6.10.3. Disolvente de desorción para la SBSE

La desorción líquida se efectuó con un volumen reducido de disolvente orgánico (1 mL). Para ello, se evaluó la eficiencia de desorción de tres disolventes orgánicos y sus mezclas. Los disolventes evaluados fueron:

- Acetonitrilo
- Metanol
- Diclorometano
- Acetonitrilo/Metanol (1:1 V/V)
- Metanol/Diclorometano (1:1 V/V)
- Acetonitrilo/Diclorometano (1:1 V/V)
- Acetonitrilo/Metanol/Diclorometano (1:1:1 V/V)

Cada eluato de desorción se evaporó a sequedad con flujo de nitrógeno y al residuo se le adicionó 100 μL de MTBSTFA. La reacción se efectúa a 80 °C durante 30 min y del producto de reacción se inyectó 1 μL al GC-MS.

6.10.4. Tiempo de desorción con disolvente orgánico

El tiempo de desorción con disolvente orgánico se evaluó a 5, 15 y 30 min. La desorción de los analitos se efectuó con 1 mL de la mezcla ternaria acetonitrilo/metanol/diclorometano (1:1:1 V/V) a temperatura ambiente (25 °C) y 1000 rpm.

6.11. Análisis de agua por SBSE-GC-MS

Un volumen de 5 mL de agua se ajustan a $\text{pH} = 3$ con ácido fórmico concentrado, se adicionan 0.54 g de NaCl y la mezcla se agita a 1200 rpm; la SBSE se efectúa a 25 °C durante 45 min.

Los analitos extraídos se desorben de la barra magnética con 1 mL de acetonitrilo:metanol:diclorometano 1:1:1 V/V a 1000 rpm durante 15 min. El eluato se evapora a sequedad con flujo de nitrógeno y se adicionan 100 μL de MTBSTFA. La derivatización se efectúa a 80 °C durante 30 min y del producto de reacción se inyecta 1 μL al GC-MS.

6.12. Desarrollo del método para análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS

6.12.1. Extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento

Las condiciones experimentales de la UAE en sedimento se implementaron a partir del método para análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS (**apartado 6.7**).

Las condiciones experimentales fueron: 100 mg de sedimento, 7 mL de ácido fórmico al 0.1% en agua con 1% de metanol (7 mL), temperatura de extracción 40 °C, amplitud del ultrasonido 60% y el tiempo de extracción 3 min.

6.13. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS

100 mg de sedimento se transfieren a un vial de vidrio de 8 mL, se adicionan 7 mL de ácido fórmico al 0.1% en agua con 1% de metanol y la mezcla se calienta a 40 °C; la UAE se efectúa al 60% de amplitud durante 3 min. El extracto se filtra a través de una membrana de nylon de 0.45 µm.

A un volumen de 5 mL del filtrado se le adicionan 0.54 g de NaCl (30%), se agita a 1200 rpm y se analizan por SBSE a temperatura ambiente (25 °C) durante 45 min. Después de la extracción, los analitos se desorben de la barra magnética mediante agitación con 1 mL de acetonitrilo:metanol:diclorometano 1:1:1 V/V durante 15 min a 1000 rpm. El eluato se transfiere a un vial de reacción y se evapora a sequedad con flujo de nitrógeno, se adicionan 100 µL de MTBSTFA y la derivatización se efectúa a 80 °C durante 30 min. Del producto de reacción se inyecta 1 µL al GC-MS.

6.14. Desarrollo del método para análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS

Las condiciones experimentales de la UAE en pescado se implementaron a partir del método para análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS (**apartado 6.9**).

Las condiciones experimentales fueron: 50 mg de pescado, 7 mL de NaOH al 0.1% en agua:acetona 90:10 V/V, temperatura de extracción 25 °C, amplitud del ultrasonido 60% y el tiempo de extracción 3 min.

6.15. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS

50 mg de pescado se transfieren a un vial de vidrio de 8 mL, se adicionan 7 mL de NaOH al 0.1% en agua:acetona 90:10 V/V; la UAE se efectúa a 25 °C durante 3 min. El extracto se ajusta a pH = 3 con ácido fórmico concentrado y se filtra a través de una membrana de nylon de 0.45 µm.

5 mL del filtrado se agitan a 1200 rpm y se analizan por SBSE a temperatura ambiente (25 °C) durante 45 min. Después de la extracción, los analitos se desorben de la barra magnética con 1 mL de acetonitrilo:metanol:diclorometano 1:1:1 V/V a 1000 rpm durante 15 min.

El eluato se transfiere a un vial de reacción y se evapora a sequedad con flujo de nitrógeno, se adicionan 100 μL de MTBSTFA y la derivatización se efectúa a 80 °C durante 30 min. Del producto de reacción se inyecta 1 μL al GC-MS.

6.16. Métodos para análisis de agua, sedimento y pescado por SPME y SBSE: Validación

Los métodos desarrollados para el análisis de agua, sedimento y pescado se validaron evaluando la precisión, linealidad, exactitud, límites de detección y límites de cuantificación.

Los límites de detección y cuantificación se calcularon experimentalmente, disminuyendo progresivamente la concentración de PPCPs, de tal manera que la respuesta analítica correspondiera a 3 y 10 veces la relación señal-ruido de la línea base. Con base en lo anterior, se eligió el intervalo lineal de concentración para cada analito y matriz estudiada.

De igual forma, el sistema cromatográfico se validó para la identificación y cuantificación de los PPCPs.

6.17. Sitio de muestreo

6.17.1. Valle del Mezquital (73, 143, 144)

6.17.1.1. Localización

Hidalgo es un estado mexicano con clima templado, seco-cálido, temperatura media anual de 10 a 24 °C y precipitación anual de 400-2000 mm. Por ello, las condiciones climatológicas de Hidalgo favorecen el desarrollo de una gran variedad de especies vegetales y cultivos agrícolas.

El Valle del Mezquital es una región geográfica del estado de Hidalgo, la cual está delimitada al norte por la Sierra Gorda y la Sierra Baja; al sur por el Valle de México; al este por la zona sureste de Hidalgo; al oeste por el Estado de México y Querétaro. La delimitación geográfica se basa principalmente en aspectos socioculturales, ecológicos e hidrológicos.

El Valle del Mezquital está integrado por 28 municipios, los cuales se muestran en el **Cuadro 7**.

Cuadro 7. Municipios del Valle del Mezquital.

No.	Municipio	No.	Municipio
1	Actopan	15	Nopala de Villagrán
2	Ajacuba	16	Progreso de Obregón
3	Alfajayucan	17	San Agustín Tlaxiaca
4	El Arenal	18	San Salvador
5	Atitalaquia	19	Santiago de Anaya
6	Atotonilco de Tula	20	Tasquillo*
7	Cardonal	21	Tecoautla
8	Chapantongo	22	Tepeji del Río de Ocampo
9	Chilcuautla	23	Tepetitlán
10	Francisco I. Madero	24	Tetepango
11	Huichapan	25	Tezontepec de Aldama
12	Ixmiquilpan*	26	Tlahuelilpan
13	Mixquiahuala de Juárez*	27	Tlaxcoapan
14	Nicolás Flores	28	Tula de Allende*

*Sitios de muestreo

6.17.1.2. Geografía descriptiva

El Valle del Mezquital es una provincia fisiográfica del Eje Neo volcánico y la Sierra Madre Oriental, cuyas características geológicas y tectónicas incluye fallas con actividad sísmica baja.

El valle se divide en subregiones que se clasifican con base en las características del suelo. La subregión noreste está conformada la Sierra Gorda, Sierra de Pachuca y Alto Mezquital.

La subregión centro y sur está conformada por valles, llanos, algunas montañas de origen volcánico y yacimientos basálticos. Algunas zonas de las subregiones central y sur han sido destinadas a la agricultura y pastoreo, donde los suelos han sufrido modificaciones por la introducción de canales de riego para uso agrícola e industrial.

6.17.1.3. Flora y fauna

La zona sur del Valle del Mezquital está destinada a la actividad agrícola, por lo que la vegetación nativa ha sido alterada a lo largo del tiempo. Entre las especies vegetales más comunes se encuentran: el matorral desértico aluvial, matorral crasicaule, arbusto de la creosota, la hoja ancha, mezquite, yucca, pirul, garambullo, nopal cardón, cactus columnar, roble y algunos ejemplares de acacia y almez.

Entre las especies florales sobresalientes, destacan varias especies de orquídeas. Las especies arbóreas predominantes son: el encino, el ocote y el sabino.

En el Valle del Mezquital, se han registrado alrededor de 107 especies de mamíferos, de las cuales muchas son consideradas endémicas en México. Entre dichas especies se encuentra el coyote, cacomixtle norteño, murciélago trompudo, cacomixtle, la liebre cola negra, rata canguro de Phillip y musaraña de Saussure.

Las especies de reptiles y anfibios comprenden 37 ejemplares, entre los cuales destacan las lagartijas y las serpientes.

Con respecto a las aves, se han registrado alrededor de 170 especies, de las cuales poco más del 50% son de residencia permanente.

6.17.1.4. Hidrografía

El Valle del Mezquital forma parte de la región hidrológica Tula-Moctezuma-Pánuco, donde el Río Tula es de importancia fundamental.

Las presas de la región son: Debodhe, Vicente Aguirre y Javier Rojo Gómez, Endhó, La Requena, Francisco y Madero, Nopala y el Durazno.

Los acuíferos importantes de la región son: Actopan-Santiago de Anaya, Ajacuba, Amajac, Chapantongo-Alfajayucan, El Astillero, Ixmiquilpan, Huichapan-Tecoautla, Tepeji del Río y Valle del Mezquital.

Otras fuentes de agua son los manantiales y aguas termales como: Las Lumbreras, Ajacuba, Humedades y Dios Padre, Cantera de Tula, El Tephe, Tzindejéh, Taxidhó, Gandho, Vidó, Vito, Uxdejhé, La Cañada, Pathecito y Chichimequillas.

6.17.1.4.1. Río Tula

El agua residual de la Ciudad de México es enviada al Valle de Tula por tres vías principales: Emisor Central, Emisor Poniente y Gran Canal. El desagüe del drenaje profundo de la Ciudad de México se envía al Río Tula, donde se vierten los desechos de más de veinticuatro millones de personas.

El Río Tula se origina en el cerro de la Bufa (Estado de México) a una altura de 3800 m sobre el nivel del mar. Desde su origen, el río se denomina Tepeji y adquiere el nombre de Tula rumbo a la presa Zimapán. El río confluye con el río San Juan (Querétaro), adquiriendo el nombre de Moctezuma. Posteriormente, confluye con el río Tampaón (San Luis Potosí), donde se nombra Río Pánuco y cuyo caudal es de $500 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. El río desemboca en el Golfo de México cerca de Tampico (Tamaulipas), con un escurrimiento anual de 19673 hm^3 .

6.17.1.5. Contaminación ambiental

La contaminación de los recursos hídricos se ha convertido en una práctica habitual, debido a las zonas de alta densidad poblacional e industrial. Los ríos con mayor impacto por contaminación son: Tula, Tepeji, Salado, El Salto y Alfajayucan.

El Río Tula es el río más contaminado de México, ya que recibe las aguas residuales de la Zona Metropolitana del Valle de México. La carga contaminante del Río Tula está compuesta principalmente por material orgánico. Derivado del uso de agua residual para la agrucultura, se ha propiciado un incremento en la deforestación para ampliar las zonas agrícolas.

Otras formas de contaminación son las plagas lepidópteras que afectan a los bosques de pino y encino.

6.17.2. Xochimilco (145-146)

6.17.2.1. Localización

Xochimilco es una región geográfica delegacional de la Ciudad de México que se localiza al sureste de la capital mexicana.

La importancia de Xochimilco es que contribuye con una parte importante de la reserva natural de la ciudad y alberga la zona de chinampas, las cuales conservan el patrimonio tecnológico agrícola de la cultura mesoamericana.

Xochimilco está integrado por 14 pueblos originarios y 17 barrios populares, los cuales se muestran en el **Cuadro 8**.

Cuadro 8. Pueblos y barrios de Xochimilco.

Xochimilco	
Pueblos	Barrios
San Andrés Ahuayucan	Belem (Acampa)
San Francisco Tlalnepantla	El Rosario (Nepantlatlaca)
San Gregorio Atlapulco	La Asunción (Colhuacatzingo)
San Lorenzo Atemoaya	La Concepción Tlacoapa
San Lucas Xochimanca	La Guadalupita (Xochitenco)
San Luis Tlaxialtemalco	La Santísima Trinidad (Chililico)
San Mateo Xalpa	Nuestra Señora de los Dolores (Xaltocan)
Santa Cecilia Tepetlapa	San Antonio (Molotlán)
Santa Cruz Acalpíxca	San Cristóbal (Xal-Ian o Xallan)
Santa Cruz Xochitepec	San Diego (Tlacoxtlan)
Santa María Nativitas Zacapa	San Esteban (Tecpanpan)
Santa María Tepepan	San Francisco Caltongo
Santiago Tepalcatlalpan	San Juan (Tlalteuhchi)
Santiago Tulyehualco	San Lorenzo (Tlaltecpan)
	San Marcos (Tlatepetlapan)
	San Pedro (Tlanáhuac)
	Santa Crucita (Analco)

6.17.2.2. Geografía descriptiva

Xochimilco es una delegación con clima templado, subhúmedo, con lluvias en verano y otoño, cuya temperatura media anual es de 15.9 °C y precipitación anual de 200-900 mm.

La superficie de Xochimilco abarca 122 km², cubriendo aproximadamente el 8% del territorio de la Ciudad de México.

Xochimilco se encuentra a 2240 m sobre el nivel del mar y está delimitado al norte con la zona urbana de las delegaciones Coyoacán e Iztapalapa; al sur con Milpa Alta y Tlalpan; al oriente con Tláhuac; y al poniente con la zona montañosa de Tlalpan. La zona centro de Xochimilco la conforma la zona lacustre y la zona de chinampas.

El límite natural entre Xochimilco, Milpa Alta y Tláhuac está constituido por los cerros de Xochitepec, Tzompol, Tlacuallelli y Teuhtli.

Xochimilco forma parte de la subcuenca de Lago de Texcoco-Zumpango del sistema Tula-Moctezuma-Pánuco.

El Lago original era alimentado por los manantiales de los cerros aledaños, sin embargo, la sobre explotación de agua provocó el agotamiento de los recursos hídricos. Desde los años 1950, los canales de Xochimilco se recargaron con agua residual o agua tratada de algunas plantas de tratamiento de aguas.

6.17.2.3. Flora y fauna

La construcción de chinampas, ha otorgado a Xochimilco un paisaje que conserva una parte del patrimonio de agrícola prehispánico.

Los árboles característicos de la zona son: el ahuejote, pinos, acotes, madroños, cedros, ahuehuetes, tepozanes, capulines, eucaliptos, alcanfores, jacarillas, pirules y chicalotes.

El cultivo de especies vegetales como el lirio acuático y algunos peces como la carpa y la tilapia, provocó que algunas de las especies nativas disminuyeran su población de manera importante.

Algunas de las especies animales nativas que se han aprovechado para el consumo humano son: el axayácatl, los acociles, la rana montezuma y el axolote.

En cuanto a las especies de aves, se han descrito 140 especies de aves, de las cuales algunas son migratorias.

6.17.2.4. Contaminación

Desde los años 1950, Xochimilco ha tenido un alto impacto por contaminación y urbanización. Así mismo, se ha favorecido un desequilibrio ecológico debido a la introducción de especies ajenas al ecosistema del lago, ocasionando la notable disminución de las especies nativas.

6.18. Análisis de agua y sedimento del Río Tula (año 2015)

El muestreo de agua y sedimento en el Río Tula se realizó en colaboración con el grupo de investigación de la Dra. María Aurora Armienta Hernández del Instituto de Geofísica, UNAM. Los muestreos se realizaron en dos temporadas anuales (lluvias y secas).

6.18.1. Muestreo de agua y sedimento

El muestreo se realizó entre la presas Endhó y Zimapán, al noroeste de Tula de Allende, Hidalgo (20°3'23"N, 99°20'31"O). La distancia entre los límites del muestreo (Tasquillo y Mixquiahuala de Juárez) fue de 36.5 km. Se realizó un muestreo secuencial de 5 puntos durante las temporadas de lluvias y secas, obteniendo 5 muestras de agua por cada temporada. Las muestras de agua y sedimento se etiquetaron con la secuencia WH1-WH5 y SH1-SH5 respectivamente.

Las muestras de agua y sedimento se recolectaron en las poblaciones de Tasquillo, Ixmiquilpan, Tlacotalpilco y Mixquiahuala de Juárez en el estado de Hidalgo.

El muestreo de sedimento se realizó únicamente durante la temporada seca, ya que la creciente del río durante la temporada de lluvias complicó el muestreo en las zonas estudiadas. Los sitios del muestreo y sus coordenadas se enlistan en el **Cuadro 9**. El mapa del muestreo se observa en la **Fig. 2**.

Las muestras de agua se analizaron por SPME-GC-MS (n=3) y el sedimento se analizó por UAE-SPME-GC-MS (n=3); para cada muestra se calculó la concentración promedio con su desviación estándar.

Cuadro 9. Muestreo de agua y sedimento en el Río Tula

Sitio	Coordenadas	Agua				Sedimento	
		Muestra	Volumen	pH	Ω	Muestra	Cantidad
Tasquillo	20°33'38.2"N, 99°18'34.2"O	WH1		7.8	1777	SH1	
Ixmiquilpan	20°29'35.4"N, 99°13'18.3"O	WH2		7.7	1576	SH2	
Ixmiquilpan	20°28'46.2"N, 99°13'25.2"O	WH3	2 L c/u	7.7	1578	SH3	0.5 kg c/u
Tlacotalpilco	20°22'27.4"N, 99°13'23.6"O	WH4		7.8	1568	SH4	
Mixquiahuala de Juárez	20°14'40.5"N, 99°12'19.4"O	WH5		7.7	1565	SH5	

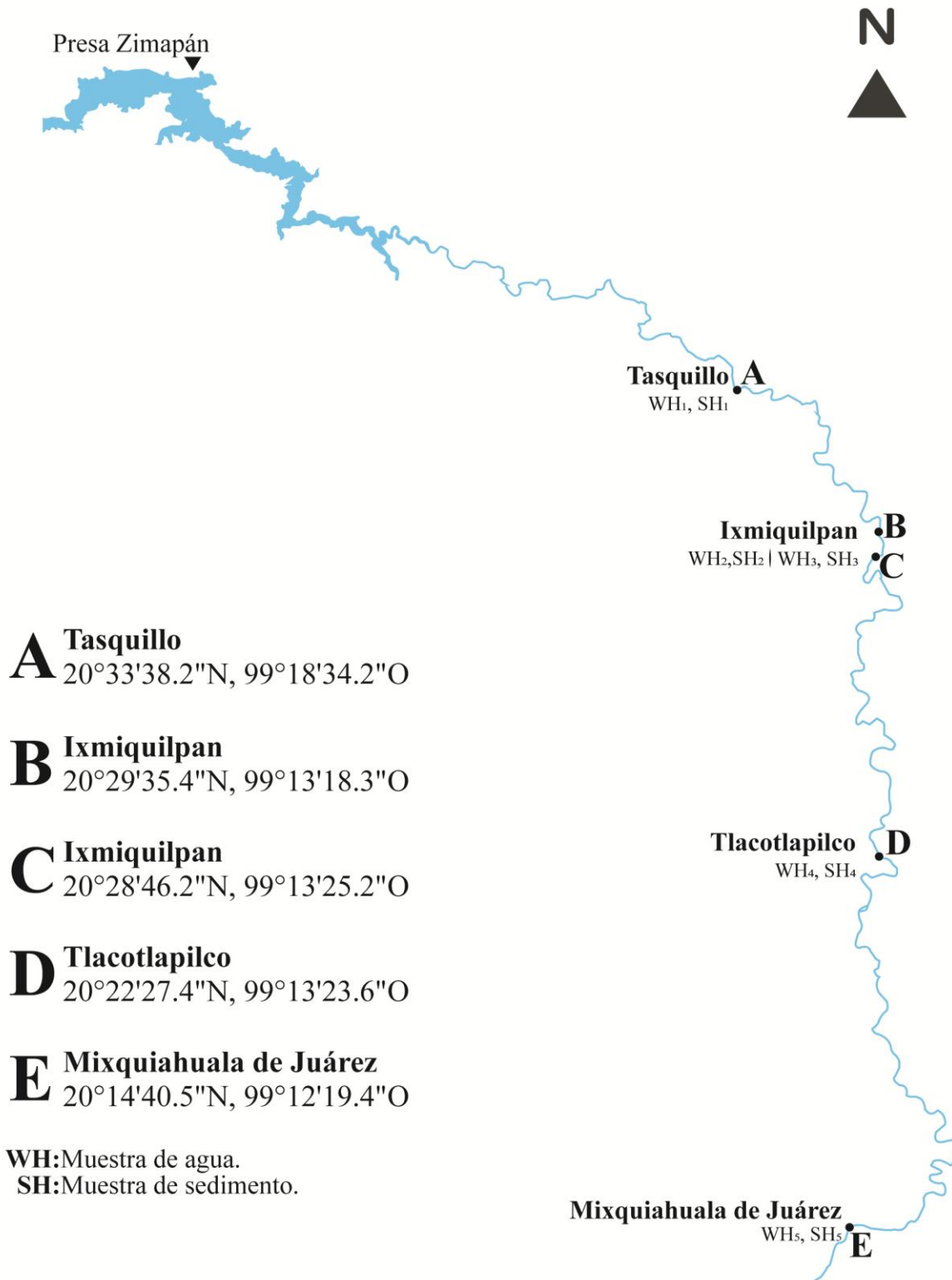


Figura 2. Mapa del muestreo en el Río Tula (año 2015).

6.19. Análisis de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula (año 2015)

El muestreo de agua en los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula estuvo a cargo de la Dra. María Aurora Armienta Hernández del Instituto de Geofísica, UNAM.

Las muestras de agua se recolectaron en la confluencia de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula en la Ciudad de Culiacán, Sinaloa (24°48'00"N 107°23'00"O). Se realizó un muestreo secuencial de 7 puntos (WS1-WS7) durante la temporada seca. Los sitios del muestreo y sus coordenadas se enlistan en el **Cuadro 10**.

Las muestras de agua se analizaron por SPME-GC-MS (n=3) y se calculó la concentración promedio con su desviación estándar.

Cuadro 10. Muestreo de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula.

Sitio	Coordenadas	Agua	
		Muestra	Volumen
Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula	24°49.934'N, 107°24.227'O	WS1	
	24°49.045'N, 107°24.199'O	WS2	
	24°48.796'N, 107°23.755'O	WS3	
	24°49.308'N, 107°22.758'O	WS4	2 L c/u
	24°48.551'N, 107°24.767'O	WS5	
	24°47.848'N, 107°30.462'O	WS6	
	24°48.409'N, 107°31.883'O	WS7	

6.20. Análisis de agua del Río Tula (año 2016)

El muestreo de agua en el Río Tula estuvo a cargo del Dr. Martín López Hernández del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. Las muestras de agua se recolectaron al norte de la Ciudad Tula de Allende, Hidalgo (20°3'23"N, 99°20'31"W). Se realizó un muestreo secuencial de 9 puntos (T1-T9) en un intervalo de 5.7 km.

Las muestras de agua se analizaron por SPME-GC-MS (n=3) y SBSE-GC-MS (n=2); para cada muestra se calculó la concentración promedio con su desviación estándar.

La zona de muestreo y sus coordenadas se enlistan en el **Cuadro 11**.

Cuadro 11. Zona de muestreo en el Río Tula.

Sitio	Coordenadas	Agua	
		Muestra	Volumen
Río Tula	20°06'43.7"N, 99°20'49.4"O 20°03'42.2"N, 99°20'50.4"O	T1	
		T2	
		T3	
		T4	
		T5	0.25 L c/u
		T6	
		T7	
		T8	
		T9	

6.21. Análisis de agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco

El Lago de Xochimilco es un lugar potencialmente contaminado con PPCPs, debido al origen de sus aguas de recarga. Por ello, el muestreo de agua y sedimento se realizó en tres zonas del Barrio de San Juan, Xochimilco. Los sitios del muestreo se eligieron para evaluar la posible influencia de la zona urbana sobre la concentración de los contaminantes determinados.

Las muestras de agua se recolectaron en el Embarcadero Fernando Celada, Canal Barrio de San Juan y la Laguna del Toro. Las muestras de agua y sedimento se etiquetaron con la secuencia WX1-WH3 y SX1-SX3 respectivamente.

Las muestras de pescado se recolectaron por pesca tradicional en el Canal Barrio de San Juan. Los ejemplares de pescado fueron tilapia y carpa, las cuales se etiquetaron como PX1 y PX2.

Las muestras de agua se analizaron por SPME-GC-MS (n=3) y SBSE-GC-MS (n=2). Las muestras de sedimento y pescado se analizaron por UAE-SPME-GC-MS (n=2) y UAE-SBSE-GC-MS (n=2); para cada muestra se calculó la concentración promedio con su desviación estándar.

Los sitios de muestreo y sus coordenadas se enlistan en el **Cuadro 12**. El mapa del muestreo se observa en la **Fig. 3**.

Cuadro 12. Muestreo de agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco.

Sitio	Coordenadas	Agua		Sedimento		Pescado
		Muestra	Volumen	Muestra	Cantidad	Muestra
Embarcadero Fernando Celada	19°15'54.7"N, 99°06'29.1"O	WX1		SX1		-
Canal (Barrio de San Juan)	19°16'11.5"N, 99°06'29.5"O	WX2	2 L c/u	SX2	0.2 kg c/u	PX1, PX2
Laguna del Toro	19°16'21.7"N, 99°06'30.3"O	WX3		SX3		-

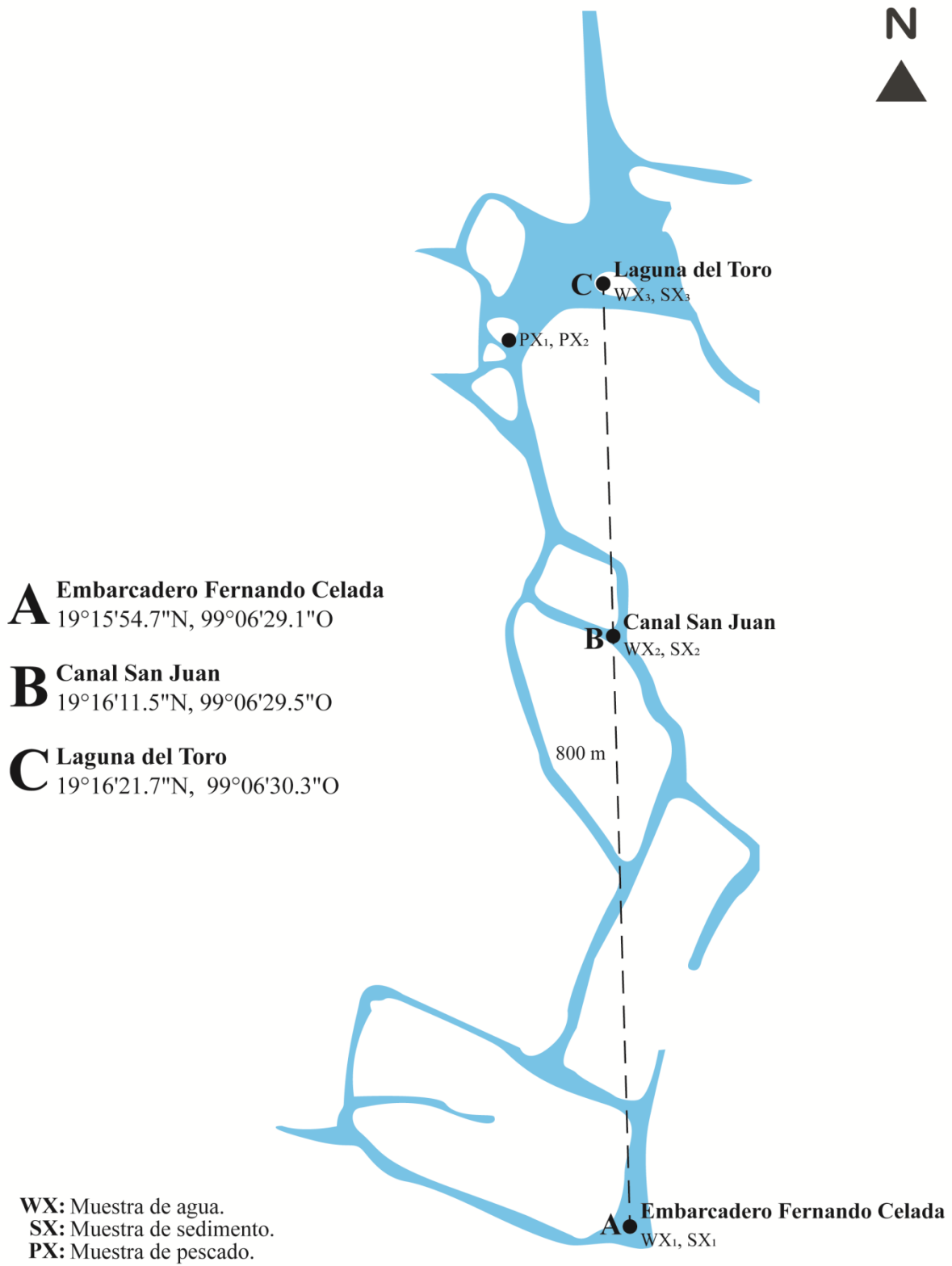


Figura 3. Mapa del muestreo en Xochimilco.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Identificación de los TBDMS-derivados por GC-MS

Los PPCPs estudiados se identificaron por barrido total de iones (SCAN) para obtener los espectros de masas correspondientes. Posteriormente, se seleccionaron dos iones fragmento diagnóstico por cada analito para el análisis por monitoreo selectivo de iones (SIM). La **Fig. 4** muestra el cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de una disolución estándar de los analitos a $100 \mu\text{g L}^{-1}$.

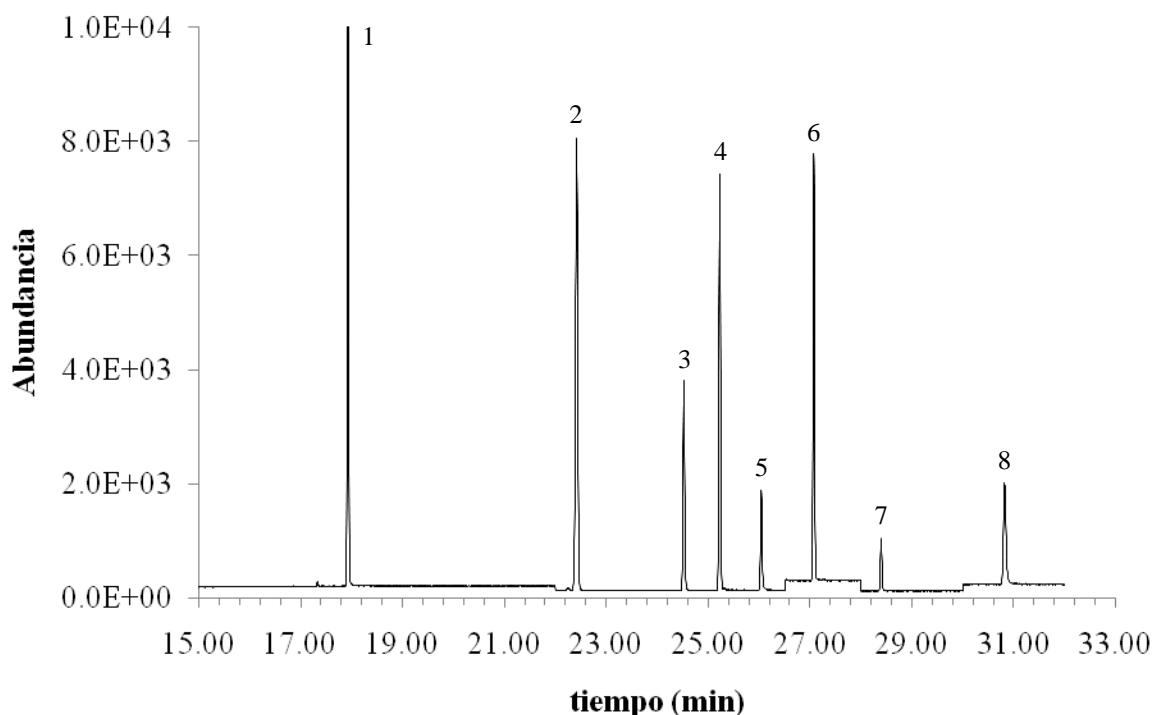


Figura 4. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de la disolución estándar de PPCPs a $100 \mu\text{g L}^{-1}$: (1) ibuprofeno, (2) clorofeno, (3) naproxeno, (4) triclosán, (5) ketoprofeno, (6) diclofenaco, (7) bisfenol A, (8) estrona.

7.1.1. Espectros de masas de los TBDMS-derivados

La **Fig. 5** muestra el espectro de masas del TBDMS-ibuprofeno, cuyo ión molecular se observa con baja abundancia a m/z 320. En el espectro se observó el ión fragmento de m/z 319, que representa la pérdida de un hidrógeno ($[M - 1]^+$). El ión fragmento de m/z 305 corresponde a la pérdida de un metilo ($[M - 15]^+$). El pico base fue m/z 263 y representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$) del derivado TBDMS. El fragmento de m/z 161 representa la pérdida de la cadena TBDMS y CO_2 ($[M - 159]^+$). El ion fragmento diagnóstico para el TBDMS-ibuprofeno fue m/z 263.

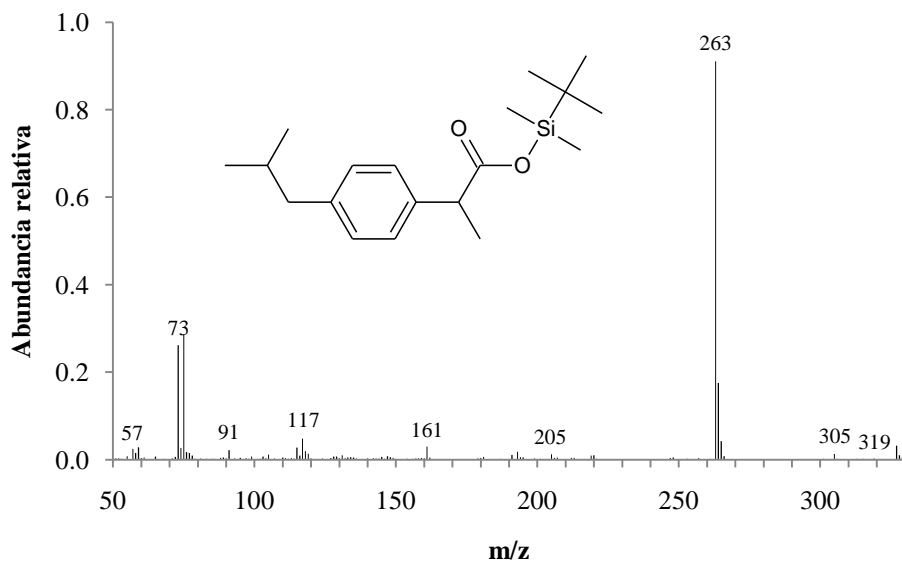


Figura 5. Espectro de masas del TBDMS-ibuprofeno.

La **Fig 6.** muestra el espectro de masas del TBDMS-clorofeno, cuyo ion molecular se observa a m/z 332. El ion fragmento de m/z 275 corresponde al pico base y representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$) con ^{35}Cl y el fragmento de m/z 277 corresponde a la pérdida de tert-butilo con ^{37}Cl . La abundancia de los iones fragmento m/z 275 y 277 tiene una proporción 3:1, que corresponde a la abundancia de 75.5 y 24.5% de los isótopos ^{35}Cl y ^{37}Cl respectivamente. Dicha proporción también se observó en el ion molecular y el fragmento $[M + 2]^+$ (m/z 334). El fragmento de m/z 91 evidencia la formación del catión tropilio, a partir de la ruptura bencílica. Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-clorofeno fueron los picos de m/z 275 y 332.

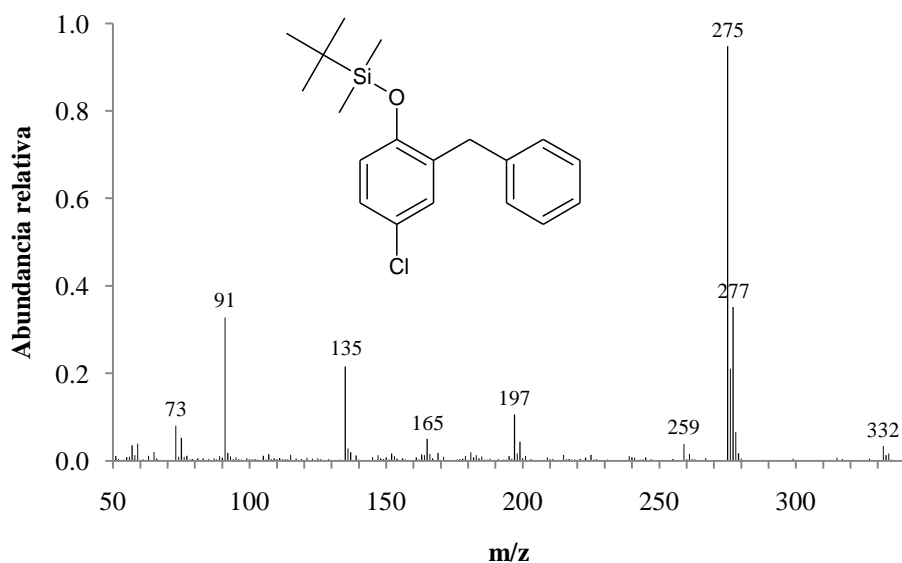


Figura 6. Espectro de masas del TBDMS-clorofeno.

La **Fig. 7** muestra el espectro de masas del TBDMS-naproxeno, cuyo ión molecular se observa a m/z 344. El ión fragmento de m/z 329 representa la pérdida de un metilo ($[M - 15]^+$) del derivado TBDMS. El ión fragmento de m/z 287 corresponde al pico base y representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$). El fragmento de m/z 185 representa la pérdida $[M - 159]^+$ debida a la ruptura benfílica promovida por el derivado naftalénico y que también corresponde al enlace α al grupo carbonilo del éster. El fragmento de m/z 115 representa la pérdida de la cadena TBDMS. Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-naproxeno fueron los valores de m/z 287 y 344.

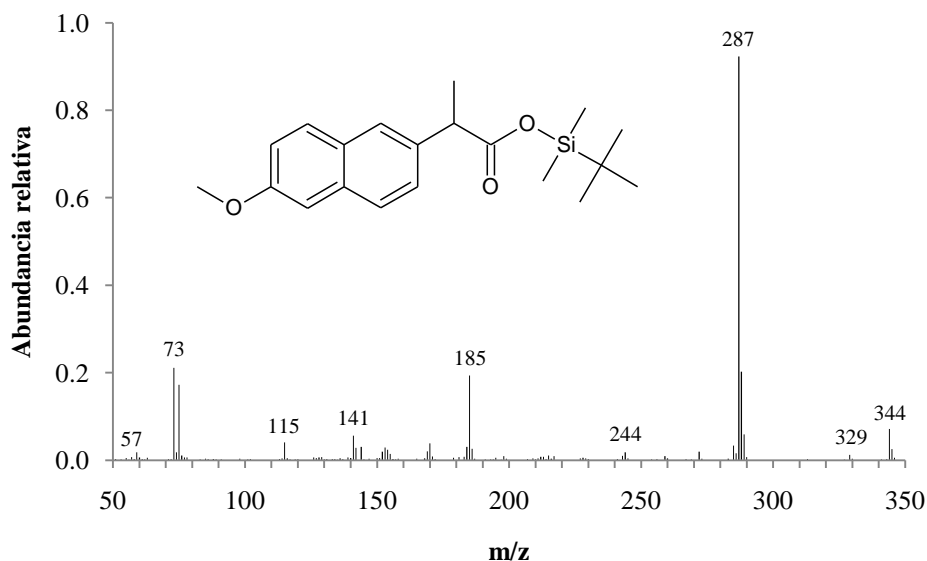


Figura 7. Espectro de masas del TBDMS-naproxeno.

La **Fig. 8** muestra el espectro de masas del derivado TBDMS-triclosán, cuyo ión molecular se observa a un valor de m/z 402. El ión fragmento de m/z 345 corresponde al pico base y representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$), con un conjunto isotópico que confirma la presencia de tres átomos de cloro (^{35}Cl) en su estructura, con las contribuciones isotópicas para su isótopo pesado (^{37}Cl) en una proporción de 27:27:9:1 para el ($[M - 57]^+$), ($[M - 57 + 2]^+$), ($[M - 57 + 4]^+$) y ($[M - 57 + 6]^+$). Por ello, la proporción de los fragmentos de m/z 345, 347, 349 y 351 representa 100, 100, 30 y 3% de la abundancia relativa. El ión fragmento de m/z 310 ($[M - 92]^+$), representa la pérdida del tert-butilo y un cloro. El fragmento de m/z 200 representa la pérdida $[M - 202]^+$ ($[\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2\text{ClSi}]^+$). Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-triclosán fueron los valores de m/z 200 y 345.

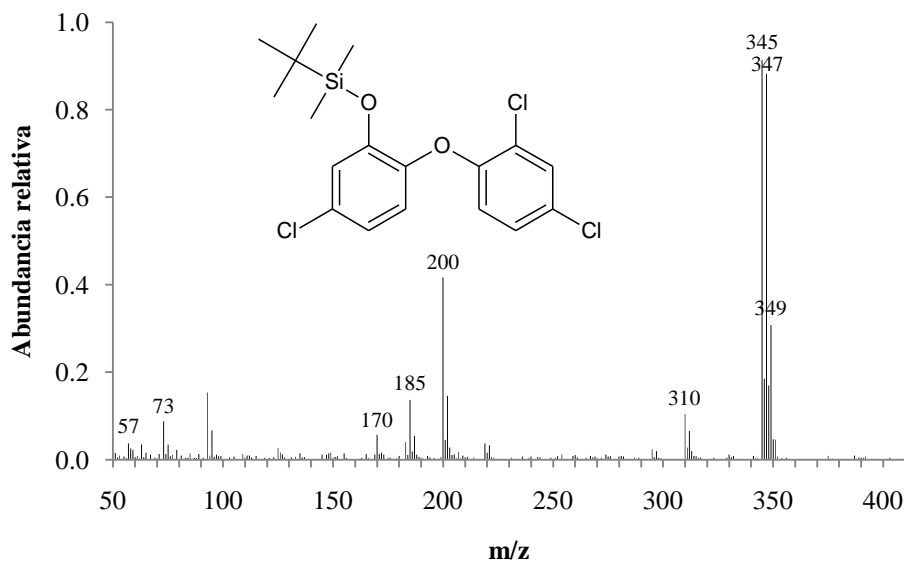


Figura 8. Espectro de masas del TBDMS-triclosán.

La **Fig. 9** muestra el espectro de masas del TBDMS-ketoprofeno, cuyo ión molecular no se detectó a m/z 368. El ión fragmento de m/z 353 ($[M - 15]^+$), representa la pérdida de un metilo del derivado TBDMS. El fragmento de m/z 311 corresponde al pico base y representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$). El ión fragmento de m/z 295 corresponde a la pérdida $[M - 73]^+$ del trimetilsilil ($[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]^+$). Los iones fragmento de m/z 283 y 267 corresponden a la pérdida de una molécula neutra de CO (28 uma) característica de las benzofenonas a partir de los fragmentos de m/z 311 y 295, respectivamente. Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-ketoprofeno fueron los valores de m/z 295 y 311.

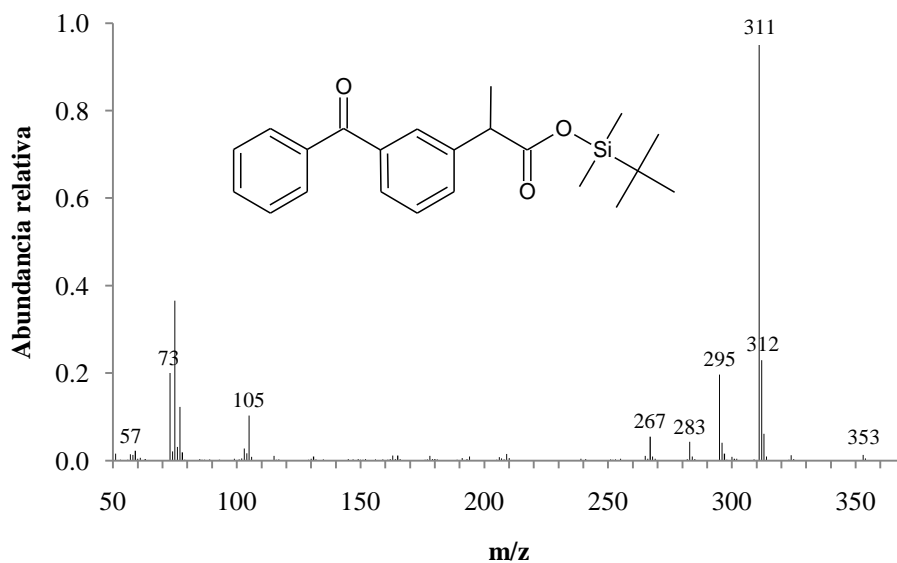


Figura 9. Espectro de masas del TBDMS-ketoprofeno.

La **Fig. 10** muestra el espectro de masas del TBDMS-diclofenaco, cuyo ión molecular se observa a m/z 409. El pico base corresponde al fragmento de m/z 352 conteniendo dos átomos de cloro y que representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$); el fragmento de m/z 354 corresponde a la contribución del isótopo ^{37}Cl en el pico $[M - 57 + 2]^+$. Por ello, la proporción de los fragmentos de m/z 352, 354 y 356 es de 9:6:1. Dicha relación isotópica puede observarse en los iones de m/z 409, 411 y 413, ya que el compuesto posee dos cloros en su estructura. El fragmento de m/z 214 representa la pérdida $[M - 195]^+$ y corresponde a la eliminación de la cadena TBDMS, CO_2 y un cloro. Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-diclofenaco fueron los valores de m/z 352 y 409.

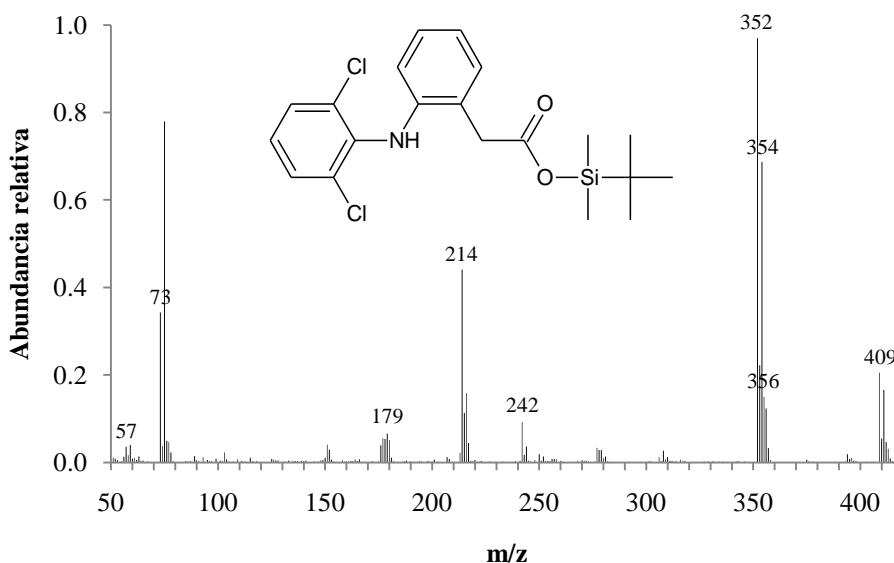


Figura 10. Espectro de masas del TBDMS-diclofenaco.

La **Fig. 11** muestra el espectro de masas del Bis(TBDMS)-bisfenol A, cuyo ión molecular se observa a m/z 456. El pico base corresponde al fragmento de m/z 441 y que representa la pérdida de un metilo ($[M - 15]^+$). El fragmento de m/z 249 representa la pérdida $[M - 207]^+$ y corresponde a la ruptura bencílica del enlace entre el carbono cuaternario y el anillo aromático; el ión fragmento de m/z 207 también se observó en el espectro. Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-bisfenol A fueron los valores de m/z de 441 y 456.

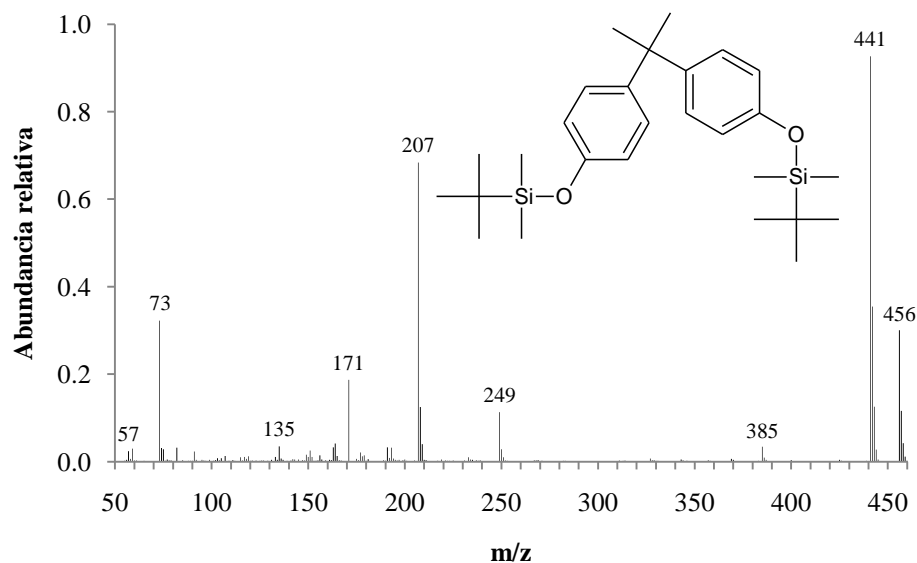


Figura 11. Espectro de masas del Bis(TBDMS)-bisfenol A.

La **Fig. 12** muestra el espectro de masas del derivado TBDMS-estrona, cuyo ión molecular se observa a m/z 384. El ión fragmento de m/z 327 corresponde al pico base y representa la pérdida del tert-butilo ($[M - 57]^+$). El ión fragmento de m/z 163 representa la pérdida $[M - 57 - 164]^+$ y corresponde al fragmento $[C_9H_{11}OSi]^+$. Los iones fragmento diagnóstico para el TBDMS-estrona fueron los valores de m/z 327 y 384.

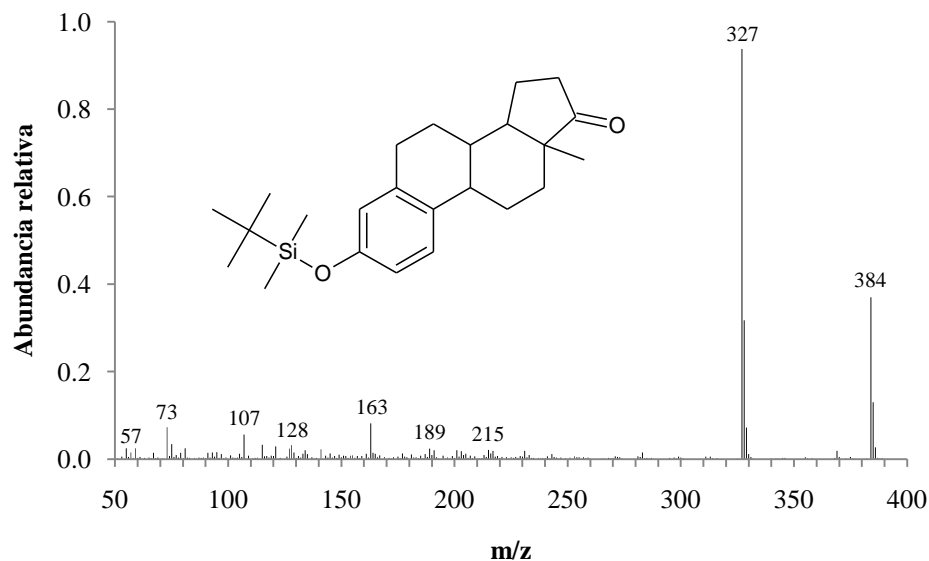


Figura 12. Espectro de masas del TBDMS-estrona.

7.2. Método para análisis de agua por SPME-GC-MS

7.2.1. Optimización de la SPME en agua

7.2.1.1. Diseño experimental 2³ para la SPME en agua

La SPME en agua se optimizó con un diseño experimental lineal 2³. Los resultados mostraron que la variación del tiempo de extracción, temperatura de extracción y el porcentaje de NaCl tuvo un efecto significativo únicamente en la extracción de ibuprofeno, naproxeno y triclosán. La extracción de estos analitos, fue significativamente mayor al incrementarse el tiempo de extracción a 60 min. Adicionalmente, la extracción de ibuprofeno y naproxeno aumentó significativamente al incrementar el porcentaje de NaCl a 60%.

El efecto relativo de las variables estudiadas para la SPME en agua se muestran en el **Cuadro 13** y el efecto estandarizado se muestra en la **Fig. 13**.

Cuadro 13. Efecto relativo de las variables estudiadas para la SPME en agua

Compuesto	Efecto relativo						Significativos p, 0.05
	A	B	C	AB	AC	BC	
Ibuprofeno	+	-	+	-	+	-	A, B, C, AB, AC, BC
Clorofeno	+	-	-	-	+	-	*
Naproxeno	+	-	+	-	+	-	A, C
Triclosán	+	-	-	-	+	-	A
Ketoprofeno	+	+	+	+	+	+	*
Diclofenaco	+	+	-	+	+	+	*
Bisfenol A	+	-	+	+	+	-	*
Estrona	+	+	+	+	+	-	*

A: Tiempo de extracción

B: Temperatura de extracción

C: Porcentaje de NaCl

El diseño experimental 2³ demostró que el tiempo de extracción interacciona de manera positiva con el porcentaje de NaCl, incrementando la respuesta de los analitos. Por esta razón, se trabajó a mayor tiempo de extracción y porcentaje de NaCl.

El impacto de respuesta analítica se evaluó de manera equivalente para todos los analitos.

7.2.1.2. Caso del ibuprofeno

La extracción de ibuprofeno fue significativamente mayor al incrementarse el tiempo de extracción y el porcentaje de NaCl. Sin embargo, la respuesta cromatográfica disminuyó significativamente con el incremento en la temperatura de extracción.

Con base en la teoría de la SPME, el incremento de la temperatura favorece la transferencia de masa hacia la fase extractora, por lo que se esperaba mayor extracción del ibuprofeno a 40 °C. Los resultados demostraron que la temperatura de extracción interacciona de manera negativa con el tiempo de extracción y el porcentaje de NaCl, disminuyendo la respuesta del ibuprofeno. Con base en lo anterior, se trabajó a temperatura ambiente (25°C) para evitar el efecto negativo por la interacción de las variables estudiadas.

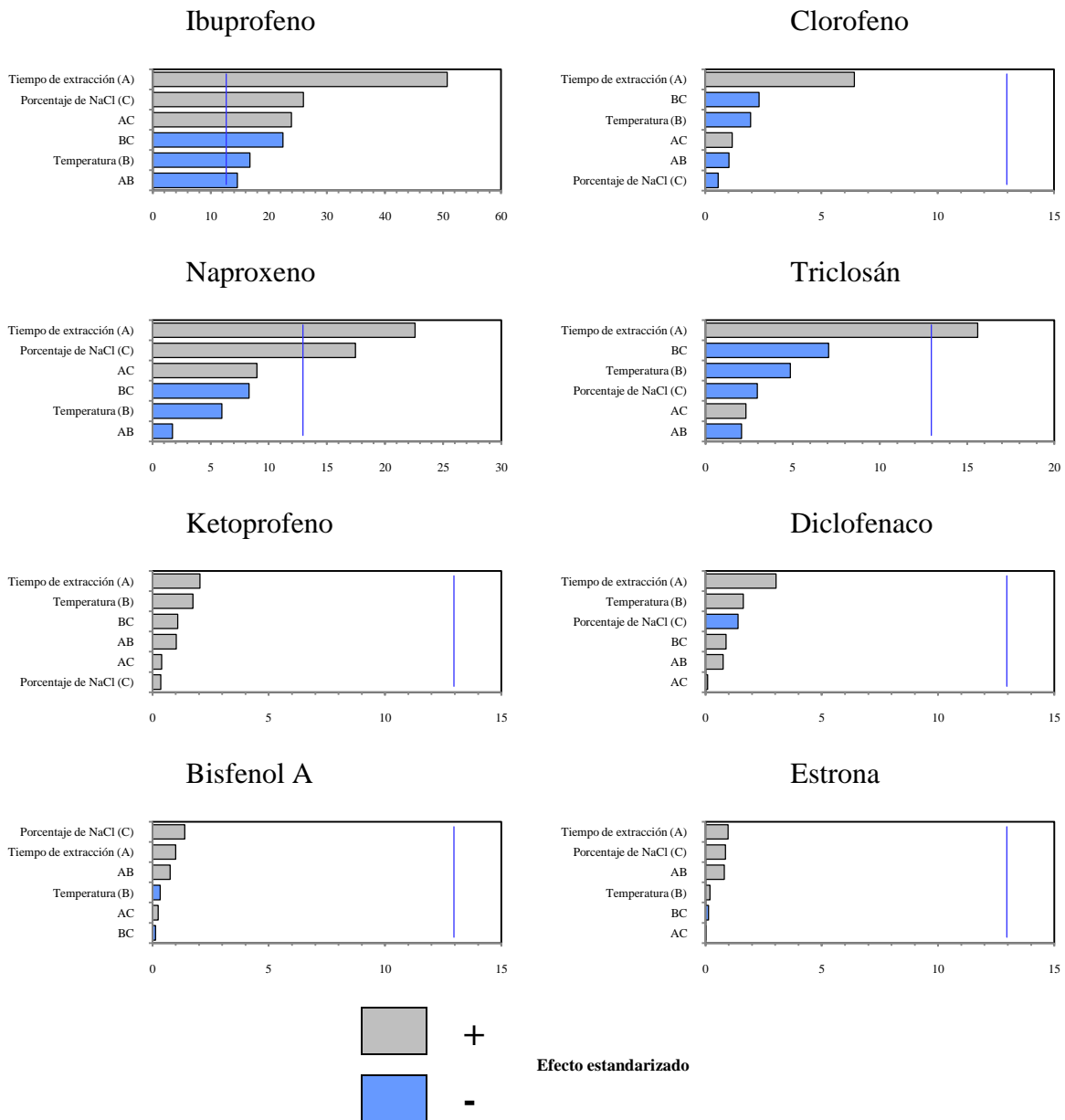


Figura 13. Efecto estandarizado de las variables estudiadas para la SPME en agua.

7.2.2. Superficie de respuesta de la SPME en agua

Después de evaluar el efecto de las variables estudiadas, la respuesta analítica de los PPCPs se correlacionó de manera simultánea, generando una superficie de respuesta múltiple. La **Fig. 14** muestra los contornos de la superficie de respuesta múltiple para la SPME en agua.

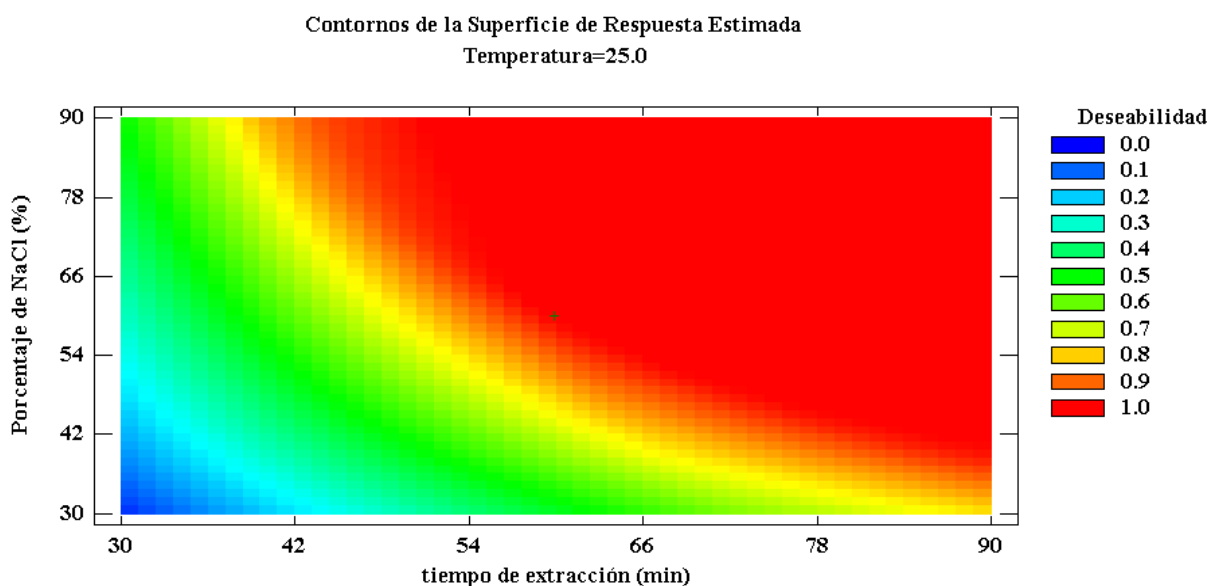


Figura 14. Superficie de respuesta múltiple para la SPME en agua.

Cada contorno de la superficie corresponde a una magnitud de respuesta analítica, la cual se representa en términos de deseabilidad (respuesta analítica deseable). El contorno rojo indica la máxima deseabilidad (1.0), mientras que el contorno azul indica la mínima (0.0). La **Fig. 14** muestra que la máxima deseabilidad se obtuvo al incrementar el tiempo de extracción y el porcentaje de NaCl. Por ello, las condiciones experimentales para la SPME fueron: tiempo de extracción 60 min, temperatura de extracción 25 °C y porcentaje de NaCl del 60%.

En dichas condiciones analíticas, la deseabilidad máxima fue de 0.99 unidades para todos los PPCPs.

7.2.3. Tiempo de extracción y porcentaje de cloruro de sodio (NaCl)

De acuerdo con el diseño experimental 2^3 , la extracción de los analitos aumentó al incrementar el tiempo de extracción (60 min) y el porcentaje de NaCl (60%). El estudio del tiempo de extracción y porcentaje de NaCl no se extendió, ya que el efecto de las variables fue significativo únicamente para tres analitos (ibuprofeno, naproxeno y triclosán).

7.3. Condiciones experimentales óptimas para la SPME en agua

Las condiciones experimentales sugeridas por el programa Statgraphics para la SPME en agua fueron: tiempo de extracción 60 min, temperatura de extracción 35 °C y 60% de NaCl.

7.4. Método para análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS

7.4.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en sedimento

7.4.1.1. Disolvente de extracción

Debido a que los PPCPs han demostrado solubilidad acuosa, se propuso la extracción de los analitos con una disolución acuosa. La eficiencia de extracción se evaluó con: agua desionizada (pH = 7), ácido fórmico al 0.1% en agua (pH = 3) y ácido fórmico al 0.1% con 1% de metanol (pH = 3).

Cada extracto se analizó con el método para análisis de agua por SPME-GC-MS.

La **Fig. 15** muestra las áreas cromatográficas de la UAE en agua desionizada (pH = 7), ácido fórmico al 0.1% (pH = 3) y ácido fórmico al 0.1% con 1% de metanol (pH = 3).

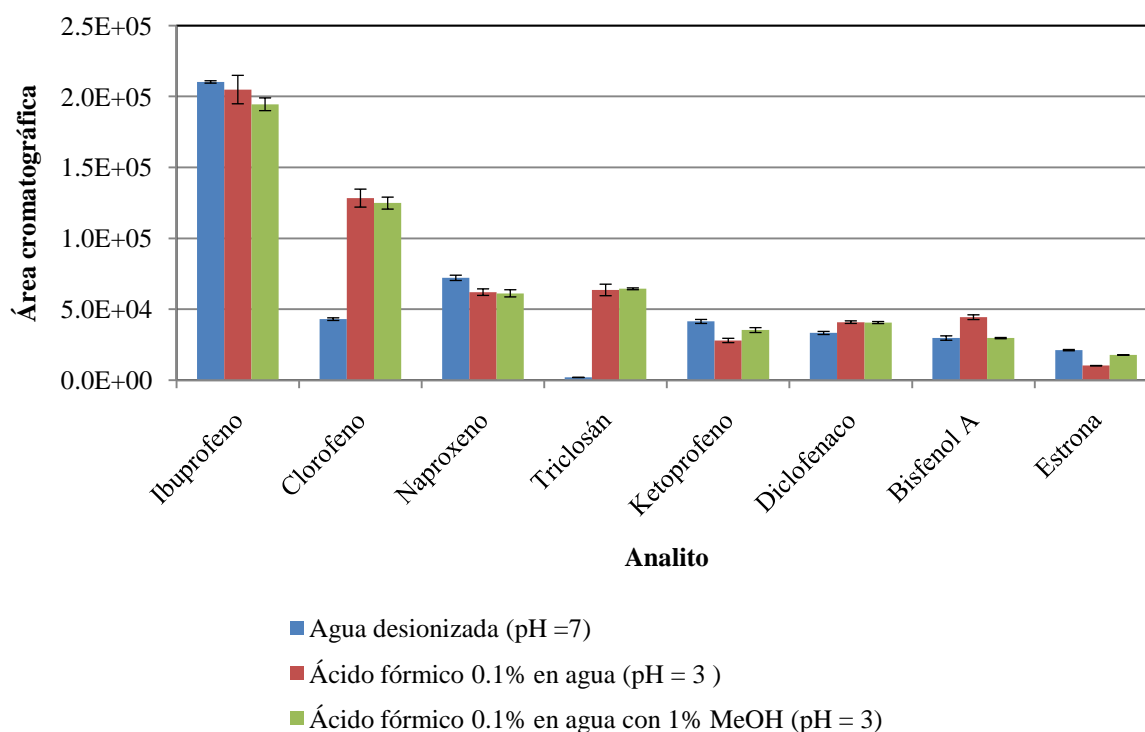


Figura 15. Extracción asistida con ultrasonido (UAE) en agua desionizada (pH = 7), ácido fórmico al 0.1% (pH = 3) y ácido fórmico al 0.1% con 1% de metanol (pH = 3).

La extracción con agua desionizada (pH = 7) permitió remover los PPCPs del sedimento. El ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno se extrajeron en mayor proporción con respecto a los demás analitos. Específicamente, el triclosán se detectó con baja respuesta analítica, lo cual fue congruente con lo esperado, ya que el triclosán tiene baja distribución y solubilidad en agua.

Como una alternativa, se propuso la extracción con ácido fórmico al 0.1% en agua (pH = 3), considerando que los analitos tienen propiedades ácido-base y la extracción a pH = 3 es una condición óptima para la SPME.

La extracción con ácido fórmico incrementó la respuesta analítica del clorofeno, triclosán, diclofenaco y bisfenol A; sin embargo, la respuesta de la estrona disminuyó significativamente, evidenciando una posible disminución de solubilidad acuosa. Con base en el resultado, se adicionó 1% de metanol al ácido fórmico para inducir la solubilidad de la estrona.

La extracción con ácido fórmico y 1% metanol incrementó la respuesta analítica de la estrona, triclosán y ketoprofeno. La respuesta del ibuprofeno, clorofeno, naproxeno y bisfenol A disminuyó ligeramente en comparación con la extracción con agua desionizada y ácido fórmico. El diclofenaco fue el analito que mantuvo una respuesta analítica constante después de adicionar 1% metanol.

Con base en los resultados de la UAE, se eligió como disolvente de extracción ácido fórmico al 0.1% con 1% de metanol, considerando que la mayor extracción de los analitos se alcanzó con esta disolución acuosa. Las áreas cromatográficas de la extracción con disoluciones acuosas (**Fig. 15**) demuestran que es factible extraer a los PPCPs del sedimento utilizando agua y disoluciones acuosas. Adicionalmente, se disminuyó el pH mantener a los analitos en forma molecular, disminuir su solubilidad acuosa y favorecer su transferencia hacia el recubrimiento de la fibra de SPME.

7.4.2. Diseño experimental 2³ para la UAE en sedimento

La UAE en sedimento se optimizó con un diseño experimental lineal 2³; se estudió el efecto del tiempo de extracción (1 y 3 min), temperatura de extracción (25 y 40 °C) y de la sonda (30 y 60 %). Los resultados demostraron que la variación del tiempo de extracción y amplitud de la sonda no tuvo efecto significativo en la extracción de los analitos. Sin embargo, el incremento de temperatura tuvo efecto significativo en la extracción del bisfenol A y la estrona, cuya solubilidad acuosa fue mayor al incrementar la temperatura. El efecto relativo de las variables estudiadas para la UAE en sedimento se muestran en el **Cuadro 14** y el efecto estandarizado se muestra en la **Fig. 16**.

Cuadro 14. Efecto relativo de las variables estudiadas para la UAE en sedimento

Compuesto	Efecto relativo						Significativos p, 0.05
	A	B	C	AB	AC	BC	
Ibuprofeno	+	+	+	+	+	+	*
Clorofeno	-	+	-	+	-	-	*
Naproxeno	+	+	+	-	+	+	*
Triclosán	-	+	+	+	-	+	*
Ketoprofeno	+	+	+	-	+	+	*
Diclofenaco	+	+	+	-	+	+	*
Bisfenol A	+	+	+	+	+	+	B
Estrona	+	+	+	+	-	+	B

A: Tiempo de extracción

B: Temperatura de extracción

C: Amplitud de la sonda

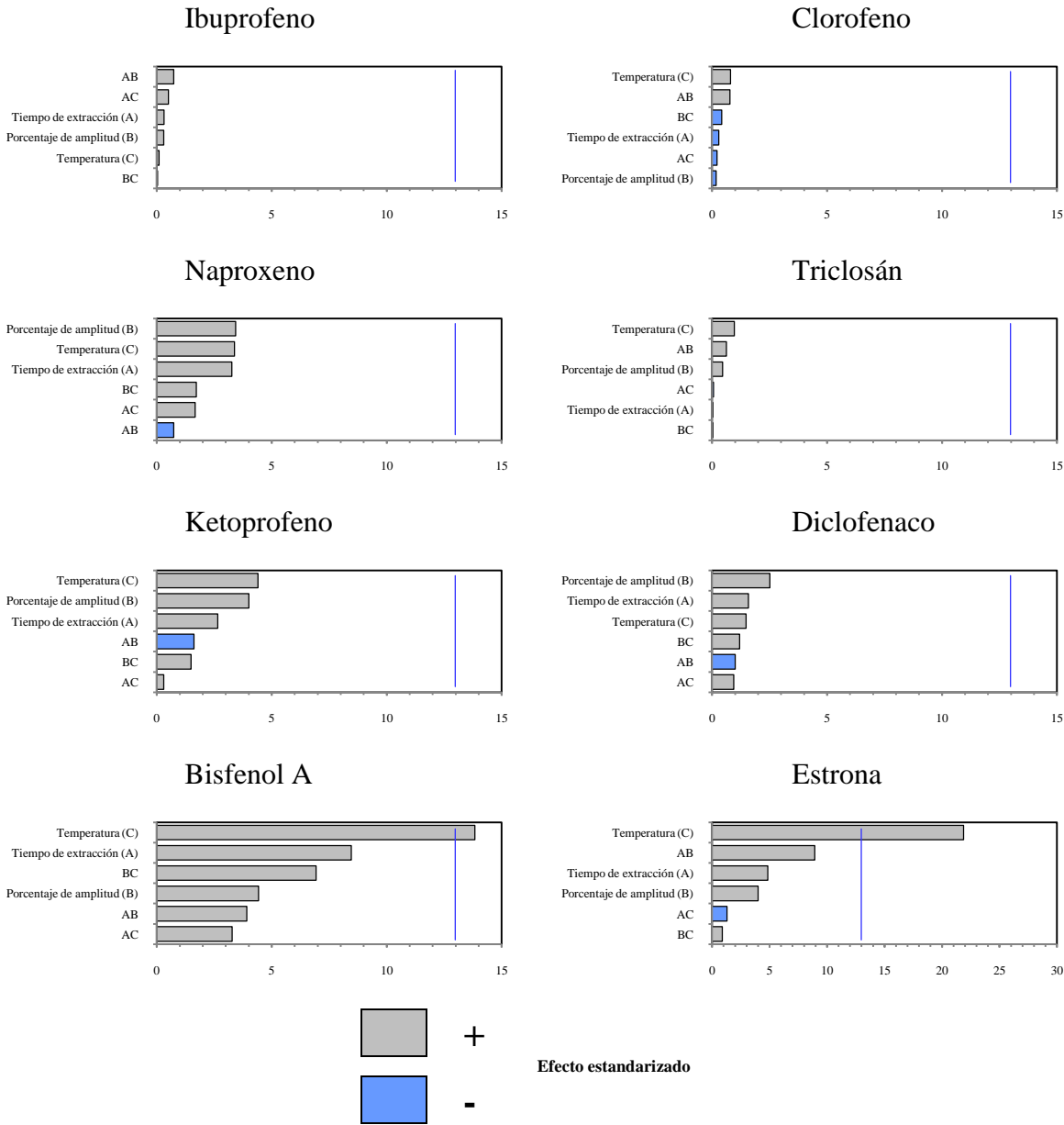


Figura 16. Efecto estandarizado de las variables estudiadas para la UAE en sedimento.

7.4.3. Superficie de respuesta de la UAE en sedimento

Después de evaluar el efecto de las variables estudiadas, la respuesta analítica de los PPCPs se correlacionó de manera simultánea, generando una superficie de respuesta múltiple. La **Fig. 17** muestra los contornos de la superficie de respuesta múltiple para la UAE en sedimento.

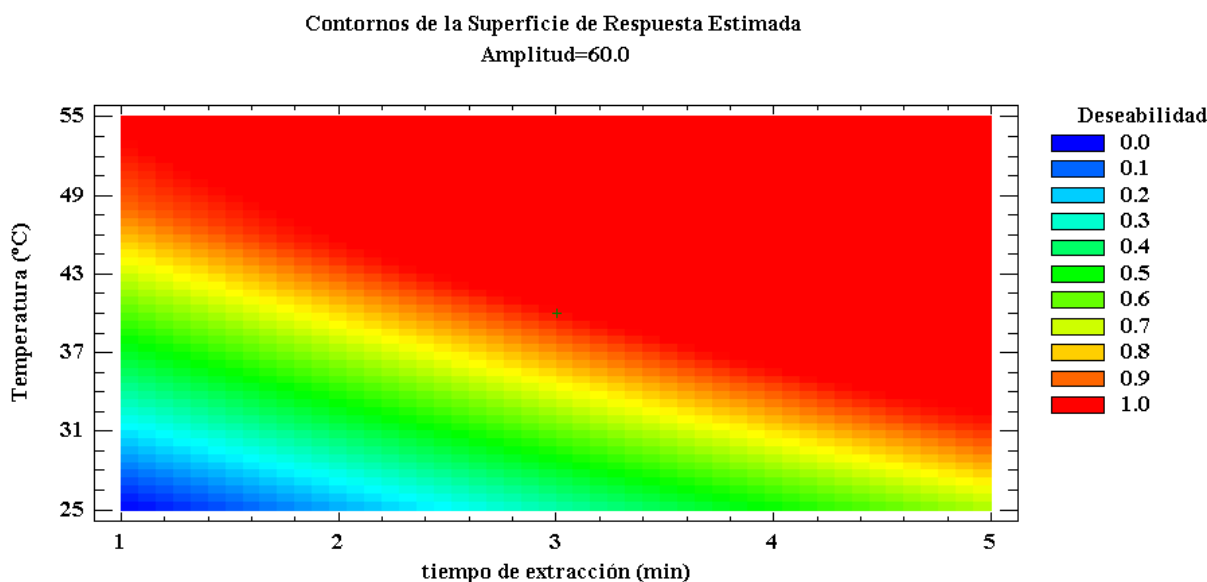


Figura 17. Superficie de respuesta múltiple para la UAE en sedimento.

Cada contorno de la superficie corresponde a una magnitud de respuesta analítica, la cual se representa en términos de deseabilidad (respuesta analítica deseable). El contorno rojo indica la máxima deseabilidad (1.0), mientras que el contorno azul indica la mínima (0.0). La **Fig. 17** muestra que la máxima deseabilidad se obtuvo al incrementar el tiempo de extracción y la amplitud de la sonda. Por ello, las condiciones experimentales para la UAE fueron: tiempo de extracción 3 min, temperatura de extracción 40 °C y amplitud de la sonda al 60%.

En dichas condiciones analíticas, la deseabilidad máxima fue de 0.98 unidades para todos los PPCPs.

7.4.4. Tiempo de extracción

Los tiempos de extracción evaluados se eligieron con base en los estudios reportados para la UAE en muestras de suelo y sedimento (127-132).

De acuerdo con el diseño experimental 2^3 , la extracción de los analitos aumentó al incrementar el tiempo de extracción a 3 min. El estudio del tiempo de extracción se complementó efectuando una extracción a 5 min para corroborar la respuesta constante después de 3 min de extracción.

La **Fig. 18** muestra las áreas cromatográficas de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) a 1, 3 y 5 min.

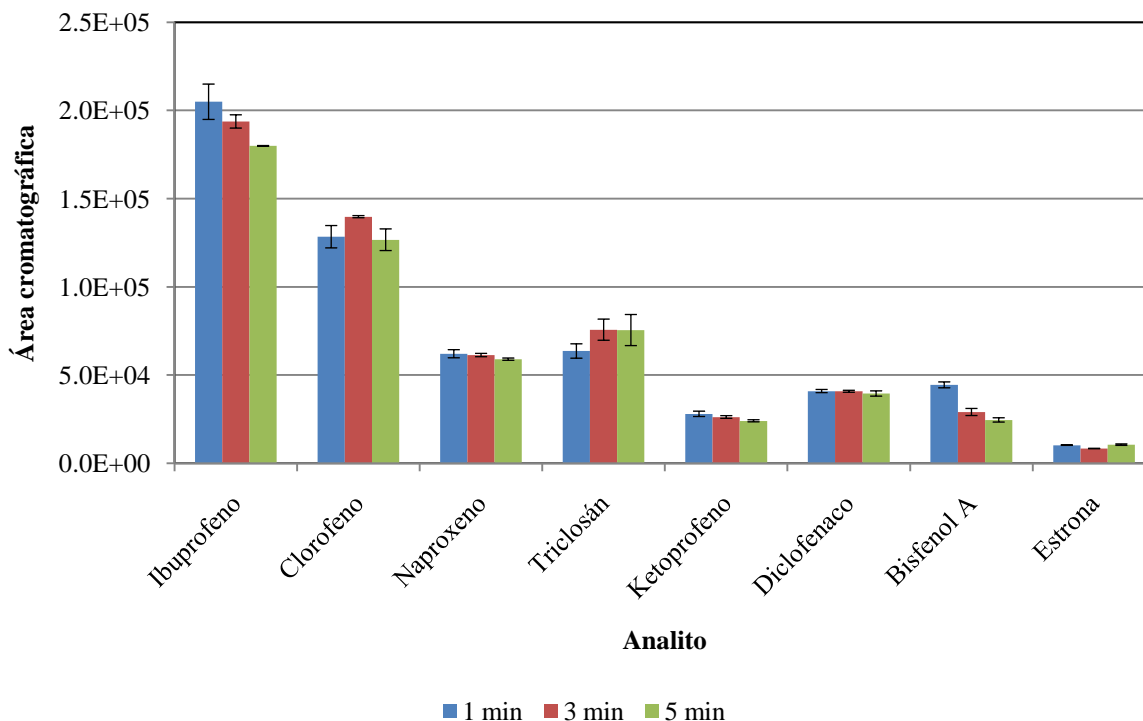


Figura 18. Extracción asistida con ultrasonido (UAE) a 1, 3 y 5 min. Extracción con ácido fórmico al 0.1% en agua con 1% de metanol.

Los resultados de la UAE demostraron que el área cromatográfica de los analitos no se modificó significativamente al incrementar el tiempo de extracción de 3 a 5 min. El naproxeno y diclofenaco mostraron una respuesta constante al incrementar el tiempo de extracción. Sin embargo, se observó que las áreas cromatográficas del ibuprofeno, ketoprofeno y bisfenol A disminuyeron al incrementar el tiempo de extracción a 5 minutos. Con base en los resultados, se seleccionó como tiempo de extracción 3 min para la UAE en sedimento.

7.4.4.1. Cantidad de muestra

La **Fig. 19** muestra el efecto de la cantidad de muestra para la UAE en sedimento. Los resultados demostraron que a mayor cantidad de muestra, las áreas cromatográficas se incrementaron en forma proporcional. Sin embargo, se observó que la precisión en la determinación de los analitos fue menor al incrementar el tamaño de muestra; se observó que una cantidad de muestra entre 100 y 200 mg, produjo una respuesta analítica aceptable y precisa para todos los analitos.

Para el análisis de sedimento, se eligieron 100 mg como cantidad de muestra, ya que con esta cantidad la determinación de los PPCPs presentó la mayor precisión.

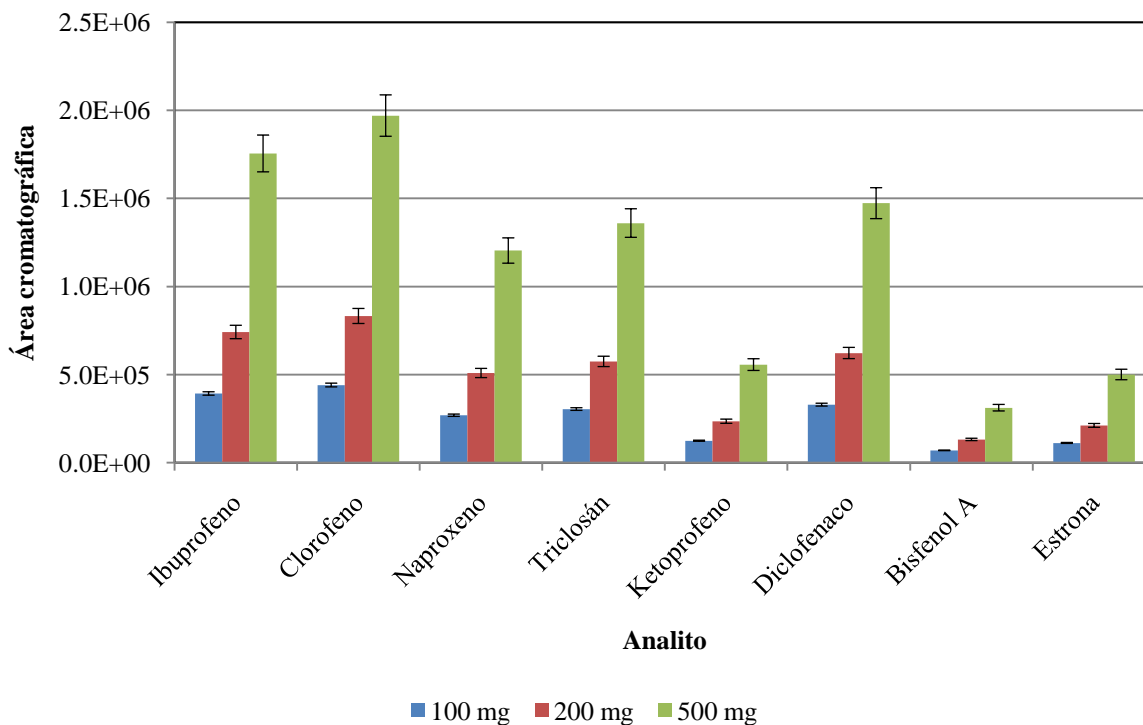


Figura 19. Efecto de la cantidad de muestra para la UAE en sedimento.

7.4.5. Eficiencia de extracción en sedimento fortificado

La eficiencia de extracción en sedimento fortificado se estudió a las 24, 48 y 120 h para evaluar los posibles cambios en la interacción de los analitos con el sedimento, ya que dichas interacciones se modifican en función del tiempo.

La eficiencia de extracción con ultrasonido se estudió a las 24, 48 y 120 h después de fortificar el sedimento. La **Fig. 20** muestra las áreas cromatográficas de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) a 24, 48 y 120 h después de fortificar el sedimento.

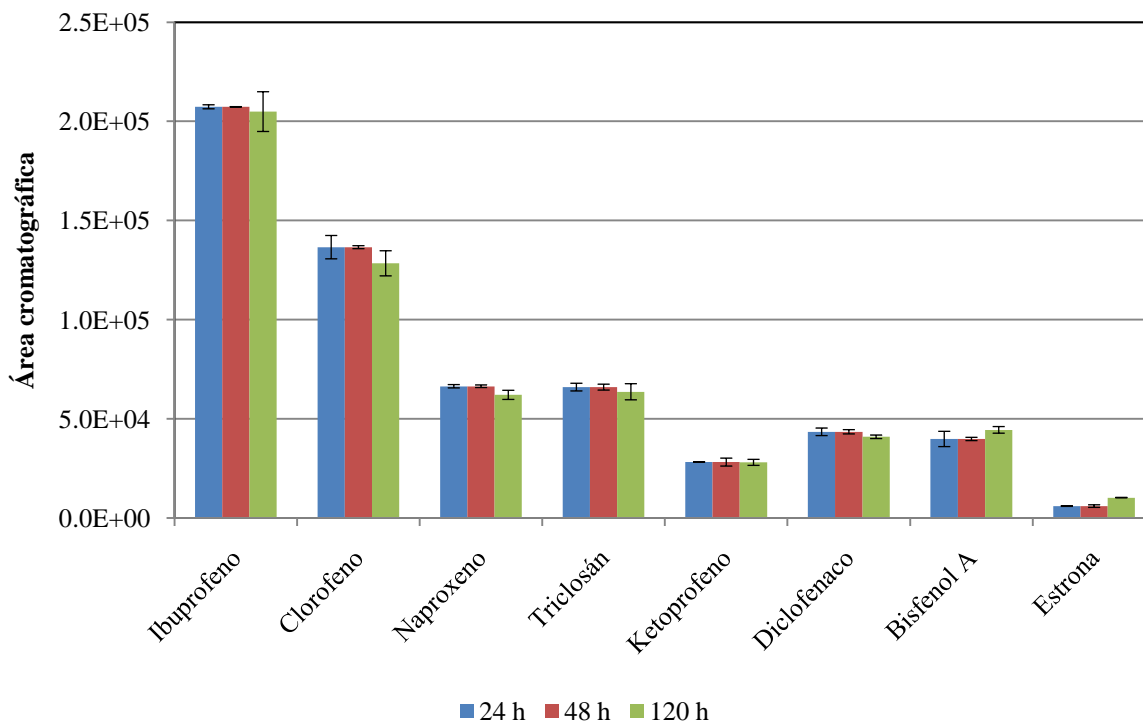


Figura 20. Extracción asistida con ultrasonido a 24, 48 y 120 h después de fortificar el sedimento.

Las áreas cromatográficas de la UAE a 24, 48 y 120 h no mostraron diferencias significativas y mantuvieron su valor hasta 120 h después de fortificar el sedimento. Los resultados demostraron que la repetitividad y reproducibilidad del método se mantuvo constante y que las interacciones analito-sedimento no se modificaron de manera importante durante ese tiempo.

7.5. Condiciones experimentales óptimas para la UAE en sedimento

Las condiciones experimentales sugeridas por el programa Statgraphics para la UAE en sedimento fueron: tiempo de extracción 3 min, temperatura de extracción 40 °C y 60% de amplitud de la sonda.

7.6. Método para análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS

7.6.1. Optimización de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en pescado

7.6.1.1. Cantidad de muestra

Los resultados demostraron que al incrementar la cantidad de pescado se obtuvo un extracto con mayor densidad, turbidez, viscosidad y heterogeneidad. La viscosidad de los extractos con 100 y 250 mg de pescado imposibilitó la filtración de los mismos. Por lo anterior, se utilizaron 50 mg de pescado como cantidad de muestra para la UAE.

7.6.1.2. pH de extracción

El ajuste del pH de extracción demostró que los extractos a pH ácido presentaron mayor heterogeneidad en comparación con los extractos alcalinos; como resultado la determinación de los analitos en los extractos ácidos presentó mayor variabilidad y bajo rendimiento.

El uso de NaOH mejoró la homogeneidad del extracto, disminuyó la formación de espuma y favoreció solubilizar las proteínas de pescado.

7.6.1.3. Adición de metanol y acetona

El disolvente orgánico se adicionó para incrementar la solubilidad de los analitos, evitar la resorción en el pescado, desnaturalizar y precipitar las proteínas, disminuir la tensión superficial del agua, humectar la matriz con mayor eficiencia y favorecer la transferencia de masa hacia la disolución acuosa.

La adición de metanol incrementó la viscosidad de los extractos, indujo la formación de espuma e interfases heterogéneas, lo que provocó mayor resistencia al flujo durante la filtración con membrana de 0.45 μm .

La adición de acetona produjo extractos homogéneos, con bajo volumen de espuma y cuya resistencia al flujo disminuyó considerablemente.

7.6.1.4. Características físicas de los extractos de pescado

Las características físicas de los extractos de pescado (formación de espuma, heterogeneidad y resistencia al flujo durante el filtrado) se clasificaron en una escala ordinal que describiera cuantitativamente su magnitud; a cada característica se asignó un valor del 1 al 5.

La magnitud de las características físicas se graficó para estudiar la influencia del pH y la adición de disolvente orgánico sobre la formación de espuma, heterogeneidad y resistencia al flujo de cada extracto de pescado. La **Fig. 21** muestra las características físicas de los extractos de pescado después de la extracción asistida con ultrasonido (UAE).

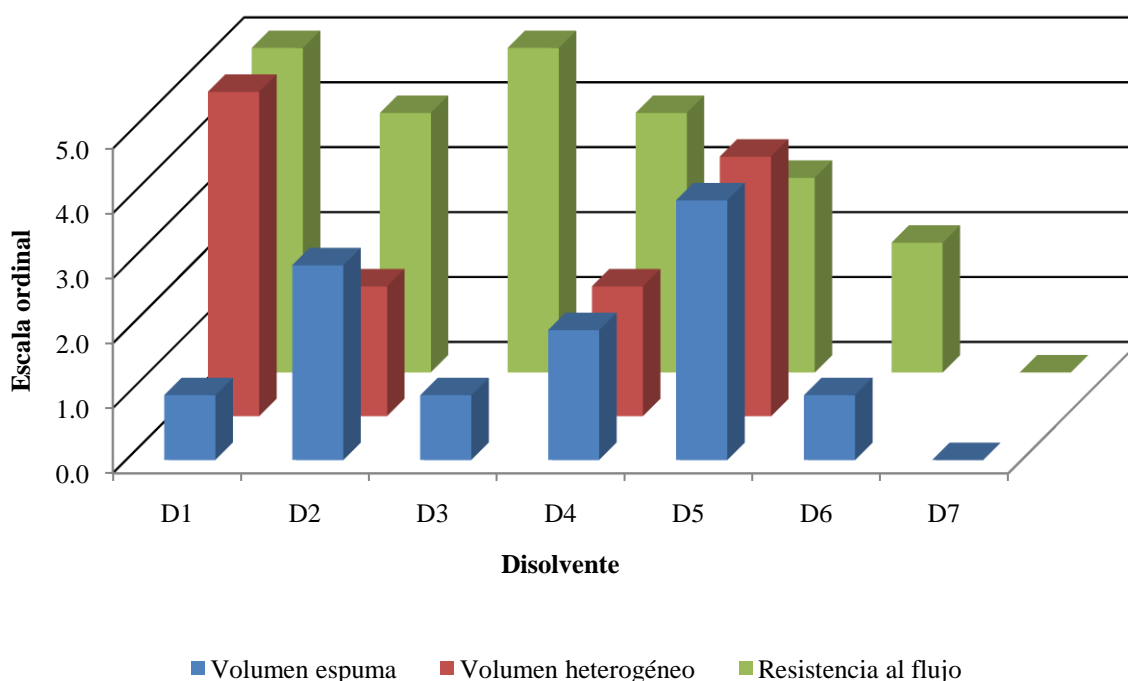


Figura 21. Características físicas de los extractos obtenidos de la UAE en pescado.

7.6.1.4.1. Formación de espuma

La formación de espuma fue una característica de los extractos de pescado, debido a la propiedad surfactante de las proteínas. El volumen de espuma no se modificó al modificar el pH de la disolución (D1 y D3). Adicionalmente, el volumen de espuma aumentó al incrementar la proporción de metanol (D2, D4 y D5); consecuentemente, el extracto D5 registró el mayor volumen de espuma al adicionar 10% de metanol, demostrando que el metanol favoreció la formación y estabilidad de la espuma (**Fig. 21**).

Por otra parte, el volumen de espuma disminuyó al utilizar 1 y 10% acetona como codisolvente (D6 y D7).

7.6.1.4.2. Heterogeneidad del extracto

Adicional a la formación de espuma, los extractos de pescado presentaron la formación de interfases heterogéneas gelificadas, evidenciando la propiedad gelificante de las proteínas. La interfase heterogénea de los extractos básicos (D3-D7) fue menor en comparación con los extractos ácidos (D1 y D2). Sin embargo, la heterogeneidad del extracto aumentó al adicionar 1 y 10% de metanol (D4 y D5). Los extractos con acetona (D6 y D7) no presentaron interfases heterogéneas, demostrando que el metanol indujo la formación de la interfase en el extracto (**Fig. 21**).

7.6.1.4.3. Resistencia al flujo

La resistencia al flujo en los extractos sin disolvente orgánico (D1 y D3) fue mayor en comparación con los extractos con disolvente orgánico. Los extractos con 1 y 10% de metanol presentaron mayor resistencia al flujo (D2, D4, D5) en comparación con los extractos con acetona (D6, D7). El extracto con 10% de acetona (D7) tuvo la menor resistencia al flujo, demostrando que a mayor proporción de acetona se produce un extracto más fluido (**Fig. 21**).

Para los extractos heterogéneos, fue necesario realizar dos filtrados sucesivos con membrana de nylon de 0.45 μm para obtener un extracto traslúcido y libre de partículas.

7.6.1.5. Tiempo de extracción

El tiempo de extracción se seleccionó con base en la disgregación completa del músculo de pescado. Los resultados del tiempo de extracción demostraron que el pescado se disgregó completamente después de 2 min de ultrasonido y el área cromatográfica de los analitos no se modificó al incrementar el tiempo de extracción de 3 a 5 min. La temperatura del extracto se mantuvo constante utilizando un baño de agua a temperatura ambiente (25 °C). Con base en los resultados, se seleccionó como tiempo de extracción 3 min para la UAE en pescado. La **Fig. 22** muestra las áreas cromatográficas de la extracción asistida con ultrasonido (UAE) en pescado a 1, 3 y 5 min.

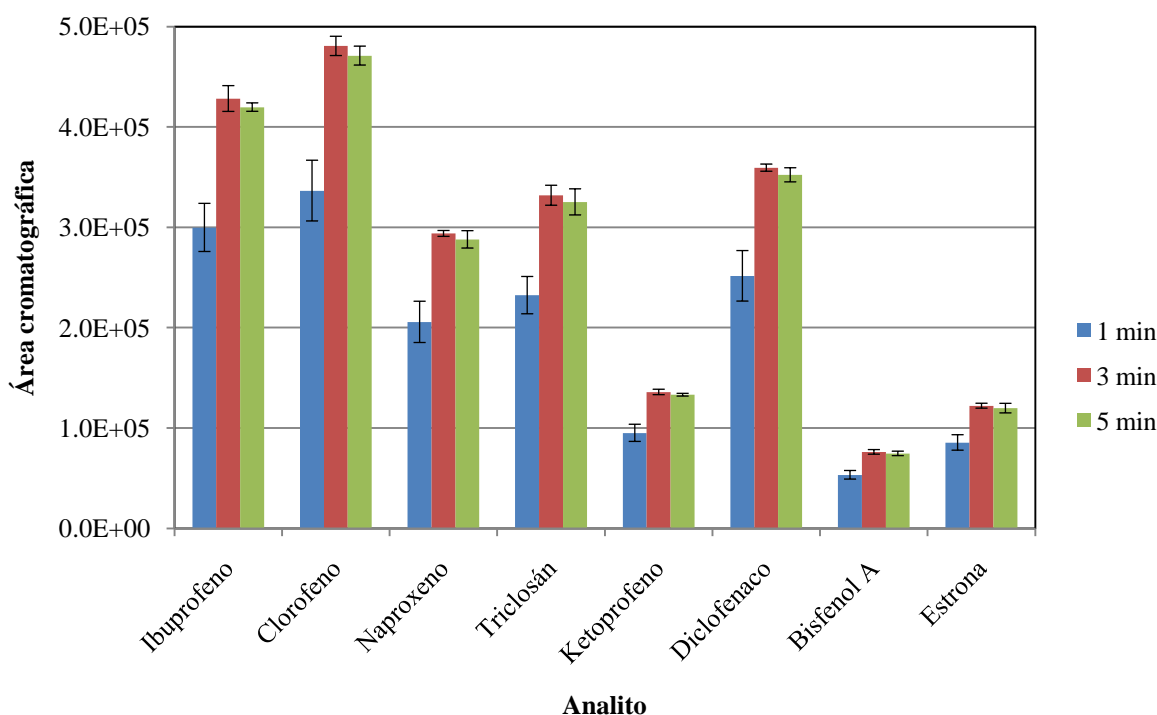


Figura 22. Extracción asistida con ultrasonido (UAE) a 1, 3 y 5 min en pescado fortificado.

7.6.2. Análisis de los extractos de pescado por SPME

La adición de NaOH al 0.1% en agua (D3) favoreció la disgregación y solubilización del músculo de pescado, produciendo un extracto fluido y homogéneo en comparación con los extractos ácidos (D1 y D2).

La recuperación de los analitos en los extractos D1-D3 fue menor al 20%. En consecuencia, se adicionó 1% y 10% de metanol para incrementar la solubilidad acuosa de los analitos (D4 y D5). El metanol favoreció la extracción de 6 analitos (ibuprofeno, clorofeno, naproxeno, triclosán, ketoprofeno, diclofenaco), sin embargo, no se detectó bisfenol A ni estrona en los extractos D4 y D5. Como alternativa se adicionó 1 y 10% de acetona (D6 y D7) para incrementar la solubilidad del bisfenol A y la estrona, ya que ambos compuestos son altamente solubles en dicho disolvente.

La **Fig. 23** muestra las áreas cromatográficas de los PPCPs en los extractos D1-D7.

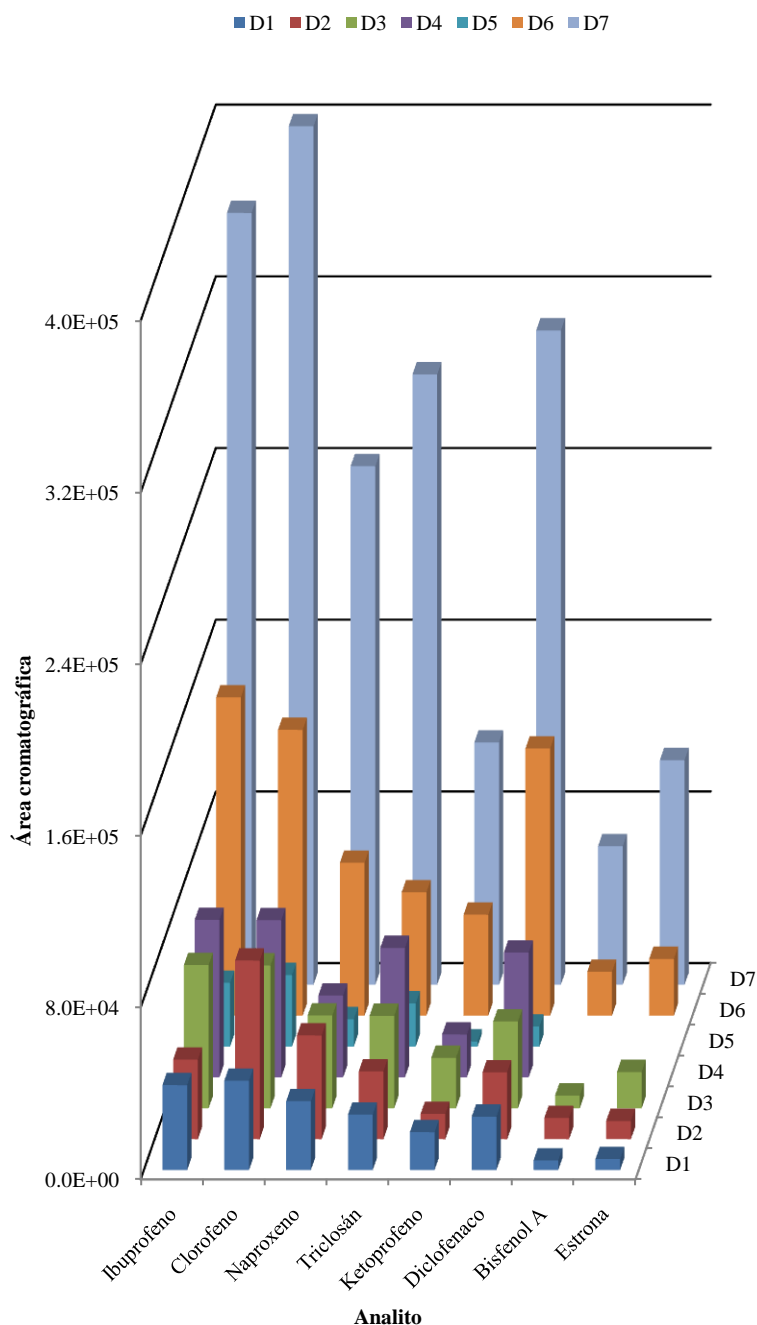


Figura 23. Identificación de los PPCPs en los extractos D1-D7.

Los PPCPs estudiados se detectaron en mayor proporción en los extractos D6 y D7, demostrando que la adición NaOH y acetona permitió solubilizar el musculo de pescado, obteniendo un extracto homogéneo. Los extractos de pescado se analizaron por SPME-GC-MS (**apartado 6.5**) sin adición de NaCl. Cada extracto obtenido se analizó por triplicado para evaluar la precisión en la determinación de los PPCPs.

7.6.2.1. Porcentaje de NaCl

Como una prueba preliminar, se adicionó 10% de NaCl al extracto clarificado D7. La adición de NaCl indujo la precipitación de las proteínas solubles, produciendo un extracto turbio. Por esta razón, no se adicionó NaCl a los extractos del pescado para su análisis por SPME.

7.6.2.2. Recobro de los analitos en el extracto de pescado

Después de seleccionar la disolución de extracción, se comparó la respuesta cromatográfica de una disolución estándar de PPCPs y el extracto D7 para evaluar las diferencias de respuesta analítica. La **Fig. 24** muestra la comparación de áreas cromatográficas de la disolución estándar de PPCPs y el extracto D7.

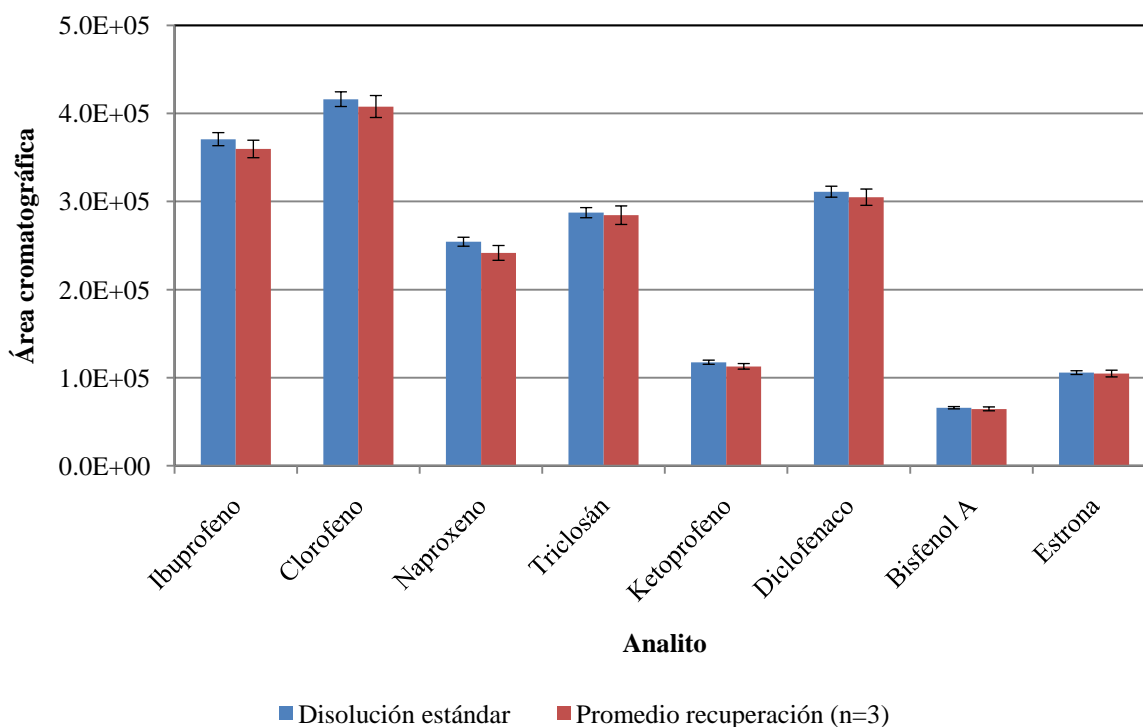


Figura 24. Comparación de respuesta cromatográfica entre una disolución estándar de PPCPs y el extracto D7.

El promedio de las áreas cromatográficas en la disolución estándar y el extracto D7 tuvieron valores similares (n=3), demostrando que el NaOH al 0.1% en agua:acetona 90:10 V/V extrajo eficientemente a los analitos del pescado. El recobro de los analitos se evaluó formalmente en la validación del método.

7.6.2.3. Condiciones óptimas de la UAE en pescado fresco

Con base en los resultados de la UAE, el pH del disolvente de extracción, la adición de disolvente orgánico, el tipo de disolvente orgánico y la proporción agua:disolvente orgánico son variables que influyeron en la formación de espuma, heterogeneidad y la viscosidad del extracto resultante.

Las mejores condiciones de la UAE en pescado fueron: 50 mg de muestra, 7 mL de NaOH al 0.1 % en agua:acetona 90:10 V/V, 25 °C y 3 min de tiempo de extracción.

7.6.2.4. Eficiencia de extracción en pescado fortificado

La eficiencia de extracción con ultrasonido se estudió a 24, 48 y 120 h después de fortificar el pescado. La **Fig. 25** muestra las áreas cromatográficas de la eficiencia de extracción a 24, 48 y 120 h después de fortificar el pescado.

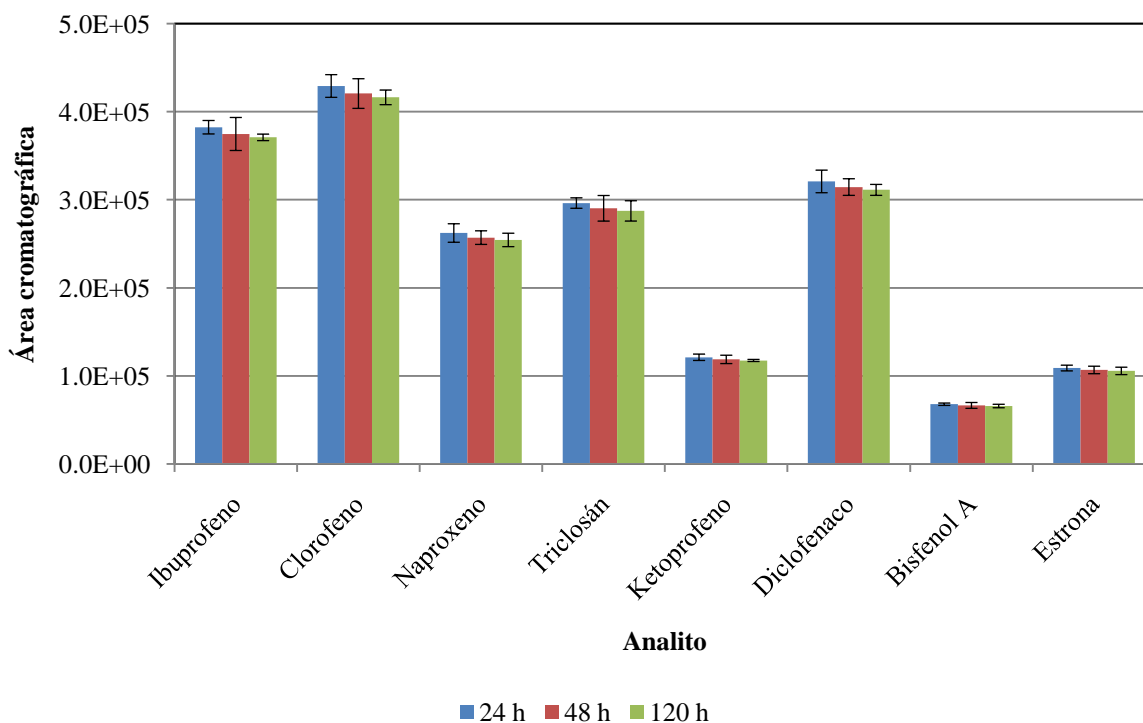


Figura 25. Eficiencia de extracción en pescado a 24, 48 y 120 h después de fortificar el pescado.

Las áreas cromatográficas de la UAE a 24, 48 y 120 h no mostraron diferencias significativas y mantuvieron su valor hasta 120 h después de fortificar el pescado. Los resultados demostraron que la repetitividad y reproducibilidad del método se mantuvo constante y que las interacciones analito-pescado no se modificaron de manera importante durante ese tiempo.

7.7. Método para análisis de agua por SBSE-GC-MS

7.7.1. Optimización de la SBSE en agua

7.7.1.1. Diseño experimental 2³ para la SBSE agua

La SBSE en agua se optimizó con un diseño experimental lineal 2³. Los resultados demostraron que la variación del tiempo de extracción, la temperatura de extracción y el porcentaje de cloruro de sodio (NaCl) tuvo efecto significativo en la extracción del ketoprofeno y diclofenaco. La extracción del diclofenaco aumentó significativamente al incrementar el tiempo de extracción (45 min), la temperatura de extracción (40 °C) y el porcentaje de NaCl (60%). Adicionalmente, se observó un efecto relativo de segundo orden donde el tiempo de extracción y el porcentaje de NaCl interaccionan de manera negativa con la temperatura de extracción, disminuyendo en la respuesta analítica del diclofenaco. En ese mismo contexto, la extracción de diclofenaco aumentó significativamente por la interacción del tiempo de extracción con el porcentaje de sal, demostrando que al incrementar ambas variables se favoreció la extracción del analito. Por otro lado, la extracción de ketoprofeno aumentó significativamente al incrementar el porcentaje de NaCl.

El efecto relativo de las variables estudiadas para la SBSE en agua se muestra en el **Cuadro 15**. El efecto estandarizado de las variables se observa en la **Fig. 26**.

Cuadro 15. Efecto relativo de las variables estudiadas para la SBSE en agua

Compuesto	Efecto relativo						Significativos p, 0.05
	A	B	C	AB	AC	BC	
Ibuprofeno	+	-	+	-	+	-	*
Clorofeno	+	+	+	+	+	-	*
Naproxeno	+	-	+	-	+	-	*
Triclosán	+	+	+	+	+	-	*
Ketoprofeno	+	+	+	-	+	+	C
Diclofenaco	+	+	+	-	+	-	A, B, C, AB, AC
Bisfenol A	+	+	+	+	+	-	*
Estrona	+	-	+	-	+	-	*

A: Tiempo de extracción

B: Temperatura de extracción

C: Porcentaje de NaCl

Los resultados del diseño experimental 2³ demostraron que la temperatura de extracción interacciona de manera negativa con el porcentaje de NaCl, disminuyendo la respuesta de 7 analitos. Por esta razón, la SBSE se efectuó a temperatura ambiente (25°C) para evitar el efecto negativo dicha interacción. El impacto de la respuesta se estimó de manera equivalente para todos los analitos estudiados.

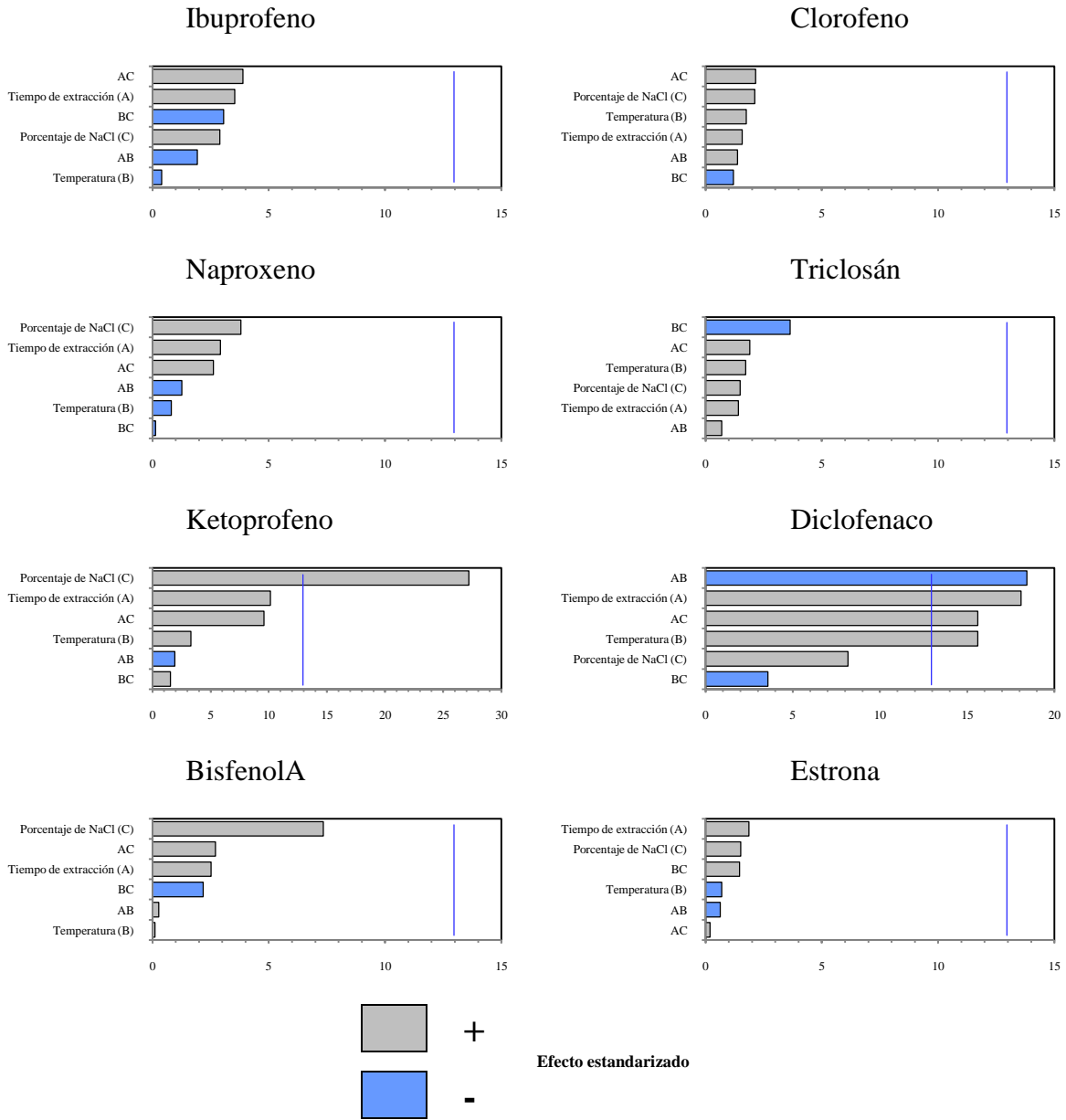


Figura 26. Efecto estandarizado de las variables estudiadas para la SBSE en agua.

7.7.2. Superficie de respuesta de la SBSE en agua

Después de evaluar el efecto de las variables estudiadas, la respuesta analítica de los PPCPs se correlacionó de manera simultánea, generando una superficie de respuesta múltiple. La **Fig. 27** muestra los contornos de la superficie de respuesta múltiple para la SBSE en agua.

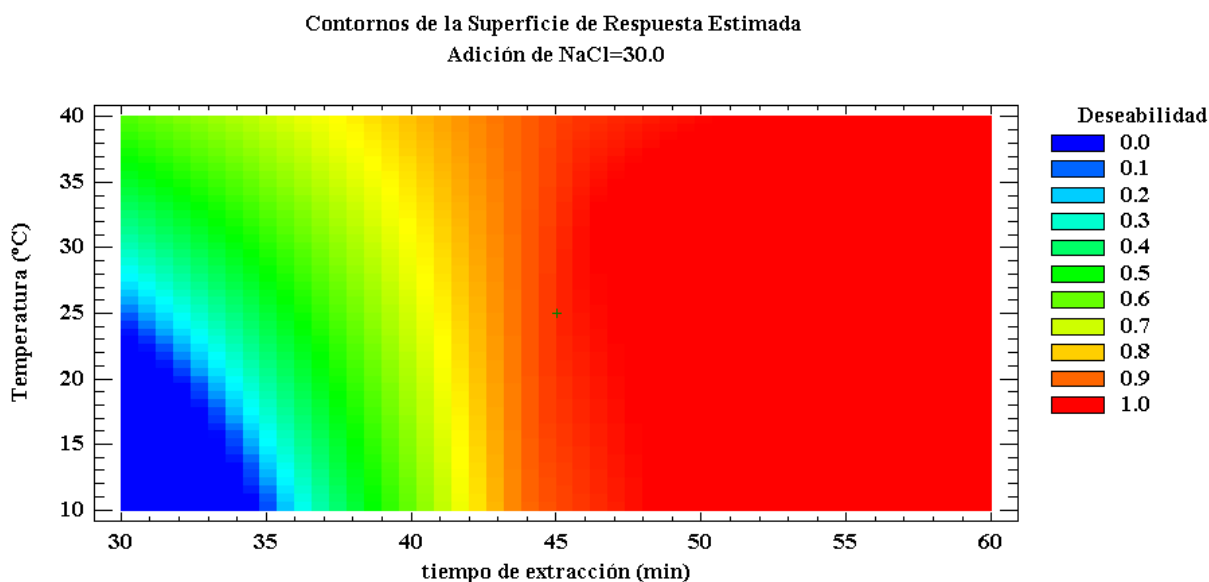


Figura 27. Superficie de respuesta múltiple para la SBSE en agua.

La **Fig. 27** muestra que la máxima deseabilidad se obtuvo al incrementar el tiempo de extracción y el porcentaje de NaCl. Por ello, las condiciones experimentales para la SBSE fueron: tiempo de extracción 45 min, temperatura de extracción 25 °C y porcentaje de NaCl del 30%.

En dichas condiciones analíticas, la deseabilidad máxima fue de 0.95 unidades para todos los PPCPs.

7.7.3. Tiempo de extracción

De acuerdo con el diseño experimental 2^3 , la extracción de los analitos aumentó al incrementar el tiempo de extracción a 45 min. El estudio del tiempo de extracción se complementó efectuando una extracción a 60 min para corroborar el aumento de respuesta analítica en función del tiempo.

Las áreas cromatográficas de la extracción a 60 min no mostraron diferencias importantes en comparación con 45 min de extracción. Por esta razón, se seleccionó como tiempo de extracción 45 min para la SBSE en agua.

La **Fig. 28** muestra las áreas cromatográficas obtenidas de la SBSE a 30, 45 y 60 min.

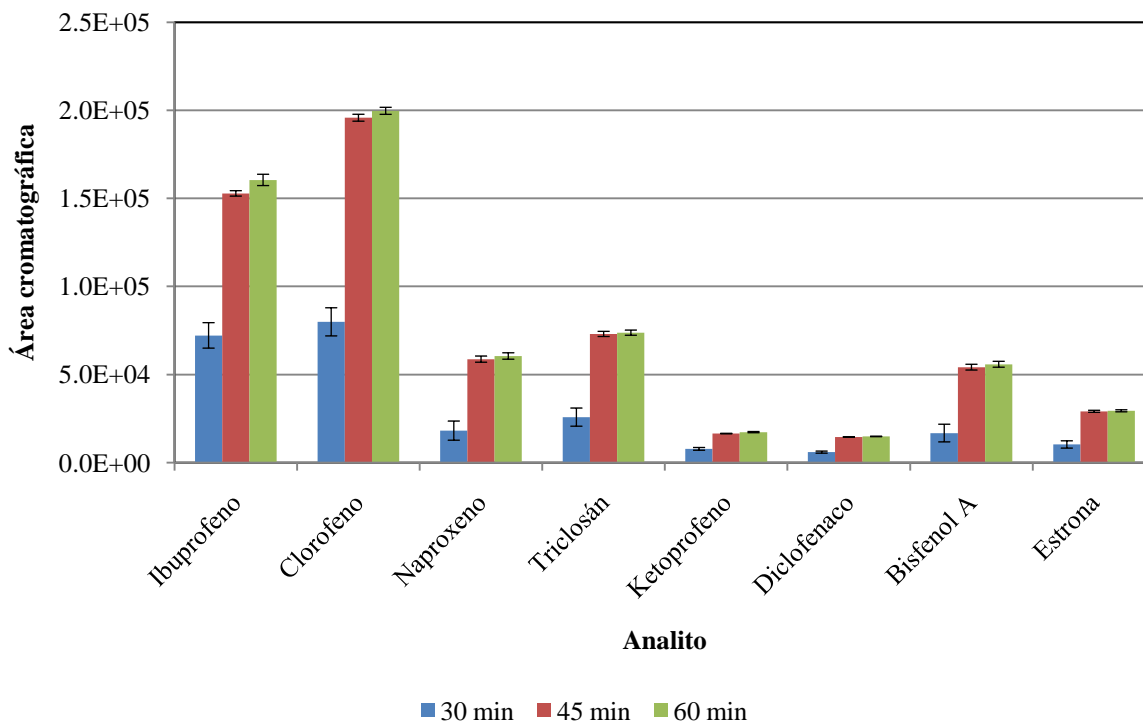


Figura 28. Extracción por SBSE a 30, 45 y 60 min.

7.7.4. Porcentaje de cloruro de sodio (NaCl)

El diseño experimental 2³ demostró que la extracción de los analitos aumentó al adicionar 30% de NaCl. Posteriormente se adicionó 60% de NaCl para corroborar el aumento de respuesta analítica. Sin embargo, la extracción de los analitos no se modificó de manera importante después de adicionar 60% de NaCl.

Las áreas cromatográficas de ketoprofeno y diclofenaco aumentaron de manera importante al adicionar 60% de NaCl. Sin embargo, la extracción del clorofeno, triclosán, bisfenol A y estrona disminuyó ligeramente, lo cual podría atribuirse a un incremento en la densidad de la disolución. Por esta razón, la extracción por SPME se efectuó con un porcentaje de NaCl de 30%. La **Fig. 29** muestra las áreas cromatográficas obtenidas de la SBSE con y sin adición de NaCl.

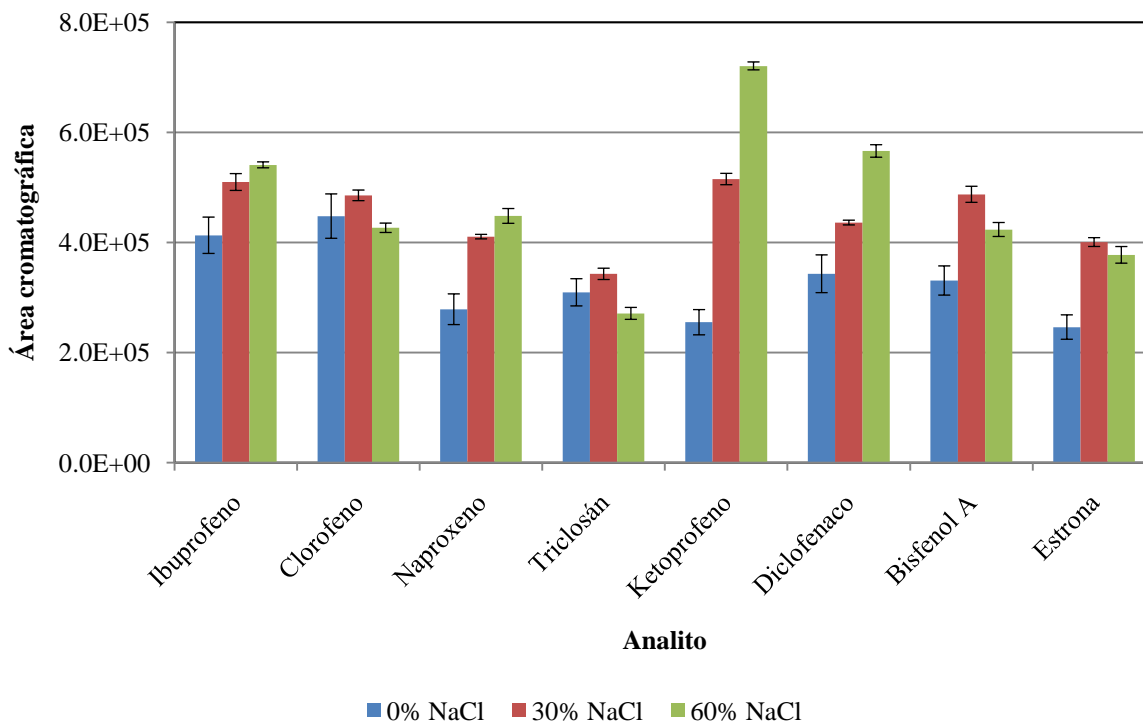


Figura 29. Extracción por SBSE con y sin adición de NaCl.

7.8. Condiciones experimentales óptimas para la SBSE en agua

Las condiciones experimentales sugeridas por el programa Statgraphics para la SBSE fueron: tiempo de extracción 45 min, temperatura de 25 °C y 60% de NaCl.

7.9. Disolvente de desorción para la SBSE

La desorción líquida se efectuó con 1 mL de disolvente orgánico, para ello se evaluó la eficiencia de desorción de acetonitrilo (A), metanol (M), diclorometano (D), acetonitrilo-metanol (A/M), acetonitrilo-diclorometano (A/D), metanol-diclorometano (M/D) y acetonitrilo-metanol-diclorometano (A/M/D).

Con cada disolvente de desorción, la barra se agitó a temperatura ambiente (25 °C) y 1000 rpm durante 15 min.

La **Fig. 30** muestra las áreas cromatográficas de la desorción líquida con disolventes orgánicos.

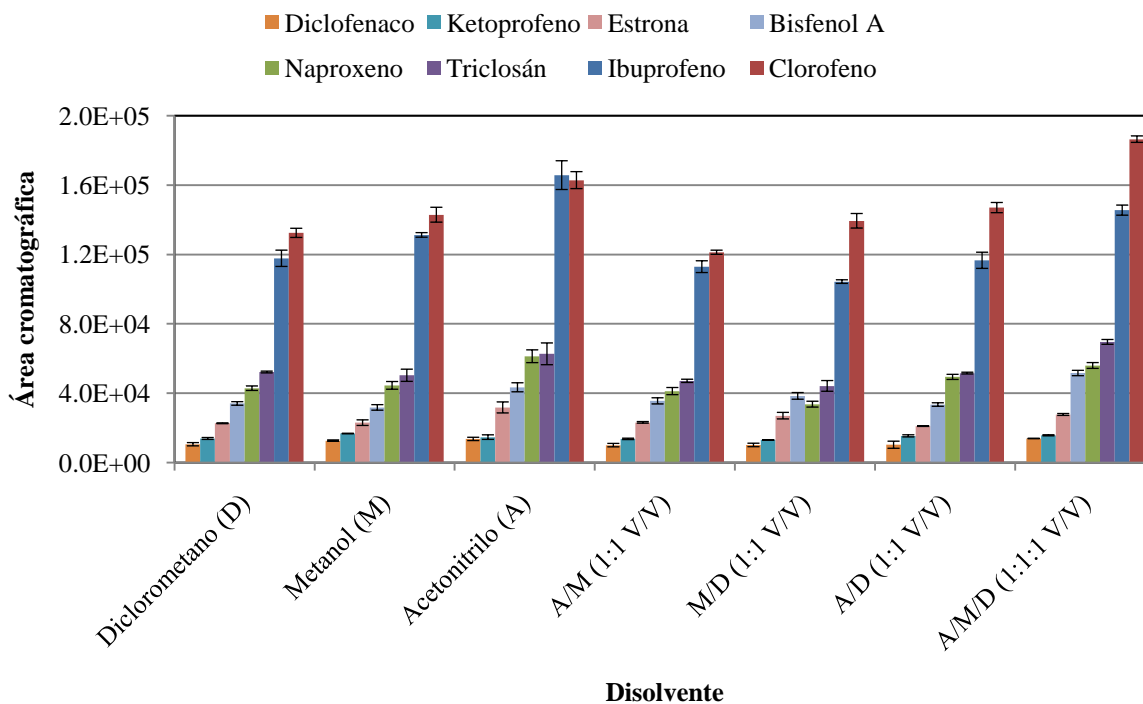


Figura 30. Desorción líquida con disolventes orgánicos.

El estudio de disolventes orgánicos demostró que para desorber a los analitos de la fase extractora, la mezcla de disolventes debe ser principalmente polar, sin embargo, fue necesario añadir un porcentaje de diclorometano para anular la interacción de los analitos con la fase extractora.

La desorción de los analitos con acetonitrilo o metanol fue incompleta, ya que al efectuar desorciones sucesivas con 1 mL de disolvente, se observó un acarreo de los analitos (carry over), evidenciando que ambos disolventes no interrumpieron la interacción de los analitos con la fase extractora.

La desorción de los analitos incrementó cuando las mezclas de disolventes tuvieron polaridad intermedia (acetonitrilo-diclorometano (A/D) y metanol-diclorometano (M/D)), sin embargo, la desorción permaneció incompleta.

La desorción de los analitos se efectuó con 1 mL de la mezcla ternaria acetonitrilo:metanol:diclorometano (A/M/D), ya que al efectuar la desorción sucesiva con 1 mL de disolvente, no se detectaron los analitos.

Con base en lo anterior, se eligió como disolvente de desorción 1 mL de la mezcla ternaria A/M/D.

(Fig. 30).

7.9.1. Tiempo de desorción con disolvente orgánico

El tiempo de desorción con disolvente orgánico se evaluó a 5, 15 y 30 min. La desorción a 5 min demostró una recuperación parcial de los analitos en comparación con la desorción a 15 y 30 min. Las áreas cromatográficas de la desorción a 15 min no mostraron diferencias importantes con respecto a la desorción a 30 min, demostrando que la mezcla A/M/D fue eficiente para desorber los analitos de la barra magnética en 15 min. Con base en los resultados, se eligió como tiempo de desorción 15 min para la SBSE. La **Fig. 31** muestra las áreas cromatográficas del tiempo de desorción a 5, 15 y 30 min.

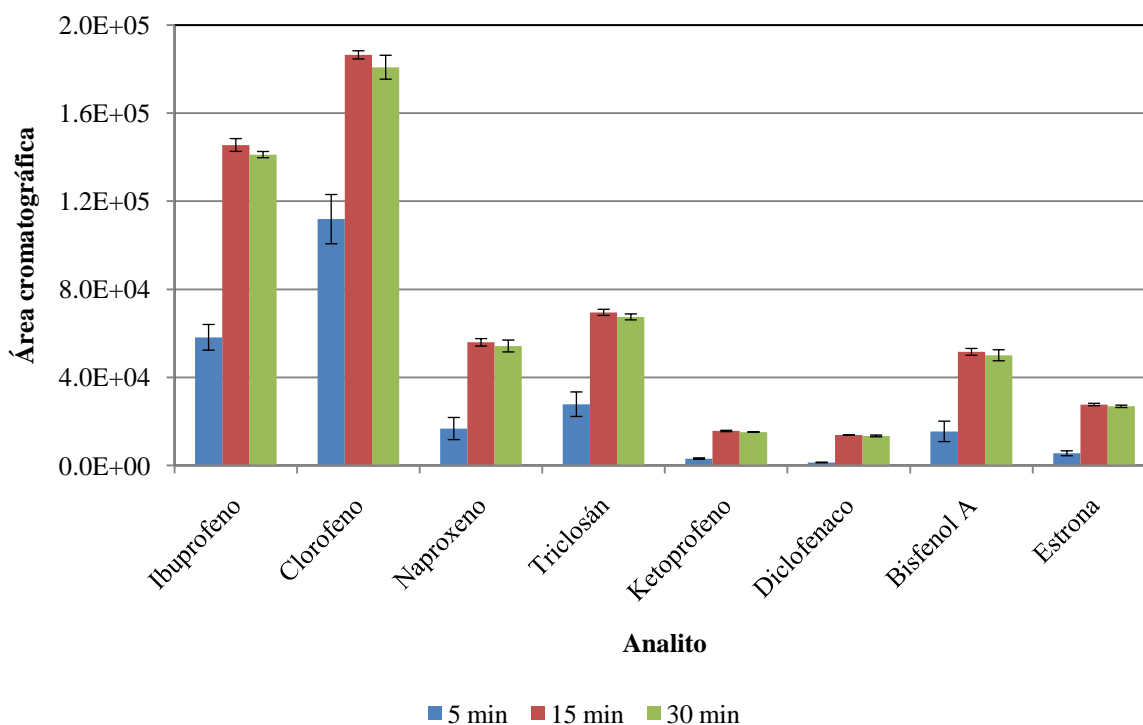


Figura 31. Tiempo de desorción a 5, 15 y 30 min. Desorción líquida con 1 mL de acetonitrilo/metanol/diclorometano (1:1:1 V/V).

7.10. Condiciones experimentales para la desorción líquida en la SBSE

Las condiciones experimentales para la desorción líquida en la SBSE fueron: 1 mL acetonitrilo/metanol/diclorometano (1:1:1 V/V), temperatura ambiente (25 °C), 1000 rpm de agitación y tiempo de desorción 15 min.

7.11. Método para análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS

La extracción asistida con ultrasonido (UAE) implementada a partir del método UAE-SPME-GC-MS (**apartado 6.7**), permitió obtener un extracto acuoso de sedimento que pudo analizarse por SBSE.

Después de realizar la UAE, el filtrado de sedimento se analizó modificando el método para análisis de agua (SBSE-GC-MS, **apartado 6.5**), ajustando el pH antes de efectuar a la UAE.

Dicha modificación no afectó el desempeño del método, demostrando que el análisis por SBSE-GC-MS puede ser una alternativa robusta para la determinación de PPCPs en disolución acuosa.

7.12. Método para análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS

La extracción asistida con ultrasonido (UAE) implementada a partir del método UAE-SPME-GC-MS, (**apartado 6.9**) permitió obtener un extracto acuoso de pescado que pudo analizarse por SBSE.

Después de realizar la UAE, el filtrado de pescado se analizó modificando el método para análisis de agua (SBSE-GC-MS, **apartado 6.5**), omitiendo la etapa de adición de NaCl.

Dicha modificación no afectó el desempeño del método, demostrando que el análisis por SBSE-GC-MS puede ser una alternativa robusta para la determinación de PPCPs en disolución acuosa.

7.13. Optimización de métodos utilizando diseños experimentales

La optimización un método mediante un diseño experimental factorial es una aproximación eficiente y eficaz cuando se requiere determinar compuestos con propiedades estructurales y fisicoquímicas diferentes. Éste tipo de optimización es una práctica común en el desarrollo de métodos analíticos y han demostrado ser una herramienta útil que disminuye el número de experimentos y el consumo de reactivos y disolventes. Consecuentemente el tiempo de desarrollo y optimización del método analíticos, también disminuye. Así mismo, permite diferenciar la importancia de las variables estudiadas y las posibles interacciones entre ellas. De tal manera que se pueden discriminar todas aquellas variables que afectan negativamente al procedimiento experimental (147).

7.14. Sensibilidad de los métodos para análisis de agua, sedimento y pescado por SPME y SBSE

7.14.1. Agua

La sensibilidad de los métodos para análisis de agua se evaluó graficando la pendiente de la calibración en función del analito, observándose que el método por SBSE tuvo mayor sensibilidad con respecto a SPME.

La pendiente del método por SBSE fue aproximadamente 10000 veces el valor de la pendiente del método por SPME, corroborando que la SBSE tiene mayor capacidad para extraer los PPCPs debido a un mayor volumen de fase extractora. Sin embargo, la sensibilidad de la SBSE disminuyó debido a la desorción líquida.

En la SPME, el enriquecimiento de los analitos ocurre en un volumen de fase extractora muy pequeño (aproximadamente 1 μL). Cuando la fibra de SPME se desorbe en inyector del cromatógrafo, se transfiere al instrumento toda la masa de analito extraído. Por otra parte, en la SBSE el enriquecimiento de los analitos ocurre en 32 μL de fase extractora, la desorción se efectúa con 1 mL de disolvente orgánico, el eluato se lleva a sequedad y finalmente se adicionan 50 μL de agente derivatizante. Debido a esto, la determinación por SBSE aparenta menor sensibilidad, ya que el enriquecimiento de analitos está sujeto a dilución cuando se adiciona el derivatizante. Como una alternativa para evitar esta disminución de sensibilidad, la desorción en la SBSE debe efectuarse en modo térmico para que el enriquecimiento sea notorio en el análisis cromatográfico.

Los métodos para análisis de agua fueron selectivos ibuprofeno, clorofeno y triclosán. La **Fig. 32** muestra los valores de las pendientes de regresión lineal en agua.

7.14.2. Sedimento.

La sensibilidad de los métodos de sedimento corroboró que el método por SBSE tuvo mayor sensibilidad con respecto a SPME. La pendiente del método por SBSE fue aproximadamente 15 veces el valor de la pendiente de SPME; consecuentemente, el análisis del extracto de sedimento tuvo menor sensibilidad en comparación con el análisis de agua. La disminución de sensibilidad puede atribuirse al efecto de matriz del sedimento. Los métodos para análisis de sedimento fueron selectivos para ibuprofeno, clorofeno y triclosán. La **Fig. 33** muestra los valores de las pendientes de regresión lineal en sedimento.

7.14.3. Pescado.

La sensibilidad de los métodos de pescado demostró que la determinación de los las pendientes de regresión en SPME y SBSE tuvieron valores en el mismo orden de magnitud para los analitos menos polares (ketoprofeno, diclofenaco, bisfenol A y estrona). En análisis de pescado por SPME fue selectivo para ibuprofeno, clorofeno y triclosán, demostrando que el método es selectivo para estos analitos. El análisis de pescado por SBSE fue selectivo para naproxeno, ketoprofeno y diclofenaco.

Con base en los resultados, se demostró que el extracto de pescado se puede analizar por SPME y SBSE sin afectar los dispositivos de extracción. La **Fig. 34** muestra los valores de las pendientes de regresión lineal en pescado.

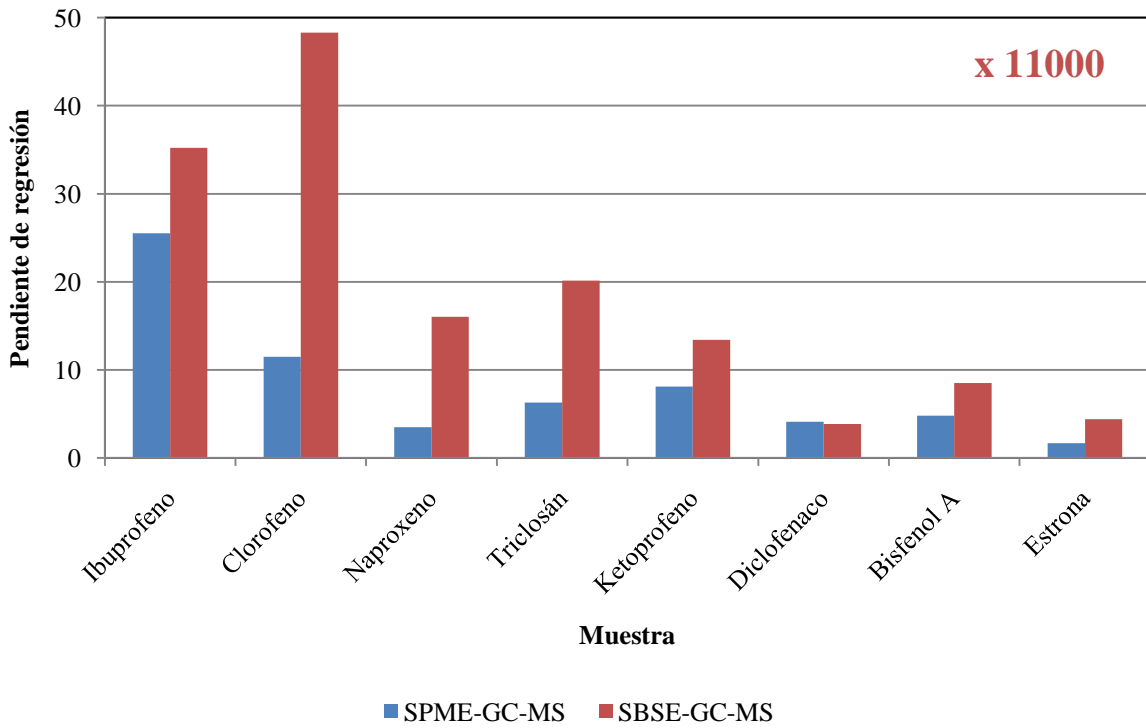


Figura 32. Sensibilidad de los métodos para análisis de agua por SPME y SBSE.

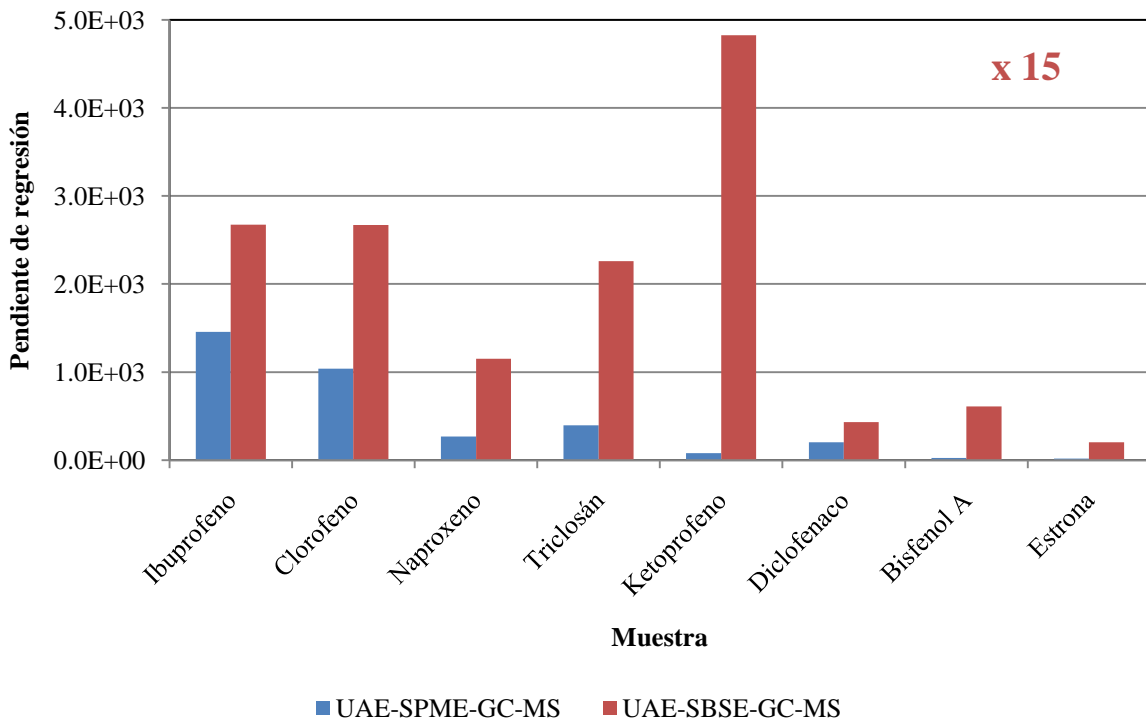


Figura 33. Sensibilidad de los métodos para análisis de sedimento por SPME y SBSE.

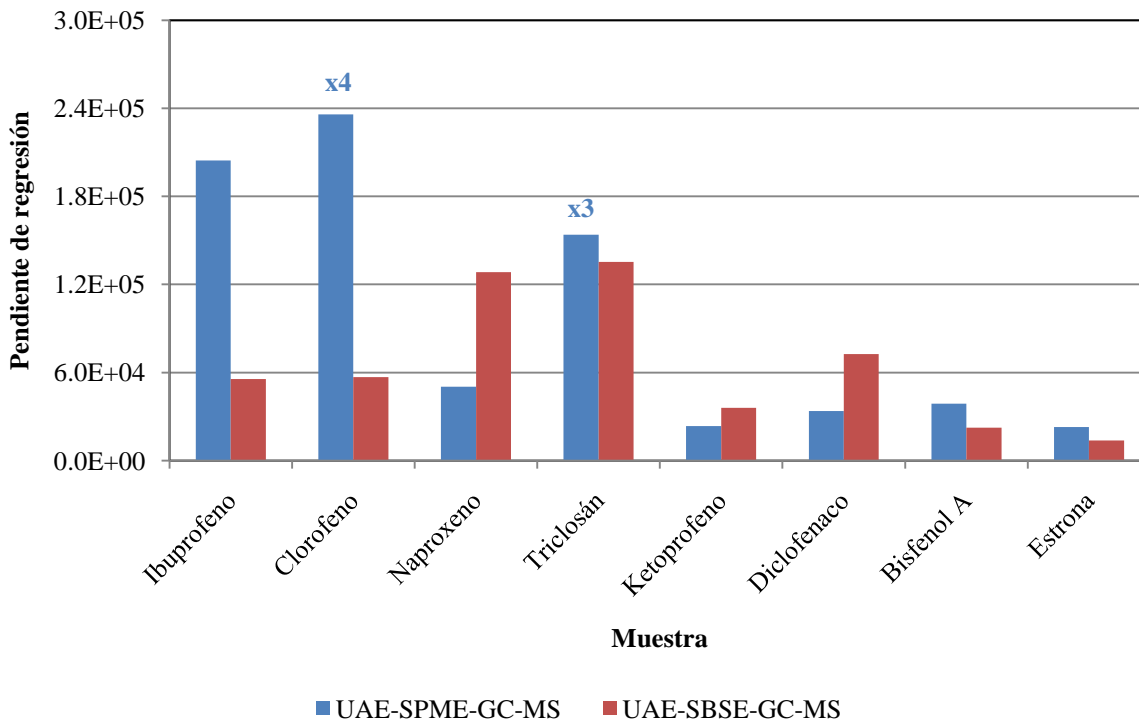


Figura 34. Sensibilidad de los métodos para análisis de pescado por SPME y SBSE.

7.15. Métodos para análisis de agua, sedimento y pescado

El esquema analítico de los métodos para análisis de agua, sedimento y pescado por SPME y SBSE se muestran en las **Fig. 35 y 36**.

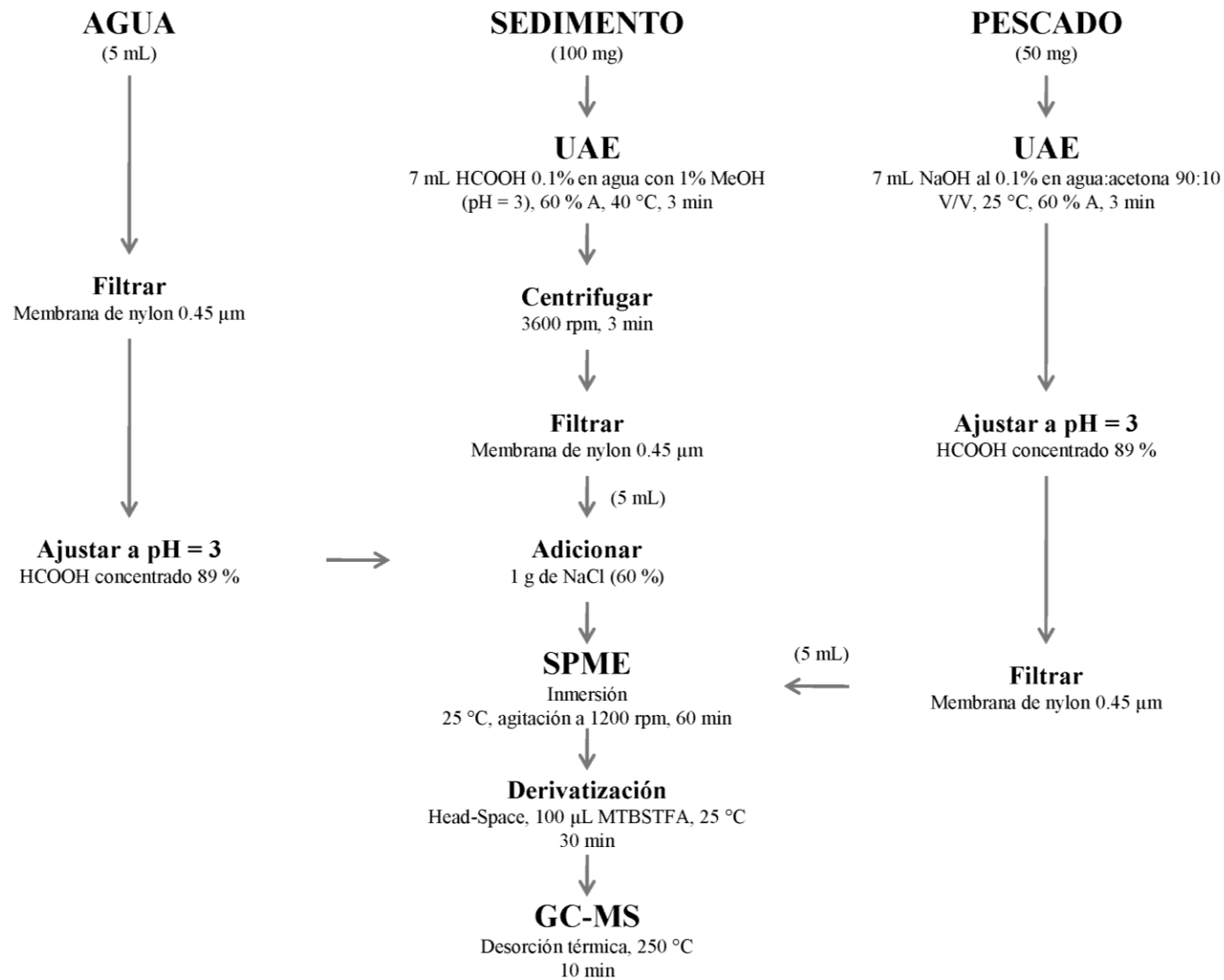


Figura 35. Esquema analítico para análisis de agua, sedimento y pescado por SPME.

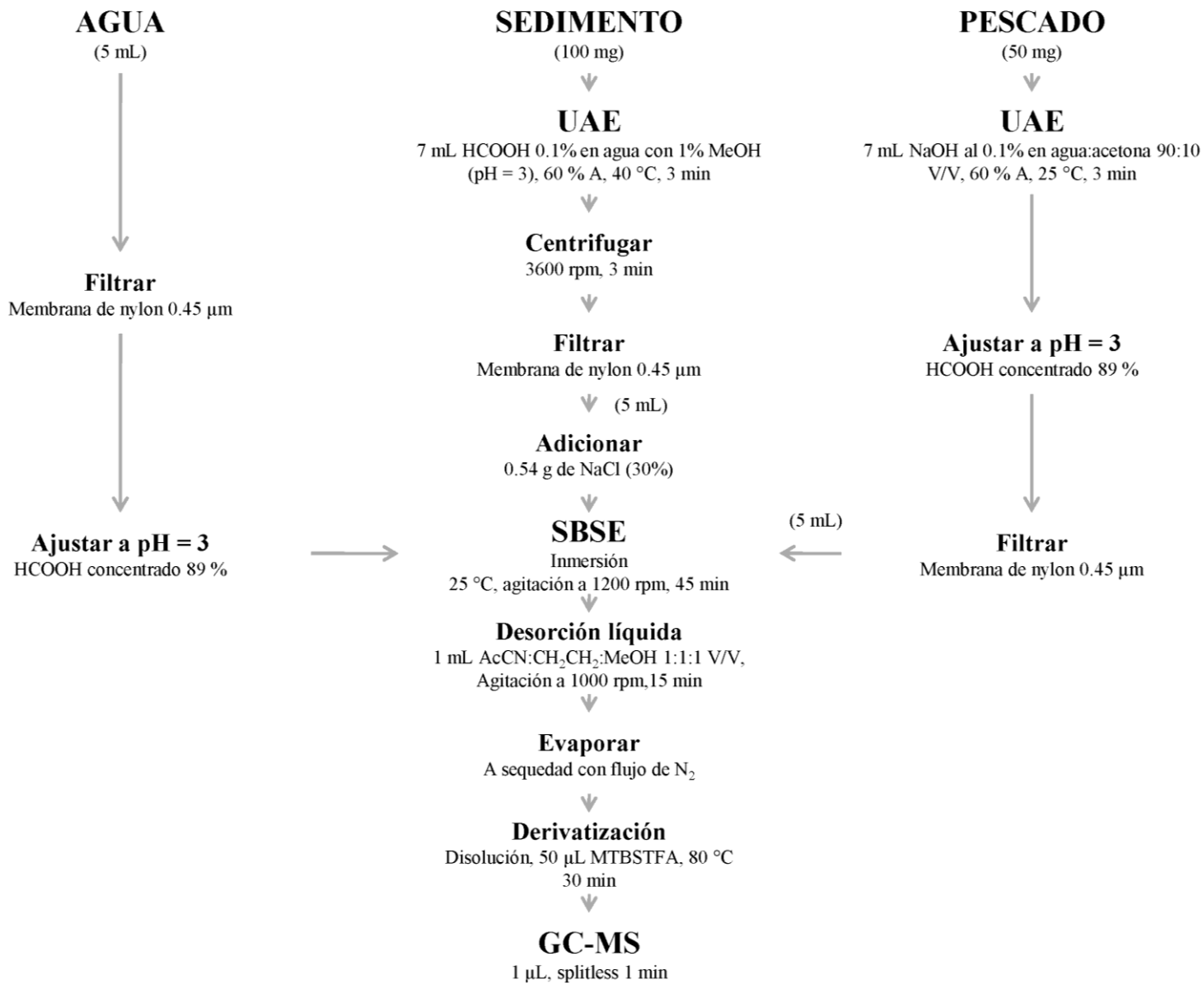


Figura 36. Esquema analítico para análisis de agua, sedimento y pescado por SBSE.

7.16. Análisis de agua por SPME-GC-MS: Validación del método

El análisis de agua por SPME-GC-MS se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.16.1. Precisión

La precisión se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (10 y 100 ng L⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) para cada concentración estudiada (n=3). Los CVs de la precisión fueron menores al 10% en ambos niveles estudiados.

La precisión en la determinación del naproxeno, triclosán, ketoprofeno y la estrona tuvo coeficientes de variación menores al 5% en ambos niveles de concentración.

7.16.2. Linealidad

La linealidad se estudió en el intervalo de 10-100 ng L⁻¹ (n=3). Los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.98 para todos los analitos, demostrando que el modelo lineal de calibración fue adecuado para la determinación de los PPCPs en agua.

7.16.3. Límites de detección

Los límites de detección del método tuvieron valores entre 0.1 y 1.5 ng L⁻¹. Los analitos con menor límite de detección fueron: ibuprofeno, clorofeno, naproxeno, triclosán y ketoprofeno, cuyo valor fue menor a 1.0 ng L⁻¹.

7.16.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del método tuvieron valores entre 0.4 y 5 ng L⁻¹. Los analitos con menor límite de cuantificación fueron: ibuprofeno, clorofeno, triclosán y ketoprofeno, cuyo valor fue menor a 2 ng L⁻¹.

7.16.5. Recobro

El porcentaje de recobro se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (20 y 90 ng L⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el CV para cada concentración estudiada. El recobro a 20 y 90 ng L⁻¹ fue de 58-94% y de 54-97% con CVs menores al 10% en ambos niveles.

El recobro de ibuprofeno, clorofeno y triclosán fue mayor al 90% en ambos niveles de concentración, lo que indica que el método es selectivo para estos compuestos. El recobro del diclofenaco y la estrona a 20 ng L⁻¹ fue de 58 y 67% respectivamente, sin embargo, la precisión de ambos recobros fue aceptable (0.4 y 1.1% respectivamente).

7.17. Análisis de agua por SBSE-GC-MS: Validación del método

El análisis de agua por SBSE-GC-MS se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.17.1. Precisión

La precisión se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (1 y 10 ng mL⁻¹); se calculó el promedio, desviación estándar y CV para cada concentración estudiada (n=3). Los CVs de la precisión fueron menores al 15% en ambos niveles estudiados.

La precisión en la determinación de ibuprofeno, clorofeno, triclosán, ketoprofeno y bisfenol A tuvo coeficientes de variación menores al 10% en ambos niveles de concentración.

7.17.2. Linealidad

La linealidad se estudió en el intervalo de 1-10 ng mL⁻¹ (n=3). Los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.95 para todos los analitos, demostrando que el modelo lineal de calibración fue adecuado para la determinación de los PPCPs en agua.

7.17.3. Límites de detección

Los límites de detección del método tuvieron valores entre 0.09 y 0.35 ng mL⁻¹, demostrando que los analitos pueden detectarse en un intervalo entre 0.1-1.0 ng mL⁻¹.

7.17.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del método tuvieron valores entre 0.3 y 1.2 ng mL⁻¹. A excepción de la estrona, los analitos pueden cuantificarse a concentraciones menores a 1 ng mL⁻¹.

7.17.5. Recobro

El porcentaje de recobro se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (2 y 9 ng mL⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el CV para cada concentración estudiada. El recobro a 2 y 9 ng mL⁻¹ fue de 73-110% y de 72-110 % con CVs menores al 15%.

El recobro de ibuprofeno, naproxeno, triclosán, ketoprofeno y diclofenaco fue mayor al 90% en ambos niveles de concentración, lo que indica que el método es selectivo para estos compuestos.

7.18. Análisis de agua: SPME-GC-MS vs SBSE-GC-MS

El análisis de agua por SPME demostró mayor precisión con respecto a SBSE en la determinación de los PPCPs. Los CVs del método por SBSE fueron entre 70 y 75% mayores en comparación con SPME. La disminución de precisión en el método por SBSE podría asociarse con los pasos adicionales que involucran operación manual del analista.

El método por SPME tuvo mayor correlación lineal (R) con respecto a SBSE. En principio, se esperaba que la correlación lineal de la SBSE fuera mayor, debido al incremento en la concentración de los analitos. Sin embargo, el método por SPME tuvo mayor correlación lineal en órdenes de concentraciones menores.

El método por SPME-GC-MS demostró ser preciso en un intervalo de concentración entre 10 y 100 ng L⁻¹, lo cual es una característica deseable para el análisis de PPCPs a nivel de trazas y ultra trazas. Los límites de detección y límites de cuantificación fueron menores a 1.5 y 5 ng L⁻¹ respectivamente, demostrando que el método es sensible en la detección de los analitos. El método permite cuantificar PPCPs en el intervalo de 10-100 ng L⁻¹ con precisión y exactitud aceptables, ya que el recobro fue mayor al 80% para cinco PPCPs, a excepción del naproxeno, diclofenaco y estrona. Los CVs del recobro a 20 y 90 ng L⁻¹ fueron menores al 10%.

El método por SBSE-GC-MS demostró ser preciso en un intervalo de concentración entre 1 y 10 ng mL⁻¹. Los límites de detección y límites de cuantificación fueron menores a 0.35 y 1.2 ng mL⁻¹ respectivamente, demostrando que el método es sensible en la detección de los analitos. El método permite cuantificar PPCPs en el intervalo de 1-10 ng mL⁻¹ con precisión y exactitud aceptables, ya que el recobro fue mayor al 80% para seis PPCPs, a excepción del clorofeno y estrona. Los CVs del recobro a 2 y 9 ng mL⁻¹ fueron menores al 15%.

El resumen de la validación de ambos métodos se muestra en la **Cuadro 16**. La regresión lineal y las curvas de calibración de los métodos para análisis de agua se muestran en los **anexos 11.1 y 11.2**.

Cuadro 16. Análisis de agua por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS: Validación.

Método	Analito	Precisión (n=3)		Linealidad ng L ⁻¹	R	LD ng L ⁻¹	LC ng L ⁻¹	Recobro (n=3)			
		10 ng L ⁻¹	100 ng L ⁻¹					20 ng L ⁻¹		90 ng L ⁻¹	
		CV (%)	CV (%)					%	CV (%)	%	CV (%)
SPME-GC-MS	Ibuprofeno	6.8	2.5	10-100	0.9992	0.4	1.3	94	3.4	91	3.0
	Clorofeno	7.5	3.6	10-100	0.9999	0.4	1.3	91	2.3	96	2.4
	Naproxeno	4.1	2.6	10-100	0.9995	0.7	2.3	77	2.1	89	1.7
	Triclosán	4.4	4.1	10-100	0.9969	0.5	1.7	91	3.7	97	3.8
	Ketoprofeno	1.6	3.3	10-100	0.9994	0.1	0.4	86	4.1	96	8.7
	Diclofenaco	4.1	6.2	10-100	0.9863	1.2	4.0	58	0.4	54	2.5
	Bisfenol A	5.2	4.4	10-100	0.9994	1.4	4.7	93	1.4	84	3.5
	Estrona	2.6	1.2	10-100	0.9995	1.5	5.0	67	1.1	76	3.6
SBSE-GC-MS		1 ng mL ⁻¹	10 ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹				2 ng mL ⁻¹	9 ng mL ⁻¹		
		CV (%)	CV (%)				%	CV (%)	%	CV (%)	
	Ibuprofeno	3.4	9.7	1-10	0.9781	0.09	0.3	95	8.7	100	9.1
	Clorofeno	9.5	9.8	1-10	0.9736	0.15	0.5	82	8.2	72	12.3
	Naproxeno	6.7	15.0	1-10	0.9635	0.22	0.7	110	10.6	110	9.1
	Triclosán	9.1	8.6	1-10	0.9735	0.23	0.8	93	7.4	91	10.6
	Ketoprofeno	4.0	9.2	1-10	0.9556	0.14	0.5	109	11.4	101	12.7
	Diclofenaco	4.4	12.6	1-10	0.9701	0.16	0.5	93	10.9	110	12.0
Bisfenol A	7.9	9.7	1-10	0.9707	0.21	0.7	84	14.5	96	13.7	
Estrona	14.0	11.4	1-10	0.9719	0.35	1.2	73	7.0	102	7.2	

7.19. Determinación de PPCPs en muestras de agua: comparación de los métodos desarrollados vs otros métodos descritos

Desde los años 1990, se han desarrollado un gran número de métodos para el análisis de PPCPs en agua. A continuación se mencionan algunos métodos descritos para la determinación de PPCPs en muestras de agua, los cuales utilizan técnicas de preparación de muestra como extracción con líquidos presurizados (PLE), microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) y extracción en fase sólida (SPE).

Pintado-Herrera y colaboradores (2014) desarrollaron un método por PLE-SBSE-GC-MS para determinar triclosán en agua de estuario. El análisis de agua se efectuó con 100 mL de muestra y la detección fue mediante la formación de los derivados TBDMS con MTBSTFA. El límite de detección descrito para triclosán fue 5 ng L^{-1} (148).

Parrilla-Vázquez y colaboradores (2013) desarrollaron un método por DLLME-LC-MS/MS para determinar fármacos en agua residual. El análisis de agua se efectuó con 10 mL de muestra y la extracción de los analitos se llevó a cabo por DLLME asistida con ultrasonido. Los límites de detección para ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno fueron 60, 2 y 4 ng L^{-1} respectivamente (149).

Ferguson y colaboradores (2013) desarrollaron un método por SPE-LC-MS/MS para la determinación de PPCPs en agua del Lago Michigan. El análisis de agua se efectuó con 1000 mL de muestra y los límites de cuantificación para ibuprofeno y naproxeno fueron 5 y 20.5 ng L^{-1} respectivamente. No se informaron límites de detección ni cuantificación para triclosán (150).

Tran y colaboradores (2013) desarrollaron un método por SPE-LC-MS/MS para determinar PPCPs, disruptores endócrinos y edulcorantes en agua superficial, subterránea y residual. El análisis de agua se efectuó con 1000 mL de muestra y los límites de detección promedio para ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco y bisfenol A tuvieron intervalos de 2.5-5, 0.8-1.5, 1-2, 0.3-1 y $1-5 \text{ ng L}^{-1}$ respectivamente (151).

Klosterhaus y colaboradores (2013) validaron un método por SPE-LC-MS/MS para la determinación de ibuprofeno y naproxeno en muestras de agua superficial. El análisis de agua se efectuó con 200 mL de muestra. Sin embargo, los autores no informan límites de detección ni cuantificación (152).

7.20. Ventajas de los métodos desarrollados por SPME y SBSE

El análisis de agua por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS se efectúa con 10 mL de muestra y la preparación de la muestra disminuye de manera importante la manipulación del analista (SPME o SBSE). Ambos métodos utilizan técnicas de preparación de muestra selectivas que combinan la extracción y limpieza de la muestra en un solo paso.

El tiempo de la preparación de la muestra para ambos métodos es menor a 1.5 h, lo que permite obtener información cualitativa y cuantitativa en de manera rápida.

Los métodos desarrollados por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS tuvieron límites de detección menores a 1.5 ng L^{-1} y 0.35 ng mL^{-1} respectivamente. Ambos métodos tuvieron límites de detección comparables con los métodos descritos en la literatura.

La linealidad de los métodos desarrollados abarca intervalos de concentración comparables con los métodos publicados (ng L^{-1} y ng mL^{-1}), demostrando que es posible determinar PPCPs en los niveles de concentración requeridos para muestras ambientales complejas.

La determinación de los PPCPs por GC-MS incluye un paso de derivatización para detectar a los analitos. En el método por SPME, la formación de los derivados sililados requiere $100 \mu\text{L}$ de derivatizante (MTBSTFA), el cual puede reutilizarse hasta 25 veces. En el método por SBSE, se requieren $50 \mu\text{L}$ de derivatizante y el consumo de 1 mL de disolvente orgánico por análisis, lo que representa un menor costo de experimentación y menor impacto ecológico por consumo de reactivos.

Por lo anterior, los métodos desarrollados por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS son una alternativa analítica rápida, sencilla y sensible para la determinación simultánea de PPCPs polares y no polares en muestras de agua.

El **Cuadro 17** muestra la comparación de los métodos para análisis de PPCPs en agua.

Cuadro 17. Métodos para análisis de PPCPs en agua.

<i>Analito</i>	<i>Muestra</i>	<i>Volumen de muestra</i>	<i>Preparación de muestra</i>	<i>Detección</i>	<i>Derivatización</i>	<i>LD</i>	<i>LC</i>	<i>Linealidad</i>	<i>Referencia</i>
						ng L ⁻¹	ng L ⁻¹		
Ibuprofeno						0.4	1.3		
Naproxeno						0.4	1.3		
Clorofeno						0.7	2.3		
Triclosán	Agua	10 mL	SPME	GC-MS	MTBSTFA	0.5	1.7	10-100	ng L ⁻¹ -
Ketoprofeno						0.1	0.4		
Diclofenaco						1.2	4.0		
Bisfenol A						1.4	4.7		
Estrona						1.5	5		
						ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹		
Ibuprofeno						0.1	0.3		
Naproxeno						0.2	0.5		
Clorofeno						0.2	0.7		
Triclosán	Agua	10 mL	SBSE	GC-MS	MTBSTFA	0.2	0.8	1-10	ng mL ⁻¹ -
Ketoprofeno						0.1	0.5		
Diclofenaco						0.2	0.5		
Bisfenol A						0.2	0.7		
Estrona						0.3	1.2		
						ng L ⁻¹	ng L ⁻¹		
Triclosán	Agua estuario	100 mL	PLE-SBSE	CG/MS	MTBSTFA	5.0	-	20-20000	ng L ⁻¹ Pintado-Herrera et al, 2014
Ketoprofeno						4	10		
Ibuprofeno	Agua residual	10 mL	DLLME	LC-MS/MS	-	60	142	-	Parrilla-Vázquez et al, 2013
Naproxeno						2	10		
Ibuprofeno							5		
Naproxeno	Agua de lago	1000 mL	SPE	LC-MS/MS	-	-	2.5	-	ng L ⁻¹ Ferguson et al, 2013
Triclosán							-		
Ibuprofeno	Agua superficial,					2.5-5	4-10	10-1000	
Naproxeno	subterránea y	1000 mL	SPE	LC-MS/MS	-	0.8-1.5	1.5-5	5-1000	ng mL ⁻¹ Tran et al, 2013
Ketoprofeno	agua residual					1-2	2-5	5-1000	
Ibuprofeno	Agua superficial	200 mL	SPE	LC-MS/MS	-	-	-	-	Klosterhaus et al, 2013
Naproxeno									

7.21. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: Validación del método

El análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.21.1. Precisión

La precisión se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (1 y 10 ng g⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) para cada concentración estudiada (n=3). Los CVs de la precisión fueron menores al 10% en ambos niveles de concentración.

La precisión en la determinación del ibuprofeno, triclosán y la estrona tuvo coeficientes de variación menores al 5% en ambos niveles de concentración.

7.21.2. Linealidad

La linealidad se estudió en el intervalo de 1-10 ng g⁻¹ (n=3). Los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.97 para todos los analitos, demostrando que el modelo lineal de calibración fue adecuado para la determinación de los PPCPs en sedimento.

7.21.3. Límites de detección

Los límites de detección del método tuvieron valores entre 0.04 y 0.25 ng g⁻¹. Los analitos con menor límite de detección fueron: ibuprofeno, clorofeno, triclosán y ketoprofeno, cuyo valor fue menor o igual a 0.1 ng g⁻¹.

7.21.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del método tuvieron valores entre 0.1 y 0.8 ng g⁻¹, demostrando que los analitos pueden cuantificarse en un intervalo entre 0.1-1.0 ng g⁻¹.

7.21.5. Recobro

El porcentaje de recobro se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (2 y 9 ng g⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) para cada concentración estudiada. El recobro a 2 y 9 ng g⁻¹ fue de 56-91% y de 92-108% con CVs menores al 10% respectivamente.

El recobro de ibuprofeno, clorofeno, triclosán y bisfenol A fue mayor al 80% en ambos niveles de concentración, lo que indica que el método es selectivo para estos compuestos.

7.22. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS: Validación del método

El análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.22.1. Precisión

La precisión se evaluó a dos niveles de concentración en el orden de ng g^{-1} ; se calculó el promedio, la desviación estándar y el CV para cada concentración estudiada ($n=3$). Los CVs de la precisión fueron menores al 15% para los niveles de concentración estudiados.

La precisión en la determinación de clorofeno, naproxeno, ketoprofeno y diclofenaco tuvo coeficientes de variación menores al 10% en ambos niveles de concentración.

7.22.2. Linealidad

La linealidad se estudió en el intervalo de ng g^{-1} ($n=3$). Los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.96 para todos los analitos, demostrando que el modelo lineal de calibración fue adecuado para la determinación de los PPCPs en sedimento.

7.22.3. Límites de detección

Los límites de detección del método tuvieron valores entre 0.6 y 7.5 ng g^{-1} . Los analitos con menor límite de detección fueron: ibuprofeno, clorofeno, naproxeno y triclosán, cuyo valor fue menor a 2 ng g^{-1} .

7.22.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del método tuvieron valores entre 2 y 25 ng g^{-1} . Los analitos con menor límite de cuantificación fueron ibuprofeno, clorofeno, naproxeno y triclosán, cuyo valor fue menor a 5 ng g^{-1} .

7.22.5. Recobro

El porcentaje de recobro se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (bajo y alto); se calculó el promedio, la desviación estándar y el CV para cada concentración estudiada. El recobro en los niveles bajo y alto fue de 101-114% y de 96-101% respectivamente. A excepción del naproxeno y bisfenol A, los CVs del recobro fueron menores al 10% en ambos niveles de concentración.

El recobro de los PPCPs fue mayor al 95% en ambos niveles de concentración, lo que indica que el método es selectivo para los analitos.

7.23. Análisis de sedimento: UAE-SPME-GC-MS vs UAE-SBSE-GC-MS

El análisis de sedimento por SPME demostró mayor precisión con respecto a SBSE. Los CVs del método por SBSE fueron entre 50 y 140% mayores en comparación con SPME. A diferencia del análisis de agua, la disminución de precisión en SBSE podría asociarse con una operación manual, los pasos adicionales del método y el efecto de matriz del sedimento.

El método por SPME tuvo mayor correlación lineal (R) con respecto a SBSE. Sin embargo, el método por SPME tuvo mayor precisión en órdenes de concentraciones menores.

Las curvas de calibración en sedimento se compararon con las curvas de calibración en agua, observándose coeficientes de correlación (R) similares para cada preparación de muestra. Esta similitud, podría evidenciar que el desempeño de los métodos de agua y sedimento es similar, independientemente de la matriz estudiada.

El método por UAE-SPME-GC-MS demostró ser preciso en un intervalo de concentración entre 1 y 10 ng g⁻¹. Los límites de detección y límites de cuantificación fueron menores a 0.25 y 0.8 ng g⁻¹ respectivamente, demostrando que el método es sensible en la detección de los analitos. El método permite cuantificar PPCPs en el intervalo de 1-10 ng g⁻¹ con precisión y exactitud aceptables, ya que el recobro fue mayor al 80% para cuatro PPCPs, a excepción del naproxeno, el ketoprofeno, diclofenaco y la estrona. Los CVs del recobro a 2 y 9 ng g⁻¹ fueron menores al 10%.

El método por UAE-SBSE-GC-MS demostró ser preciso en el intervalo de concentración (ng g⁻¹) propuesto para cada analito. Los límites de detección y límites de cuantificación fueron menores a 8 y 25 ng g⁻¹ respectivamente, demostrando que el método es sensible en la detección de los analitos. El método permite cuantificar PPCPs en el intervalo de 5 y 600 ng g⁻¹ con precisión y exactitud aceptables, ya que el recobro fue mayor al 95% para todos los PPCPs. A excepción del naproxeno y bisfenol A, los CVs del recobro fueron menores al 10%.

El resumen de la validación de ambos métodos se muestra en el **Cuadro 18**. La regresión lineal y las curvas de calibración de los métodos para análisis de sedimento se muestran en los **anexos 11.1 y 11.2**.

Cuadro 18. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS: Validación.

Método	Analito	Precisión (n=3)		Linealidad	R	LD	LC	Recobro (n=3)							
		1 ng g ⁻¹						ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	2 ng g ⁻¹		9 ng g ⁻¹		
		CV (%)	CV (%)								%	CV (%)	%	CV (%)	
UAE-SPME-GC-MS	Ibuprofeno	3.5	1.1	1-10	0.9998	0.04	0.1	91	3.5	108	2.3				
	Clorofeno	6.4	2	1-10	0.9991	0.05	0.2	83	2.6	94	3.7				
	Naproxeno	7.5	3.2	1-10	0.9960	0.11	0.4	67	2.5	92	4.1				
	Triclosán	1.5	3.3	1-10	0.9903	0.10	0.3	91	6.6	99	5.4				
	Ketoprofeno	5.6	3.6	1-10	0.9972	0.10	0.3	56	1.5	107	3.8				
	Diclofenaco	5.2	4.4	1-10	0.9971	0.07	0.2	78	2.2	96	0.2				
	Bisfenol A	7.1	3.5	1-10	0.9726	0.25	0.8	84	0.4	92	0.7				
	Estrona	4.8	3.1	1-10	0.9776	0.22	0.7	68	0.1	95	0.4				
UAE-SBSE-GC-MS		Nivel bajo		Nivel alto		ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	Nivel bajo			Nivel alto			
		ng g ⁻¹	CV (%)	ng g ⁻¹	CV (%)				ng g ⁻¹	%	CV (%)	%	ng g ⁻¹	CV (%)	
	Ibuprofeno	5	11.5	50	7.1	5-50	0.9839	0.6	2.0	10	101	3.8	101	45	7.0
	Clorofeno	8	2.8	80	7.6	8-80	0.9872	0.9	3.0	15	111	6.9	100	67	8.1
	Naproxeno	10	2.7	100	9.9	10-100	0.9673	1.2	4.0	20	104	1.7	100	90	17.8
	Triclosán	10	10.1	100	5.8	10-100	0.9893	1.2	4.0	20	110	10.0	100	90	7.2
	Ketoprofeno	5	6.9	50	5.3	5-50	0.9917	6.0	20.0	10	113	7.5	98	45	6.5
	Diclofenaco	60	6.7	600	3.6	60-600	0.9830	7.5	25.0	120	101	5.7	98	540	8.8
	Bisfenol A	25	4.2	250	10.3	25-250	0.9769	3.0	10.0	50	114	2.9	96	225	10.8
Estrona	50	4.2	500	11.4	50-500	0.9790	6.0	20.0	100	105	3.9	98	450	9.5	

7.24. Determinación de PPCPs en muestras de sedimento: comparación de los métodos desarrollados vs otros métodos descritos

Los métodos desarrollados se compararon con algunas metodologías descritas para análisis de PPCPs en sedimento y suelo. Los métodos publicados utilizan técnicas de preparación de muestra como extracción con líquidos presurizados (PLE), extracción asistida con ultrasonido (UAE), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) y extracción en fase sólida (SPE).

Pintado-Herrera y colaboradores (2016) desarrollaron un método por PLE-GC-MS/MS para determinar contaminantes emergentes (incluyendo triclosán y estrona) en sedimento costero. El análisis de sedimento se efectuó con 2 g de muestra, la extracción de los analitos se realizó con diclorometano y la detección fue mediante la formación de los derivados TBDMS con MTBSTFA. El límite de detección del triclosán y la estrona fueron 0.07 y 0.02 ng g⁻¹ respectivamente (17).

En 2014, los mismos autores desarrollaron un método por PLE-SBSE-GC-MS/MS para determinar triclosán en sedimento de estuario. El análisis se efectuó con 4 g de sedimento, la extracción de los analitos se realizó con diclorometano y la detección fue mediante la formación de los derivados con MTBSTFA. El límite de detección para triclosán fue 0.1 ng g⁻¹ (148).

Salgueiro-González y colaboradores (2014) desarrollaron un método por PLE-LC-ESI-MS/MS para determinar disruptores endócrinos en sedimento marino. El análisis de sedimento se efectuó con 0.5 g de muestra y la extracción de los analitos se realizó con metanol. Los límites de detección y cuantificación para el bisfenol A fueron 1.0 y 2.86 ng g⁻¹ (153).

Llorca-Pórcel y colaboradores (2009) desarrollaron un método por UAE-SBSE-GC-MS para la determinación de bisfenol A en muestras de suelo. El análisis de suelo se efectuó con 1 g de muestra, la extracción de los analitos se realizó con metanol y la detección fue mediante la formación de los derivados con MTBSTFA. El límite de detección descrito para bisfenol A fue 1.7 ng g⁻¹ (134).

Klosterhaus y colaboradores (2009) validaron un método por SPE-LC-MS/MS para la determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en muestras de sedimento. El análisis de sedimento se efectuó con 1 g de muestra y la extracción de los analitos se realizó con acetonitrilo. Sin embargo, los autores no describieron límites de detección ni cuantificación e indican el método de calibrado sin datos numéricos (152).

7.25. Ventajas de los métodos desarrollados por SPME y SBSE

El análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS se efectúa con 100 mg de muestra, la extracción de los analitos (UAE) se realiza con una disolución acuosa (ácido fórmico al 0.1% en agua:metanol 99:1 V/V) y la preparación de muestra disminuye de manera importante la manipulación del analista (SPME o SBSE).

Al igual que los métodos para análisis de agua, el tiempo de la preparación de la muestra es menor a 1.5 h.

Los métodos desarrollados por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS tuvieron límites de detección menores a 0.3 y 8 ng g⁻¹, respectivamente. Ambos métodos tuvieron límites de detección comparables con los métodos descritos en la literatura, con valores en el orden de ng g⁻¹.

La linealidad de los métodos desarrollados abarca intervalos de concentración comparables con los métodos publicados (ng g^{-1}), demostrando que es factible determinar PPCPs en los niveles de concentración requeridos para muestras ambientales.

En algunas publicaciones se enfatiza la preparación y construcción de la curva de calibración, sin embargo, no se indican las concentraciones de la calibración. Debido a la magnitud de los datos cuantitativos, se intuyó que las concentraciones de PPCPs se encuentran en un intervalo entre 10 y 100 ng g^{-1} .

Al igual que el método para análisis de agua, la SPME requiere un volumen de 100 μL de MTBSTFA, el cual puede reutilizarse (25 veces). En ese mismo contexto, la SBSE requiere 50 μL de derivatizante y 1 mL de disolvente orgánico por análisis.

Por lo anterior, métodos desarrollados por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS son una alternativa analítica rápida, sencilla y sensible para la determinación simultánea de PPCPs polares y no polares en muestras de sedimento.

El **Cuadro 19** muestra la comparación de los métodos para análisis de PPCPs en sedimento.

Cuadro 19. Métodos para análisis de PPCPs en sedimento.

<i>Analito</i>	<i>Muestra</i>	<i>Cantidad de muestra</i>	<i>Preparación de muestra</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Detección</i>	<i>Derivatización</i>	<i>LD</i>	<i>LC</i>	<i>Linealidad</i>	<i>Referencia</i>
							ng g ⁻¹	ng g ⁻¹		
Ibuprofeno							0.04	0.1		
Naproxeno							0.05	0.2		
Clorofeno							0.11	0.4		
Triclosán	Sedimento de río	0.1 g	UAE-SPME	Ácido fórmico al 0.1% en agua:metanol 99:1 V/V	GC-MS	MTBSTFA	0.1	0.3	1-10 ng g ⁻¹	-
Ketoprofeno							0.1	0.3		
Diclofenaco							0.07	0.2		
Bisfenol A							0.25	0.8		
Estrona							0.22	0.7		
Ibuprofeno							0.6	2	5-50	
Naproxeno							0.9	3	8-80	
Clorofeno							1.2	4	10-100	
Triclosán	Sedimento de lago	0.1 g	UAE-SBSE	Ácido fórmico al 0.1% en agua:metanol 99:1 V/V	GC-MS	MTBSTFA	1.2	4	10-100	ng g ⁻¹
Ketoprofeno							6.0	20	5-50	-
Diclofenaco							7.5	25	60-600	
Bisfenol A							3.0	10	25-250	
Estrona							6.0	20	50-500	
Triclosán	Sedimento costero	2 g	PLE	Diclorometano	GC-MS/MS	MTBSTFA	0.07	0.22	-	Pintado-Herrera et al, 2016
Estrona							0.02	0.08		
Bisfenol A	Sedimento marino	0.5 g	SPLE	Metanol	LC-ESI-MS/MS	-	1.0	2.86	3-2000 ng g ⁻¹	Salgueiro-González et al, 2014
Triclosán	Sedimento estuario	4 g	PLE-SBSE	Diclorometano	CG/MS	MTBSTFA	0.1	-	20-2500 ng g ⁻¹	Pintado-Herrera et al, 2014
Ibuprofeno	Sedimento	1 g	SPE	Acetonitrilo	LC-MS/MS	-	-	-	-	Klosterhaus et al, 2013
Naproxeno										
Triclosán										
Bisfenol A	Suelo	1 g	UAE-SBSE	Metanol	GC-MS	Anhídrido acético	1.7	-	5- 500 µg kg ⁻¹	Llorca-Pórcel et al, 2009

7.26. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS: Validación del método

El análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.26.1. Precisión

La precisión se evaluó a dos niveles de concentración para cada los analito (1 y 10 ng g⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) para cada concentración estudiada (n=3). Los CVs de la precisión fueron menores al 15% en ambos niveles estudiados.

La precisión en la determinación del ibuprofeno, naproxeno y triclosán tuvo coeficientes de variación menores al 5% en ambos niveles de concentración.

7.26.2. Linealidad

La linealidad se estudió en el intervalo de 1-10 ng g⁻¹. Los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.97 para todos los analitos, demostrando que el modelo lineal de calibración fue adecuado para la determinación de los PPCPs en pescado.

7.26.3. Límites de detección

Los límites de detección del método tuvieron valores entre 0.01 y 0.23 ng g⁻¹, demostrando que los analitos pueden detectarse en un intervalo entre 0.01-0.5 ng g⁻¹.

7.26.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del método tuvieron valores entre 0.04 y 0.8 ng g⁻¹. A excepción del clorofeno y la estrona, los analitos tuvieron límites de detección menores a 0.5 ng g⁻¹.

7.26.5. Recobro

El porcentaje de recobro se evaluó a dos niveles de concentración para cada analito (2 y 9 ng g⁻¹); se calculó el promedio, la desviación estándar y el CV para cada concentración. El recobro a 2 y 9 ng g⁻¹ fue de 109-120% y de 87-102% con CVs menores al 15% respectivamente. Por lo anterior, se demostró que el método desarrollado es selectivo para todos los analitos.

7.27. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS: Validación del método

El análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.27.1. Precisión

La precisión se evaluó a dos niveles de concentración en el orden de ng g^{-1} ; se calculó el promedio, desviación estándar y el CV para cada concentración estudiada ($n=3$). A excepción del ketoprofeno y diclofenaco, los CVs de la precisión fueron menores al 20% para los niveles de concentración estudiados.

La precisión en la determinación del clorofeno, triclosán y la estrona tuvo coeficientes de variación menores al 10% en ambos niveles de concentración.

7.27.2. Linealidad

La linealidad se estudió en el intervalo de ng g^{-1} ($n=3$). A excepción del bisfenol A, los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.97 para los analitos, demostrando que el modelo lineal de calibración fue adecuado para la determinación de los PPCPs en pescado.

7.27.3. Límites de detección

Los límites de detección del método tuvieron valores entre 0.04 y 1 ng g^{-1} , demostrando que los analitos pueden detectarse en un intervalo entre 0.1-1.0 ng g^{-1} .

7.27.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del método tuvieron valores entre 0.12 y 3.5 ng g^{-1} . A excepción del ketoprofeno, diclofenaco y la estrona, los analitos pueden cuantificarse a concentraciones menores a 1 ng g^{-1} .

7.27.5. Recobro

El porcentaje de recobro se evaluó a dos niveles de concentración (bajo y alto) para cada analito; se calculó el promedio, la desviación estándar y el CV para cada concentración. El recobro en los niveles bajo y alto fue de 83-107% y de 66-100% respectivamente. A excepción del ibuprofeno y la estrona, los CVs del recobro fueron menores al 10% en ambos niveles de concentración.

El recobro de los PPCPs fue mayor al 80% en ambos niveles de concentración, a excepción del bisfenol A y la estrona.

7.28. Análisis de pescado: UAE-SPME-GC-MS vs UAE-SBSE-GC-MS

El análisis de pescado por SPME demostró mayor precisión y linealidad con respecto a SBSE. A excepción del clorofeno y la estrona, los CVs del método por SBSE fueron entre 13 y 2260% mayores en comparación con SPME, evidenciando un posible efecto de matriz que influye en la incertidumbre.

El método por UAE-SPME-GC-MS demostró ser preciso en un intervalo de concentración entre 1 y 10 ng g^{-1} . Los límites de detección y límites de cuantificación fueron menores a 0.3 ng g^{-1} y 0.8 ng g^{-1} respectivamente, demostrando que el método es sensible en la detección de los analitos. El método permite cuantificar PPCPs en el intervalo de 1-10 ng g^{-1} con precisión y exactitud aceptables, ya que el recobro fue mayor al 90% para siete de los PPCPs, a excepción del bisfenol A. Los CVs del recobro a 2 y 9 ng g^{-1} fueron menores al 15%.

El método por UAE-SBSE-GC-MS demostró ser preciso en el intervalo de concentración (ng g^{-1}) propuesto para cada analito. Los límites de detección y límites de cuantificación fueron menores a 1 ng g^{-1} y 3.5 ng g^{-1} respectivamente, demostrando que el método es sensible en la detección de los analitos. El método permite cuantificar PPCPs en el intervalo de 0.5 y 30 ng g^{-1} con precisión y exactitud aceptables, ya que el recobro fue mayor al 80% para siete PPCPs, a excepción del bisfenol A. Los CVs del recobro en los niveles bajo y alto fueron menores al 20%.

El resumen de la validación de ambos métodos se muestra en el **Cuadro 20**. La regresión lineal y las curvas de calibración de los métodos para análisis de pescado se muestran en los **anexos 11.1 y 11.2**.

Cuadro 20. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS: Validación.

Método	Análito	Precisión (n=3)		Linealidad	R	LD	LC	Recobro (n=3)							
		1 ng g ⁻¹	10 ng g ⁻¹					2 ng g ⁻¹		9 ng g ⁻¹					
		CV (%)	CV (%)					%	CV (%)	%	CV (%)				
UAE-SPME-GC-MS	Ibuprofeno	1.2	1.6	1-10	0.9991	0.04	0.10	116	0.7	102	3.3				
	Clorofeno	13.0	5.3	1-10	0.9958	0.23	0.80	112	3.5	97	1.4				
	Naproxeno	3.2	0.5	1-10	0.9993	0.12	0.40	115	0.9	95	2.8				
	Triclosán	0.4	0.8	1-10	0.9909	0.01	0.04	120	1.3	101	1.4				
	Ketoprofeno	0.8	5.2	1-10	0.9953	0.05	0.20	114	1.9	100	4.8				
	Diclofenaco	1.4	10.4	1-10	0.9977	0.05	0.20	118	3.5	103	2.1				
	Bisfenol A	8.0	2.8	1-10	0.9778	0.03	0.10	110	0.7	87	4.7				
	Estrona	9.7	0.5	1-10	0.9789	0.23	0.80	109	11.0	98	8.3				
UAE-SBSE-GC-MS		Nivel bajo		Nivel alto		ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	Nivel bajo			Nivel alto			
		ng g ⁻¹	CV (%)	ng g ⁻¹	CV (%)				ng g ⁻¹	%	CV (%)	ng g ⁻¹	%	CV (%)	
	Ibuprofeno	0.5	15.4	2.5	3.8	0.5-2.5	0.9800	0.10	0.35	0.7	91	2.0	2.3	94	10.9
	Clorofeno	0.5	6.1	2.5	4.2	0.5-2.5	0.9729	0.15	0.50	0.7	91	8.1	2.3	85	8.6
	Naproxeno	0.5	13.0	5	6.1	0.5-5	0.9738	0.04	0.12	1	87	4.8	4.5	91	2.4
	Triclosán	0.5	8.0	5	3.6	0.5-5	0.9829	0.11	0.35	1	87	6.6	4.5	93	2.7
	Ketoprofeno	5	18.9	25	5.9	5-25	0.9861	0.90	3.00	7	96	7.6	23	100	1.3
	Diclofenaco	5	20.3	25	33.5	5-25	0.9872	1.00	3.50	7	83	8.2	23	93	4.9
Bisfenol A	1	12.4	10	5.3	1-10	0.9327	0.10	0.32	2	107	9.3	9	66	6.7	
Estrona	5	0.5	30	2.3	5-30	0.9946	0.31	1.02	8	99	19.7	27	71	0.4	

7.29. Determinación de PPCPs en muestras de pescado: comparación de los métodos desarrollados vs otros métodos descritos

Los métodos desarrollados se compararon con algunas metodologías descritas para análisis de PPCPs en pescado. Los métodos publicados utilizan técnicas de preparación de muestra como extracción con líquidos presurizados (PLE), microextracción en fase sólida *in vivo* (*in vivo*-SPME) y extracción en fase sólida (SPE).

Rüdel y colaboradores (2013) desarrollaron un método por PLE-GC-MS para determinar triclosán en músculo de pescado. El análisis de pescado se efectuó con 1-2.5 g de muestra, la extracción de los analitos se realizó con una mezcla de diclorometano/ciclohexano y la detección fue mediante la formación de los derivados TBDMS con MTBSTFA (154).

Zhang y colaboradores (2012) aplicaron un método de muestreo por *in vivo*-SPME-LC-MS para determinar ibuprofeno, naproxeno y diclofenaco en pescado. El análisis de pescado se efectuó directamente en el pez vivo, exponiendo la fibra de SPME en el tejido. El método detalla la calibración en tejido del pescado. Sin embargo, únicamente se presentan datos de los factores de bioacumulación en pescados (111).

Subedi y colaboradores (2011) desarrollaron un método por PLE-GC-MS/MS para determinar triclosán en tejido de pescado. El análisis de pescado se efectuó con 2.5 g de muestra, la extracción de los analitos se realizó con una mezcla de diclorometano/acetato de etilo y la detección fue mediante la formación de los trimetilsilil-derivados (TMS) con N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA). El límite de detección para el triclosán fue 3.4 ng g^{-1} (155).

Mottaleb y colaboradores (2009) desarrollaron un método por SPE-GC-MS y SPE-GC-MS/MSMS/MS para la determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en tejido de pescado. El análisis de pescado se efectuó con 1 g de muestra, la extracción de los analitos se realiza con acetona y la detección fue mediante la formación de los derivados (TMS) con MSTFA. El límite de detección para el triclosán fue 3.4 ng g^{-1} (156).

7.30. Ventajas de los métodos desarrollados por SPME y SBSE

El método desarrollado por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS se efectúa con 50 mg de músculo de pescado fresco, la extracción de los analitos se realiza con una disolución acuosa (NaOH al 0.1% en agua:acetona 90:10 V/V) y la preparación de muestra disminuye de manera importante la manipulación del analista (SPME o SBSE).

Al igual que los métodos para análisis de agua y sedimento, el tiempo de la preparación de la muestra es menor a 1.5 h.

Los métodos desarrollados por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS tuvieron límites de detección menores a 0.3 y 1 ng g^{-1} , respectivamente. Ambos métodos tuvieron límites de detección comparables con los métodos descritos en la literatura, con valores en el orden de ng g^{-1} .

La linealidad de los métodos desarrollados abarca intervalos de concentración comparables con los métodos publicados (ng g^{-1}), demostrando que es factible determinar PPCPs en los niveles de concentración requeridos para muestras ambientales.

En algunos trabajos se enfatiza la preparación y construcción de la curva de calibración, sin embargo, no se indicaron las concentraciones de la calibración; se intuyó que las concentraciones de PPCPs se encuentran en un intervalo entre 10 y 100 ng g⁻¹.

El análisis de pescado por SPME o SBSE demostró un buen desempeño analítico y de manera adicional un menor costo de análisis y consumo de reactivos.

Los métodos desarrollados por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS son una alternativa analítica rápida, sencilla y sensible para determinar simultáneamente PPCPs polares y no polares en muestras de pescado con bajo contenido graso como tilapia y carpa.

El **Cuadro 21** muestra la comparación de los métodos para análisis de PPCPs en pescado.

Cuadro 21. Métodos para análisis de PPCPs en pescado.

<i>Analito</i>	<i>Muestra</i>	<i>Cantidad de muestra</i>	<i>Preparación de muestra</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Detección</i>	<i>Derivatización</i>	<i>LD</i>	<i>LC</i>	<i>Linealidad</i>	<i>Referencia</i>
							ng g ⁻¹	ng g ⁻¹		
Ibuprofeno	Músculo de pescado	50 mg	UAE-SPME	NaOH al 0.1% en agua:metanol 90:10 V/V	GC-MS	MTBSTFA	0.04	0.1	1-10 ng g ⁻¹	-
Naproxeno							0.23	0.8		
Clorofeno							0.12	0.4		
Triclosán							0.01	0.04		
Ketoprofeno							0.05	0.2		
Diclofenaco							0.05	0.2		
Bisfenol A							0.03	0.1		
Estrona							0.23	0.8		
Ibuprofeno	Músculo de pescado	50 mg	UAE-SBSE	NaOH al 0.1% en agua:metanol 90:10 V/V	GC-MS	MTBSTFA	0.1	0.35	0.5-2.5	-
Naproxeno							0.15	0.5	0.5-2.5	
Clorofeno							0.04	0.12	0.5-5	
Triclosán							0.11	0.35	0.5-5	
Ketoprofeno							0.9	3	5-25	
Diclofenaco							1	3.5	5-25	
Bisfenol A							0.1	0.32	1-10	
Estrona							0.31	1.02	5-30	
Triclosán	Músculo de pescado	1000-2500 mg	PLE	Diclorometano/ciclohexano	GC-MS	MTBSTFA	-	3-50	50-2000 µg kg ⁻¹	Rüdel et al, 2013
Ibuprofeno Naproxeno Diclofenaco	Pescado	-	<i>in vivo</i> -SPME	-	LC-MS	-	-	-	-	Zhang et al, 2012
Triclosán	Tejido pescado	2500 mg	PLE	Diclorometano/acetato de etilo	GC-MS/MS	MSTFA	3.4	-	-	Subedi et al, 2011
Triclosán	Tejido pescado	1000 mg	SPE	Acetona	GC-MS GC-MS/MS	MSTFA	5.5	-	-	Mottaleb et al, 2009

7.31. Validación del sistema cromatográfico para la determinación de PPCPs

El sistema cromatográfico (GC-MS) se validó con la precisión, linealidad, límites de detección, límites de cuantificación y recobro.

7.31.1. Precisión

El sistema GC-MS tuvo precisión aceptable en el orden de mg L^{-1} . Para todos los PPCPs, los CVs de la precisión fueron menores al 15% en los niveles de concentración estudiados. A excepción del clorofeno y la estrona, la determinación los PPCPs tuvo coeficientes de variación menores al 10% en ambos niveles de concentración.

7.31.2. Linealidad

La linealidad del sistema fue aceptable en el intervalo de mg L^{-1} . Los coeficientes de correlación (R) fueron mayores a 0.97 para todos los analitos.

7.31.3. Límites de detección

Los límites de detección del sistema tuvieron valores entre 0.05 y 0.6 mg L^{-1} . A excepción del diclofenaco, los límites de detección de los PPCPs fueron menores a 0.5 mg L^{-1} .

7.31.4. Límites de cuantificación

Los límites de cuantificación del sistema tuvieron valores entre 0.15 y 1.8 mg L^{-1} , demostrando que los analitos pueden cuantificarse en un intervalo entre 0.1-2.0 ng L^{-1} .

7.31.5. Recobro

El porcentaje de recobro en los niveles bajo y alto fue 92-108% y 95-102% respectivamente. Los CVs del recobro fueron menores al 15% en ambos niveles de concentración.

Los resultados del recobro demostraron que el sistema cromatográfico está habilitado para identificar y cuantificar a los derivados TBDMS de los analitos.

El resumen de la validación del sistema cromatográfico se muestra en la **Cuadro 22**. La regresión lineal y las curvas de calibración de la validación del sistema se muestran en los **anexos 11.1 y 11.2**.

Cuadro 22. Validación del sistema para la determinación de PPCPs por GC-MS.

<i>Analito</i>	<i>Precisión (n=3)</i>				<i>Linealidad</i> mg L ⁻¹	<i>R</i>	<i>LD</i> mg L ⁻¹	<i>LC</i> mg L ⁻¹	<i>Recobro (n=3)</i>					
	<i>Nivel bajo</i>		<i>Nivel alto</i>						<i>Nivel bajo</i>			<i>Nivel alto</i>		
	CV (%)	mg L ⁻¹	CV (%)	mg L ⁻¹					mg L ⁻¹	%	CV (%)	mg L ⁻¹	%	CV (%)
Ibuprofeno	3.6	0.2	4.0	1.2	0.2-1.2	0.9943	0.05	0.15	0.3	93	7.3	1.1	100	5.6
Clorofeno	6.4	0.3	11.2	1.8	0.3-1.8	0.9834	0.07	0.23	0.5	101	9.4	1.6	95	5.8
Naproxeno	7.1	0.5	5.1	2.5	0.5-2.5	0.9943	0.09	0.30	0.7	108	2.8	2.3	97	3.1
Triclosán	9.6	0.5	7.7	2.5	0.5-2.5	0.9904	0.09	0.30	0.7	102	6.8	2.3	99	7.5
Ketoprofeno	7.7	2.0	4.7	12.0	2-12	0.9953	0.45	1.50	3.0	101	6.4	11.0	95	2.4
Diclofenaco	9.1	2.5	3.6	15.0	2.5-15	0.9950	0.54	1.80	3.5	104	11.5	13.7	98	6.4
Bisfenol A	8.1	1.0	5.6	6.0	1-6	0.9778	0.23	0.75	1.5	105	7.1	5.5	102	14.2
Estrona	10.5	2.0	3.7	12.0	2-12	0.9928	0.45	1.50	3.0	92	7.9	11.0	99	7.4

7.32. Aplicación de los métodos desarrollados en el análisis de muestras de agua, sedimento y pescado

Los métodos desarrollados se aplicaron en el análisis de diferentes muestras de agua, sedimento y pescado. El desempeño analítico de los métodos fue aceptable, demostrando eficacia y robustez entre las muestras, las cuales incluyeron: 29 muestras de agua, 9 muestras de sedimento y 2 muestras de pescado.

7.32.1. Análisis de agua y sedimento del Río Tula (año 2015)

7.32.1.1. Agua

El análisis de agua del Río Tula comprendió 10 muestras de agua: 5 de temporada de lluvias y 5 de temporada seca. Las muestras presentaron características físicas y químicas diferentes, lo que implicó mayor atención en el pretratamiento de la muestra para su análisis por SPME-GC-MS. Todas las muestras de agua presentaron sólidos en suspensión y distinta coloración, provocando dificultades durante el filtrado con membrana de 0.45 μm . Pese a las dificultades en el tratamiento de muestra, el método por SPME-GC-MS tuvo un desempeño aceptable durante la calibración y análisis de las muestras, permitiendo realizar alrededor de 60 análisis secuenciales con una sola fibra de SPME.

7.32.1.1.1. Muestras de temporada de lluvias

Las muestras de temporada de lluvias se analizaron por SPME-GC-MS, identificándose ibuprofeno y naproxeno en todas las muestras. La concentración de ibuprofeno y naproxeno en las muestras fue de 96-106 ng L^{-1} y de 178-523 ng L^{-1} respectivamente. La determinación de ibuprofeno y naproxeno en el agua de temporada de lluvias se muestra en la **Fig. 37**. La **Fig. 38** muestra el cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de la muestra WH1 por SPME-GC-MS.

7.32.1.1.2. Muestras de temporada seca

Las muestras de temporada seca se analizaron por SPME-GC-MS, identificándose ibuprofeno, naproxeno y triclosán en todas las muestras. La concentración de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en las muestras fue de 59-100 ng L^{-1} , 101-246 ng L^{-1} y 28-31 ng L^{-1} respectivamente. La determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en el agua de temporada seca se muestra en la **Fig. 39**. La **Fig. 40** muestra el cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de la muestra WH1 por SPME-GC-MS.

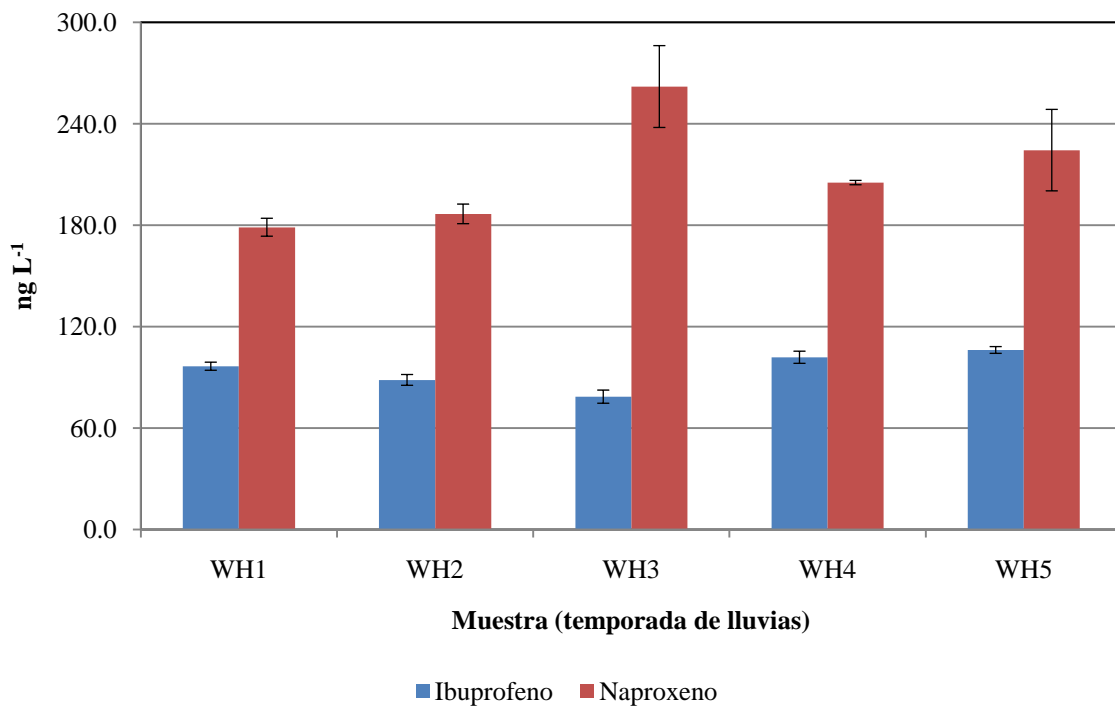


Figura 37. Determinación de ibuprofeno y naproxeno por SPME-GC-MS en agua del Río Tula (temporada de lluvias).

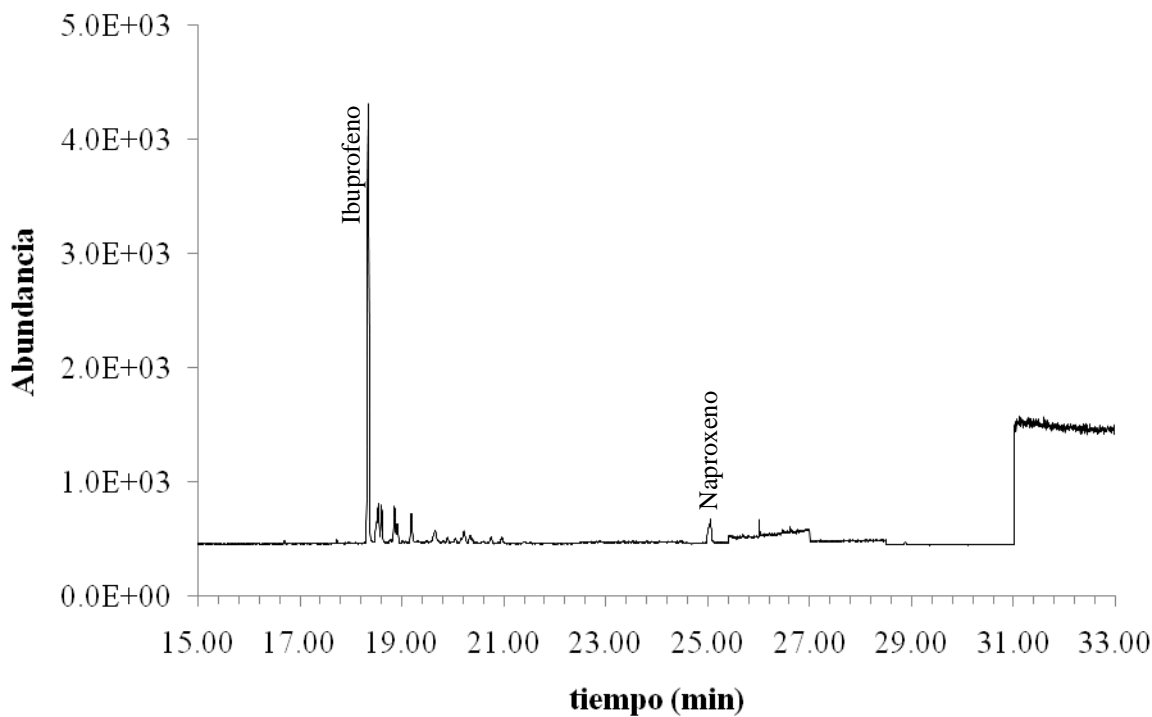


Figura 38. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH1** (temporada de lluvias).

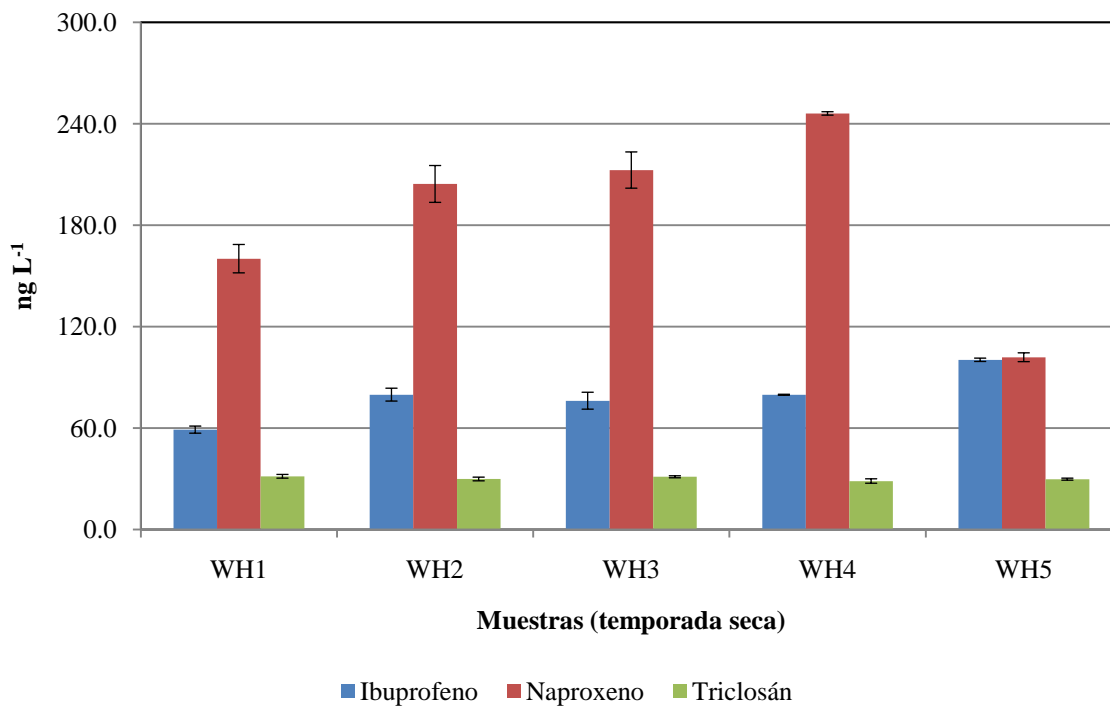


Figura 39. Determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán por SPME-GC-MS en agua del Río Tula (temporada seca).

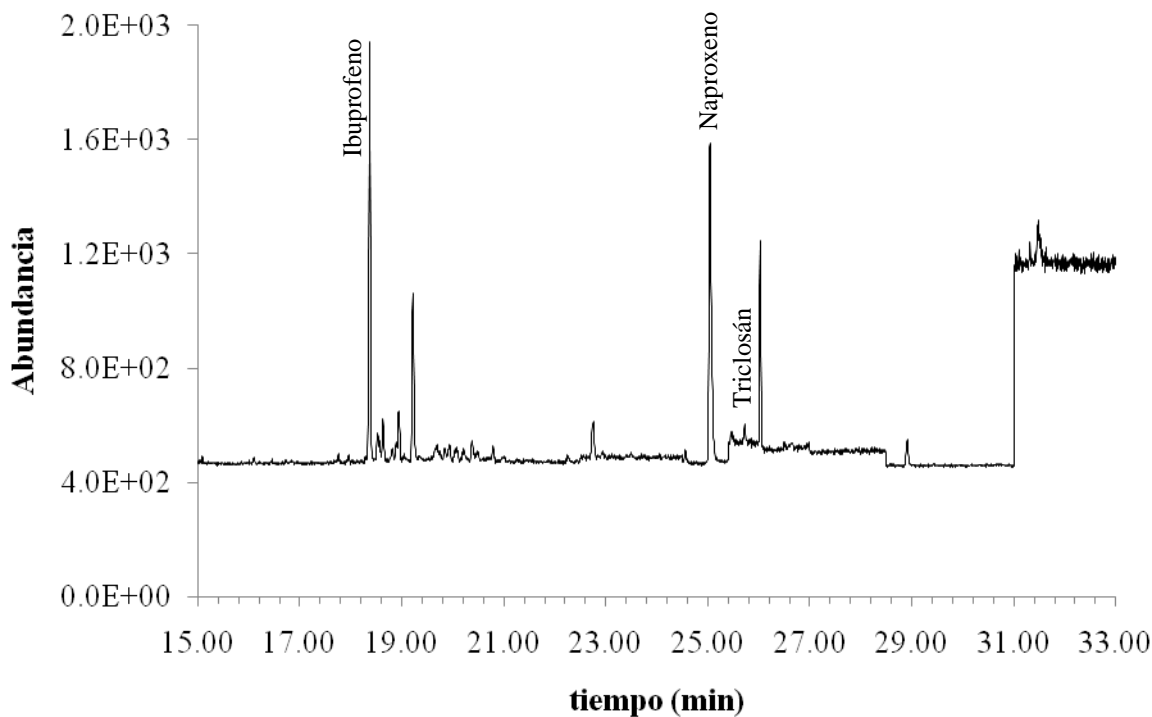


Figura 40. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH1** (temporada seca)

Los resultados del análisis de agua se compararon, esperando observar el efecto de dilución por la temporada de lluvias. Sin embargo, se determinaron concentraciones de ibuprofeno y naproxeno similares en ambas temporadas. Por lo anterior, se puede argumentar que la descarga de agua urbana hacia el Río Tula varía según la temporada anual, de tal manera que el efecto de dilución ocasionado por las lluvias no pudo apreciarse entre los grupos de muestras.

Por otra parte, también se determinó triclosán en las muestras de temporada seca, sin embargo, los valores cuantitativos entre las muestras fueron muy similares, evidenciado una posible contaminación cruzada, ya que los frascos de vidrio del muestreo se lavaron con agua y jabón. La presencia de triclosán por contaminación cruzada evidenció la importancia del lavado y tratamiento del material de vidrio para evitar falsos positivos en la determinación de contaminantes. La determinación de triclosán en el orden de ng L^{-1} , comprobó que el método desarrollado para la determinación de PPCPs es sensible y preciso.

En ambas temporadas, la concentración ibuprofeno y naproxeno fue de $60\text{-}120 \text{ ng L}^{-1}$ y de $150\text{-}300 \text{ ng L}^{-1}$ respectivamente.

El naproxeno se detectó en mayor concentración con respecto a ibuprofeno, lo cual podría estar asociado a un mayor consumo y desecho de dicho fármaco. La concentración de ibuprofeno, naproxeno y triclosán coincide con los datos reportados por Gibson y colaboradores (2007), quienes desarrollaron un método para la determinación simultánea de PPCPs en agua residual del Valle de Tula. La concentración promedio de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en agua residual fue 4.8 , 15.6 y $1.3 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

El análisis de agua del Río Tula demostró la misma tendencia en función de la concentración, donde el triclosán tuvo la menor concentración, seguido de ibuprofeno y naproxeno respectivamente. Sin embargo, la concentración de PPCPs determinada en las muestras del Río Tula es un orden de concentración menor en comparación con el análisis de agua residual, lo cual podría indicar que el agua residual que se descarga al Río Tula está sujeta al efecto de dilución por vertientes menores del río, aunado a los procesos de sorción de contaminantes en suelo y sedimento (75).

7.32.1.2. Sedimento de temporada seca

Las muestras de temporada seca se analizaron por UAE-SPME-GC-MS, identificándose ibuprofeno, en todas las muestras. También se identificó naproxeno en las muestras SH1-SH4 y triclosán en SH2, SH3 y SH5. La concentración de ibuprofeno en las muestras de sedimento analizadas fue menor al límite de detección del método. La concentración de naproxeno y triclosán en las muestras de sedimento fue de $1.8\text{-}3.7 \text{ ng g}^{-1}$ y $1.0\text{-}1.5 \text{ ng g}^{-1}$ y respectivamente. La **Fig. 41** muestra el cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de la muestra SH3 por UAE-SPME-GC-MS.

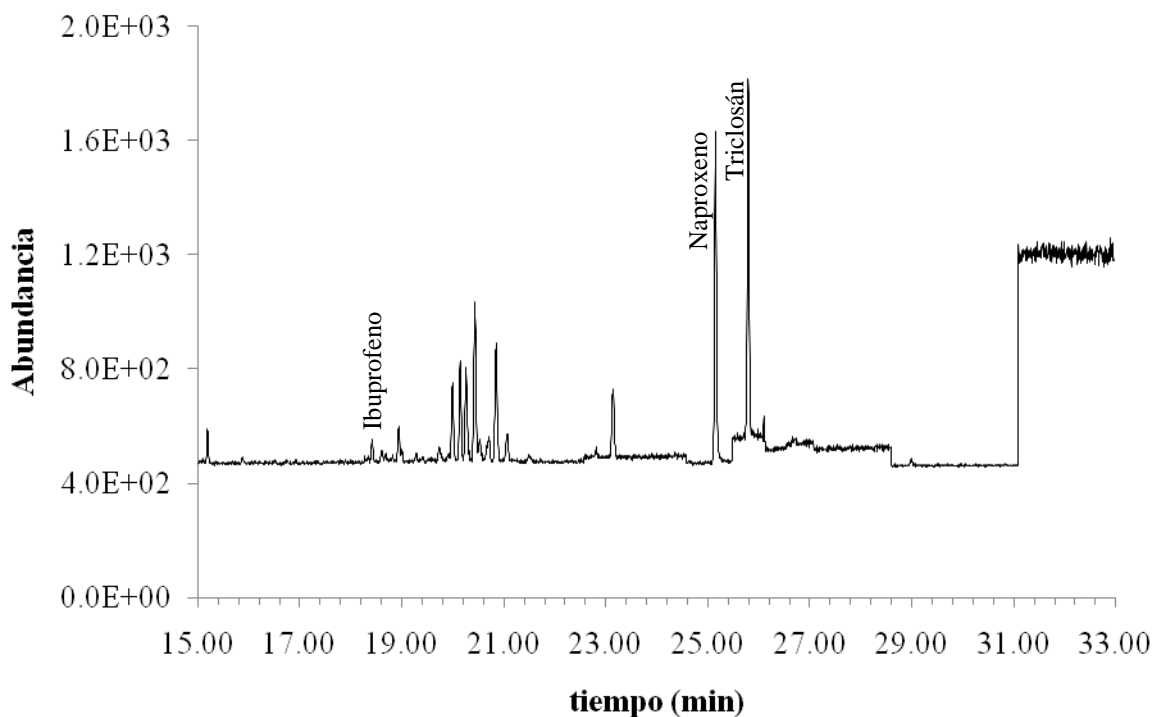


Figura 41. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SH3** (temporada seca)

7.32.1.3. Distribución de los PPCPs en las muestras de agua y sedimento

La cuantificación de PPCPs en agua y sedimento se graficó para comparar la magnitud de concentración en ambas matrices. El naproxeno y el triclosán se determinaron en mayor concentración en el sedimento, evidenciando mayor distribución hacia dicha matriz en comparación con el ibuprofeno. El naproxeno y triclosán son compuestos menos polares ya que su estructura química está conformada por dos anillos aromáticos, mientras que el ibuprofeno sólo presenta un anillo. Esta diferencia provoca que naproxeno y triclosán interaccionen preferentemente con la materia orgánica del sedimento. Las constantes de distribución ($K_{o/w}$) de ibuprofeno, naproxeno y triclosán (3.97, 3.18 y 4.76 respectivamente), indican que en un sistema octanol/agua, el ibuprofeno y triclosán se distribuyen 5 y 35 veces más hacia la fase orgánica con respecto al naproxeno. Con base en los $K_{o/w}$, el compuesto más polar es el naproxeno, sin embargo, su distribución hacia el sedimento demuestra un comportamiento contrario. Por otra parte, el momento dipolar de ibuprofeno y naproxeno podría explicar su comportamiento en el sistema agua/sedimento, ya que el ibuprofeno presenta un momento dipolar mayor en comparación con el naproxeno, cuya distribución de carga en la molécula es más homogénea y disminuye su polaridad.

El ibuprofeno se determinó a mayor concentración en el agua y su distribución hacia el sedimento fue menor, demostrando mayor solubilidad y polaridad con respecto al naproxeno y el triclosán. La concentración de ibuprofeno en el sedimento fue menor al límite de cuantificación del método.

La **Fig. 42** muestra el análisis cuantitativo de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en agua y sedimento del Río Tula.

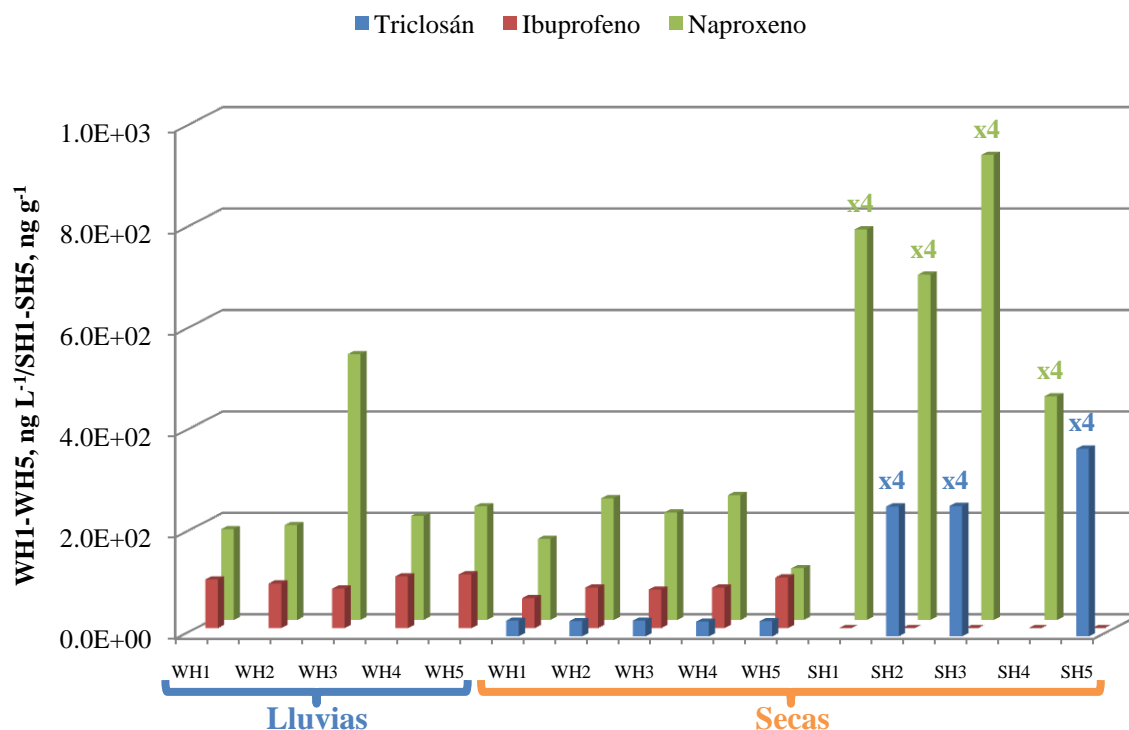


Figura 42. Determinación de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en agua y sedimento del Río Tula.

Los resultados cuantitativos demostraron que los analitos con menor polaridad (naproxeno y triclosán) se distribuyeron en mayor proporción hacia el sedimento. Dicho comportamiento fisicoquímico concuerda con lo reportado por Fairbairn y colaboradores (2015), quienes demostraron que las características estructurales y fisicoquímicas de los contaminantes emergentes influyen en su distribución en los sistemas de agua y sedimento (9). En ese mismo contexto, Löffler y colaboradores demostraron que los fármacos más polares presentan mayor solubilidad en agua y menor distribución hacia los sedimentos (10).

Los cromatogramas del análisis de agua y sedimento del Río Tula (2015), se muestran en el **anexo 11.3**.

7.32.2. Análisis de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula

Las muestras WS1-WS7 se analizaron por SPME-GC-MS, determinándose ibuprofeno en las muestras WS1-WS4, WS6 y WS7. La concentración del ibuprofeno fue de 5-97 ng L⁻¹; no se identificó ibuprofeno en la muestra WS5.

En la muestra SW6 también se determinó naproxeno y diclofenaco, cuya concentración fue de 321 ± 14.14 y 18.1 ± 1.8 ng L⁻¹ respectivamente.

Nuevamente, se determinó triclosán en todas las muestras y la concentración del analito fue comparativamente similar con las muestras del Río Tula (26-32 ng L⁻¹). En consecuencia, se comprobó que el material de vidrio tuvo una contaminación por triclosán, ocasionada por el lavado del material.

La determinación de PPCPs en agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula se muestra en el gráfico de la **Fig. 43**. La **Fig. 44** muestra el cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de la muestra WS6 por SPME-GC-MS.

Los cromatogramas del análisis de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula, se muestran en el **anexo 11.3**.

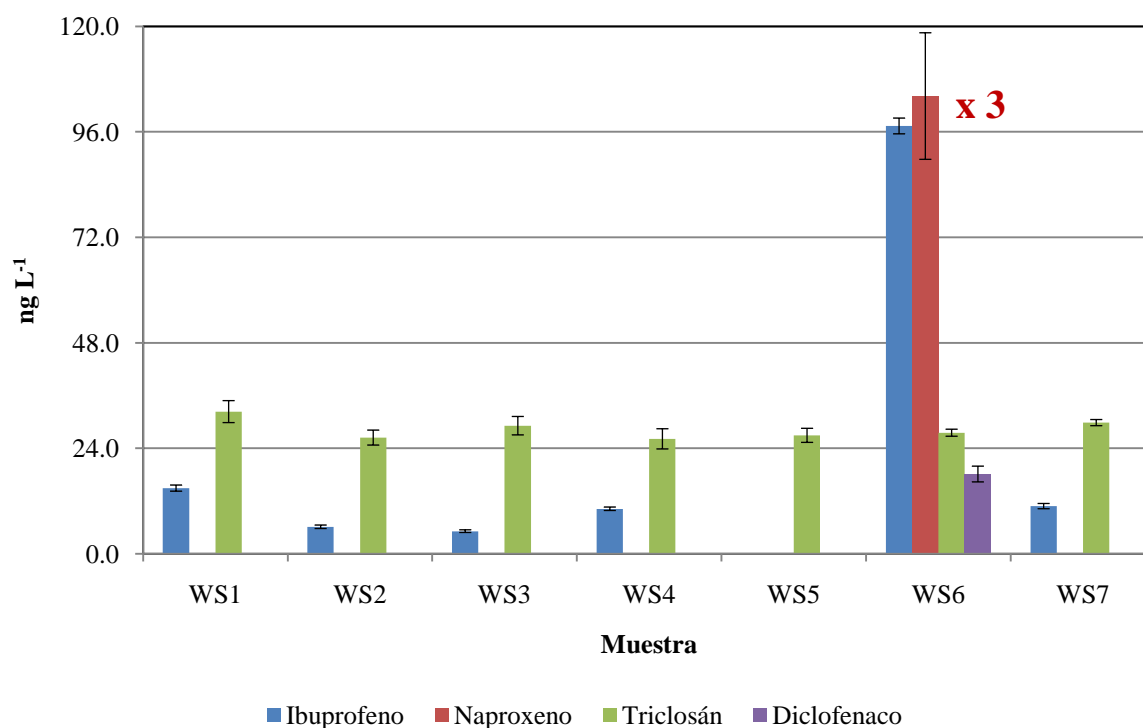


Figura 43. Determinación de ibuprofeno, naproxeno, triclosán y diclofenaco en agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula.

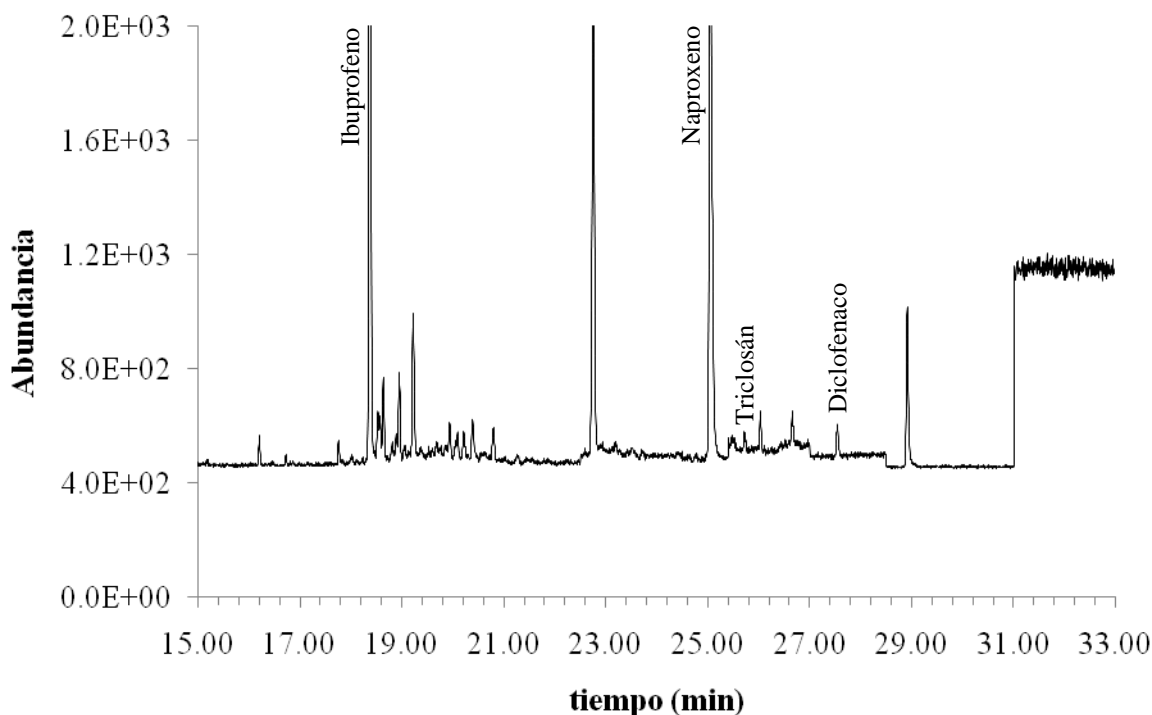


Figura 44. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: Muestra WS6

7.32.3. Análisis de agua del Río Tula (año 2016)

7.32.3.1. Análisis por SPME-GC-MS

Las muestras T1-T9 se analizaron por SPME-GC-MS, identificándose ibuprofeno y naproxeno en todas las muestras. Se cuantificó ibuprofeno y naproxeno en concentraciones de $0.6\text{-}2.3\ \mu\text{g L}^{-1}$ y de $8\text{-}46\ \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

La cuantificación de ibuprofeno y naproxeno tuvo valores en el orden de partes por billón ($\mu\text{g L}^{-1}$) en comparación con las muestras WH1-WH5 del año 2015. Las muestras T1-T9 fueron recolectadas en los límites de la Ciudad de Tula de Allende, donde la urbanización contribuye de manera importante en la descarga de agua residual, produciendo un incremento en la concentración de los PPCPs en el agua.

Por otra parte, las muestras WH1-WH5 fueron recolectadas 19 km río abajo a la Ciudad de Tula, donde la presa Endhó y vertientes menores contribuyen a la dilución del agua del río. Debido a esto, la concentración de ibuprofeno y naproxeno en las muestras WH1-WH5 fue menor con respecto a las muestras T1-T9, demostrando que la concentración de PPCPs en el agua del Río Tula es mayor en la zona con actividad urbana. La **Fig. 45** muestra la determinación de ibuprofeno y naproxeno en agua del Río Tula (2016). La **Fig. 46** muestra el cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de la muestra T1 por SPME-GC-MS.

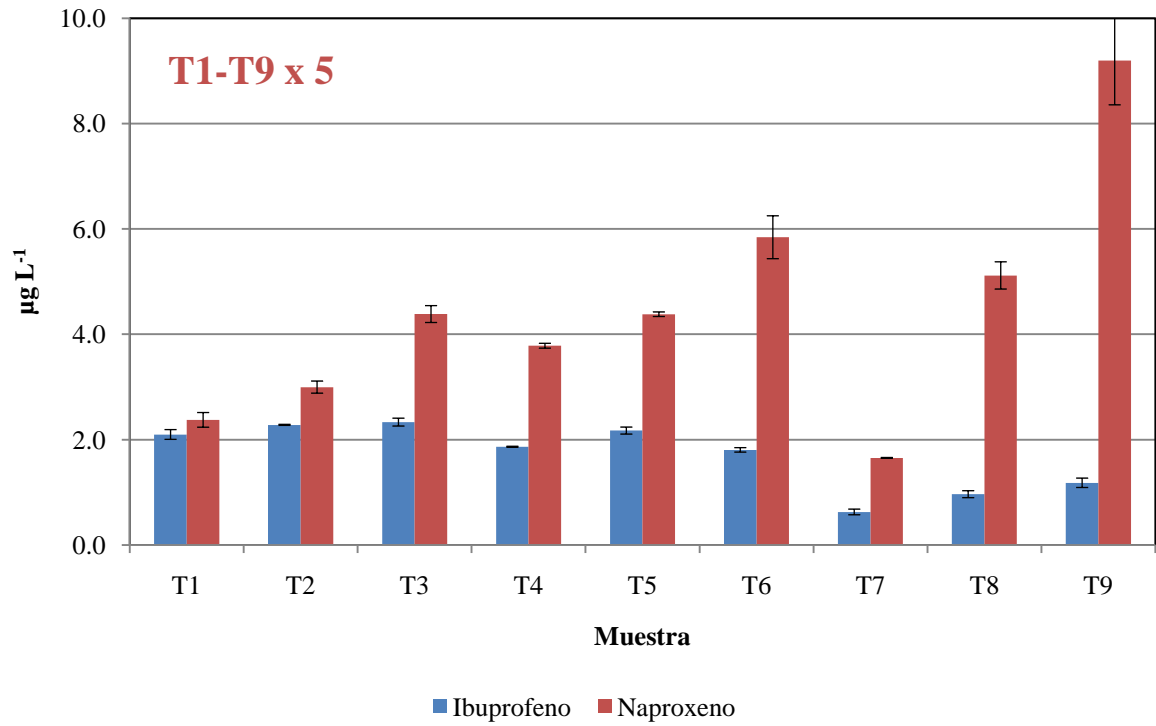


Figura 45. Determinación de ibuprofeno y naproxeno en agua del Río Tula por SPME-GC-MS.

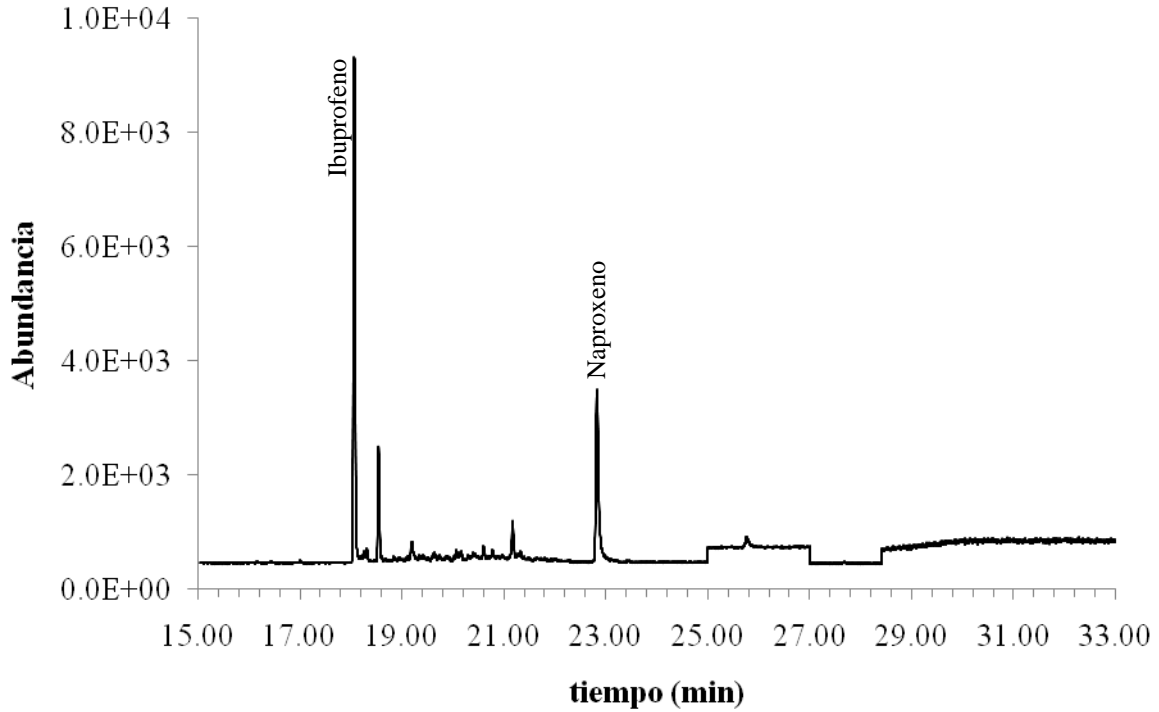


Figura 46. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T1.**

7.32.3.2. Análisis por SBSE-GC-MS

Las muestras T1-T9 también se analizaron por SBSE-GC-MS, evidenciando diferencias importantes con respecto al método por SPME-GC-MS.

Se identificó ibuprofeno en las muestras T1-T6 y T9, cuya concentración estuvo por debajo del límite de cuantificación del método (1 ng mL^{-1}); no se identificó naproxeno en las muestras T1-T9.

Con base en lo anterior, se concluyó que el método para análisis de agua por SBSE-GC-MS fue menos sensible en comparación con el método por SPME-GC-MS. Por tal razón, no se cuantificó el ibuprofeno y no se detectó el naproxeno en las muestras analizadas. La **Fig. 47** muestra la comparación del análisis de agua del Río Tula por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS.

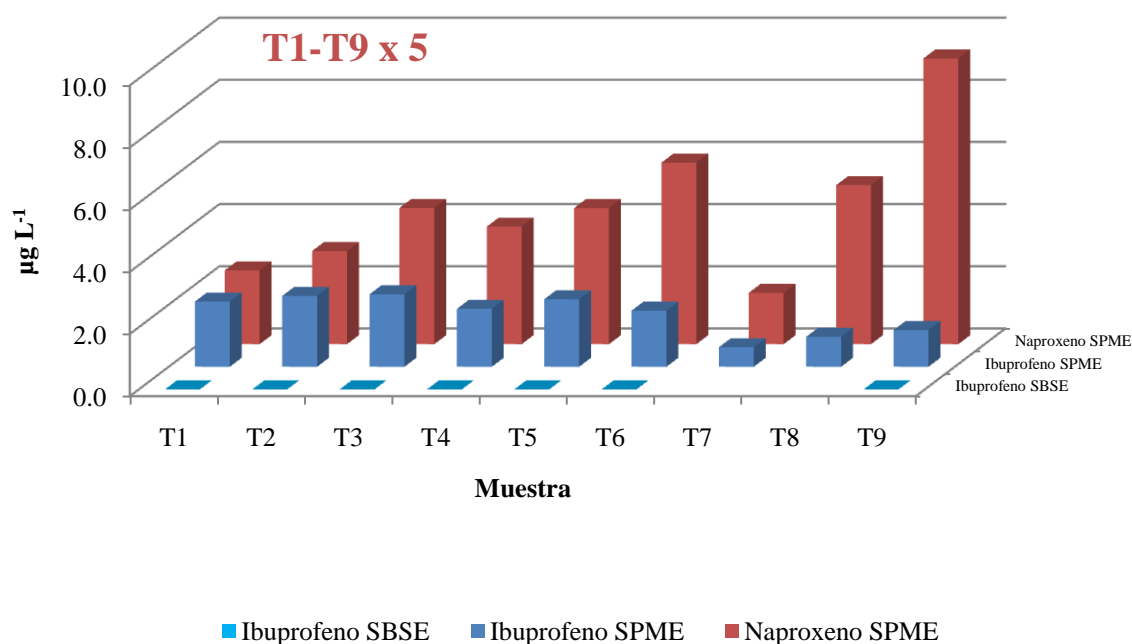


Figura 47. Análisis de agua del Río Tula por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS.

Los cromatogramas del análisis de agua del Río Tula (2016), se muestran en el **anexo 11.3**.

7.32.4. Análisis de agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco

El Lago de Xochimilco forma parte de la reserva ecológica de la Ciudad de México y sus aguas irrigan gran parte de la zona agrícola chinampera de la ciudad. El agua del lago se recarga con los efluentes de plantas de tratamiento de agua, aunque existen otras fuentes de recarga como los drenajes domésticos clandestinos y la época pluvial. Por ello, el Lago de Xochimilco es un cuerpo de agua potencialmente contaminado con PPCPs y el muestreo se eligió en función de la urbanización para verificar la posible influencia de la zona urbana sobre la concentración de los contaminantes detectados.

7.32.4.1. Agua

7.32.4.1.1. Análisis por SPME-GC-MS

Las muestras WX1-WX3 se analizaron por SPME-GC-MS, determinándose ibuprofeno y naproxeno en las 3 muestras. La concentración de ibuprofeno y naproxeno fue de 0.14-0.22 $\mu\text{g L}^{-1}$ y de 2.1-4.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. La **Fig. 48** muestra la determinación de ibuprofeno y naproxeno en agua de Xochimilco por SPME-GC-MS.

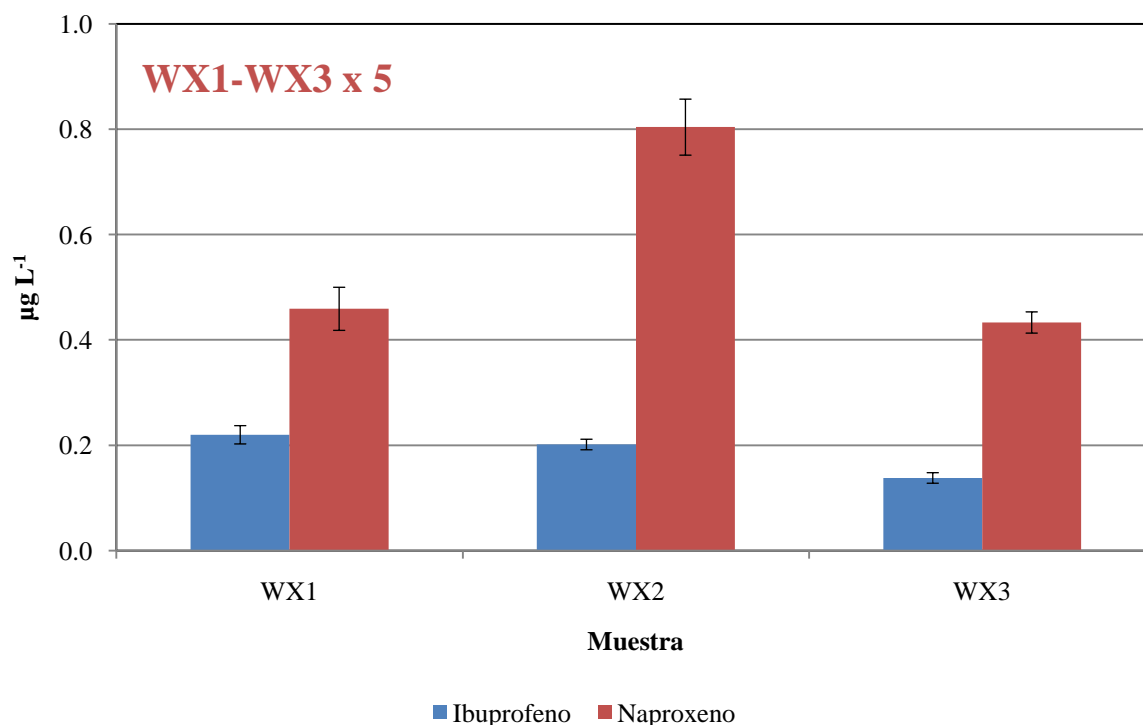


Figura 48. Determinación de ibuprofeno y naproxeno en agua de Xochimilco por SPME-GC-MS.

7.32.4.1.2. Análisis por SBSE-GC-MS

Las muestras WX1-WX3 también se analizaron por SBSE-GC-MS, evidenciando diferencias importantes con respecto al método por SPME-GC-MS. El ibuprofeno se identificó únicamente en la muestra WX1, cuya concentración estuvo por debajo del límite de cuantificación del método (1 ng mL^{-1}). No se identificó naproxeno en las muestras analizadas.

Los resultados del análisis de agua de Xochimilco corroboraron que el método por SBSE-GC-MS fue menos sensible en comparación con el método por SPME-GC-MS. Por esta razón, no se efectuó el análisis cuantitativo. La **Fig. 49** muestra la comparación del análisis de agua de Xochimilco por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS.

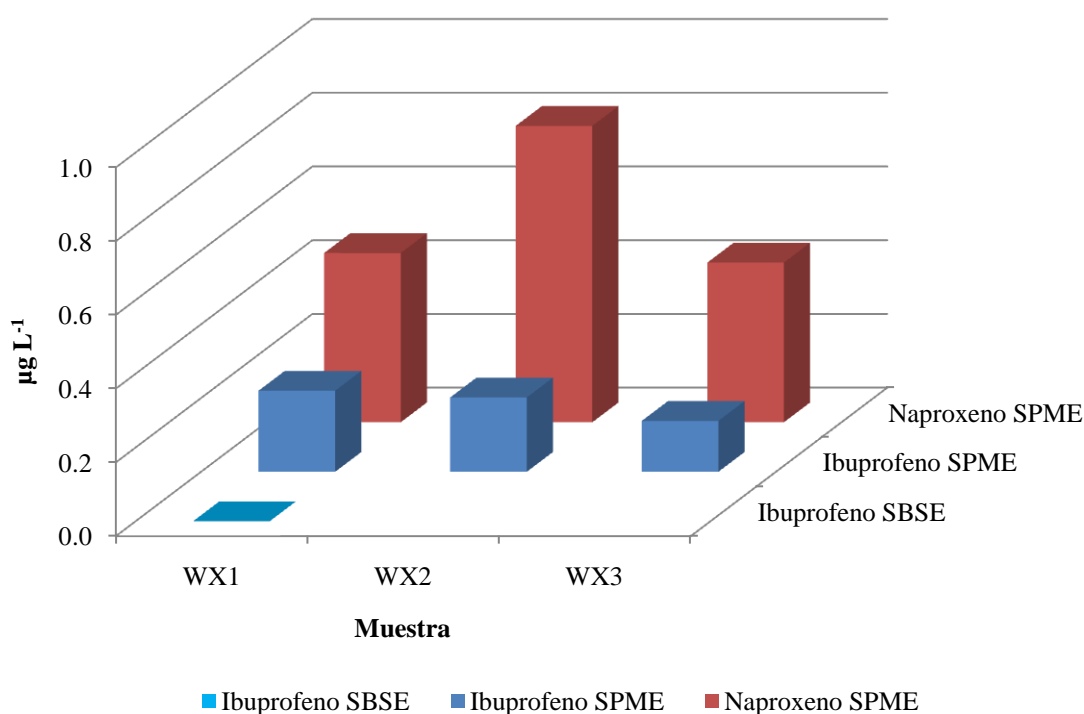


Figura 49. Análisis de agua de Xochimilco por SPME-GC-MS y SBSE-GC-MS

7.32.4.2. Sedimento

7.32.4.2.1. Análisis por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS

Las muestras SX1-SX3 se analizaron por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS. No se identificaron los PPCPs en las muestras analizadas.

7.32.4.3. Pescado

7.32.4.3.1. Análisis por UAE-SPME-GC-MS

Las muestras PX1 y PX2 se analizaron por UAE-SPME-GC-MS (n=2), identificándose ibuprofeno y naproxeno en la muestra de tilapia (PX1). La concentración de ibuprofeno y naproxeno estuvo por debajo de los límites de cuantificación del método (0.04 y 0.12 ng g⁻¹ respectivamente).

El análisis de tilapia demostró que existe una gran probabilidad de que los PPCPs se encuentren distribuidos en músculo del pescado. Sin embargo, es necesario analizar un mayor número de muestras y evaluar los alcances analíticos del método para una determinación inequívoca de los analitos.

7.32.4.3.2. Análisis por UAE-SBSE-GC-MS

Las muestras PX1 y PX2 también se analizaron por UAE-SBSE-GC-MS; no se identificaron PPCPs en las muestras analizadas.

Los cromatogramas del análisis de agua, sedimento y pescado de Xochimilco, se muestran en el **anexo 11.3**.

La determinación de PPCPs en las muestras de agua, sedimento y pescado se muestra en los **Cuadros 23, 24 y 25**.

Cuadro 23. Determinación de PPCPs en agua.

Sitio	Año	SPME-GC-MS (n=3)				SBSE-GC-MS (n=3)	
		Ibuprofeno	Naproxeno	Triclosán	Diclofenaco	Ibuprofeno	Naproxeno
Río Tula	2015	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	ng L ⁻¹	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹
<i>Temporada lluvias</i>							
	WH1	96.5 ± 2.4	178.7 ± 5.3	ND	ND	NA	NA
	WH2	88.4 ± 3.2	186.6 ± 5.8	ND	ND	NA	NA
	WH3	78.5 ± 3.9	523.8 ± 24.2	ND	ND	NA	NA
	WH4	101.8 ± 3.6	205.1 ± 1.3	ND	ND	NA	NA
	WH5	106.1 ± 2.0	224.3 ± 24.1	ND	ND	NA	NA
<i>Temporada seca</i>							
	WH1	59.0 ± 2.1	160.1 ± 8.4	31.4 ± 1.1	ND	NA	NA
	WH2	79.7 ± 3.8	204.3 ± 10.9	29.8 ± 1.1	ND	NA	NA
	WH3	76.1 ± 5.0	212.5 ± 10.7	31.1 ± 0.6	ND	NA	NA
	WH4	79.6 ± 0.3	246.0 ± 1.0	28.6 ± 1.3	ND	NA	NA
	WH5	100.3 ± 1.0	101.8 ± 2.6	29.7 ± 0.6	ND	NA	NA
Rios Culiacán, Humaya y Tamazula	2015						
<i>Temporada seca</i>							
	WS1	14.9 ± 0.7	ND	32.3 ± 2.5	ND	NA	NA
	WS2	6.1 ± 0.4	ND	26.4 ± 1.7	ND	NA	NA
	WS3	5.1 ± 0.3	ND	29.1 ± 2.1	ND	NA	NA
	WS4	10.2 ± 0.4	ND	26.1 ± 2.3	ND	NA	NA
	WS5	ND	ND	26.9 ± 1.6	ND	NA	NA
	WS6	97.3 ± 1.8	312.3 ± 14.4	27.5 ± 0.8	18.1 ± 1.8	NA	NA
	WS7	10.8 ± 0.6	ND	29.8 ± 0.7	ND	NA	NA
Río Tula	2016	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹				
	T1	2.1 ± 0.09	11.9 ± 1.0	ND	ND	< LC	ND
	T2	2.3 ± 0.01	15.0 ± 0.8	ND	ND	< LC	ND
	T3	2.3 ± 0.07	21.9 ± 1.1	ND	ND	< LC	ND
	T4	1.9 ± 0.01	18.9 ± 0.3	ND	ND	< LC	ND
	T5	2.2 ± 0.07	21.9 ± 0.3	ND	ND	< LC	ND
	T6	1.8 ± 0.04	29.2 ± 2.8	ND	ND	< LC	ND
	T7	0.6 ± 0.05	8.3 ± 0.1	ND	ND	ND	ND
	T8	1.0 ± 0.07	25.6 ± 1.8	ND	ND	ND	ND
	T9	1.2 ± 0.09	46.0 ± 5.9	ND	ND	< LC	ND
Lago de Xochimilco	2016	µg L ⁻¹	µg L ⁻¹				
	WX1	0.22 ± 0.02	2.30 ± 0.2	ND	ND	< LC	ND
	WX2	0.20 ± 0.01	4.02 ± 0.3	ND	ND	ND	ND
	WX3	0.14 ± 0.01	2.17 ± 0.1	ND	ND	ND	ND

ND: No detectado

NA: No analizado

Cuadro 24. Determinación de PPCPs en sedimento.

Sitio	Año	UAE-SPME-GC-MS (n=2)			UAE-SBSE-GC-MS (n=2)	
		Ibuprofeno	Naproxeno	Triclosán	Ibuprofeno	Naproxeno
Río Tula	2015	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹		
<i>Temporada seca</i>						
	SH1	< LC	3.1 ± 0.2	ND	NA	NA
	SH2	< LC	2.7 ± 0.8	1.0 ± 0.1	NA	NA
	SH3	< LC	3.7 ± 0.2	1.0 ± 0.1	NA	NA
	SH4	< LC	1.8 ± 0.4	ND	NA	NA
	SH5	< LC	ND	1.5 ± 0.1	NA	NA
Lago de Xochimilco	2016					
	SX1	ND	ND	NA	ND	ND
	SX2	ND	ND	NA	ND	ND
	SX3	ND	ND	NA	ND	ND

ND: No detectado

NA: No analizado

Cuadro 25. Determinación de PPCPs en pescado.

Sitio	Año	UAE-SPME-GC-MS (n=2)		UAE-SBSE-GC-MS (n=2)	
		Ibuprofeno	Naproxeno	Ibuprofeno	Naproxeno
Lago de Xochimilco	2016	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹		
	PX1	< LC	< LC	ND	ND
	PX2	ND	ND	ND	ND

ND: No detectado

8. CONCLUSIONES

1. Se desarrollaron 6 métodos analíticos basados en microextracción en fase sólida (SPME), extracción por sorción con barra de agitación (SBSE) y extracción asistida con ultrasonido (UAE), seguido del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para la determinación simultánea de ocho PPCPs (ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco, clorofeno, triclosán, bisfenol A y estrona) en muestras de agua, sedimento y pescado.
2. Se contribuyó con 6 métodos nuevos para la determinación PPCPs en agua, sedimento y pescado. Los métodos desarrollados utilizan una cantidad o volumen de muestra reducido (mg o mL), la preparación de muestra es selectiva para los analitos y el consumo de reactivos es menor en comparación con algunos métodos descritos en la bibliografía. Por lo anterior, estos métodos son alternativas analíticas rápidas, sencillas, sensibles y amigables con el ambiente.
3. Los métodos desarrollados en este proyecto se validaron para el análisis de PPCPs a nivel de trazas (ng L^{-1} , $\mu\text{g L}^{-1}$ y ng g^{-1}) en agua, sedimento y pescado. Los métodos basados en SPME y SBSE mostraron buena precisión, linealidad y recobro sin utilizar un estándar interno, comprobando que los sistemas de extracción de las técnicas de preparación de muestra miniaturizadas presentan buen desempeño analítico a pesar de la complejidad de las matrices estudiadas.
4. Los métodos basados en SPME presentaron mayor precisión en comparación con los métodos por SBSE, lo cual es una característica deseable para el análisis de PPCPs a nivel de trazas y ultra trazas.
5. La sensibilidad de los métodos basados en SBSE fue mayor con respecto a SPME, demostrando que la SBSE es una técnica de preparación de muestra con mayor capacidad para extraer a los analitos de las matrices estudiadas. Sin embargo, el efecto de dilución por adición del agente derivatizante disminuyó la respuesta analítica, disimulando menor sensibilidad en comparación con SPME.
6. Los métodos desarrollados basados en SPME, SBSE y UAE se aplicaron a muestras de agua y sedimento del Río Tula; agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula; agua, sedimento y pescado del Lago de Xochimilco. Se determinaron algunos PPCPs como ibuprofeno, naproxeno, triclosán y diclofenaco en todas las muestras analizadas, evidenciando la contaminación emergente en los sitios estudiados.

7. El análisis de agua del Río Tula (año 2015) por SPME-GC-MS, evidenció la presencia de ibuprofeno, naproxeno y triclosán en un orden de concentración entre 50 y 500 ng L⁻¹. Los resultados cuantitativos de la temporada de lluvias y secas se compararon, esperando observar el efecto de dilución de las lluvias, sin embargo, no se observaron diferencias importantes en la concentración de los PPCPs. Este resultado podría indicar que los afluentes del río y la continua descarga de agua residual son factores que evitan diferenciar el efecto de dilución en las muestras.
8. El análisis de sedimento de Río Tula, demostró que el coeficiente de distribución agua/sedimento del naproxeno y el triclosán es menor en comparación con el ibuprofeno. Por lo anterior, ambos analitos se determinaron en mayor concentración en el sedimento.
9. El análisis de agua del Río Tula (año 2016), evidenció la presencia de ibuprofeno y naproxeno en un orden de concentración entre 1 y 50 µg L⁻¹. Los resultados cuantitativos demostraron que las zonas urbanas e industriales están directamente relacionadas con la presencia y distribución de los PPCPs en los compartimentos ambientales.
10. El análisis de agua de los Ríos Culiacán, Humaya y Tamazula por SPME-GC-MS, evidenció la presencia de ibuprofeno en todas las muestras analizadas. La concentración de ibuprofeno tuvo un orden de concentración entre 10 y 100 ng L⁻¹. Así mismo, se determinó naproxeno, triclosán y diclofenaco en la muestra WS6. Dicha muestra se recolectó en una zona cercana al efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales, corroborando que el agua tratada es una vía principal de distribución de los PPCPs en el ambiente.
11. El análisis de agua del Lago de Xochimilco por SPME-GC-MS, evidenció la presencia de ibuprofeno y naproxeno en todas las muestras analizadas. El análisis por SPME, permitió cuantificar a los analitos en un orden de concentración entre 0.2 y 5 µg L⁻¹. La concentración del naproxeno fue mayor con respecto al ibuprofeno, lo cual podría estar asociado a un mayor consumo y desecho del fármaco o una tasa de degradación menor en el ambiente.
12. El análisis de pescado del Lago de Xochimilco por UAE-SPME-GC-MS permitió identificar ibuprofeno y naproxeno a nivel de ruido en músculo de tilapia, demostrando que es factible estudiar la distribución de los PPCPs en el pescado nativo del lago. Sin embargo, es necesario efectuar un mayor número de análisis y realizar un muestreo representativo para corroborar la presencia de los analitos en el músculo de pescado.
13. La determinación de PPCPs en agua de los Ríos Tula, Culiacán, Humaya y Tamazula, así como en el Lago de Xochimilco, evidenció que la contaminación emergente en México es una realidad que requiere ser atendida mediante planes de estudio y monitoreo, ya que las concentraciones de PPCPs determinadas en los cuerpos de agua analizados pueden ser superiores a ng L⁻¹, implicando un mayor riesgo ecotoxicológico.

9. PERSPECTIVAS

Con base en los resultados de este trabajo, se proponen las siguientes perspectivas para complementar algunos aspectos experimentales en el análisis de los PPCPs:

1. Como una nueva propuesta para el análisis rutinario de PPCPs a nivel de trazas, es importante realizar un estudio estadístico de las capacidades funcionales de los dispositivos de SPME y SBSE para determinar la durabilidad y el número de análisis que se puedan realizar para cada matriz estudiada.
2. Con base en la información obtenida de la extracción con disoluciones acuosas, se propone implementar los métodos desarrollados para el análisis de otros PPCPs y disruptores endócrinos.
3. Estudiar la distribución de PPCPs en un sistema agua/sedimento controlado (estático y en flujo continuo) para calcular la movilidad de los contaminantes y describir la cinética de la transferencia de masa entre las matrices. Con la información obtenida, determinar la biodisponibilidad de los contaminantes en los compartimentos ambientales.
4. Estudiar la influencia del porcentaje de materia orgánica en el sedimento y su relación con la sorción de los PPCPs.
5. Estudiar el efecto de matriz en sedimento y pescado para elucidar los factores que disminuyen la sensibilidad en el análisis de los PPCPs para establecer un valor cuantitativo de robustez para los métodos desarrollados.
6. Realizar un muestreo representativo de las muestras de pescado para evaluar el desempeño de los métodos por UAE-SPME-GC-MS y UAE-SBSE-GC-MS.
7. Implementar los métodos desarrollados para su aplicación en otras matrices ambientales como agua residual y suelo.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Xu W, Wang X, Cai Z et al. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Anal. Chim. Acta* 2013;790:1-13.
2. Ebele AJ, Abdallah MAE, Harrada S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging contaminants*. 2017;3(1):1-16.
3. Muñoz I, Gómez-Ramos MJ, Agüera A et al. Chemical evaluation of contaminants in wastewater effluents and the environmental risk of reusing effluents in agriculture. *Trends Anal. Chem.* 2009;28(6):676-694.
4. Jiménez-Cisneros B, Chávez-Mejía A. Treatment of Mexico City wastewater for irrigation purposes. *Environ. Technol.* 1997;18(7):721-729.
5. Zhao W, Guo Y, Lu S et al. Recent advances in pharmaceuticals and personal care products in the surface water and sediments in China. *Front. Environ. Sci. Eng.* 2016;10(6):1-12.
6. Sui Q, Cao X, Lu S et al. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. 2015;1(1):14-24.
7. Jurado A, Vázquez-Suñé E, Carrera J et al. Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: A review of sources, recent occurrence and fate in a European context. *Sci. Total Environ.* 2012;440:82-94.
8. Lapworth DJ, Baran N, Stuart ME et al. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* 2012;163:287-303.
9. Fairbairn DJ, Karpuzcu ME, Arnold WA et al. Sediment-water distribution of contaminants of emerging concern in a mixed use watershed. *Sci. Total Environ.* 2015;505:896-904.
10. Löffler D, Römbke J, Meller M et al. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. *Environ. Sci. Technol.* 2005;39:5209-5218.
11. Devier MH, Mazellier P, Aït-Aïssa S et al. New challenges in environmental analytical chemistry: Identification of toxic compounds in complex mixtures. *C. R. Chim.* 2011;14:766-779.
12. Mirnaghi FS, Gorynski K, Rodriguez-Lafuente A et al. Microextraction versus exhaustive extraction approaches for simultaneous analysis of compounds in wide range of polarity. *J. Chromatogr. A.* 2013;1316:37-43.
13. Martínez-Bueno MJ, Ulaszewska MM, Gomez MJ et al. Simultaneous measurement in mass and mass/mass mode for accurate qualitative and quantitative screening analysis of pharmaceuticals in river water. *J. Chromatogr. A.* 2012;1256:80-88.
14. Basaglia G, Pietrogrande MA. Optimization of a SPME/GC/MS method for the simultaneous determination of pharmaceuticals and personal care products in waters. *Chromatographia.* 2012;75:361-370.
15. Camino-Sánchez FJ, Zafra-Gómez A, Pérez-Trujillo JP et al. Validation of a GC-MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants in marine sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction. *Chemosphere.* 2011;84:869-881.

16. Prieto A, Telleria O, Etxebarria N et al. Simultaneous preconcentration of a wide variety of organic pollutants in water samples. Comparison of stir bar sorptive extraction and membrane-assisted solvent extraction. *J. Chromatogr. A.* 2008;1214:1-10.
17. Pintado-Herrera MG, González-Mazo E, Lara-Martín PA. In-cell clean-up pressurized liquid extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry determination of hydrophobic persistent and emerging organic pollutants in coastal sediments. *J. Chromatogr. A.* 2016;1429:107-118.
18. Birch GF, Drage DS, Thompson K et al. Emerging contaminants (pharmaceuticals, personal care products, a food additive and pesticides) in waters of Sydney estuary, Australia. *Mar. Pollut. Bull.* 2015;97:56-66.
19. Petrie B, Barden R, Kasprzyk-Hordern. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Res.* 2015;72:3-27.
20. Vandermeersch G, Lourenco HM, Alvarez-Muñoz D et al. Environmental contaminants of emerging concern in seafood-European database on contaminant levels. *Environ. Res.* 2015;143:29-45.
21. Jiang JJ, Lee CL, Fang MD. Emerging organic contaminants in coastal waters: Anthropogenic impact, environmental release and ecological risk. *Mar. Pollut. Bull.* 2014;85:391-399.
22. Gilart N, Marcé RM, Borrull F et al. New coatings for stir-bar sorptive extraction of polar emerging organic contaminants. *Trends Anal. Chem.* 2014;54:11-23.
23. Stahl L. Contaminants of emerging concern (CECs) in fish: Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) USEPA. September 2013 [Fecha de consulta: Febrero, 2017];EPA-820-F-13-004:1-3. Disponible en: <https://nepis.epa.gov>
24. Thomaidis NS, Asimakopoulos AG, Bletsou AA. Emerging contaminants: A tutorial mini-review. *Global Nest J.* 2012;14(1):72-79.
25. Stuart M, Lapworth D, Crane E et al. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Sci. Total Environ.* 2012;416:1-21.
26. Murnyak G, Vandenberg J, Yaroschak PJ et al. Emerging contaminants: Presentations at the 2009 Toxicology and Risk Assessment Conference. *Toxicol. Appl. Pharm.* 2011;254:167-169.
27. Becerril-Bravo JE. Contaminantes emergentes en el agua. *Revista Digital Universitaria.* 2009;10(8):1-7.
28. Hansen PD. Risk assessment of emerging contaminants in aquatic systems. *Trends Anal. Chem.* 2007;26(11):1095-1099.
29. Richardson SD, Ternes TA. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. *Anal. Chem.* 2005a;77:3807-3838.
30. Richardson BJ, Lam PK, Martin M. Emerging chemicals of concern: Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Asia, with particular reference to Southern China. *Mar. Pollut. Bull.* 2005b;50(9):913-920.
31. Richardson SD. Environmental mass spectrometry: Emerging contaminants and current issues. *Anal. Chem.* 2002;74:2719-2742.

32. Daughton CG. Emerging pollutants, and communicating the science of environmental chemistry and mass spectrometry: Pharmaceuticals in the environment. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2001;12:1067-1076.
33. Deo RP. Pharmaceuticals in the Surface Water of the USA: A Review. *Curr. Environ. Health Rep.* 2014;1:113-122.
34. Liu JL, Wong MH. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): A review on environmental contamination in China. *Environ. Int.* 2013;59:208-224.
35. Blair BD, Crago JP, Hedman CJ et al. Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. *Chemosphere.* 2013;93:2116-2123.
36. Caliman FA, Gavrilescu M. Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment - A Review. *Clean.* 2009;37(4-5):277-303.
37. Barceló D, Petrovic M. Pharmaceuticals and personal care products in the environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007;387:1141-1142.
38. Kümmerer K. Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks. 2nd edition. Alemania: Springer-Verlag; 2004.
39. Daughton CG, Ternes TA. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? *Environ. Health Perspect.* 1999;107(Suppl. 6):907-938.
40. Gavrilescu M, Demnerová K, Aamand J et al. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *N. Biotechnol.* 2015;32(1):147-156.
41. Wu C, Huang X, Witter JD et al. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products and associated environmental risks in the central and lower Yangtze river, China. *Ecotox. Environ. Safe.* 2014;106:19-26.
42. Crane M, Watts C, Boucard T. Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. *Sci. Total Environ.* 2006;367:23-41.
43. Cizmas L, Sharma VK, Gray CM et al. Pharmaceuticals and personal care products in waters: occurrence, toxicity, and risk. *Environ. Chem. Lett.* 2015;13(4):381-394.
44. Subedi B, Aguilar L, Robinson EM et al. Selective pressurized liquid extraction as a sample-preparation technique for persistent organic pollutants and contaminants of emerging concern. *Trends Anal. Chem.* 2015;68:119-132.
45. Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 2006;76:122-159.
46. Huang S, He S, Xu H et al. Monitoring of persistent organic pollutants in seawater of the Pearl River Estuary with rapid on-site active SPME sampling technique. *Environ. Pollut.* 2015a;200:149-158.
47. Camino-Sánchez FJ, Zafra-Gómez A, Pérez-Trujillo JP et al. Validation of a GC-MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants in marine sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction. *Chemosphere.* 2011;84:869-881.

48. Zhao JL, Liu YS, Liu WR et al. Tissue-specific bioaccumulation of human and veterinary antibiotics in bile, plasma, liver and muscle tissues of wild fish from a highly urbanized region. *Environ. Pollut.* 2015;198:15-24.
49. Zenker A, Cicero MR, Prestinaci F et al. Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *J. Environ. Manag.* 2014;133:378-387.
50. Schwaiger J, Ferling H, Mallow U et al. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 2004;68:141-150.
51. Nallani GC, Paulos PM, Constantine LA et al. Bioconcentration of ibuprofen in fathead minnow (*Pimephales promelas*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*) *Chemosphere.* 2011;84:1371-1377.
52. Quero-Pastor MJ, Garrido-Perez MC, Acevedo A et al. Ozonation of ibuprofen: A degradation and toxicity study. *Sci. Total Environ.* 2014;466-467:957-964.
53. Galus M, Kirischian N, Higgins S et al. Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. *Aquat. Toxicol.* 2013;132-133:200-211.
54. Bayen S. Occurrence, bioavailability and toxic effects of trace metals and organic contaminants in mangrove ecosystems: A review. *Environ. Int.* 2012;48:84-101.
55. Contardo-Jara V, Lorenz C, Pflugmacher S et al. Exposure to human pharmaceuticals Carbamazepine, Ibuprofen and Bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*. *Aquat. Toxicol.* 2011;105:428-437.
56. DeLorenzo ME, Fleming J. Individual and mixture effects of selected pharmaceuticals and personal care products on the marine phytoplankton species *Dunaliella tertiolecta*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2008;54:203-210.
57. Mehinto AC, Hill EM, Tyler CR. Uptake and biological effects of environmentally relevant concentrations of the nonsteroidal anti-inflammatory pharmaceutical diclofenac in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Environ. Sci. Technol.* 2010;44:2176-2182.
58. Hoeger B, Köllner B, Dietrich DR et al. Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). *Aquat. Toxicol.* 2005;75:53-64.
59. Racamonde I, Rodil R, Quintana JB et al. Fabric phase sorptive extraction: A new sorptive microextraction technique for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs from environmental water samples. *Anal. Chim. Acta.* 2015;865:22-30.
60. Peña-Álvarez A, Castillo-Alanís A. Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). *Rev. Esp. Cienc. Quim. Biol.* 2015;18(1):29-42.
61. Guerra P, Kim M, Shah A et al. Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Sci. Total Environ.* 2014;473-474:235-243.

62. Grueiro-Noche G, Fernández-Laespada ME, Pérez-Pavón JL et al. *In situ* aqueous derivatization and determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs by salting-out-assisted liquid-liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2011;1218:6240-6247.
63. Rodríguez I, Carpinteiro J, Quintana JB et al. Solid-phase microextraction with on-fiber derivatization for the analysis of anti-inflammatory drugs in water samples. *J. Chromatogr. A.* 2004;1024:1-8.
64. Omar TFT, Ahmad A, Aris AZ et al. Endocrine disrupting compounds (EDCs) in environmental matrices: Review of analytical strategies for pharmaceuticals, estrogenic hormones, and alkylphenol compounds. *Trends Anal. Chem.* 2016;85:241-259.
65. Azzouz A, Ballesteros E. Trace analysis of endocrine disrupting compounds in environmental water samples by use of solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometry detection. *J. Chromatogr. A.* 2014;1360:248-257.
66. Aufartová J, Mahugo-Santana C, Sosa-Ferrera Z et al. Determination of steroid hormones in biological and environmental samples using green microextraction techniques: An overview. *Anal. Chim. Acta.* 2011;704:33-46.
67. Kozłowska-Tylingo K, Namiesnik J, Górecki T. Determination of Estrogenic Endocrine Disruptors in Environmental Samples-A Review of Chromatographic Methods. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2010;40:194-201.
68. Chang HS, Choo KH, Lee B et al. The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. *J. Hazard. Mater.* 2009;172:1-12. }
69. Rahman MF, Yanful EK, Jasim SY. Endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment: implications for the drinking water industry and global environmental health. *J. Water. Health.* 2009;7(2):224-243.
70. Arpin-Pont L, Martínez-Bueno MJ, Gomez E et al. Occurrence of PPCPs in the marine environment: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016;23:4978-4991.
71. Kosma CI, Lambropoulou DA, Albanis TA. Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. *Sci. Total Environ.* 2014;466-467:421-438.
72. Chávez A, Maya C, Gibson R et al. The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, México. *Environ. Pollut.* 2011;159:1354-1362.
73. Gibson R, Durán-Álvarez JC, León-Estrada K et al. Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere.* 2010;81:1437-1445.
74. Durán-Alvarez JC, Becerril-Bravo E, Silva-Castro V et al. The analysis of a group of acidic pharmaceuticals, carbamazepine, and potential endocrine disrupting compounds in wastewater irrigated soils by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta.* 2009;78:1159-1166.

75. Gibson R, Becerril-Bravo E, Silva-Castro V et al. Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2007;1169:31-39.
76. Deblonde T, Cossu-Leguille C, Hartemann P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *Int. J. Hyg. Envir. Heal.* 2011;214:442-448.
77. Pedrouzo M, Borrull F, Marcé RM et al. Analytical methods for personal-care products in environmental waters. *Trends Anal. Chem.* 2011;30(5):749-760.
78. Pietrogrande MC, Basaglia G. GC-MS analytical methods for the determination of personal-care products in water matrices. *Trends Anal. Chem.* 2007;26(11):1086-1094.
79. Olariu RL, Vione D, Grinberg N et al. Sample preparation for trace analysis by chromatographic methods. *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* 2010;33:1174-1207
80. Tobiszewski M, Mechlińska A, Zygmunt B et al. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. *Trends Anal. Chem.* 2009;28(8):943-951.
81. De Koning S, Janssen HG, Brinkman UAT. Modern methods of sample preparation for CG analysis. *Chromatographia.* 2009;69:S33-S78.
82. Chen Y, Guo Z, Wang X et al. Sample preparation. *J. Chromatogr. A.* 2008;1184:191-219.
83. Jiang R, Xu J, Lin W et al. Investigation of the kinetic process of solid phase microextraction in complex sample. *Anal. Chim. Acta.* 2015a;900:111-116.
84. Jiang R, Xu J, Zhu F et al. Study of complex matrix effect on solid phase microextraction for biological sample analysis. *J. Chromatogr. A.* 2015b;1411:34-40.
85. Nogueira JMF. Stir-bar sorptive extraction: 15 years making sample preparation more environmentally-friendly. *Trends Anal. Chem.* 2015;71:214-223.
86. Fumes BH, Silva MR, Andrade FN et al. Recent advances and future trends in new materials for sample preparation. *Trends Anal. Chem.* 2015;71:9-25.
87. Farré M, Pérez S, Goncalves C et al. Green analytical chemistry in the determination of organic pollutants in the aquatic environment. *Trends Anal. Chem.* 2010;29(11):1347-1362.
88. Wardencki W, Curylo J, Namiesnik J. Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2007;70:275-288.
89. Pavlovic DM, Babic S, Horvat AJM et al. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *Trends Anal. Chem.* 2007;26(11):1062-1075.
90. Smith RM. Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques. *J. Chromatogr. A.* 2003;1000:3-27.
91. Baltussen E, Cramers CA, Sandra PJF. Sorptive simple preparation - a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002;373:3-22.
92. Moreda-Piñeiro J, Moreda-Piñeiro A. Recent advances in combining microextraction techniques for sample pre-treatment. *Trends Anal. Chem.* 2015;71:265-274.
93. Spietelun A, Kloskowski A, Chrzanowski W et al. Understanding solid-phase microextraction: Key factors influencing the extraction process and trends in improving the technique. *Chem. Rev.* 2013;113:1667-1685.

94. Mehdinia A, Aziz-Zanjani MO. Advances for sensitive, rapid and selective extraction in different configurations of solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.* 2013;51:13-22.
95. Risticovic S, Niri VH, Vuckovic D et al. Recent developments in solid-phase microextraction. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009;393:781-795.
96. Lord H, Pawliszyn J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A.* 2000;885:153-193.
97. Alpendurada MF. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *J. Chromatogr. A.* 2000;889:3-14.
98. Zhang Z, Yang MJ, Pawliszyn J. Solid-phase microextraction. *Anal. Chem.* 1994;66(17):844-853.
99. Pawliszyn J. Solid phase microextraction: Theory and practice. 1st edition. Waterloo, Ontario, Canada: Wiley-VCH;1997.
100. Bizkarguenaga E, Iparragirre A, Navarro P et al. In-port derivatization after sorptive extractions. *J. Chromatogr. A.* 2013;1296:36-46.
101. Schummer C, Delhomme O, Appenzeller BMR et al. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. *Talanta.* 2009;77:1473-1482.
102. Rosenfeld JM. Derivatization in the current practice of analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* 2003;22(11):785-798.
103. Little JL. Artifacts in trimethylsilyl derivatization reactions and ways to avoid them. *J. Chromatogr. A.* 1999;844:1-22.
104. Rodríguez I, Quintana JB, Carpinteiro J et al. Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as tert-butyldimethylsilyl derivatives. *J. Chromatogr. A.* 2003;985:265-274.
105. Regueiro J, Becerril E, Garcia-Jares C et al. Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with *in situ* derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2009;1216:4693-4702.
106. Stashenko EE, Martínez JR. Derivatization and solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.* 2004;23(8):553-561.
107. Kenessov B, Koziel JA, Bakaikina NV et al. Perspectives and challenges of on-site quantification of organic pollutants in soils using solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.* 2016;85:111-122.
108. Souza-Silva ÉA, Jiang R, Rodríguez-Lafuente A et al. A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices I. Environmental analysis. *Trends Anal. Chem.* 2015;71:224-235.
109. Huang S, Zhu F, Jiang R et al. Determination of eight pharmaceuticals in an aqueous sample using automated derivatization solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta.* 2015b;136:198-203.
110. Celano R, Piccinelli AL, Campone L et al. Ultra-preconcentration and determination of selected pharmaceutical and personal care products in different water matrices by solid-phase

- extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction prior to ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis. *J. Chromatogr. A.* 2014;1355:26-35.
111. Zhang X, Oakes KD, Wang S et al. *In vivo* sampling of environmental organic contaminants in fish by solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chem.* 2012;32:31-39.
 112. Basaglia G, Pasti L, Pietrogrande MC. Multi-residual GC-MS determination of personal care products in waters using solid-phase microextraction. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011;399:2257-2265.
 113. Polo M, Llompart M, García-Jares C et al. Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalates esters in environmental waters. *J. Chromatogr. A.* 2005;1072:63-72.
 114. Eisert R, Levsen K. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water. *J. Chromatogr. A.* 1996;733:143-157.
 115. Nogueira, JMF. Novel sorption-based methodologies for static microextraction analysis. A review on SBSE and related techniques. *Anal. Chim. Acta.* 2012;757:1-10.
 116. Camino-Sánchez FJ, Rodríguez-Gómez R, Zafra-Gómez A et al. Stir bar sorptive extraction: Recent applications, limitations and future trends. *Talanta.* 2014;130:388-399.
 117. Prieto A, Basauri O, Rodil R et al. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel application, limitations and potential solutions. *J. Chromatogr. A.* 2010;1217:2642-2666.
 118. David F, Sandra P. Stir bar sorptive extraction for trace analysis. *J. Chromatogr. A.* 2007;1152:54-69.
 119. Kawaguchi M, Ito R, Saito K et al. Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006;40:500-508.
 120. Gilart N, Cormack PAG, Marcé RM et al. Preparation of a polar monolithic coating for stir bar sorptive extraction of emerging contaminants from wastewaters. *J. Chromatogr. A.* 2013a;1295:42-47.
 121. Cacho JI, Campillo N, Viñas P et al. Stir bar sorptive extraction with EG-Silicone coating for bisphenols determination in personal care products by GC-MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013;78-79:225-260.
 122. Gilart N, Millares N, Marcé RM et al. Novel coatings for stir sorptive extraction to determine pharmaceuticals and personal care products in environmental waters by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 2013b;774:51-60.
 123. Quintana JB, Rodil R, Muniategui-Lorenzo S et al. Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2007;1174:27-39.
 124. Nakamura S, Daishima S. Simultaneous determination of alkylphenols and bisphenol A in river water by stir bar sorptive extraction with *in situ* acetylation and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2004;1038:291-294.

125. Kawaguchi M, Inoue K, Yoshimura M et al. Determination of bisphenol A in river water and body fluid samples by stir bar sorptive extraction with *in situ* derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B.* 2004;805:41-48.
126. Peñalver A, García V, Pocurull E et al. Stir bar sorptive extraction and large volume injection gas chromatography to determine a group of endocrine disrupters in water samples. *J. Chromatogr. A.* 2003;1007:1-9.
127. Bendicho C, De La Calle I, Pena F et al. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* 2012;31:50-60.
128. Pilli S, Bhunia P, Yan S et al. Ultrasonic pretreatment of sludge: A review. *Ultrason. Sonochem.* 2011;18(1):1-18.
129. Priego-Capote F, Luque de Castro MD. Analytical uses of ultrasound I. Sample preparation. *Trends Anal. Chem.* 2004;23(9):644-653.
130. Luque-García JL, Luque de Castro MD. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends Anal. Chem.* 2003;22(1):41-47.
131. Albero B, Sánchez-Brunete C, García-Valcárcel AI et al. Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples. *Trends Anal. Chem.* 2015;71:110-118.
132. Tadeo JL, Sánchez-Brunete C, Albero B et al. Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *J. Chromatogr. A.* 2010;1217:2415-2440.
133. Sánchez-Brunete C, Miguel E, Tadeo JL. Determination of tetrabromobisphenol-A, tetrachlorobisphenol-A and bisphenol-A in soil by ultrasonic assisted extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2009;1216:5497-5503.
134. Llorca-Pórcel J, Martínez-Parreño M, Martínez-Soriano E et al. Analysis of chlorophenols, bisphenol-A, 4-tert-octylphenol and 4-nonylphenols in soil by means of ultrasonic solvent extraction and stir bar sorptive extraction with *in situ* derivatisation. *J. Chromatogr. A.* 2009;1216:5955-5961.
135. Regueiro J, Llompart M, García-Jares C et al. Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of emergent contaminants and pesticides in environmental waters. *J. Chromatogr. A.* 2008;1190:27-38.
136. Bossio JP, Harry J, Kinney CA. Application of ultrasonic assisted extraction of chemically diverse organic compounds from soils and sediments. *Chemosphere.* 2008;70:858-864.
137. Banjoo DR, Nelson PK. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *J. Chromatogr. A.* 2005;1066:9-18.
138. Wille K, De Brabander HF, De Wulf E et al. Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment. *Trends Anal. Chem.* 2012;35:87-108.
139. Van Leeuwen SPJ, De Boer J. Advances in the gas chromatographic determination of persistent organic pollutants in the aquatic environment. *J. Chromatogr. A.* 2008;1186:161-182.
140. Wang Q, Ma L, Yin CR et al. Developments in injection port derivatization. *J. Chromatogr. A.* 2013;1296:25-35.

141. Díaz A, Peña-Alvarez A. A Simple Method for the Simultaneous Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in River Sediment by Ultrasound-Assisted Extraction Followed by Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 2017 55(9):946-953.
142. Ochiai N, Sasamoto K, Ieda T et al. Multi-stir bar sorptive extraction for analysis of odor compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A.* 2013;1315:70-79.
143. Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos 2017. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); 2017.
144. El Valle del Mezquital, una síntesis cultural [Internet]. México: Periódico Milenio; [revisado 09 de diciembre de 2014; consultado en Noviembre del 2018. Disponible en la dirección electrónica: <http://www.milenio.com/opinion/varios-autores/universidad-tecnologica-del-valle-del-mezquital/el-valle-del-mezquital-una-sintesis-cultural>
145. Anuario estadístico y geográfico de los la Ciudad de México 2017. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI); 2017.
146. Xochimilco [Internet]. Ciudad de México: Alcaldía de Xochimilco; [revisado en 2016; consultado en Noviembre del 2018]. Disponible en la dirección electrónica: <https://xochimilco.gob.mx>
147. Yu Z, Peldszus, Huck PM. Optimizing gas chromatographic-mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design. *J. Chromatogr. A.* 2007;1148:65-77.
148. Pintado-Herrera MG, González-Mazo E, Lara-Martín PA et al Determining the distribution of triclosan and methyl triclosan in estuarine settings. *Chemosphere.* 2014;95:478-485.
149. Parrilla-Vázquez MM, Parrilla-Vázquez P, Martínez-Galera M et al. Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry for simultaneous analysis of pharmaceuticals in wastewaters. *J. Chromatogr. A.* 2013;1219:19-26.
150. Ferguson PJ, Bernot MJ, Doll JC et al. Detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in near-shore habitats of southern Lake Michigan. *Sci. Total Environ.* 2013;458-460:187-196.
151. Tran NH, Hu J, Ong SL. Simultaneous determination of PPCPs, ECDs, and artificial sweeteners in environmental water samples using a single-step SPE coupled with HPLC-MS/MS and isotope dilution. *Talanta.* 2013;113:82-92.
152. Klosterhaus SL, Grace R, Hamilton MC et al. Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary. *Environ. Int.* 2013;54:92-99.
153. Salgueiro-González N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S et al. Analysis of endocrine disruptor compounds in marine sediments by in cell clean up-pressurized liquid extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry determination. *Anal. Chim. Acta.* 2014;852:112-120.

154. Rüdell H, Böhmer W, Müller M et al. Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter: Results from the German Environmental Specimen Bank. *Chemosphere*. 2013;91(11):1517-1524.
155. Subedi B, Mottaleb MA, Chambliss CK et al. Simultaneous analysis of select pharmaceuticals and personal care products in fish tissue using pressurized liquid extraction combined with silica gel cleanup. *J. Chromatogr. A*. 2011;1218:6278-6284.
156. Mottaleb MA, Usenko S, O'Donnell JG et al. Gas chromatography-mass spectrometry screening methods for select UV filters, synthetic musks, alkylphenols, an antimicrobial agent, and an insect repellent in fish. *J. Chromatogr. A*. 2009;1216:815-823.

11. ANEXOS

11.1. Regresiones lineales

11.1.1. Análisis de agua por SPME-GC-MS

Cuadro 26. Regresión lineal: análisis de agua por SPME-GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	25.5	11.5	3.5	6.3	8.1	4.1	4.8	1.7
b	219.3	73.9	69.8	129.4	47.0	282.1	156.7	115.2
R	0.9992	0.9999	0.9995	0.9969	0.9994	0.9863	0.9994	0.9995
R ²	0.9984	0.9999	0.9990	0.9939	0.9989	0.9728	0.9988	0.9990

11.1.2. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS

Cuadro 27. Regresión lineal: análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	1458.2	1039.8	269.1	394.3	78.3	203.1	25.8	17.3
b	878.3	597.0	358.7	460.0	414.3	390.7	654.0	1286.6
R	0.9998	0.9991	0.9960	0.9903	0.9972	0.9971	0.9726	0.9776
R ²	0.9997	0.9981	0.9920	0.9808	0.9944	0.9943	0.9459	0.9556

11.1.3. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS

Cuadro 28. Regresión lineal: análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	204402	943582	50378	461716	23585	33741	38746	22964
b	-15314	-442790	16831	-108626	32284	9234	-71683	-23210
R	0.9991	0.9958	0.9993	0.9909	0.9953	0.9977	0.9778	0.9789
R ²	0.9981	0.9917	0.9986	0.9819	0.9906	0.9953	0.9560	0.9582

11.1.4. Análisis de agua por SBSE-GC-MS

Cuadro 29. Regresión lineal: análisis de agua por SBSE-GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	387436	531269	176293	221329	147530	42375	93512	48546
b	-4092	-522314	83378	-43068	-30738	5592	-65880	-31461
R	0.9781	0.9736	0.9635	0.9735	0.9556	0.9701	0.9707	0.9719
R ²	0.9567	0.9480	0.9283	0.9477	0.9131	0.9410	0.9422	0.9446

11.1.5. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS

Cuadro 30. Regresión lineal: análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	40080	40079	17295	33885	72342	6485	9177	3033
b	176543	-73456	142531	193401	52369	296343	-50872	77019
R	0.9839	0.9872	0.9673	0.9893	0.9917	0.9830	0.9769	0.9790
R ²	0.9680	0.9745	0.9356	0.9787	0.9835	0.9663	0.9543	0.9584

11.1.6. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS

Cuadro 31. Regresión lineal: análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	55673	56943	128286	135381	36040	72511	22537	13690
b	75863	205206	235850	240927	-26662	405812	47230	21573
R	0.9800	0.9729	0.9738	0.9829	0.9861	0.9872	0.9327	0.9946
R ²	0.9604	0.9466	0.9483	0.9661	0.9724	0.9746	0.8700	0.9892

11.1.7. Validación del sistema cromatográfico GC-MS

Cuadro 32. Regresión lineal: validación del sistema GC-MS.

Regresión lineal	Ibuprofeno	Clorofeno	Naproxeno	Triclosán	Ketoprofeno	Diclofenaco	Bisfenol A	Estrona
m	976177	485060	457827	233055	212234	45474	89565	61390
b	-14375	6121	-124014	-23103	-313066	-47087	-1806	-65642
R	0.9943	0.9834	0.9943	0.9904	0.9953	0.9950	0.9778	0.9928
R ²	0.9886	0.9670	0.9885	0.9808	0.9906	0.9900	0.9562	0.9856

11.2. Curvas de calibración

11.2.1. Análisis de agua por SPME-GC-MS

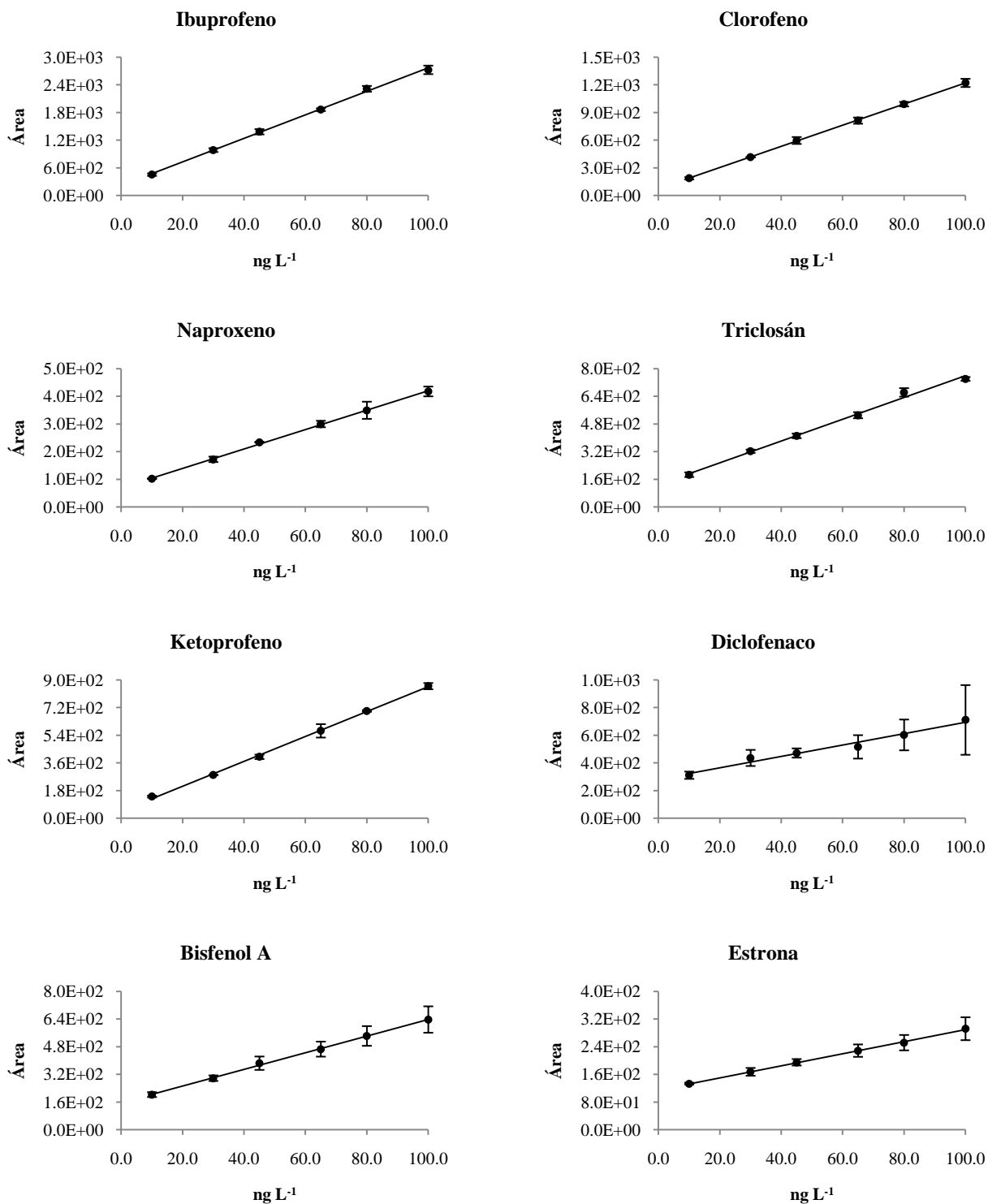


Figura 50. Curvas de calibración para el análisis de agua por SPME-GC-MS.

11.2.2. Análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS

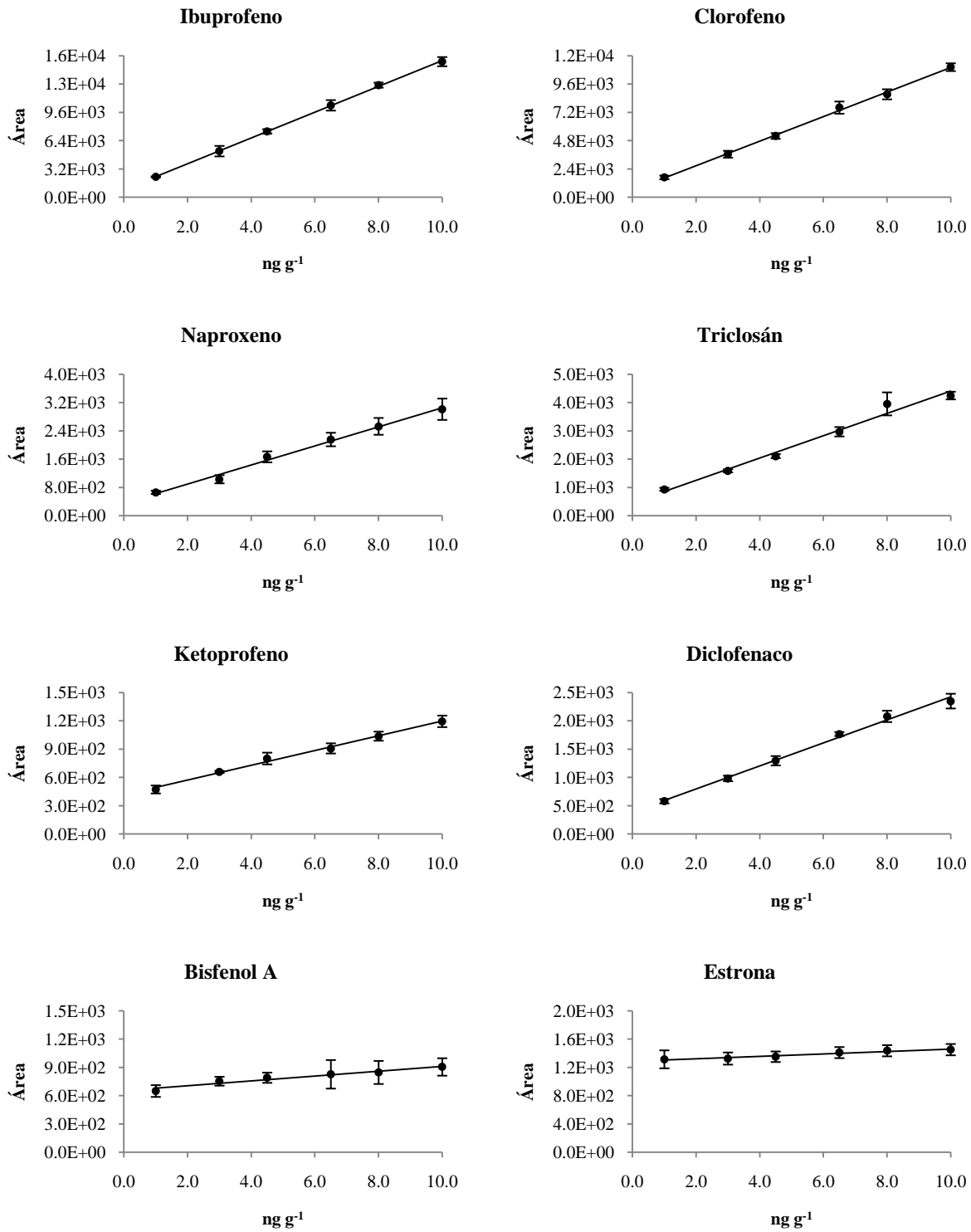


Figura 51. Curvas de calibración para el análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS.

11.2.3. Análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS

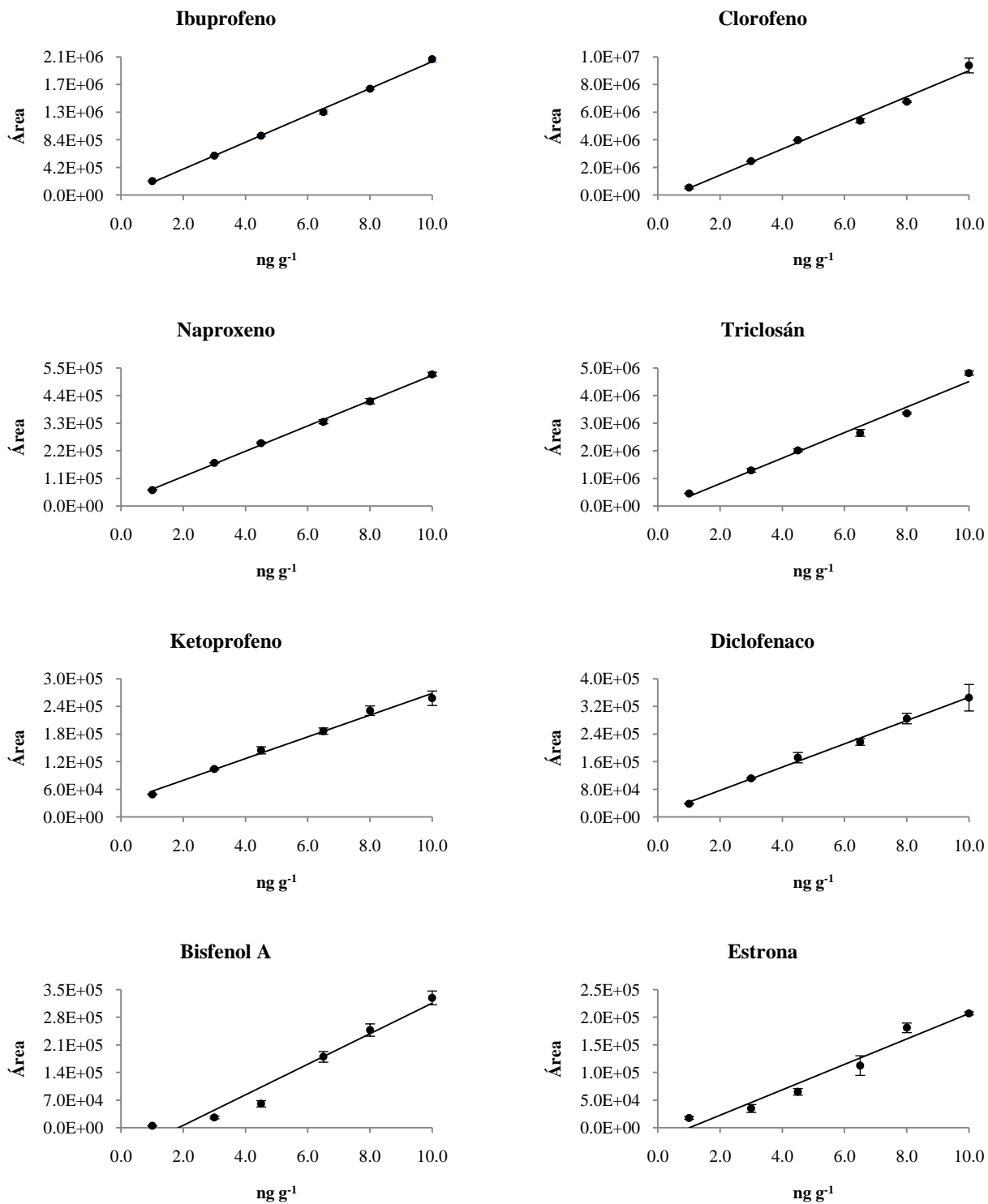


Figura 52. Curvas de calibración para el análisis de pescado por UAE-SPME-GC-MS.

11.2.4. Análisis de agua por SBSE-GC-MS

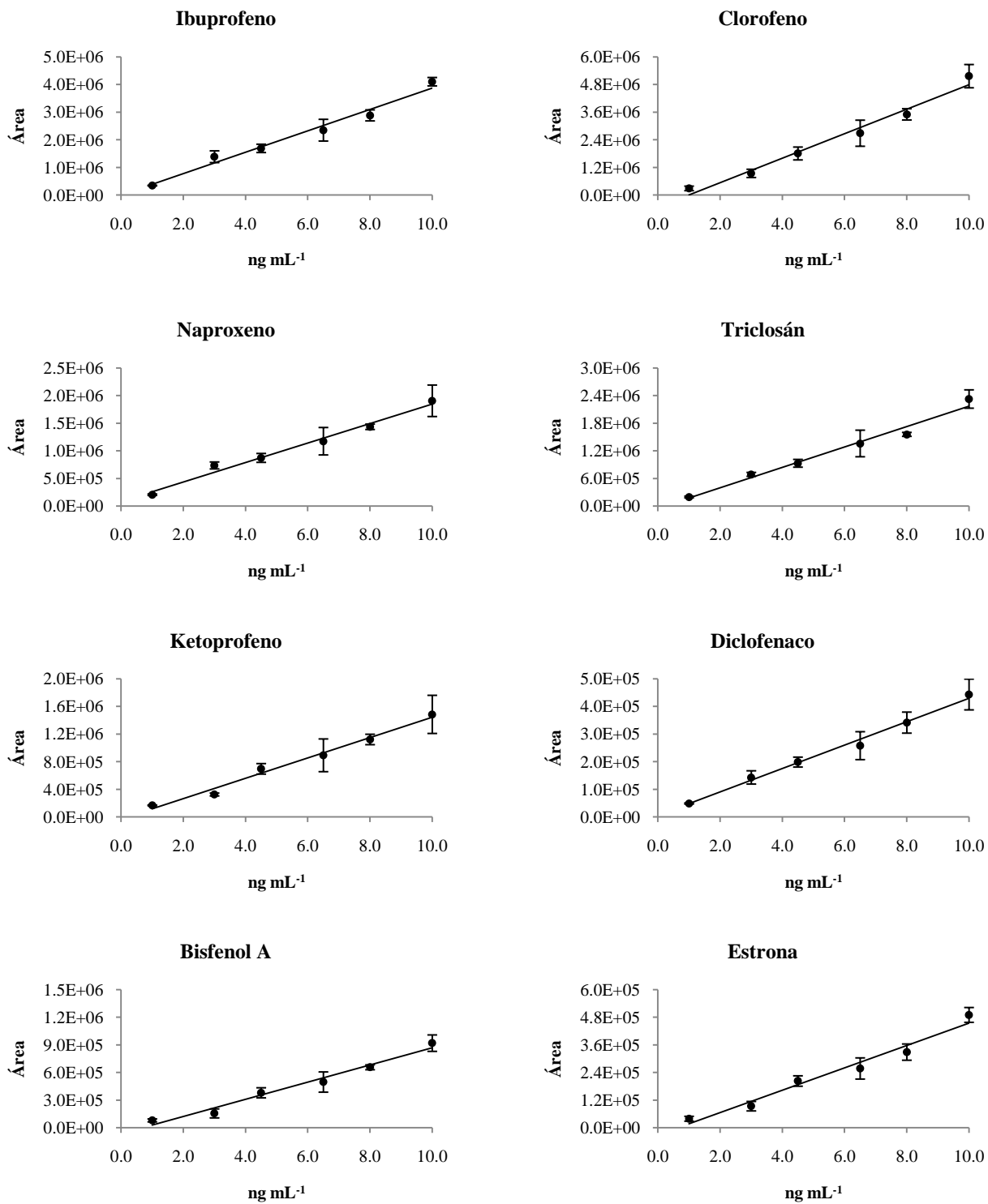


Figura 53. Curvas de calibración para el análisis de agua por SBSE-GC-MS.

11.2.5. Análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS

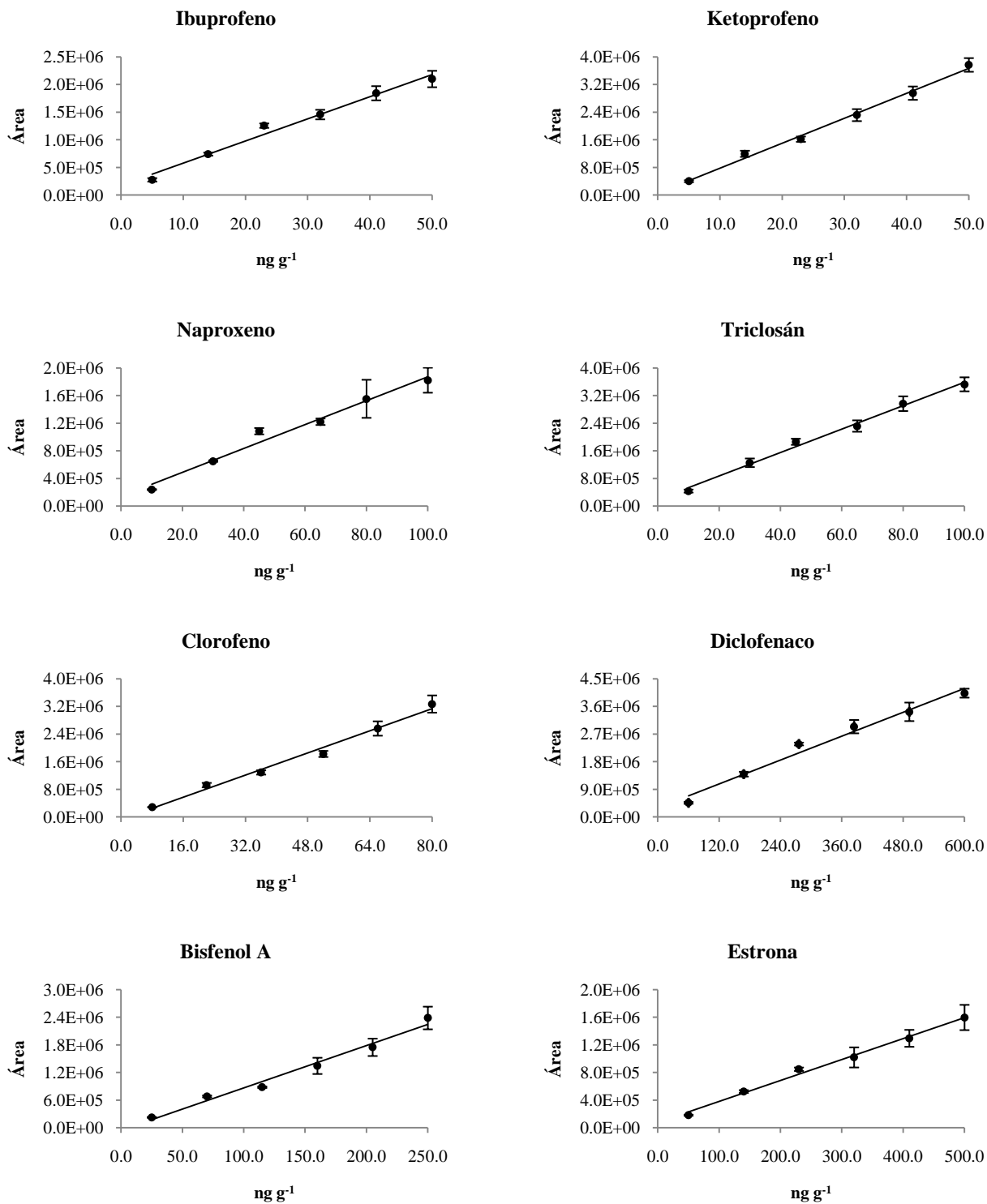


Figura 54. Curvas de calibración para el análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS.

11.2.6. Análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS

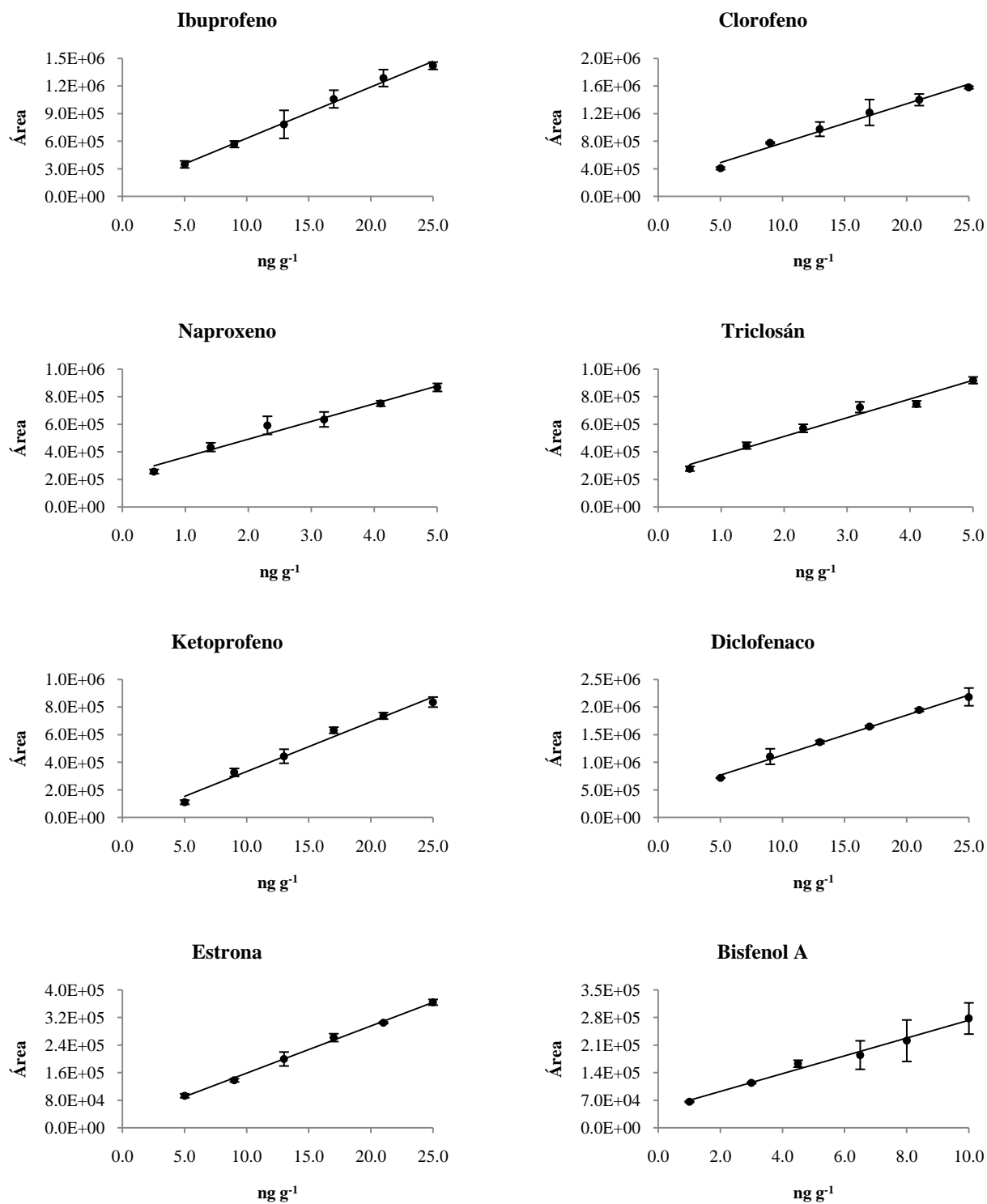


Figura 55. Curvas de calibración para el análisis de pescado por UAE-SBSE-GC-MS.

11.2.7. Análisis de PPCPs por GC-MS

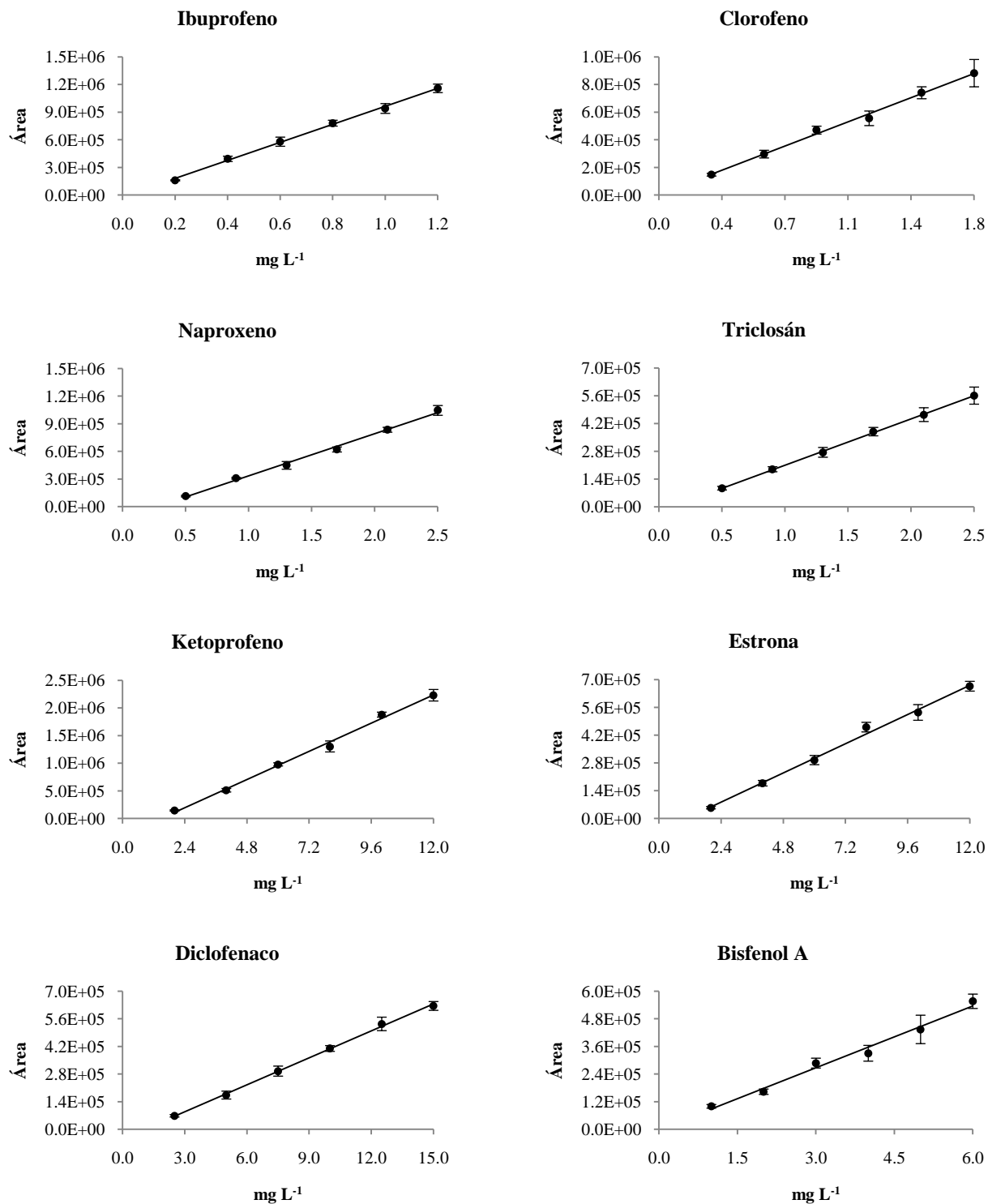


Figura 56. Curvas de calibración de la validación del sistema GC-MS.

11.3. Cromatogramas

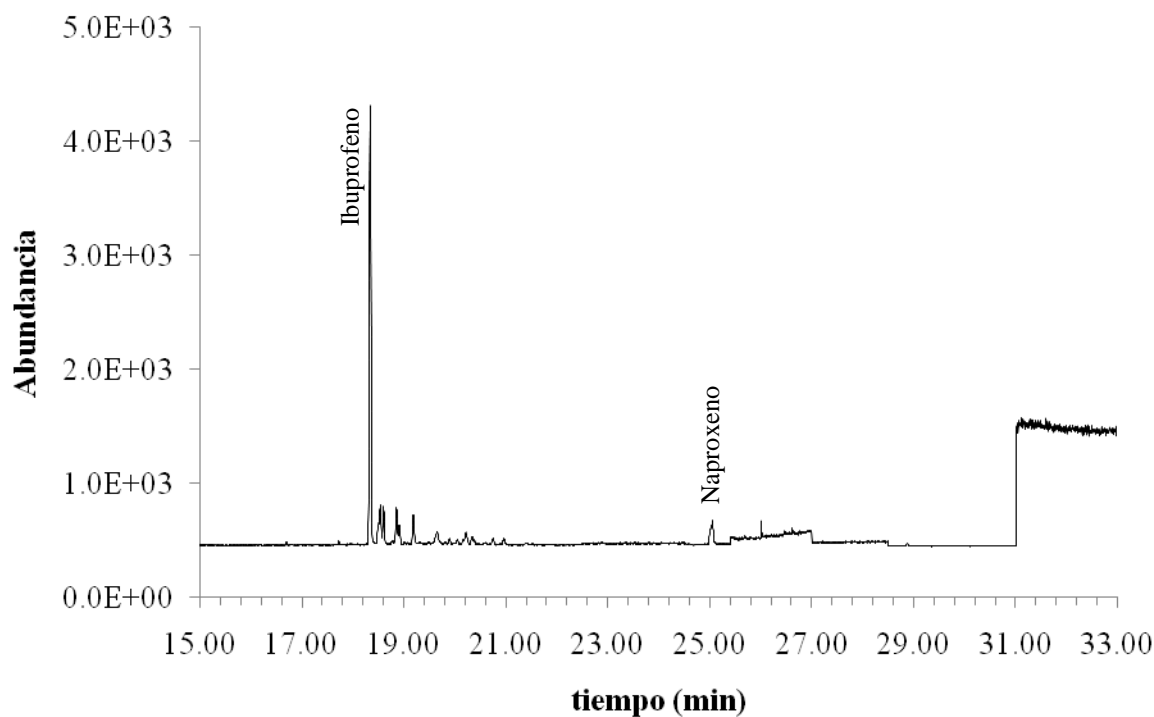


Figura 57. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH1** (temporada de lluvias).

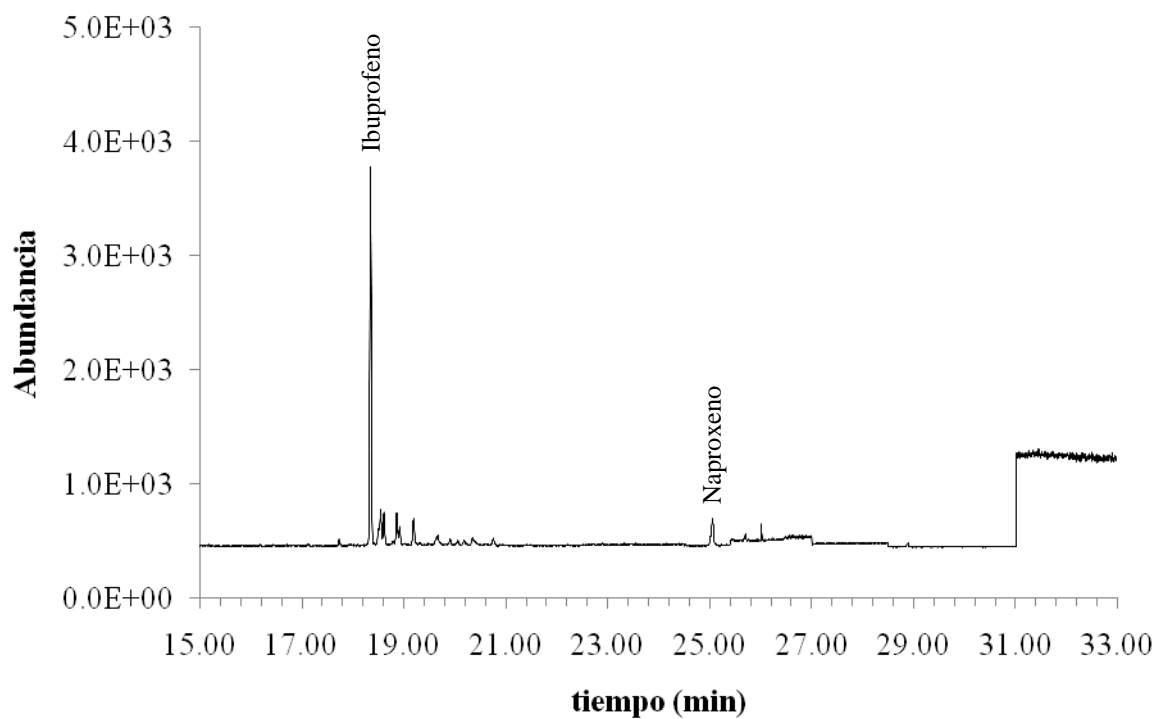


Figura 58. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH2** (temporada de lluvias).

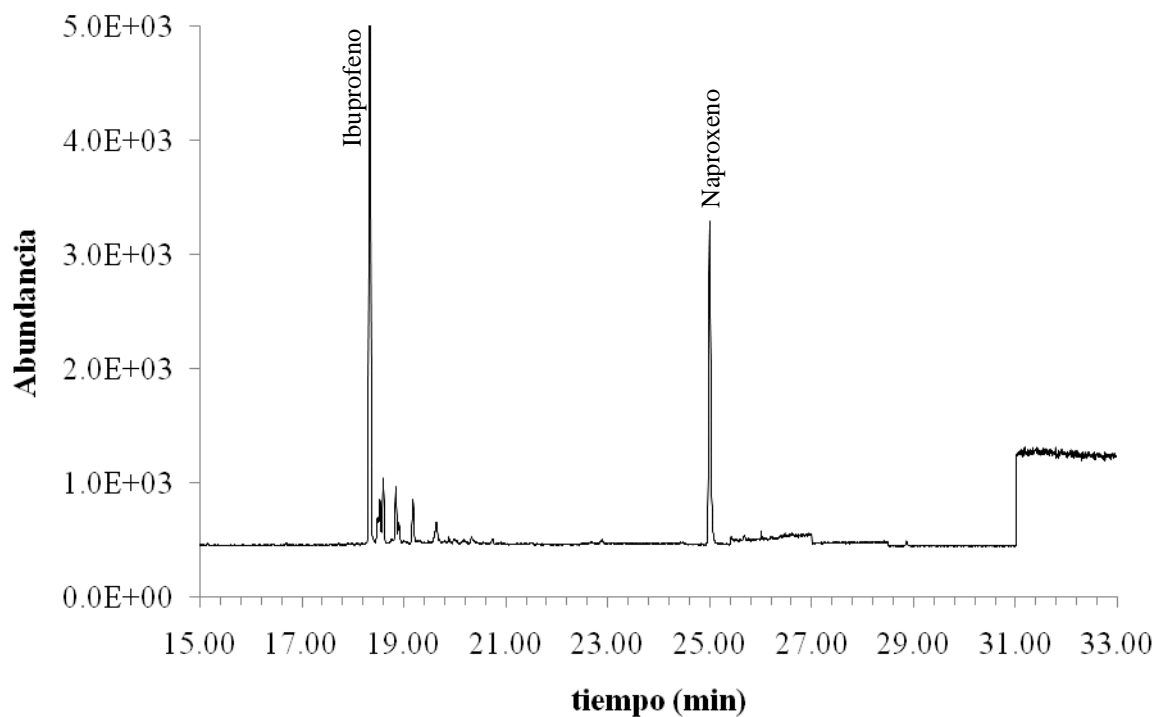


Figura 59. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH3** (temporada de lluvias).

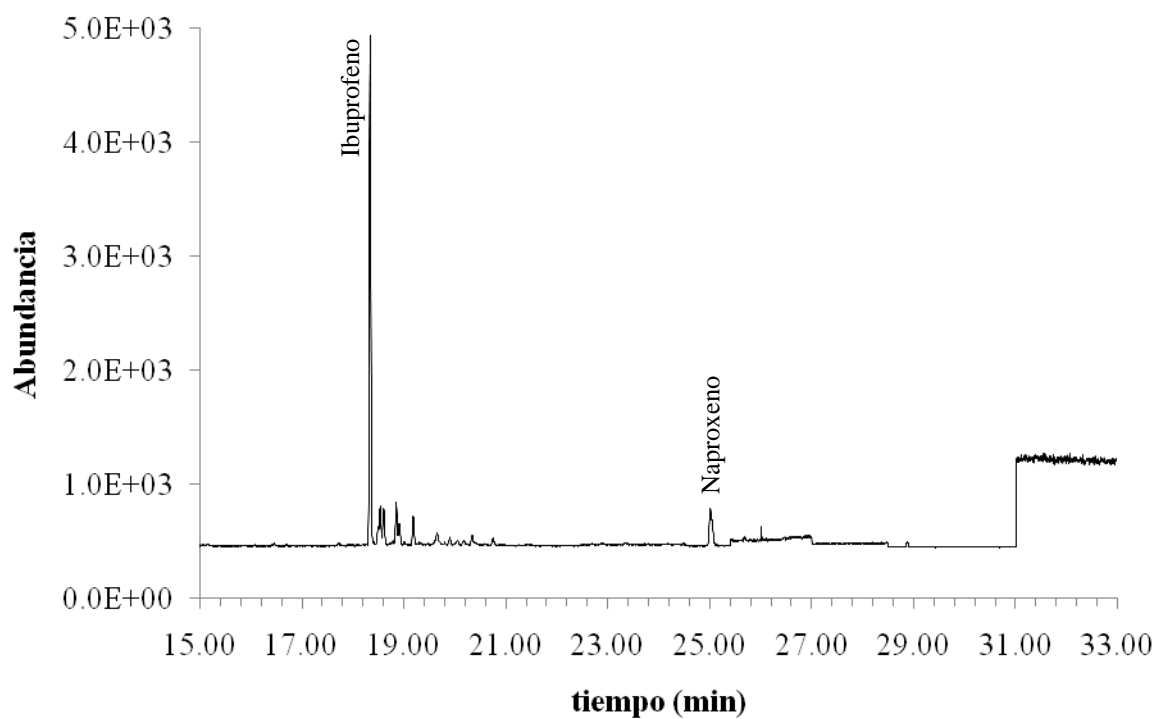


Figura 60. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH4** (temporada de lluvias).

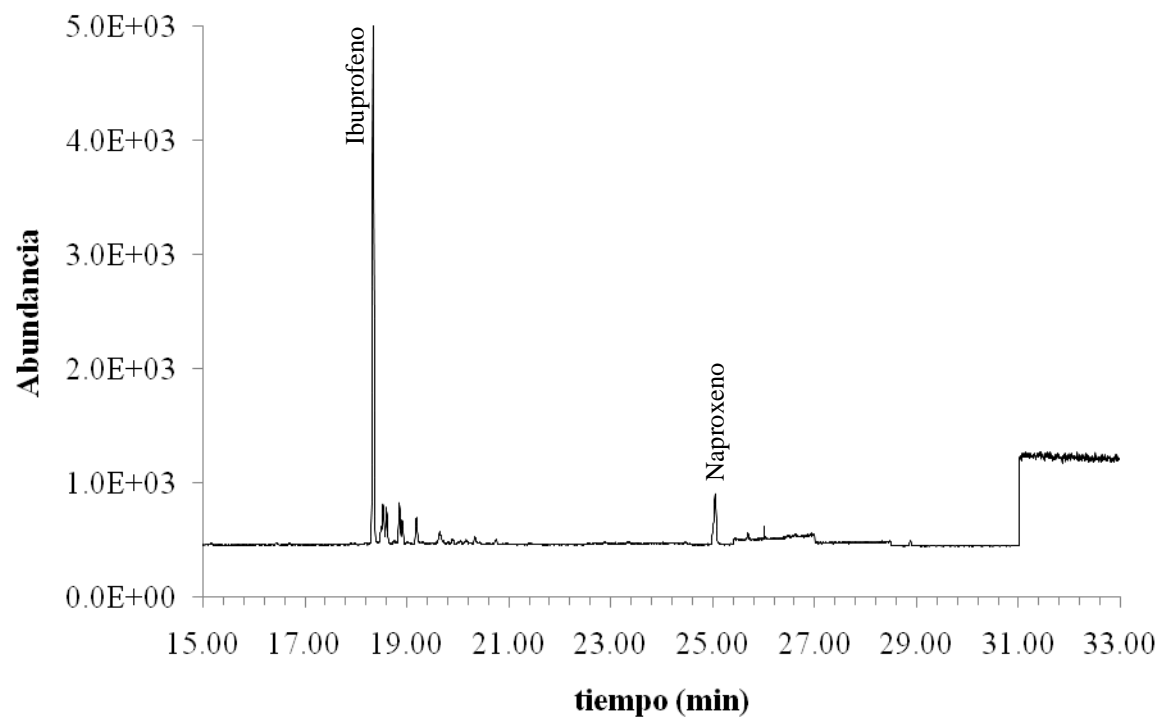


Figura 61. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH5** (temporada de lluvias).

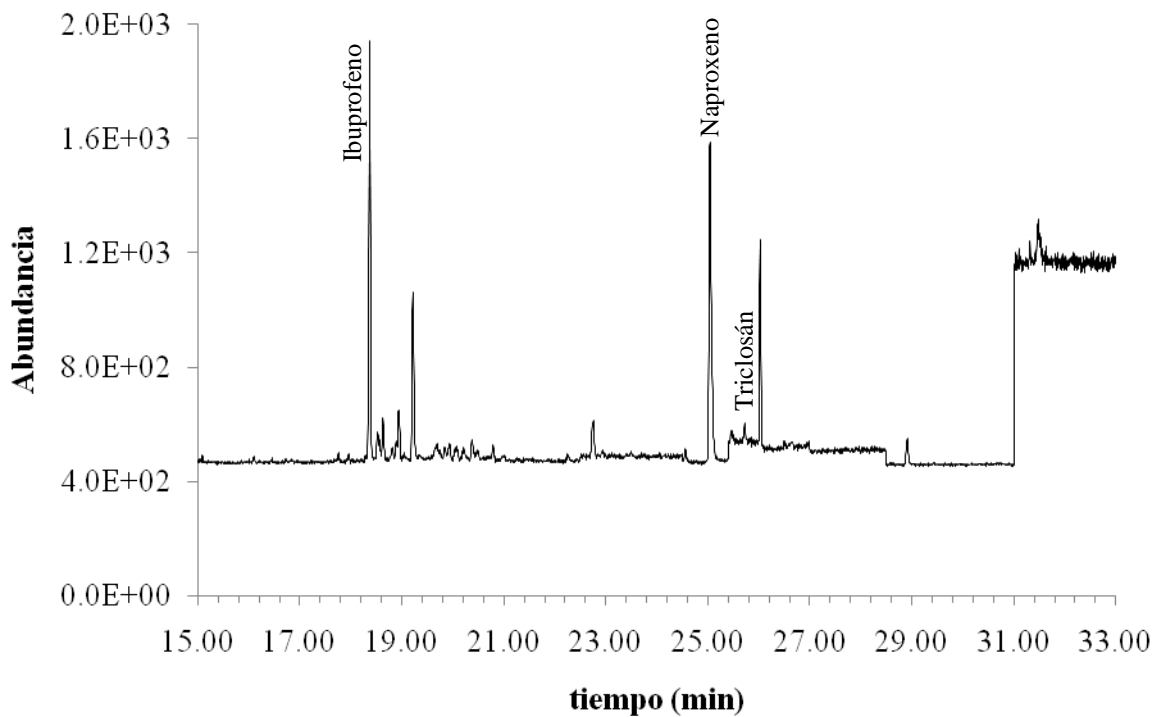


Figura 62. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH1** (temporada seca).

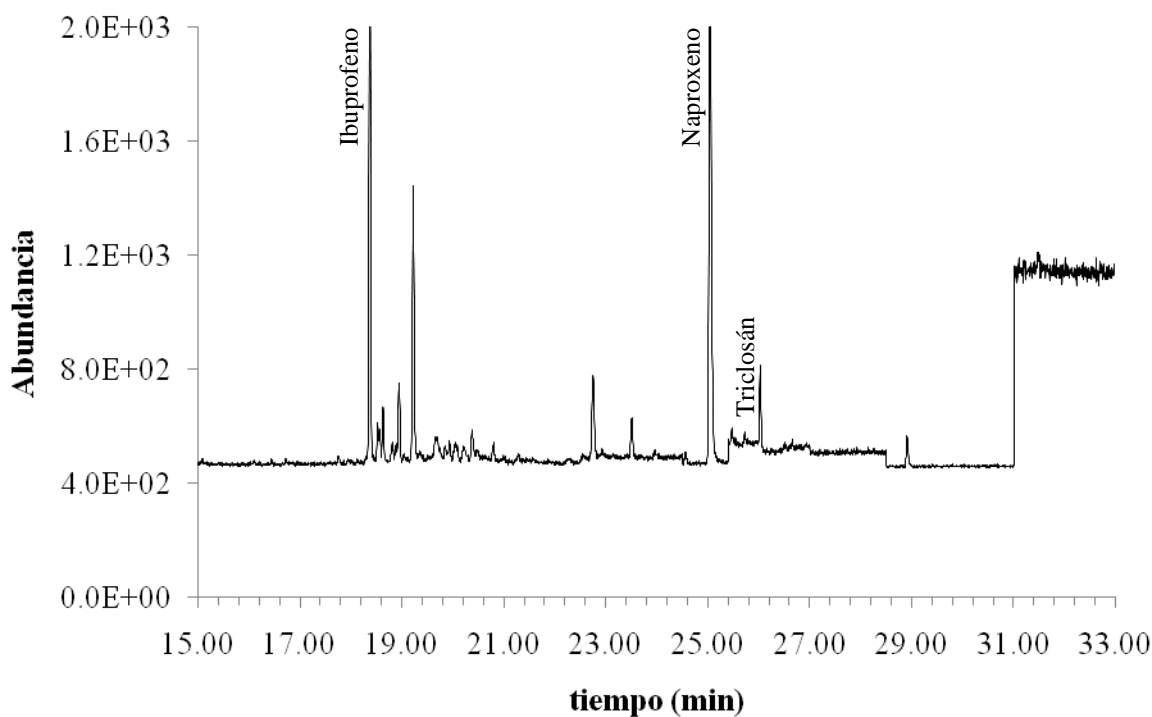


Figura 63. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH2** (temporada seca).

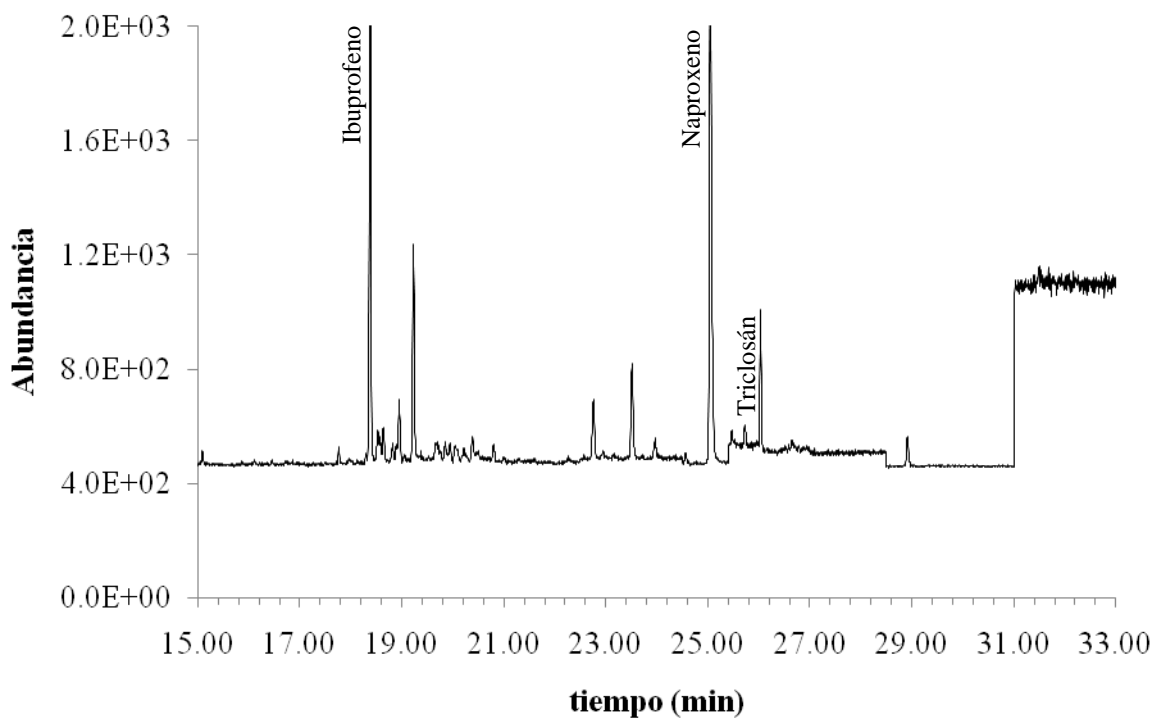


Figura 64. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH3** (temporada seca).

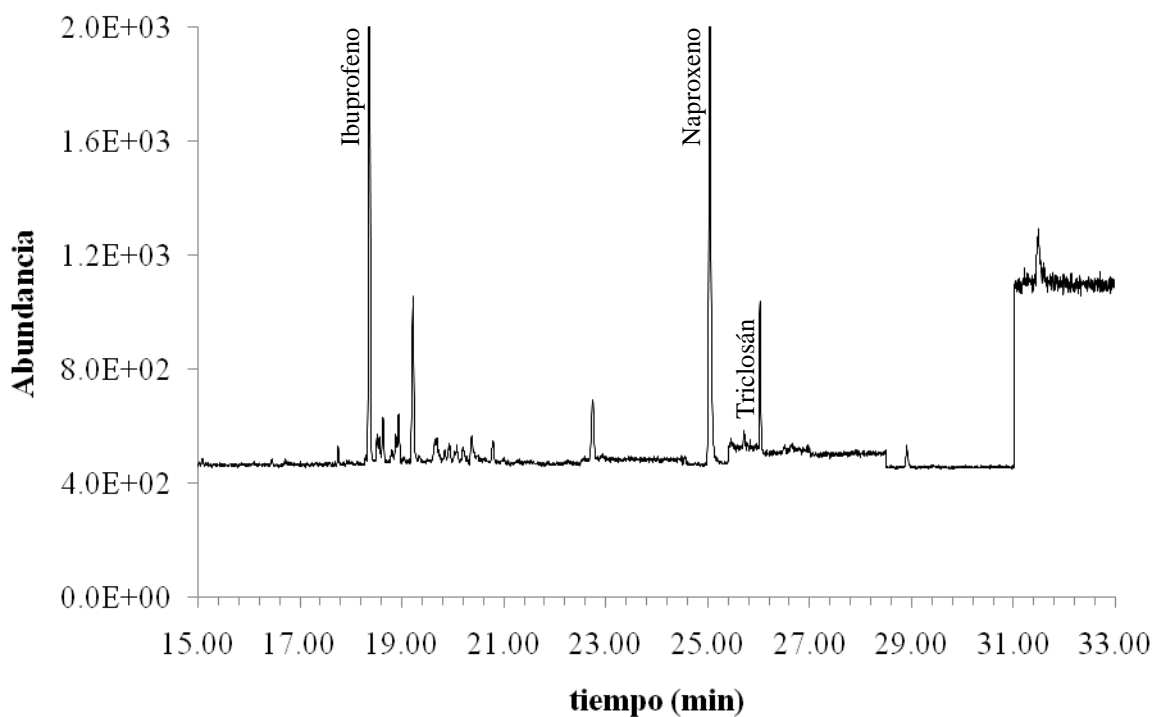


Figura 65. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH4** (temporada seca).

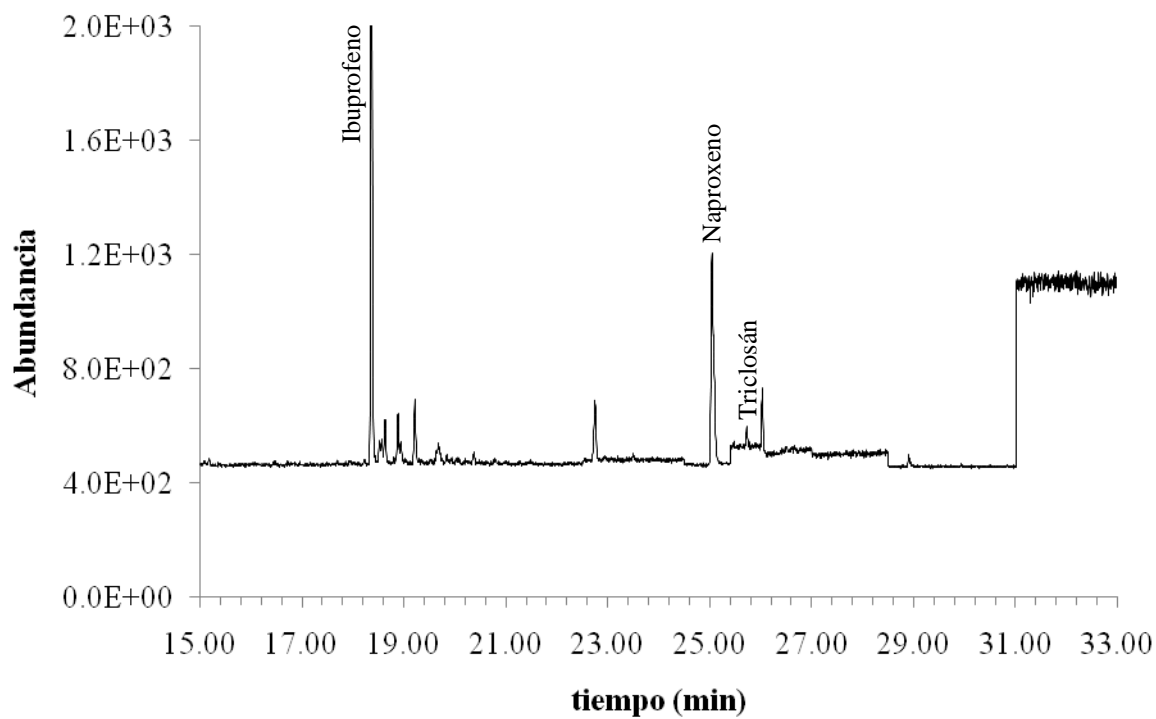


Figura 66. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WH5** (temporada seca).

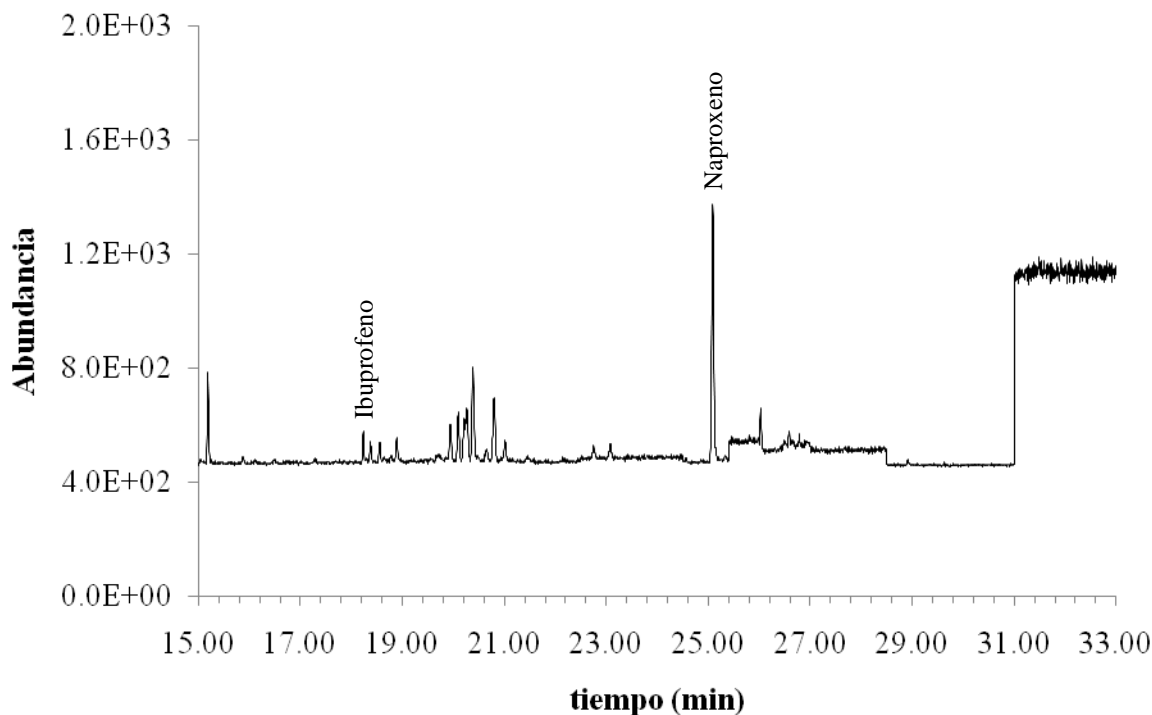


Figura 67. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SH1** (temporada seca).

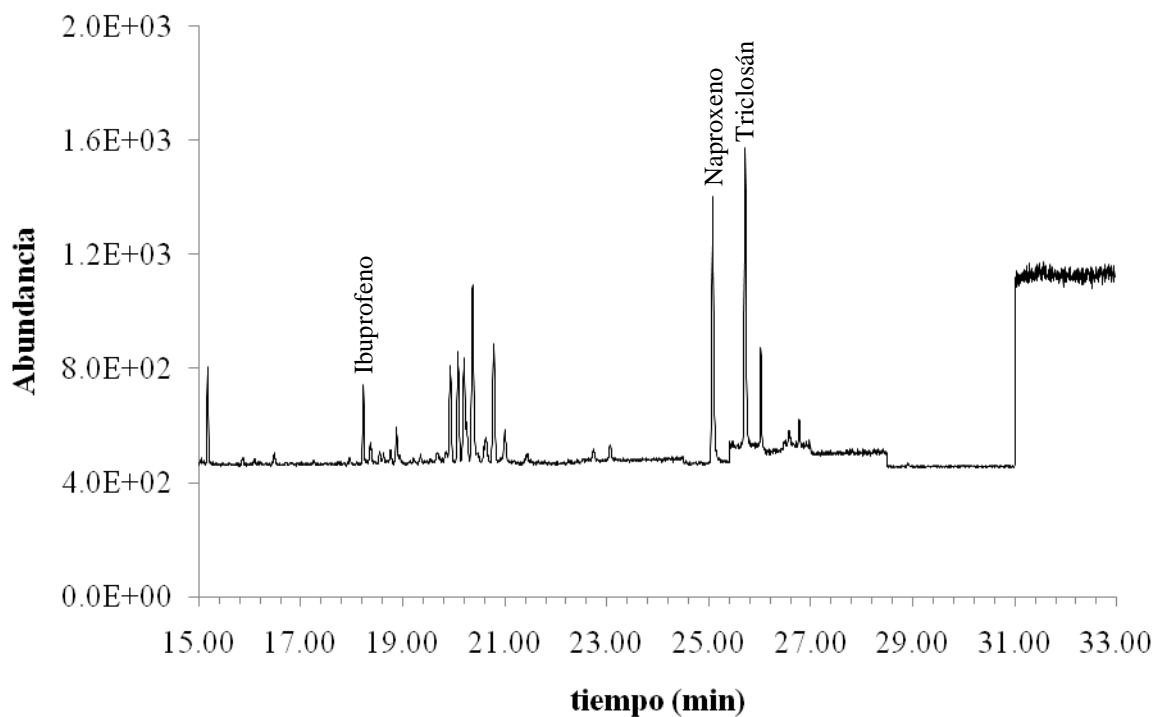


Figura 68. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SH2** (temporada seca).

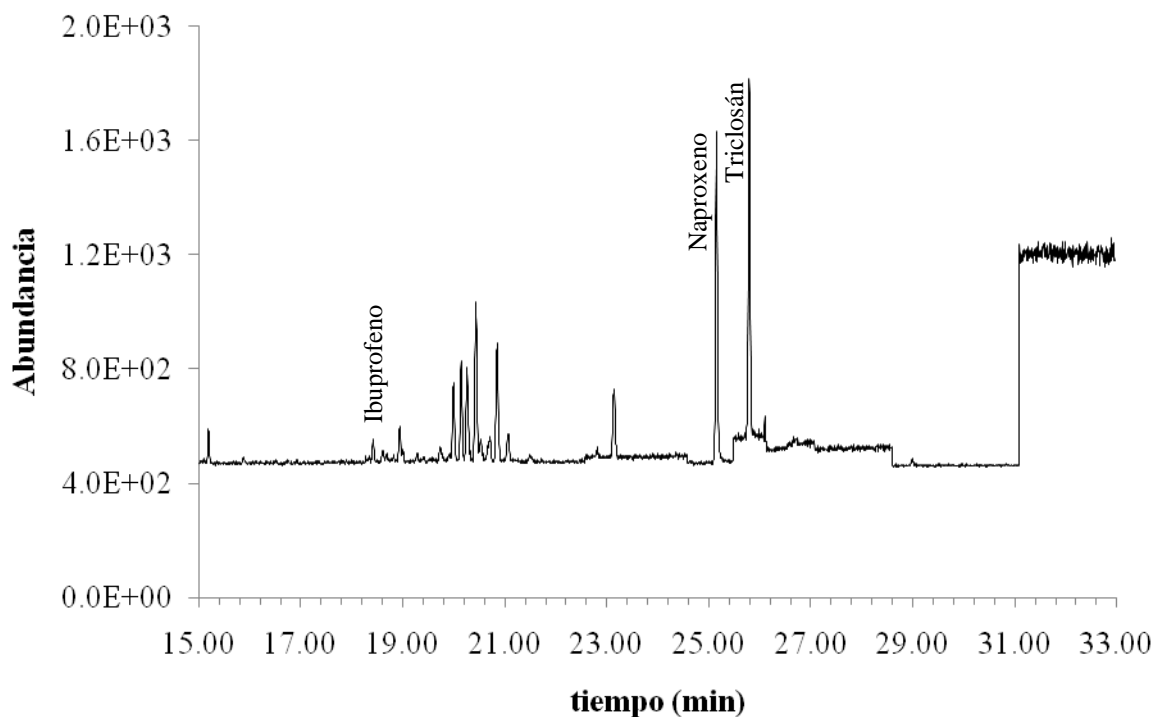


Figura 69. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SH3** (temporada seca).

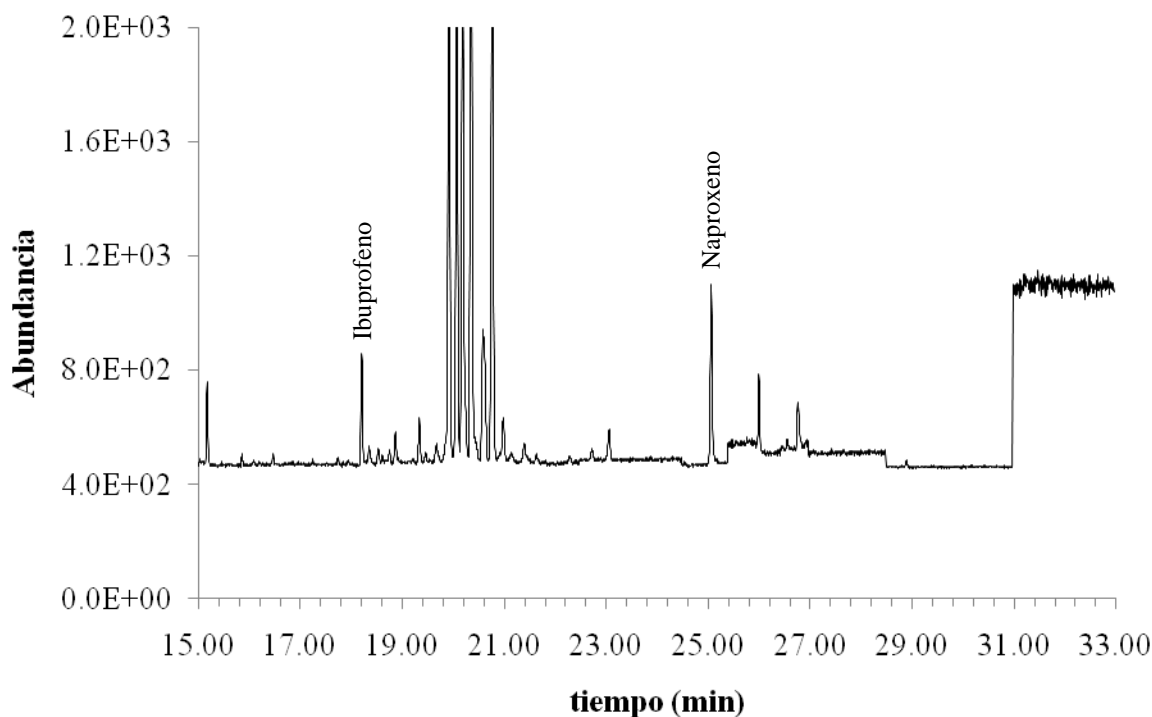


Figura 70. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SH4** (temporada seca).

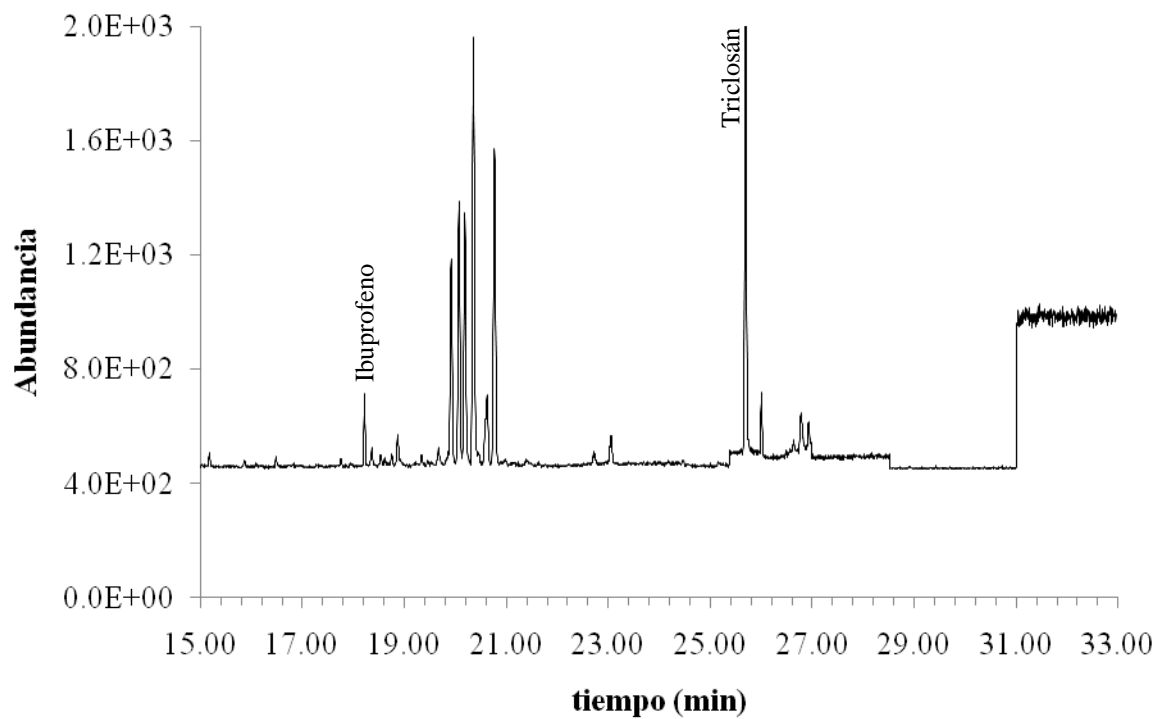


Figura 71. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SH5** (temporada seca).

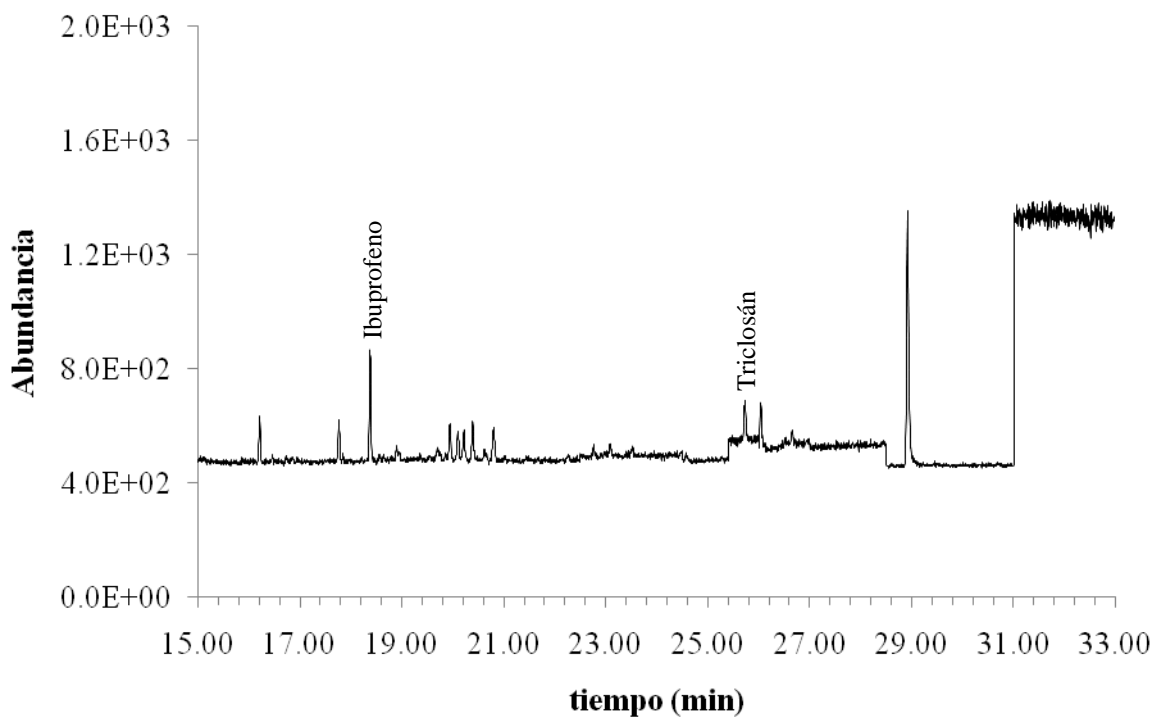


Figura 72. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS1.**

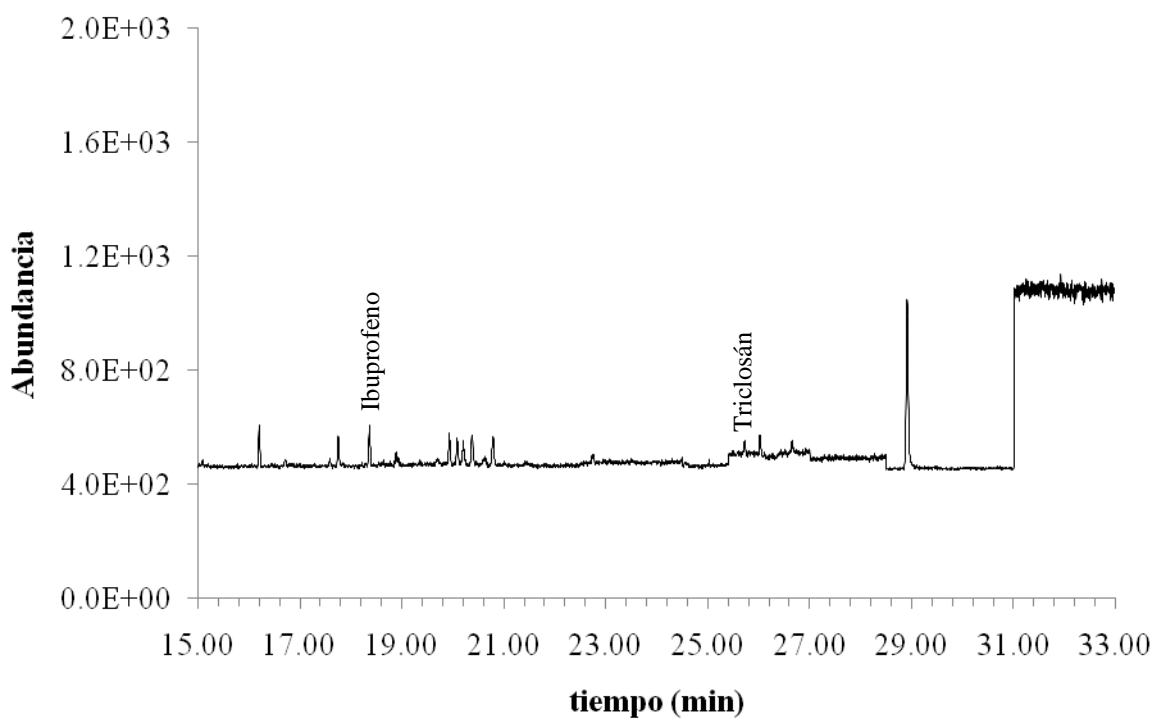


Figura 73. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS2.**

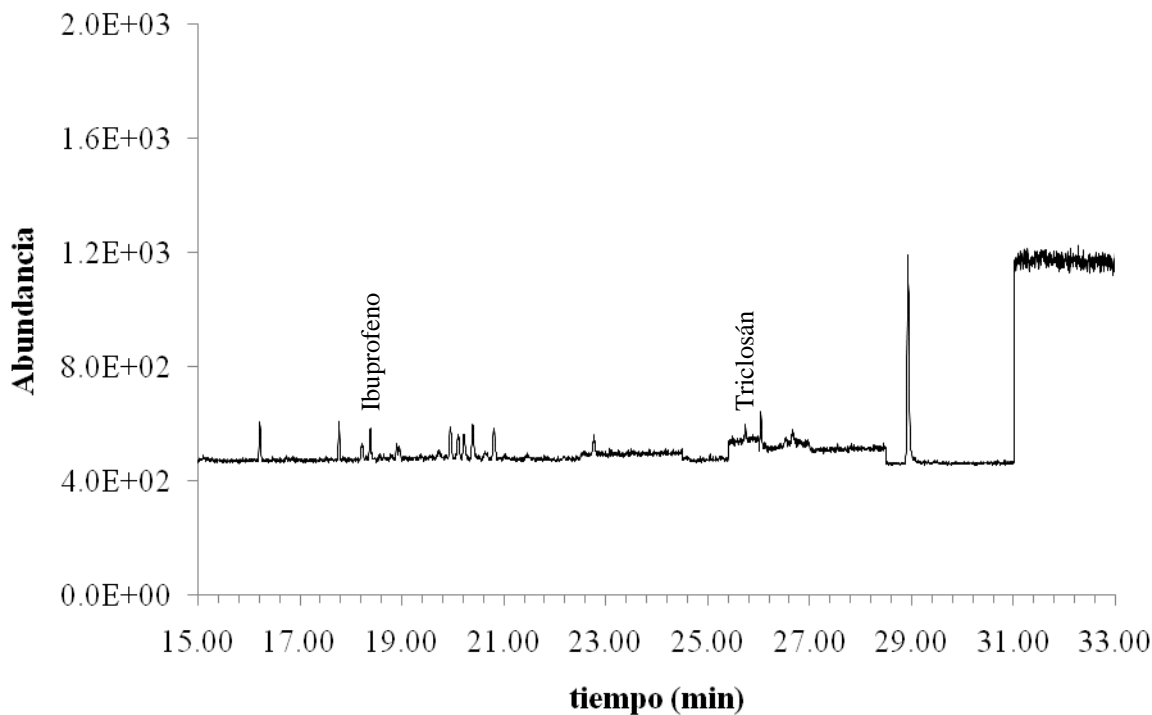


Figura 74. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS3.**

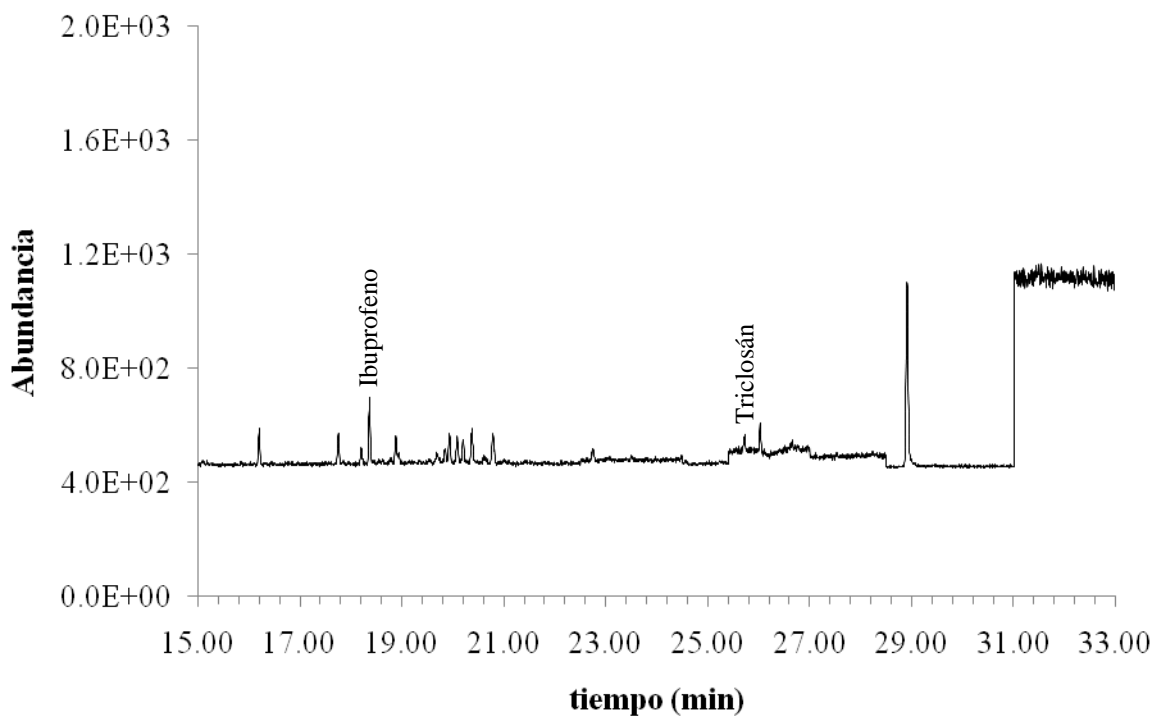


Figura 75. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS4.**

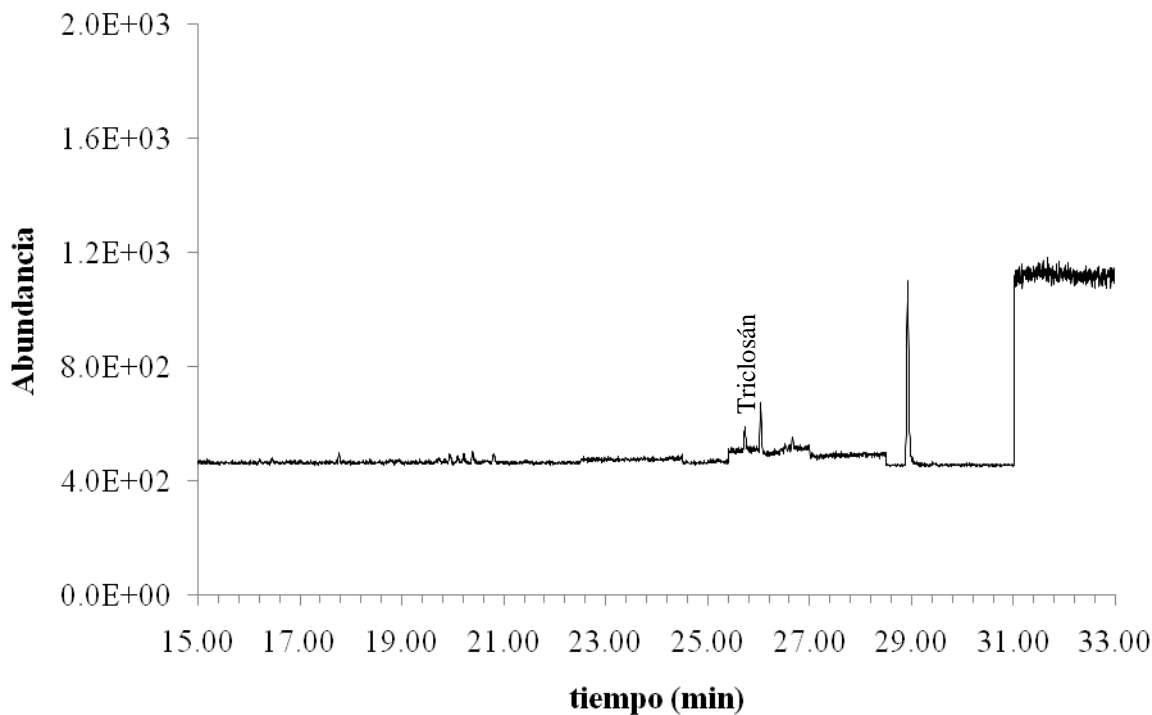


Figura 76. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS5.**

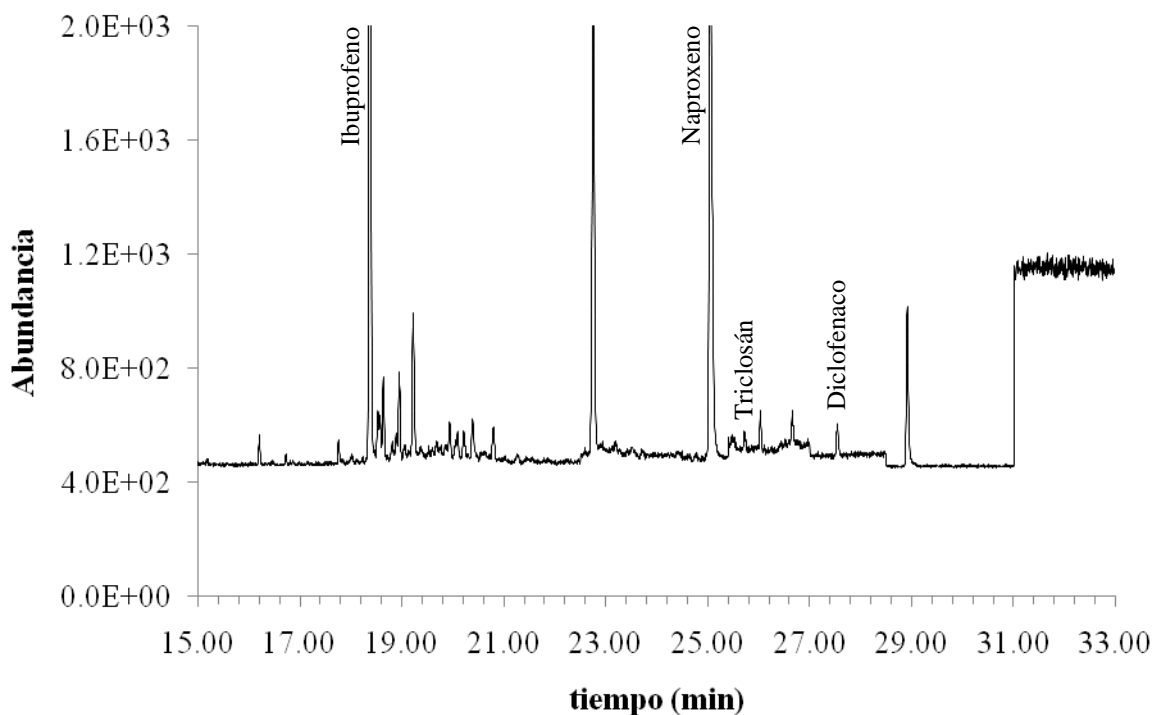


Figura 77. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS6.**

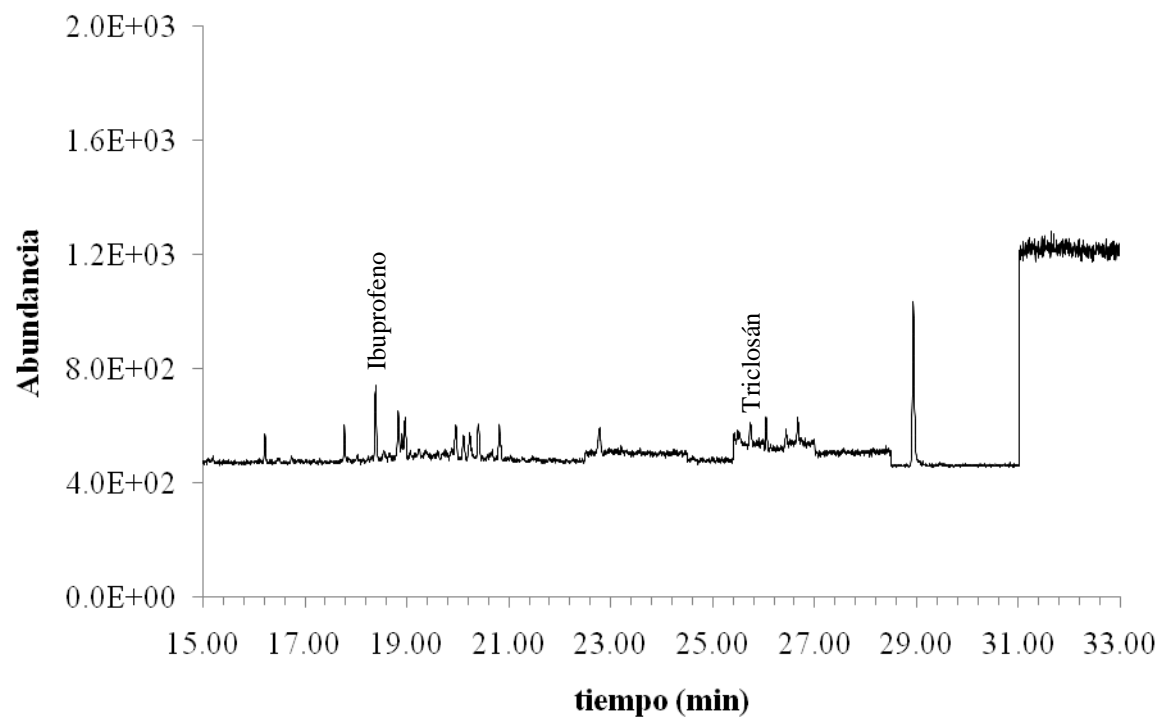


Figura 78. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WS7.**

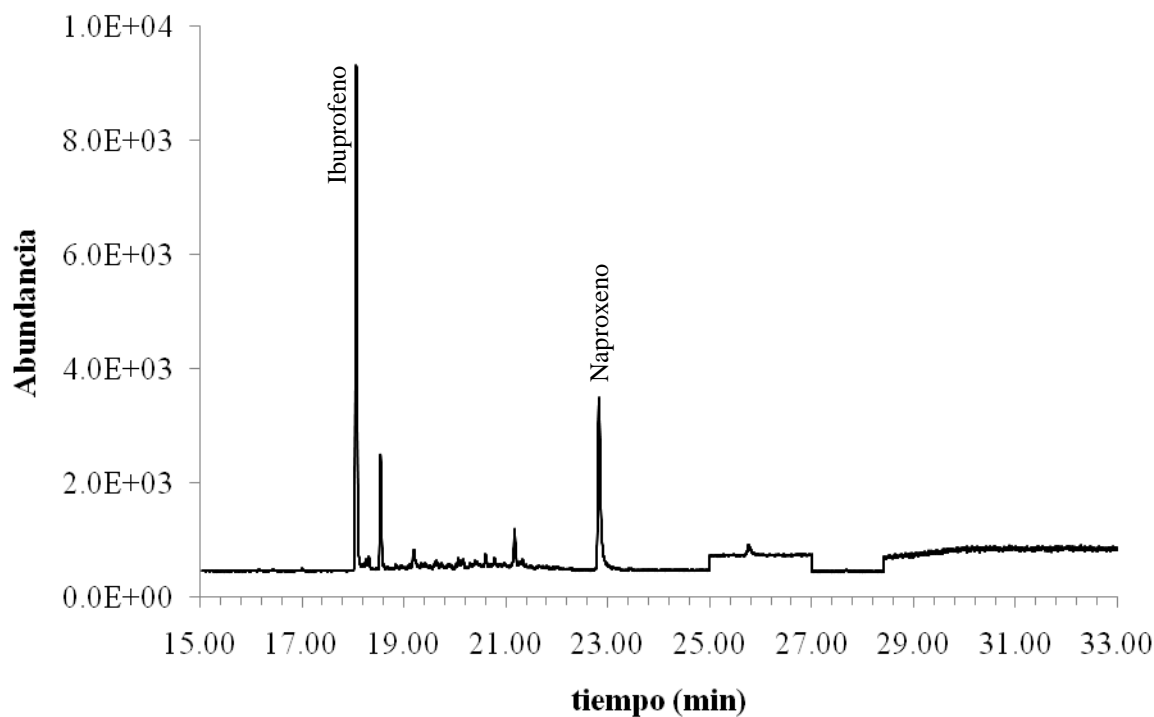


Figura 79. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T1.**

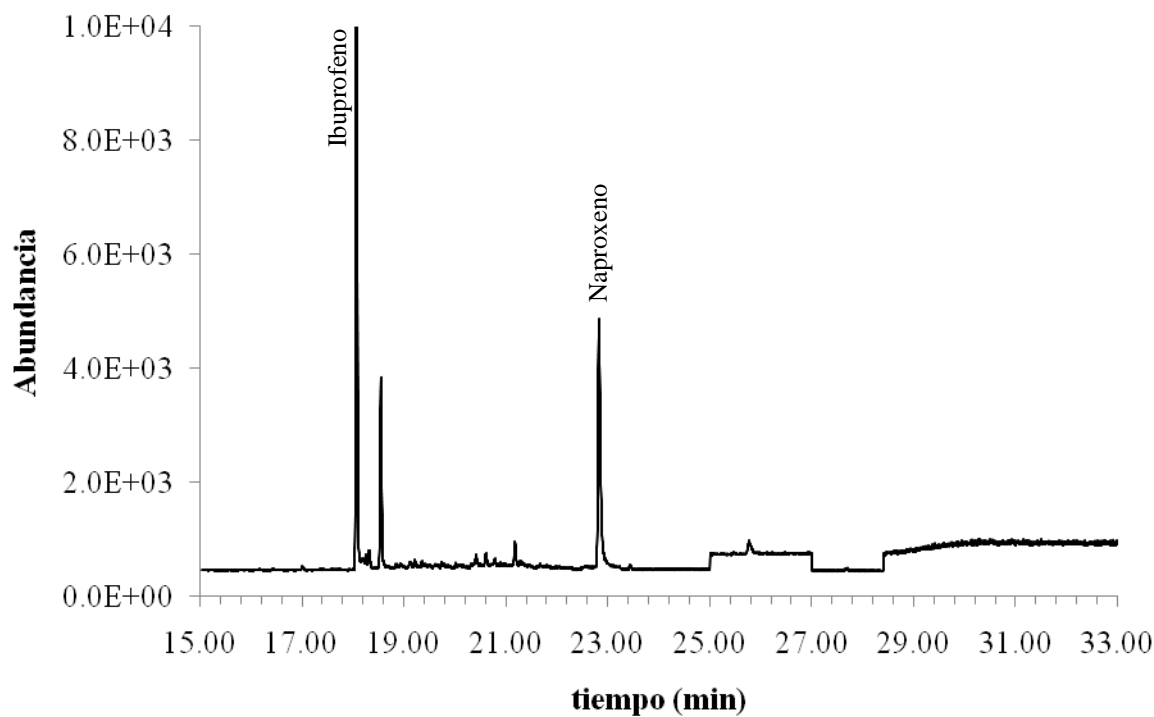


Figura 80. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T2.**

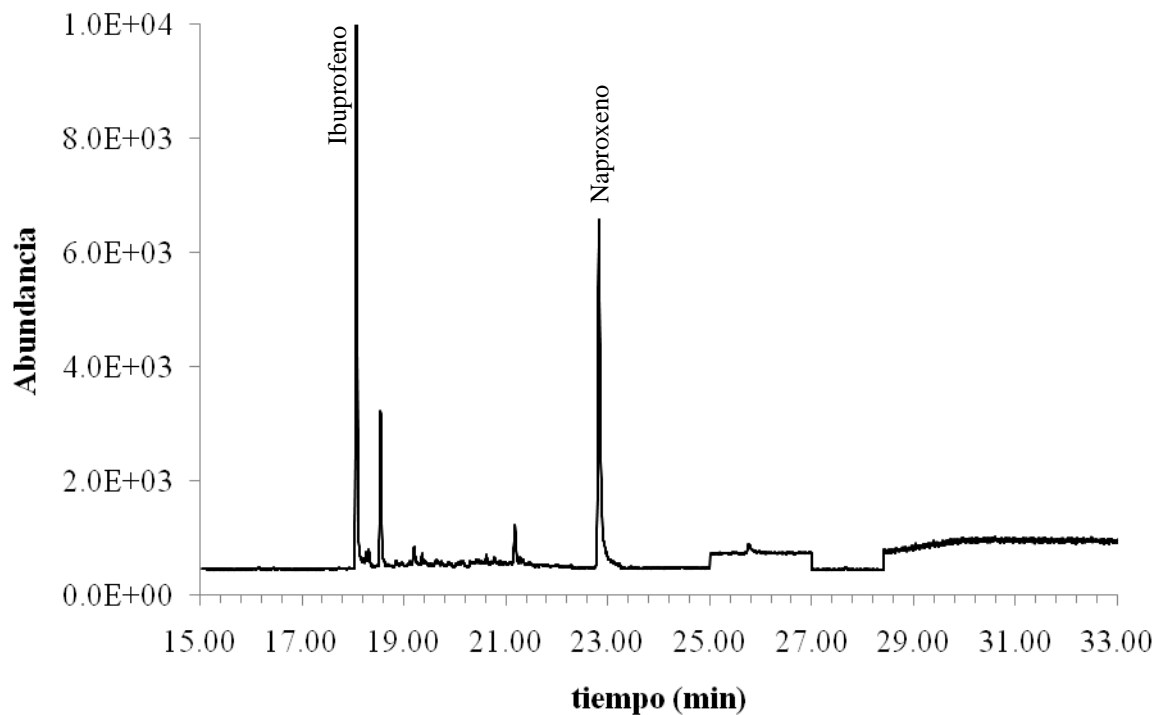


Figura 81. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T3.**

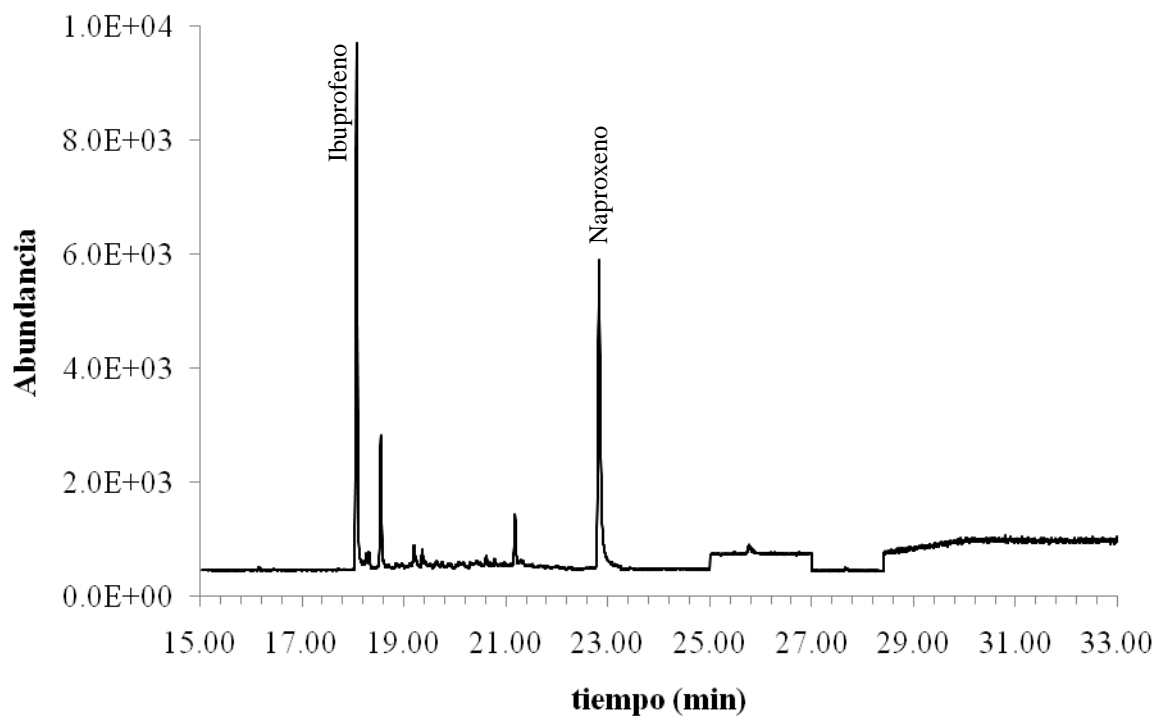


Figura 82. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T4.**

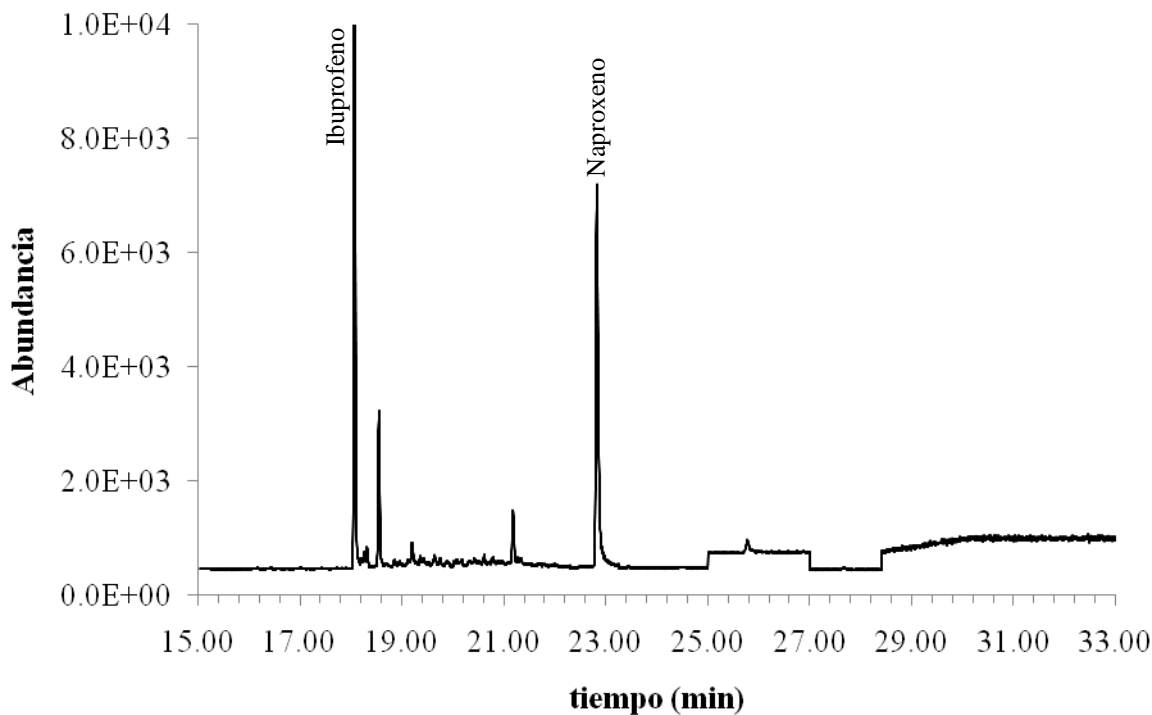


Figura 83. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T5.**

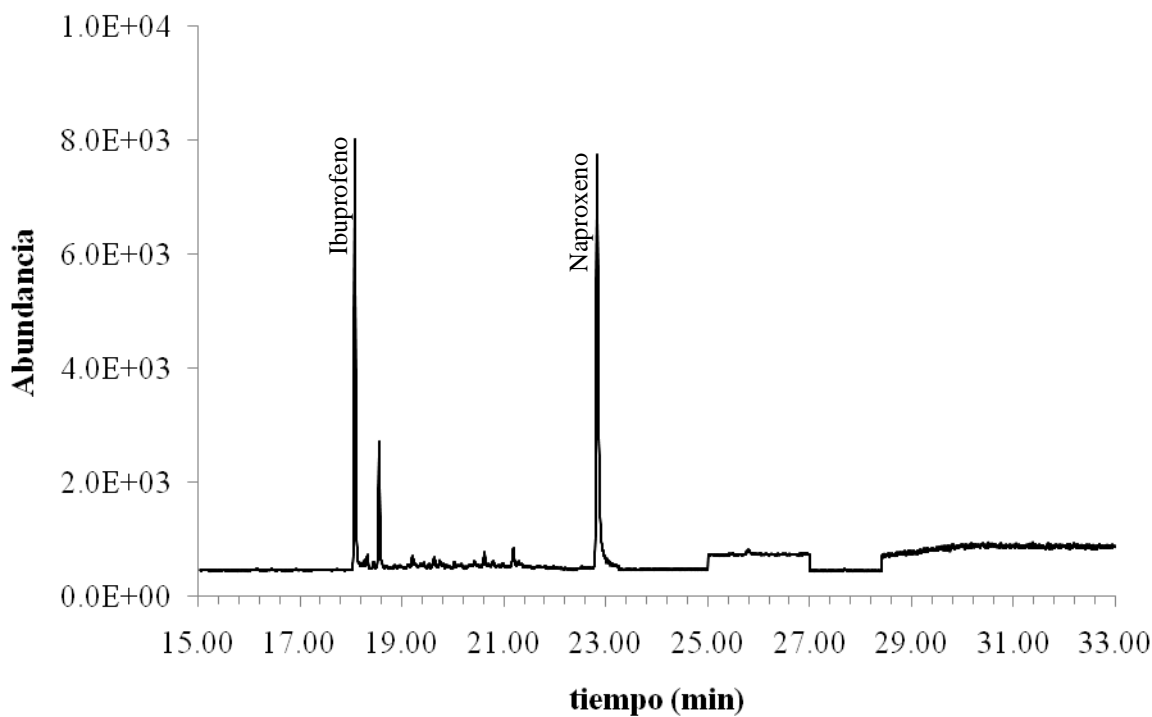


Figura 84. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T6.**

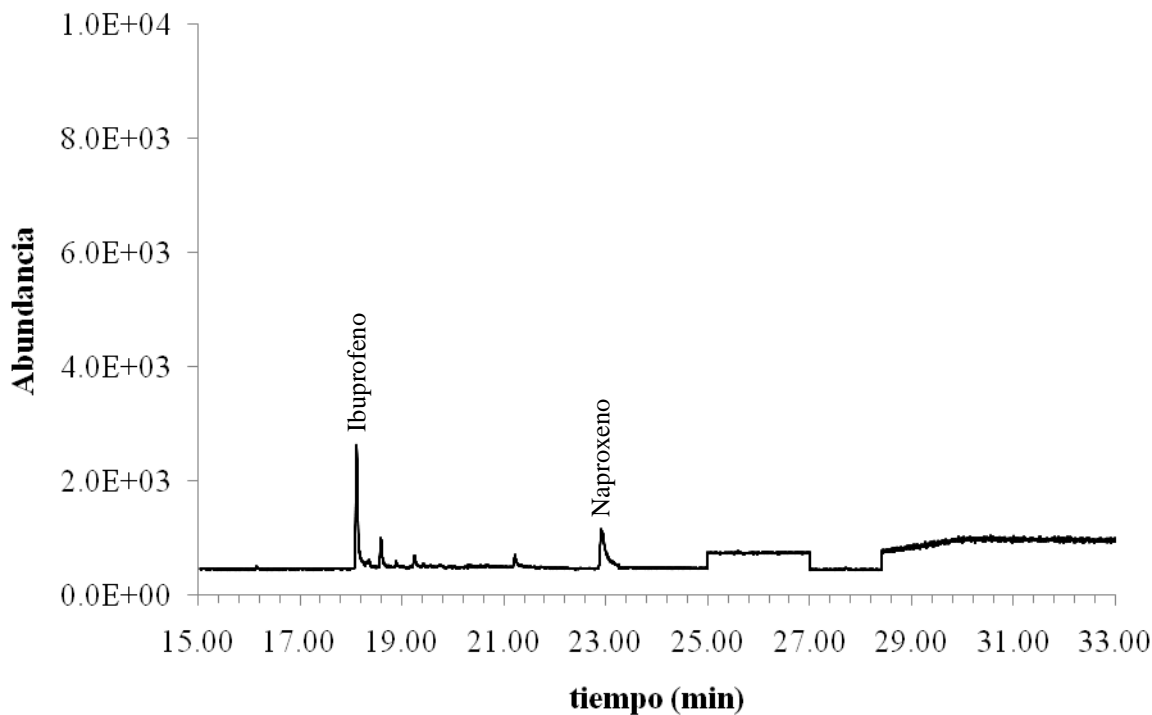


Figura 85. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T7.**

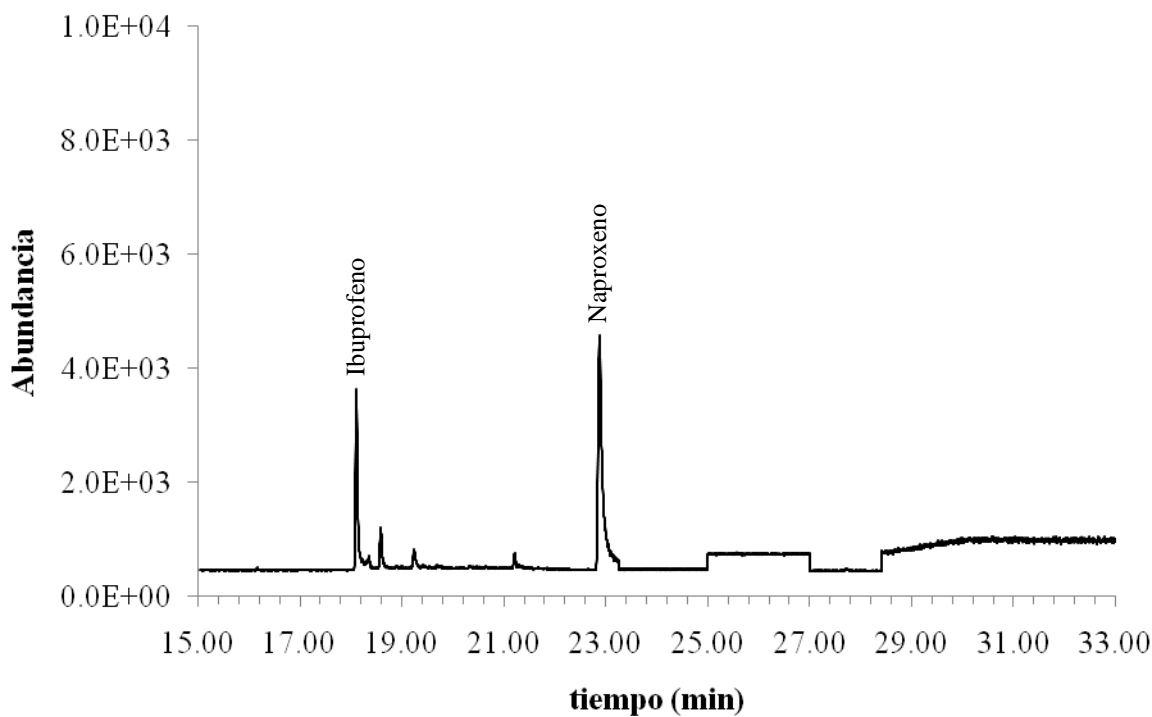


Figura 86. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T8.**

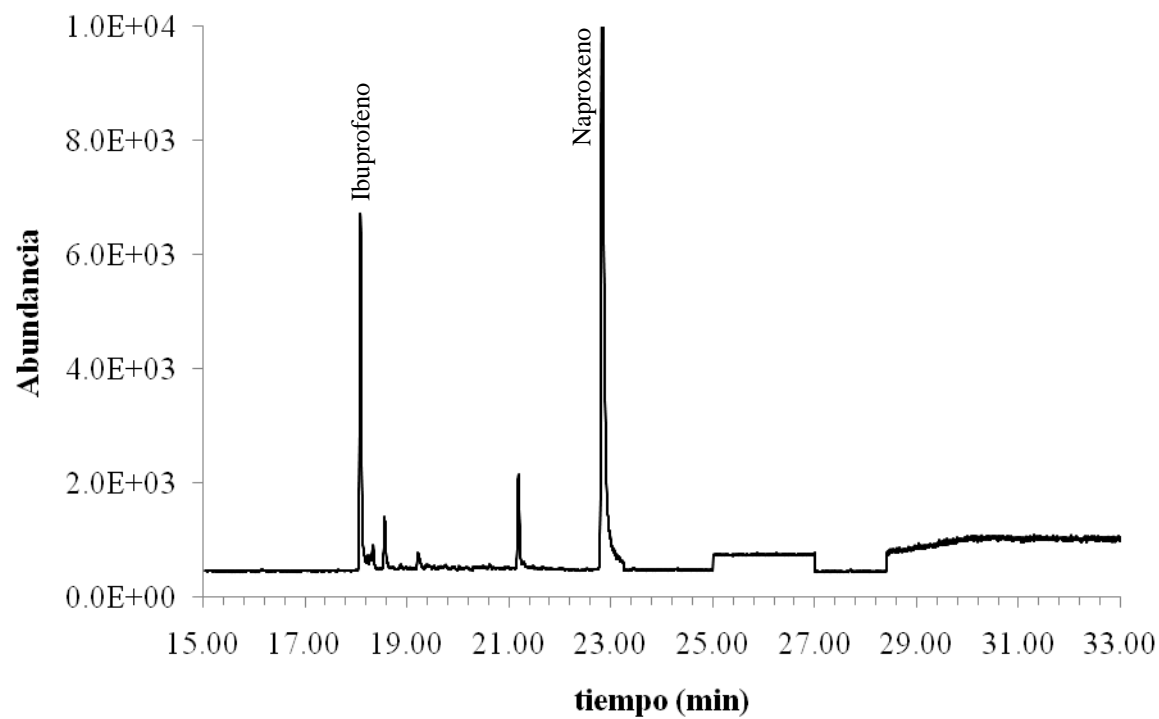


Figura 87. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra T9.**

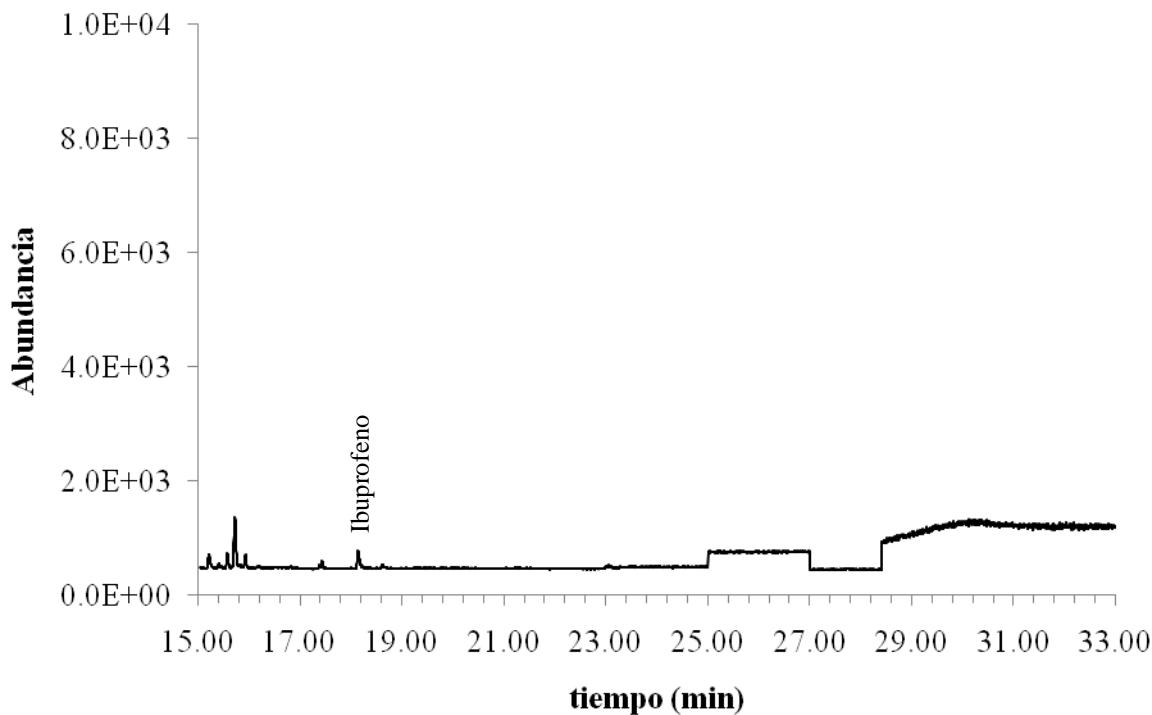


Figura 88. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T1.**

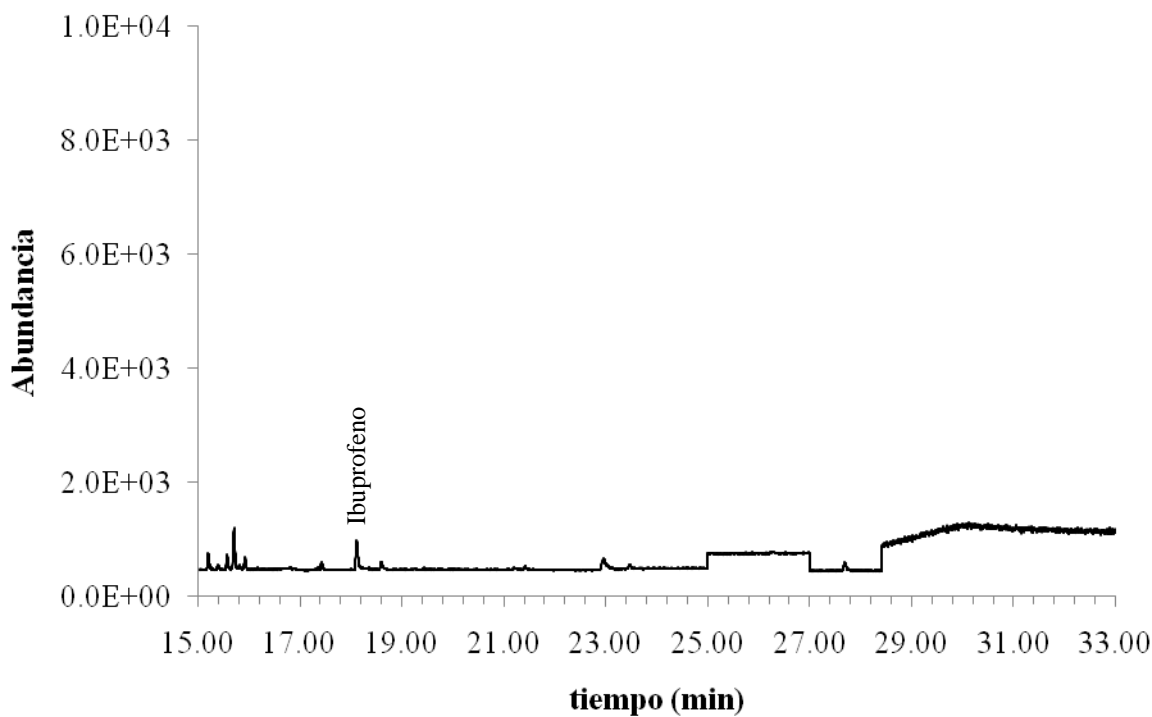


Figura 89. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T2.**

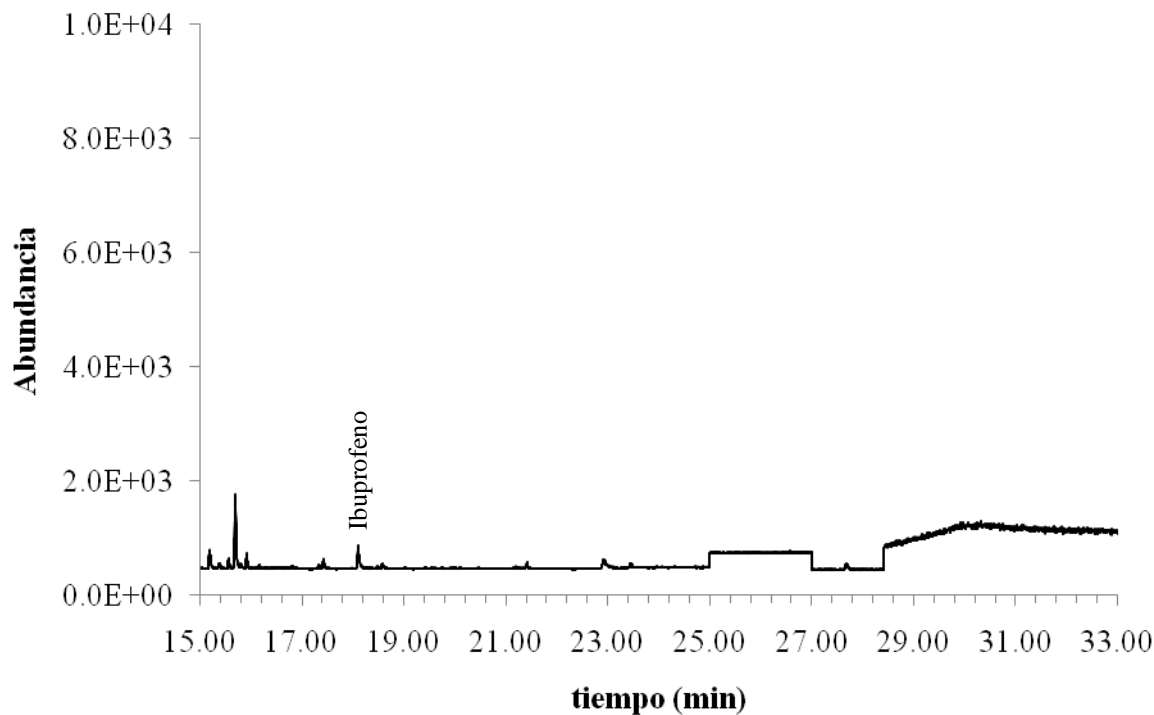


Figura 90. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T3.**

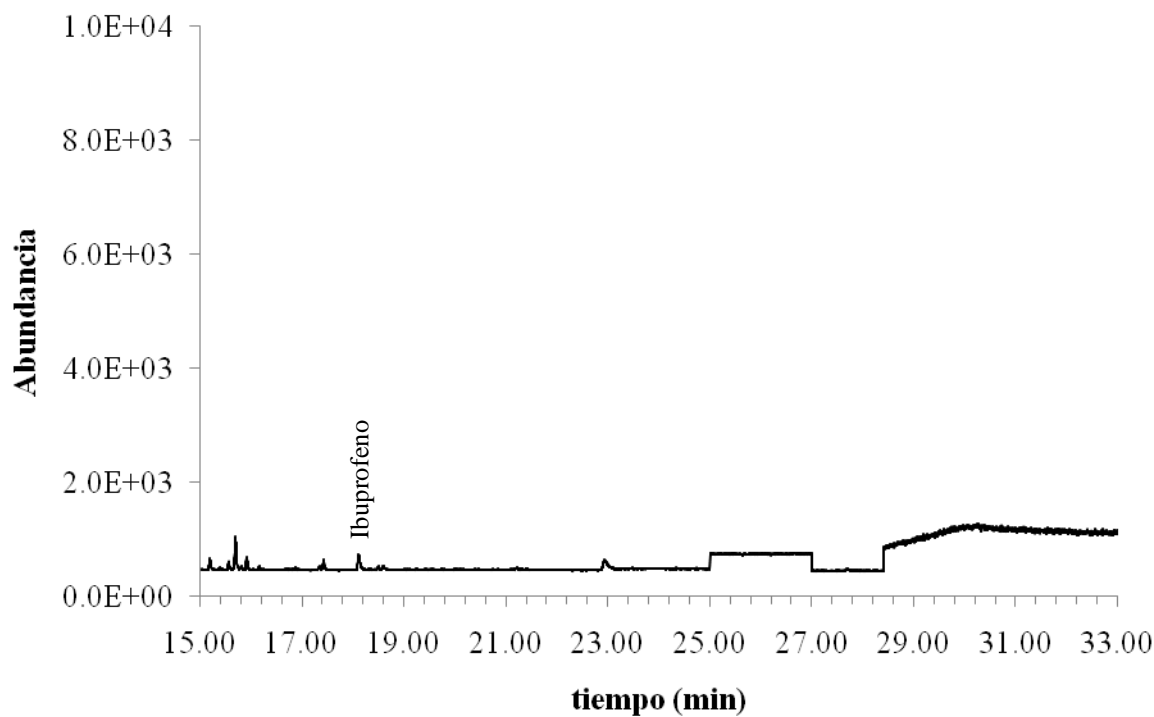


Figura 91. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T4.**

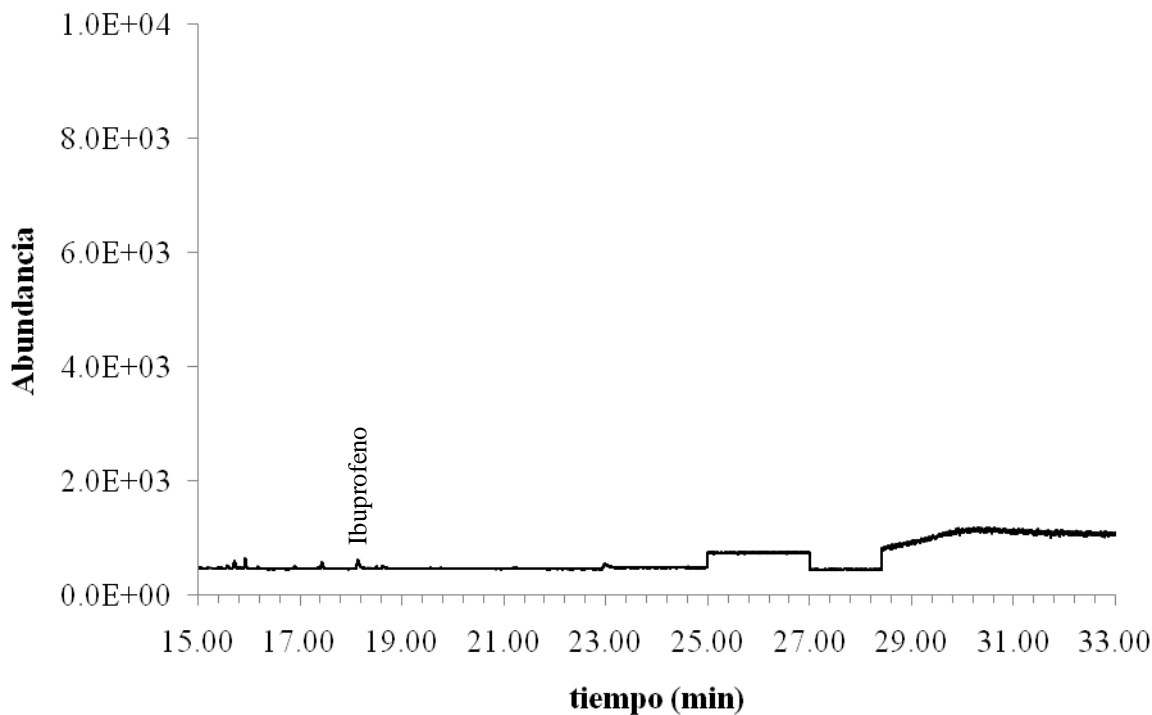


Figura 92. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T5.**

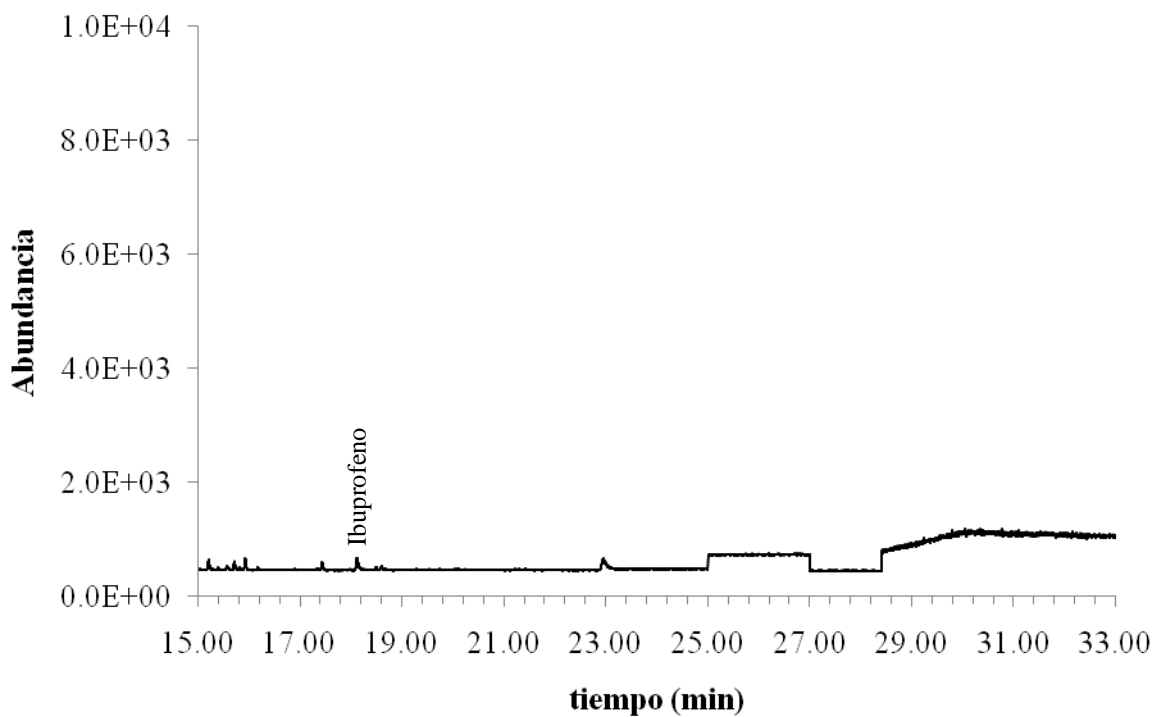


Figura 93. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T6.**

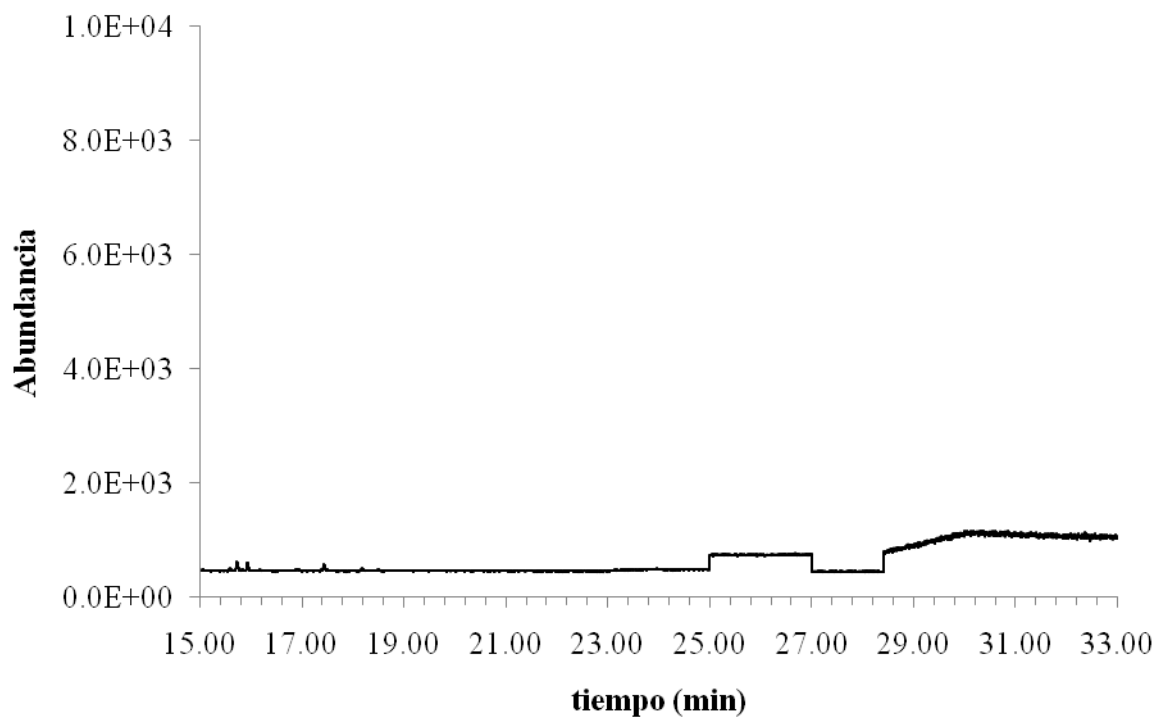


Figura 94. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T7.**

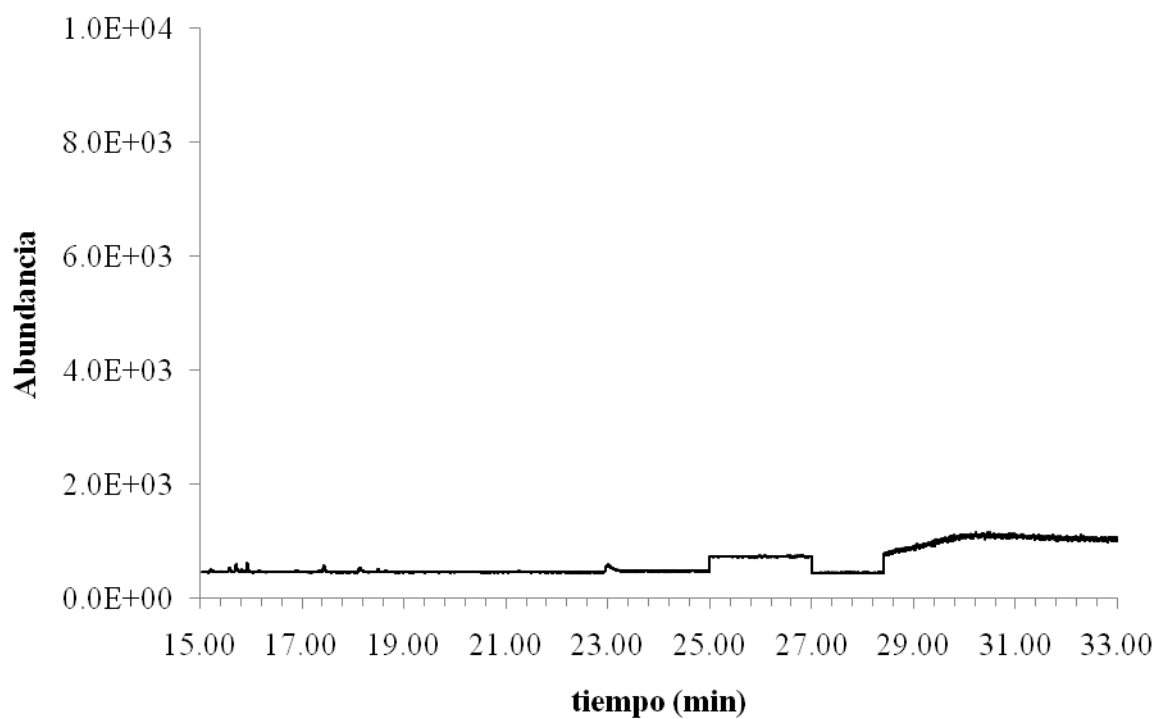


Figura 95. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T8.**

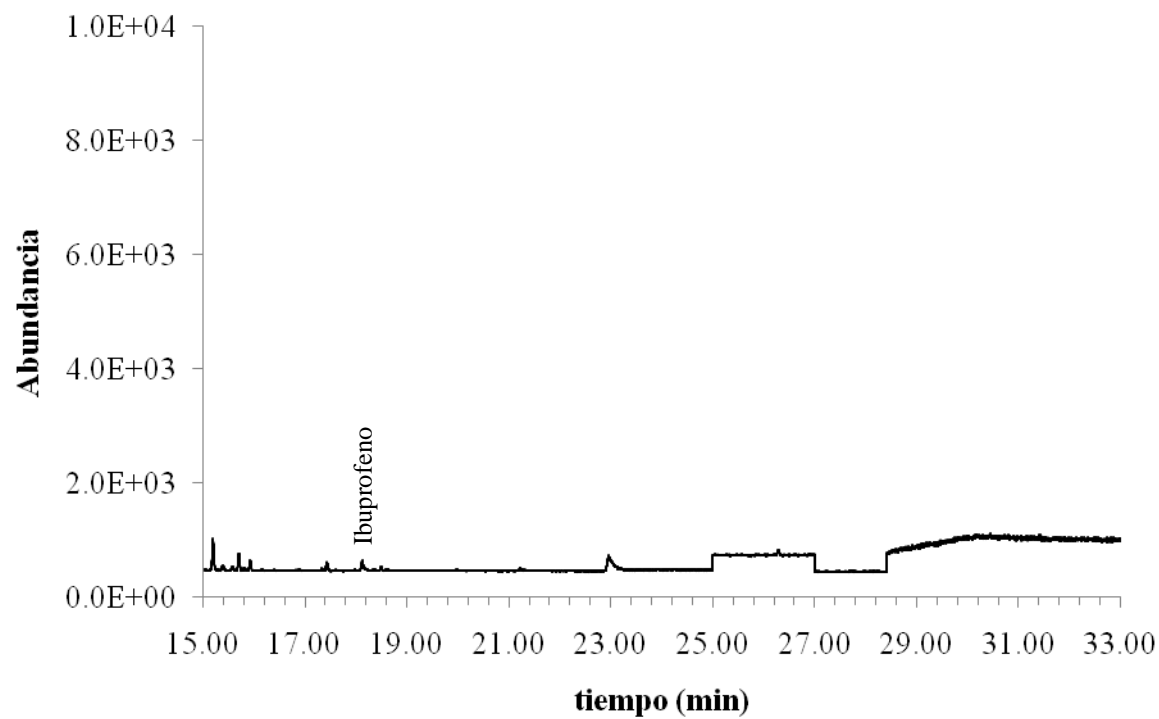


Figura 96. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra T9.**

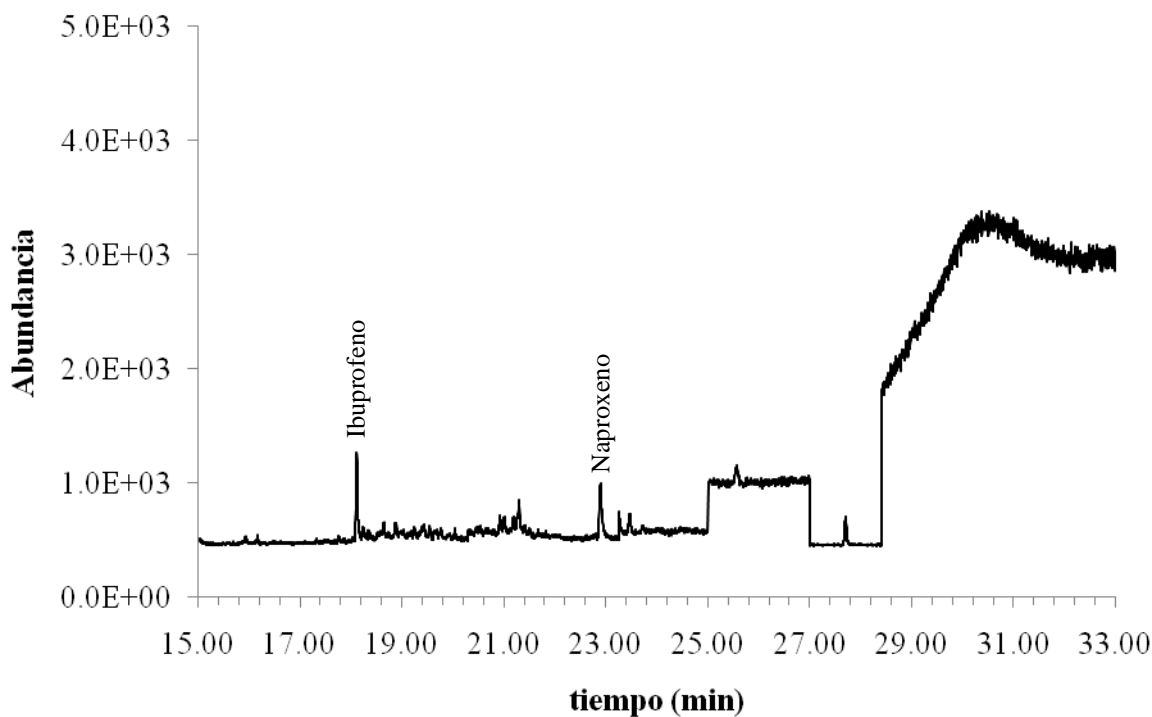


Figura 97. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WX1.**

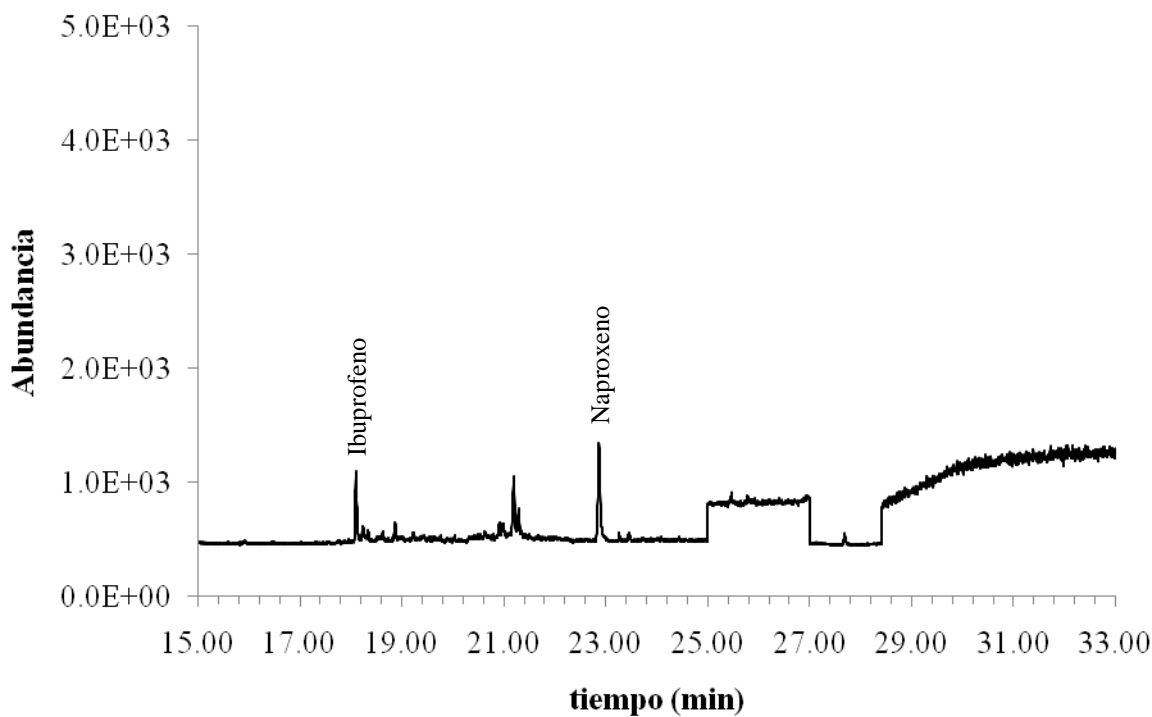


Figura 98. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WX2.**

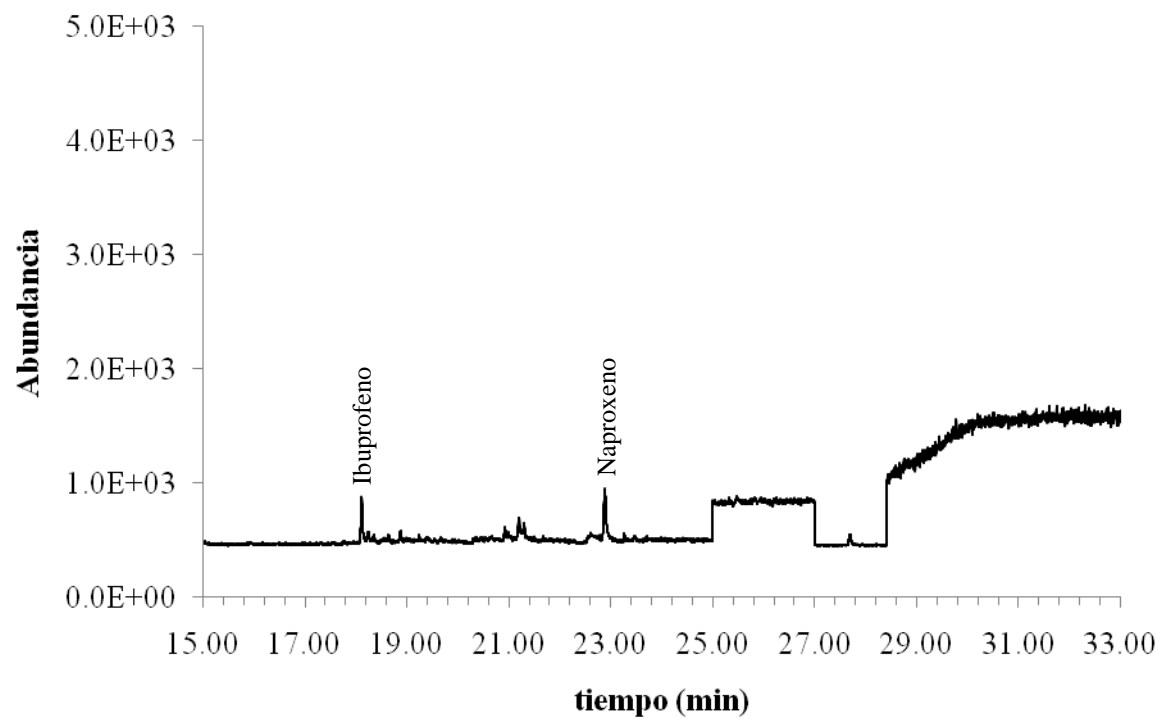


Figura 99. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SPME-GC-MS: **Muestra WX3.**

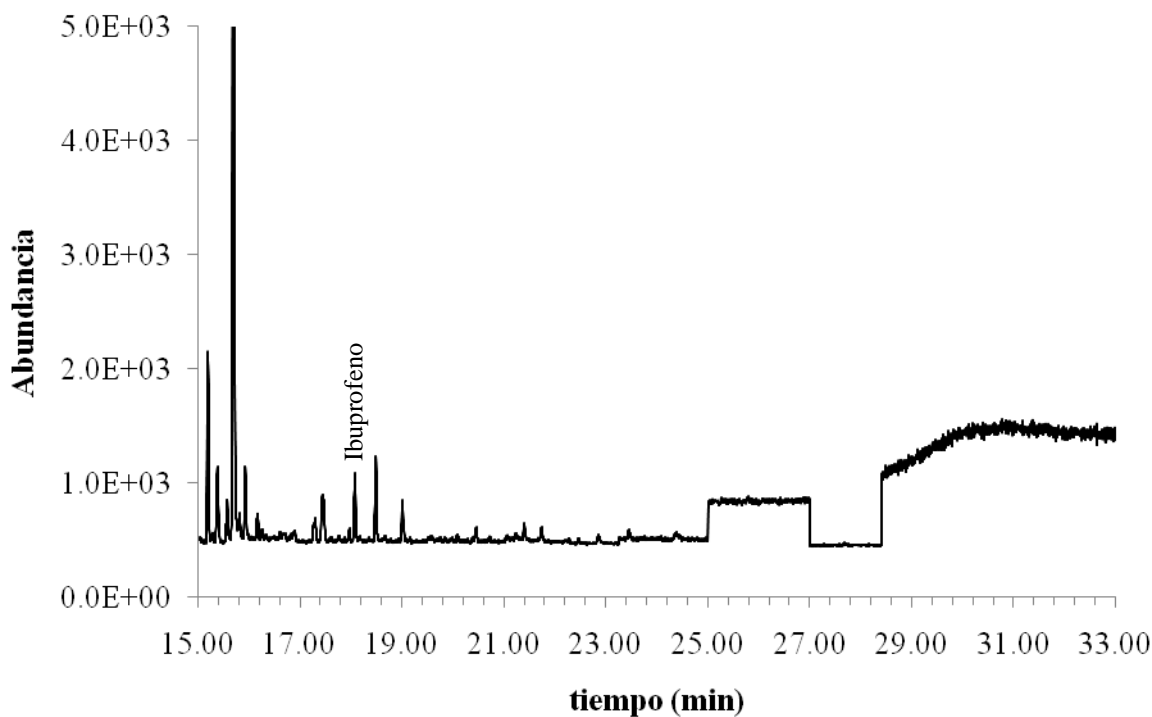


Figura 100. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra WX1.**

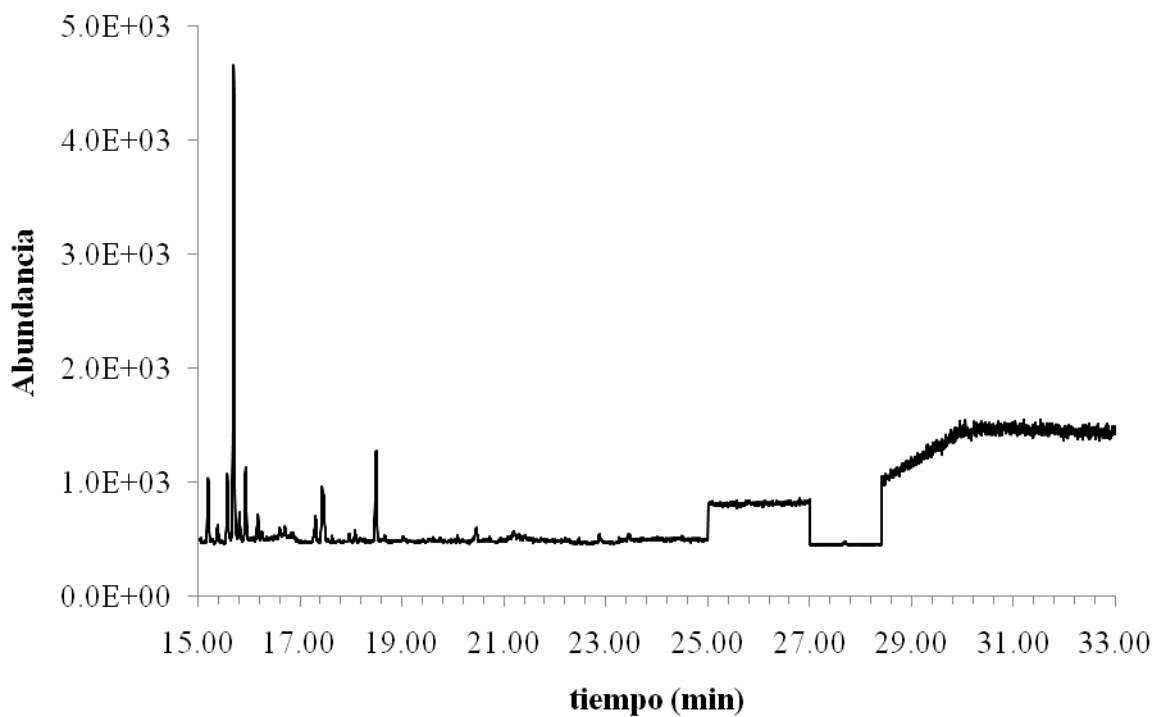


Figura 101. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra WX2.**

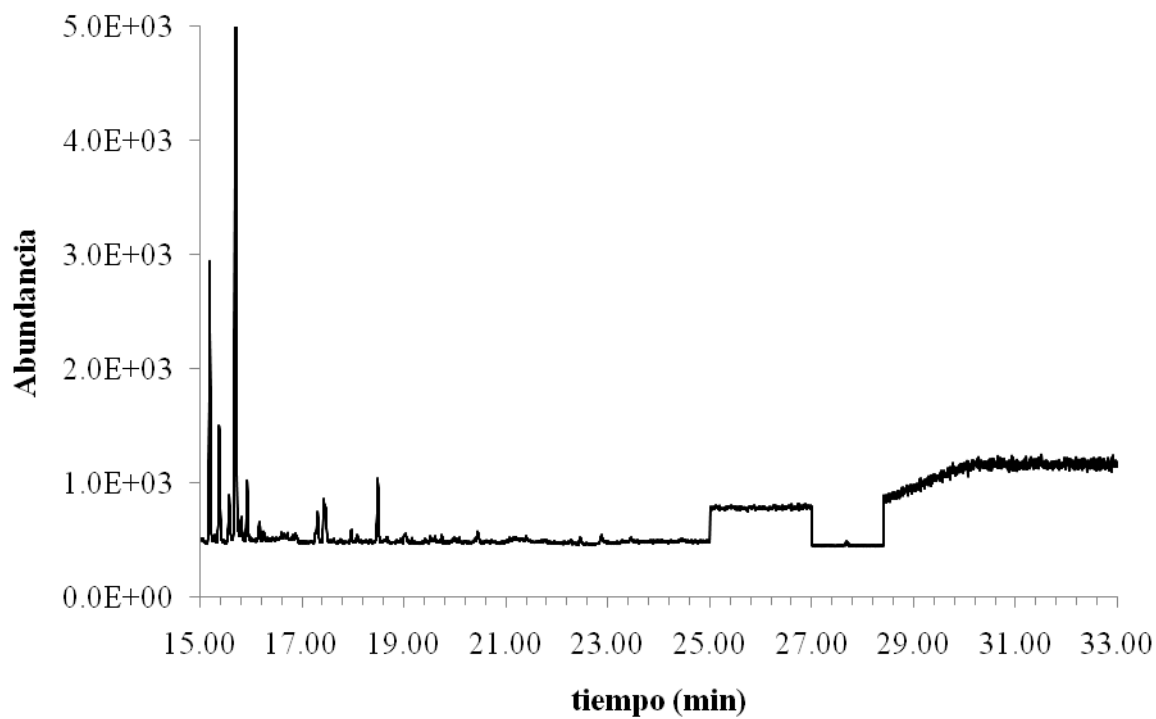


Figura 102. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de agua por SBSE-GC-MS: **Muestra WX3.**

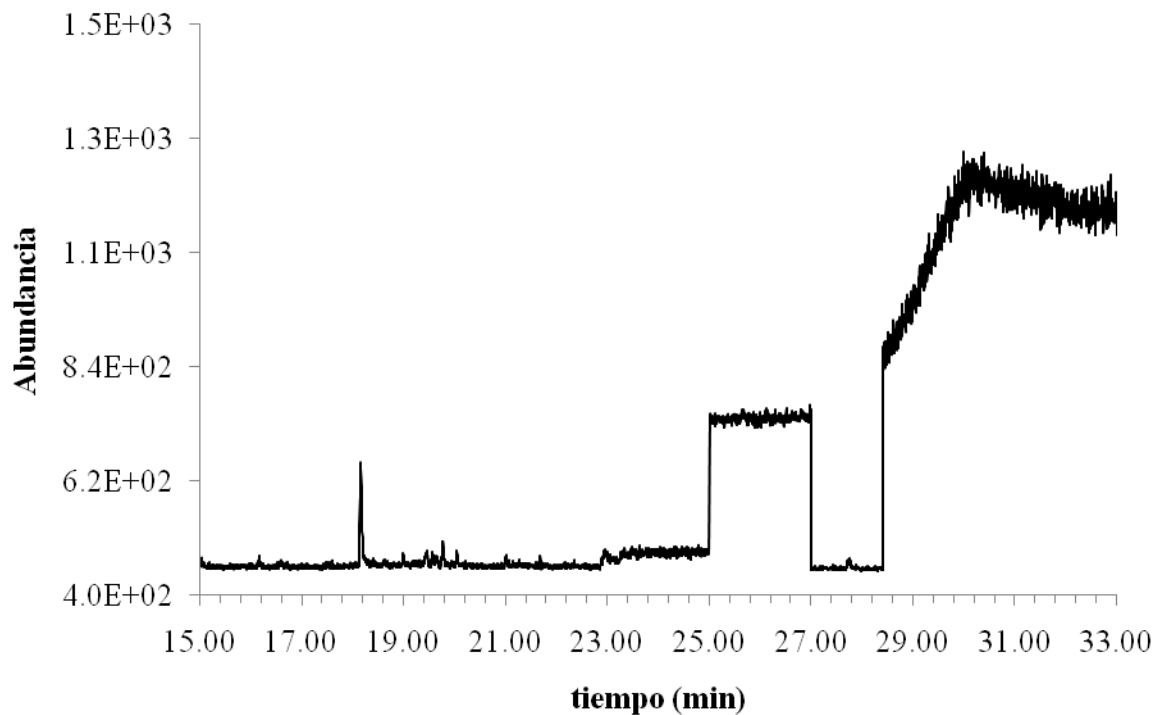


Figura 103. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SX1.**

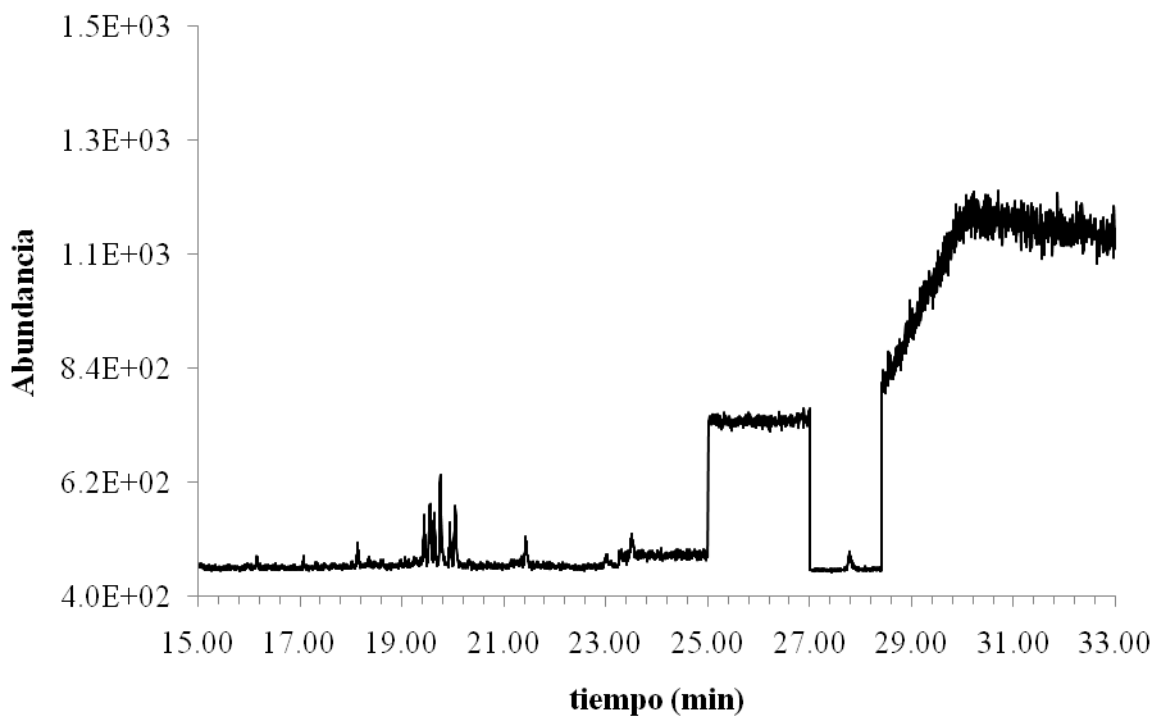


Figura 104. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SX2.**

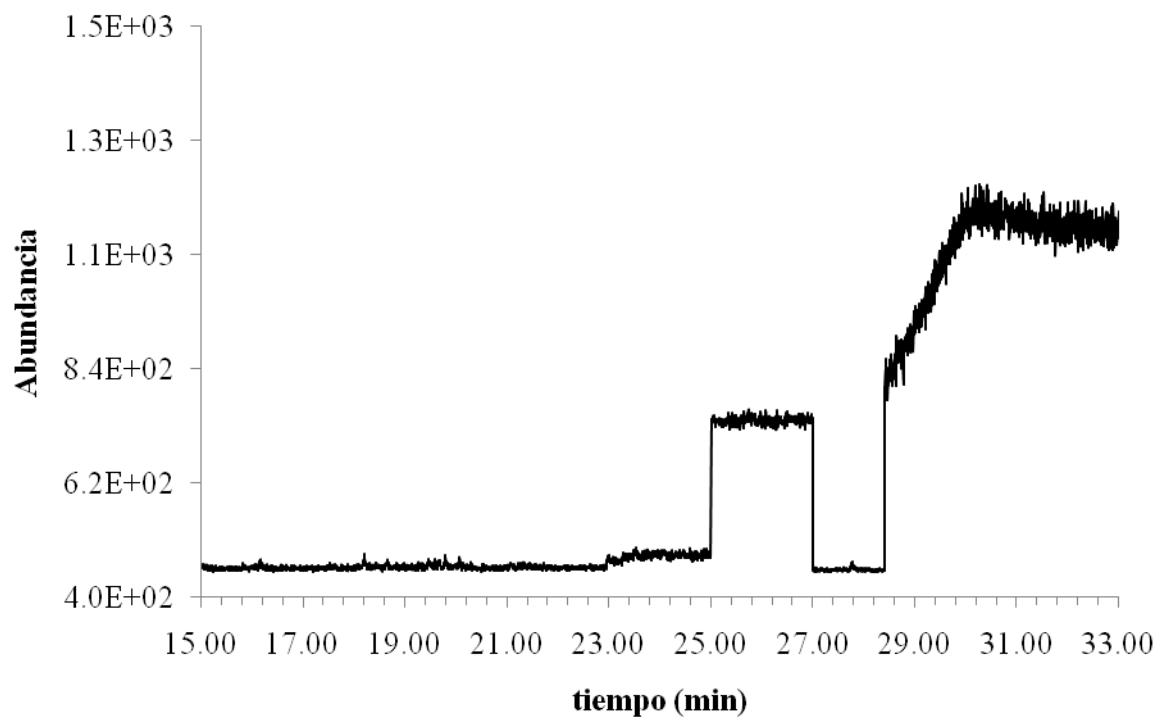


Figura 105. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SPME-GC-MS: **Muestra SX3.**

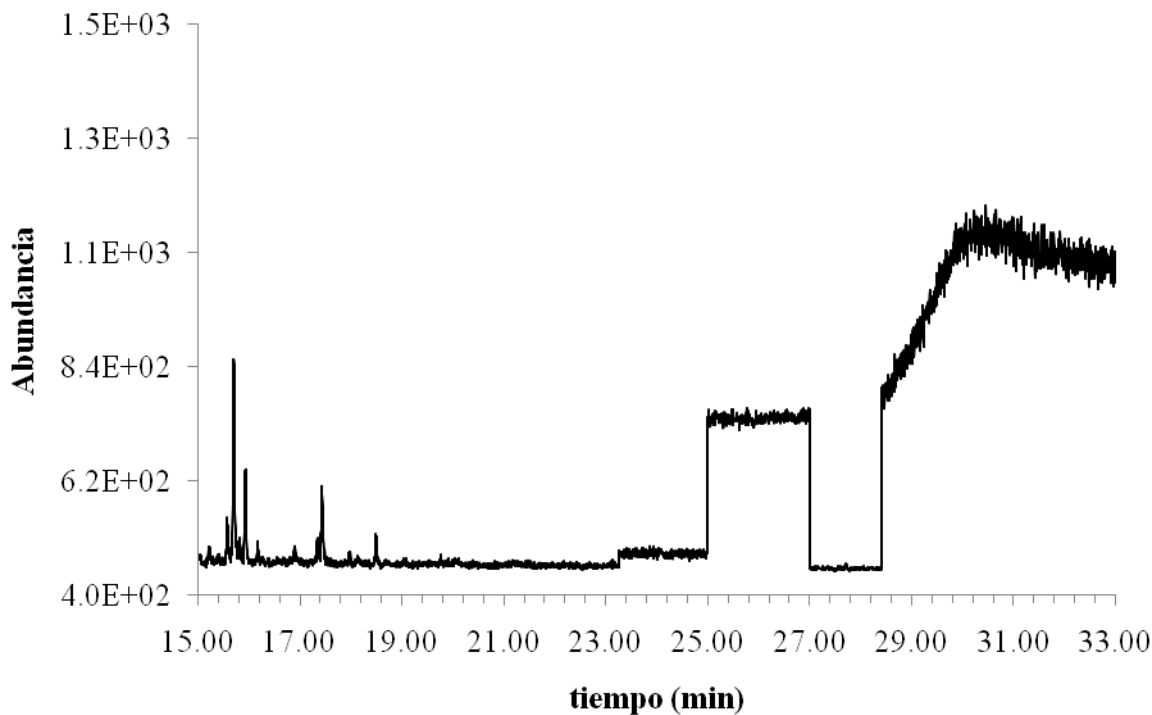


Figura 106. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS: **Muestra SX1.**

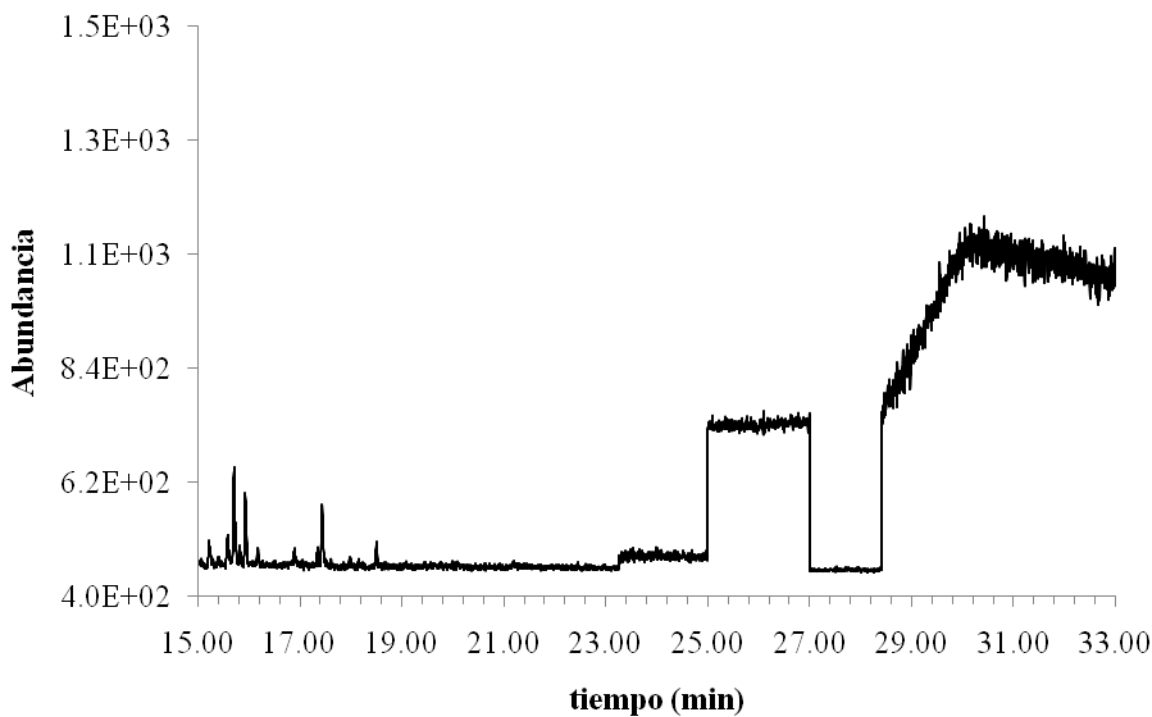


Figura 107. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS: **Muestra SX2.**

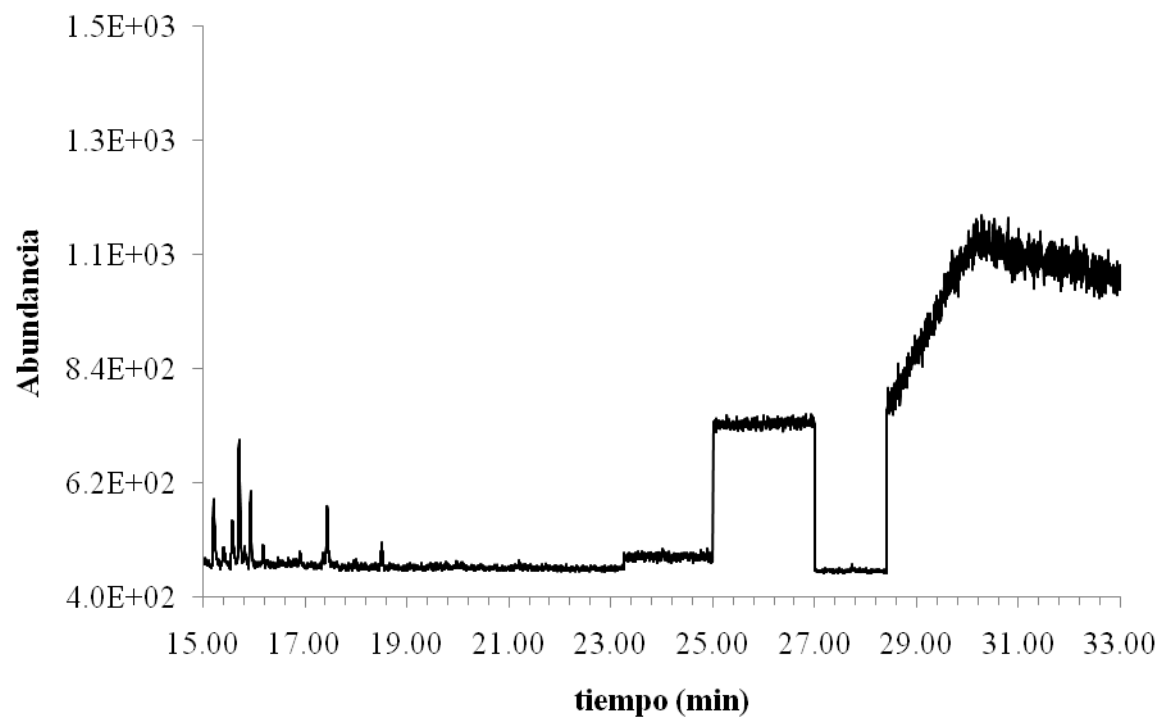


Figura 108. Cromatograma por monitoreo selectivo de iones (SIM) del análisis de sedimento por UAE-SBSE-GC-MS: **Muestra SX3.**

12. ARTÍCULO