



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

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

**PREPARACIÓN DE FIBRAS PARA MICROEXTRACCIÓN EN FASE  
SÓLIDA Y SUS POSIBLES APLICACIONES EN EL ANÁLISIS AMBIENTAL**

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. ANA CRISTINA HEREDIA ROLDÁN

TUTORA

DRA. ARACELI PATRICIA PEÑA ÁLVAREZ

FACULTAD DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, ABRIL, 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **JURADO**

- PRESIDENTE:** Dra. Josefina de Gyves Marciniak
- VOCAL:** Dra. Martha Patricia García Camacho
- VOCAL:** Dra. María del Pilar Cañizares Macías
- VOCAL:** Dr. Hugo Albeiro Saldarriaga Noreña
- SECRETARIO:** Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero

## **LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL PROYECTO:**

Laboratorio 101, Departamento de Química Analítica, División de Estudios de Posgrado, Edificio B, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, México, CDMX. Y se presentó en el VIII Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental (Toluca, Edo. México).

## **TUTORA**

---

Dra. Araceli P. Peña Álvarez

## **SUSTENTANTE**

---

Q. Ana Cristina Heredia Roldán

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, al Posgrado en Ciencias Químicas y a la Facultad de Química por la formación académica que me fue otorgada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de posgrado (No. Becario 816269).

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) por los proyectos PAPIIT: IN214418 y PAIP: 9026 Fac. Química, UNAM.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por la estancia realizada en el Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería.

A la Dra. Araceli P. Peña Álvarez por el apoyo y orientación brindados en la realización de este trabajo.

Al Dr. José Antonio Rodríguez Ávila por la asesoría y apoyo otorgados durante la estancia realizada en su laboratorio.

A los miembros de mi jurado: Dra. Josefina de Gyves, Dra. Martha Patricia García, Dra. María del Pilar Cañizares, Dr. Hugo Albeiro Saldarriaga, Dr. Eduardo Rodríguez por sus aportaciones académicas para el mejoramiento de esta tesis.

## RESUMEN

---

A partir del desarrollo de la microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés) se han reportado múltiples configuraciones, amplios materiales de extracción así como numerosos métodos de preparación de fibras y dispositivos, debido a la diversidad de analitos de interés y la complejidad de las muestras. La tendencia más reciente se centra en el desarrollo de nuevas fibras con fases de extracción novedosas y mejoradas con el fin de realizar análisis *in situ*, biocompatibles, selectivos y sensibles a partir de diferentes recubrimientos y formatos que reduzcan el costo por análisis.

En el presente trabajo se desarrolló una metodología sencilla y económica para la fabricación de fibras de polidimetilsiloxano (PDMS) a partir de polimerización con calor. Éstas se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido y se evaluaron mediante la extracción de contaminantes emergentes: 2 almizcles (galaxolida, tonalida) y 5 filtros UV (oxibenzona, 4-metilbencilcanfor, octocrileno, padimato-O, 2- etilhexil metoxicinamato) en agua fortificada seguida de cromatografía de gases (GC). Los porcentajes de recobro fueron cercanos al 100%, con una precisión en términos de coeficiente de variación (CV) por debajo del 15%, en un intervalo lineal de 1-25  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Éstas fibras fueron comparables en eficiencia con las fibras comerciales de polidimetilsiloxano (PDMS). Con el objetivo de aplicar las fibras fabricadas se realizaron análisis de diferentes cuerpos de agua mediante microextracción en fase sólida seguida de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (SPME-GC-MS) para ello se validó una metodología sensible, precisa y específica, los límites de detección oscilaron entre 0.5-2000  $\text{ng L}^{-1}$  y de cuantificación entre 1-5000  $\text{ng L}^{-1}$ , la precisión en términos de CV estuvo por debajo del 20% entre tanto el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue mayor a 0.9000. La metodología desarrollada se aplicó en el análisis de muestras de influente y efluente de dos plantas de tratamiento de agua residual: Ciudad Universitaria y Coyoacán; en las cuales se identificaron: galaxolida, tonalida, 4-metilbencilcanfor, 2- etilhexil metoxicinamato y octocrileno. También se analizaron

muestras de aguas procedentes de 2 arroyos ubicados en Avándaro, Edo. Mex. y Salamanca, Gto.; además del embarcadero Xochimilco y una muestra del río Lerma tomada en la ciudad de Salamanca; en algunas de las muestras se identificaron los PCPs de interés.

Por otro lado, se desarrolló una metodología para la obtención fibras de poli (EGDMA-co-4VP) mediante electropolimerización para la determinación de tres fármacos (naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno) por microextracción en fase sólida en aguas superficiales seguido de electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés). El polímero se caracterizó por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés) y la electropolimerización se realizó por voltamperometría cíclica la cual permitió determinar el mecanismo de reacción para la obtención del copolímero. Con lo que se concluye que con las fibras fabricadas se pueden realizar estudios eficientes, precisos y reproducibles a partir de diversas técnicas para la obtención del polímero, teniendo como principales ventajas la disminución de costos, la adherencia del polímero y su utilización en análisis para técnicas como cromatografía de líquidos de alta resolución, electroforesis capilar y cromatografía de gases.

# ÍNDICE

---

RESUMEN .....	4
ABREVIATURAS.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	11
JUSTIFICACIÓN .....	14
2. GENERALIDADES .....	15
2.1. Técnicas analíticas.....	15
2.1.1. Cromatografía de gases (GC).....	15
2.1.2. Espectrometría de masas (MS).....	17
2.1.3. Electroforesis capilar (CE).....	18
2.2. Técnicas de preparación de muestras .....	21
2.2.1. Microextracción en Fase Sólida (SPME).....	22
2.2.1.1. Métodos de preparación para dispositivos SPME.....	30
2.2.1.2. Fases poliméricas desarrolladas .....	31
2.3. Fabricación de fibras .....	34
2.3.1. Técnicas de polimerización .....	35
2.3.1.1. A partir del polímero comercial.....	35
2.3.1.2. Síntesis del polímero .....	36
2.3.1.2.1. Sol-gel.....	36
2.4. Caracterización del revestimiento polimérico .....	37
2.4.1. Microscopía electrónica de barrido .....	37
2.5. Aplicaciones de SPME en agua.....	38
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
3.1. Fibras de PDMS .....	42
3.1.1. Reactivos y materiales .....	42
3.1.2. Equipos e instrumentos.....	42
3.1.3. Muestras .....	42
3.1.4. Métodos .....	43
3.1.4.1. Limpieza de la superficie de acero inoxidable.....	43
3.1.4.2. Optimización .....	44
3.1.4.3. Caracterización de las fibras .....	47
3.1.4.4. Evaluación de las fibras.....	47
3.2. Validación del método para la determinación de PCPs en agua por SPME-GC-MS.....	48
3.2.1. Repetibilidad .....	49
3.2.2. Recobro .....	49
3.2.3. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC).....	49

3.2.4.	<i>Linealidad</i> .....	49
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	51
4.1.	Fibras de PDMS .....	51
4.4.1.	<i>Limpieza de los alambres de acero inoxidable</i> .....	51
4.4.2.	<i>Desarrollo</i> .....	51
4.4.3.	<i>Caracterización de las fibras</i> .....	53
4.4.4.	<i>Evaluación de las fibras de PDMS fabricadas</i> .....	54
4.2.	Determinación de PCP en agua mediante SPME-GC-MS.....	63
4.2.1.	<i>Validación del método</i> .....	63
4.2.1.1.	<i>Repetibilidad</i> .....	63
4.2.1.2.	<i>Recobro</i> .....	64
4.2.1.3.	<i>Linealidad del método</i> .....	64
4.2.1.4.	<i>Límites de detección y cuantificación del método</i> .....	65
4.3.	Aplicación de las fibras de PDMS .....	67
4.3.1.	<i>Análisis de aguas residuales</i> .....	67
4.3.2.	<i>Análisis de diferentes cuerpos de agua</i> .....	70
	CONCLUSIÓN .....	73
	PERSPECTIVAS.....	73
5.	Estancia de Investigación en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo .....	74
5.1.	Fabricación de fibras de poli(EDGMA-co-4VP) .....	74
5.2.	Materiales .....	75
5.3.	Equipos e instrumentos .....	75
5.4.	Métodos.....	75
5.4.1.	<i>Limpieza</i> .....	75
5.4.2.	<i>Optimización</i> .....	76
5.4.2.1.	<i>Electropolimerización</i> .....	76
5.4.3.	<i>Evaluación de las fibras</i> .....	80
5.5.	Resultados y discusión .....	82
5.5.1.	<i>Limpieza de las barras de acero inoxidable</i> .....	82
5.5.2.	<i>Desarrollo</i> .....	82
5.5.2.1.	<i>Obtención y adhesión del copolímero</i> .....	82
5.5.2.2.	<i>Electropolimerización</i> .....	83
5.5.2.3.	<i>Caracterización</i> .....	85
5.5.3.	<i>Determinación de fármacos en agua mediante SPME-CE</i> .....	87
5.6.	Conclusión preliminar .....	88
5.7.	Perspectivas .....	88
	BIBLIOGRAFÍA .....	89
	ANEXOS.....	96
	ANEXO I.....	96

Anexo II .....	98
Anexo III .....	101
Anexo IV .....	105
Anexo V .....	108
Anexo VI .....	112
Anexo VII .....	112

## ABREVIATURAS

---

<b>2-EHMC</b>	2- Etilhexil metoxicinamato
<b>4-VP</b>	4- Vinil Piridina
<b>4-MBC</b>	4- Metilbencilcanfor
<b>AHTN</b>	Tonalida
<b>BEI</b>	Imagen de Electrones Retrodispersados*
<b>BP-3</b>	Oxibenzona
<b>CE</b>	Contaminantes Emergente
<b>COP</b>	Compuestos Orgánicos Prioritarios
<b>EOF</b>	Flujo Electrosmótico*
<b>ECP</b>	Polimerización electroquímica*
<b>EDGMA</b>	Dimetacrilato de etilenglicol*
<b>EOP</b>	Polimerización por electrooxidación*
<b>ERP</b>	Polimerización por electrorreducción*
<b>EDS</b>	Espectrómetro de Energía Dispersiva*
<b>EDAR</b>	Efluentes de las estaciones depuradoras de agua residual
<b>HHCb</b>	Galaxolida
<b>IUPAC</b>	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada*
<b>LLE</b>	Extracción líquido-líquido*
<b>LLME</b>	Microextracción líquido-líquido*
<b>OCT</b>	Octocrileno
<b>O-PABA</b>	Padimato
<b>PAN</b>	Poliacrilonitrilo
<b>PCP</b>	Productos de Cuidado Personal*
<b>PDMS</b>	Polidimetilsiloxano
<b>PEG</b>	Polietilenglicol
<b>PFE</b>	Extracción con Fluidos Presurizados*
<b>PPCP</b>	Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal*
<b>PPY</b>	Polipropileno
<b>PTAR</b>	Plantas de Tratamiento de Agua Residual

<b>SEM</b>	Microscopía electrónica de barrido*
<b>SFE</b>	Extracción con Fluidos Supercríticos*
<b>SPE</b>	Extracción en Fase Sólida*
<b>SPME</b>	Microextracción en Fase Sólida*
<b>MAE</b>	Extracción Asistida por Microondas*
<b>MS</b>	Espectrometría de Masas*
<b>RAM</b>	Materiales de Acceso Restringido*
<b>USEPA</b>	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. *

\*Por sus siglas en inglés

## 1. INTRODUCCIÓN

---

La tendencia en los últimos años en cuanto a las técnicas de preparación de muestra es: reducir la cantidad de muestra, realizar métodos automatizados o métodos en línea que reduzcan las operaciones manuales para que sean más sensibles, precisos, eficientes y tengan un enfoque más amigable con el medio ambiente (química verde), así mismo que se disminuya la generación de residuos; debido al uso de pequeños volúmenes o sin disolventes orgánicos.<sup>[1]</sup> En lo que respecta a las propiedades fisicoquímicas de los compuestos de interés y su relación con la técnica analítica utilizada, ambas serán determinantes en la complejidad y tiempo que se invertirá en la homogenización, dilución, limpieza, concentración o modificación química de los analitos de interés.

Algunos de los métodos utilizados para purificar y enriquecer los analitos de interés a partir de matrices complejas antes del análisis incluyen técnicas como: microextracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase líquida (LPME), microextracción en fase líquida de fibra hueca (HF-LPME), microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), extracción con fluidos supercríticos (SFE), dispersión de matriz en fase sólida (MSPD), extracción con barra magnética (SBSE), entre otros. La microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica de muestreo rápida que permite el monitoreo de contaminantes en diversas matrices, basándose en la extracción y preconcentración, en un solo paso, de los analitos en una pequeña cantidad de fase sobre un soporte sólido, el cual se expone a la muestra durante un período de tiempo.<sup>[2]</sup>

Comercialmente existen diversas fibras con recubrimientos que poseen características fisicoquímicas y espesores diferentes dependiendo de la aplicación: polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA), polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB), carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), polietilenglicol (PEG), carbowax/resina templada (CW/TPR), divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), todas estas son utilizadas para el análisis por cromatografía de gases; entre tanto para el análisis

por cromatografía de líquidos, básicamente se utilizan los siguientes recubrimientos: PDMS, C<sub>18</sub>, PA y PDMS/DVB.

La diversidad de las propiedades fisicoquímicas de los analitos de interés y la complejidad de las matrices de muestra requieren el desarrollo de nuevos dispositivos y recubrimientos SPME que puedan ser utilizadas en una amplia variedad de investigaciones que permitan disminuir el costo de la técnica. Debido a esto múltiples configuraciones y materiales de extracción así como numerosos métodos de preparación de dispositivos SPME se han desarrollado.<sup>[3-7]</sup>

En la última década, se han descrito varios materiales que incluyen diversos polímeros como polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilonitrilo (PAN), polietilenglicol (PEG) y polipirrol (PPY) así como materiales de acceso restringido (RAM), por ejemplo, silice alquil diol.<sup>[5]</sup> Así mismo se han desarrollado gran variedad de técnicas para la fabricación de fibras de diversos polímeros.<sup>[4, 8-19]</sup>

Debido a las ventajas que presenta, la SPME se ha constituido como una de las técnicas más utilizada en el análisis de trazas para analitos como los contaminantes emergentes en muestras ambientales.<sup>[20, 21]</sup> Dentro de este grupo de compuestos se encuentran los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs, por sus siglas en inglés), que debido a su extenso uso así como la creciente introducción de estos en el mercado, su presencia en el medio ambiente ha ido en aumento.

Diversos estudios revelan la presencia de estos compuestos en aguas superficiales y residuales en concentraciones que oscilan desde mg L<sup>-1</sup> hasta µg L<sup>-1</sup> dependiendo del compuesto.<sup>[3, 4]</sup> En México no existe mucha información al respecto, los datos medidos son limitados comparados con la cantidad de productos químicos comerciales existentes, y el monitoreo analítico de aguas es escaso comparado con otros países.

Para la determinación de estos compuestos generalmente se utilizan técnicas analíticas que permiten determinar una gran cantidad de compuestos con propiedades fisicoquímicas diferentes. La cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés), es una de las técnicas

más utilizadas en el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles, debido a su alta sensibilidad y capacidad de separación.<sup>[22]</sup> Entre tanto la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) así como la electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés) son utilizadas para la separación de analitos que incluyen moléculas polares, iónicas, neutras, pequeñas y grandes debido a sus diversos modos de separación; la electroforesis capilar presenta ventajas como alta eficiencia de separación, corto tiempo de análisis, mínimo consumo de reactivos y muestra.<sup>[23]</sup>

Por lo anterior el objetivo general del proyecto fue:

- ✚ Elaborar fibras para microextracción en fase sólida y explorar sus posibles aplicaciones en la extracción y análisis de contaminantes emergentes en diversos cuerpos de agua.

## JUSTIFICACIÓN

---

Debido a que el análisis de muestras ambientales requiere técnicas de preparación de muestra sensibles y selectivas la microextracción en fase sólida se ha convertido en una de las más utilizadas por su capacidad para extraer y preconcentrar la muestra en un solo paso, además de que se considera una técnica de muestreo rápida, adecuada para el seguimiento a largo plazo y repetido, que puede dar a conocer el historial de exposición, cinética de captación y eliminación de los contaminantes en diversas matrices. Una de las principales desventajas es el alto costo y fragilidad de las fibras que se utilizan; por lo que su fabricación permitirá la reducción de costos hasta en un 99.1% al ser confiables y comparables a las fibras comerciales.

## 2. GENERALIDADES

---

El procedimiento analítico para muestras complejas consta de varios pasos que generalmente incluyen muestreo, preparación de muestras, separación, cuantificación, evaluación estadística y toma de decisiones. El objetivo de la preparación de la muestra es aislar los componentes de interés de una matriz. Esto se debe a que la mayoría de los instrumentos analíticos no permiten analizar la matriz directamente. La preparación de muestras implica procedimientos de extracción y procedimientos de limpieza para muestras complejas. Así mismo esta etapa permite el enriquecimiento de los analitos de interés para que posteriormente se analicen mediante técnicas cromatográficas o electroforéticas.<sup>[24]</sup>

### 2.1. Técnicas analíticas

#### 2.1.1. Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía según la IUPAC es un método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una fase estacionaria y otra móvil, la cuál, se mueve en una dirección definida. Los compuestos son transportados por la fase móvil a lo largo de la fase estacionaria, debido a la diferencia de afinidad de los analitos con respecto a ambas fases se produce la separación. La GC se ha convertido en la técnica principal para la separación y el análisis de compuestos volátiles. Se ha utilizado para analizar gases, líquidos y sólidos. Se pueden analizar materiales orgánicos e inorgánicos con pesos moleculares que pueden oscilar entre 2 y más de 1000 daltons.<sup>[25]</sup>

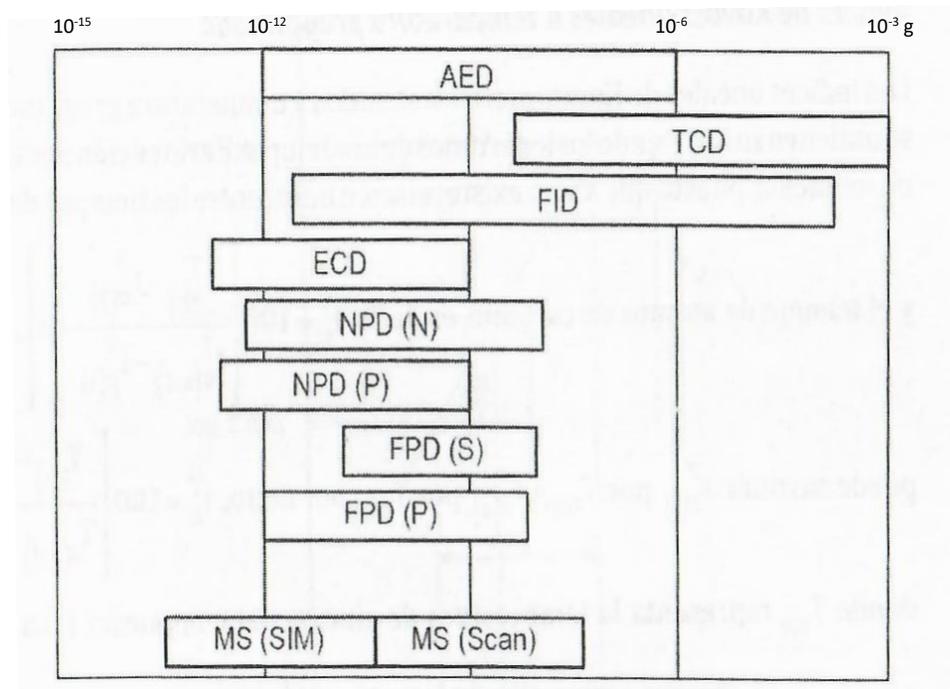
La GC es una de las técnicas más utilizadas por su capacidad de separación y sensibilidad, permite análisis cuantitativos precisos, además de que requiere pequeños volúmenes de muestra, los límites de su utilización están marcados fundamentalmente por la estabilidad térmica de los compuestos a separar.<sup>[25]</sup>

Las columnas capilares proporcionan una buena resolución, separando gran cantidad de componentes de diversas matrices. Aquí la fase estacionaria puede ser un líquido (cromatografía gas-líquido) o un sólido (cromatografía gas-sólido); la fase móvil es un gas inerte generalmente H<sub>2</sub>, He o N<sub>2</sub>. La separación se debe principalmente a la interacción y afinidad de los compuestos con la fase estacionaria así como la presión de vapor de cada analito, para esto se requiere que los compuestos sean termoestables a la temperatura de trabajo además que estén en fase gaseosa, lo cual depende principalmente de su peso molecular y polaridad.<sup>[26]</sup>

La inyección de la muestra se realiza en un pequeño tubo de vidrio "liner", situado en la parte central del puerto de inyección. La temperatura en el inyector debe ser suficientemente alta para producir la vaporización instantánea de la muestra. En el inyector se puede producir discriminación debido a que no todos los compuestos se vaporizan a la misma velocidad, ésta dependerá de la volatilidad de los componentes, tipo de inyector, parámetros del inyector y técnica de inyección. Los inyectores más utilizados son: inyector split/ splitless (con división/ sin división), inyector on column (en columna) e inyector con temperatura programada. Posterior a la vaporización, la muestra pasa a través de la columna que se encuentra en un horno el cual debe mantener, controlar y modificar la temperatura para la separación cromatográfica, la mayoría de los hornos comerciales disponen de una resistencia que irradia calor hacia el horno, éste se distribuye mediante un ventilador, la temperatura se controla mediante un termopar a partir de la cantidad de energía calorífica emitida por la resistencia, pudiendo trabajar en condiciones isotérmicas o a temperatura programada.<sup>[25]</sup>

Los detectores sensibles como: el detector de ionización de la llama (FID), detector de emisión atómica (AED), detector de conductividad térmica (TCD), detector de captura de electrones (ECD), detector de nitrógeno-fósforo (NPD), detector fotométrico de llama (FPD), permite identificar compuestos que tengan azufre (S) o fósforo (P) con diferente sensibilidad, todos éstos detectores permiten cuantificar compuestos orgánicos a nivel de trazas. El acoplamiento con técnicas como la espectrometría de masas ha desarrollado una poderosa herramienta para separar, identificar y cuantificar mezclas complejas. La

sensibilidad e intervalo de trabajo de los detectores antes mencionados se muestran en la **Imagen 2.1**



**Imagen 2.1** Sensibilidad e intervalo de trabajo de los detectores representativos y sistemas acoplados en GC.<sup>[27]</sup>

### 2.1.2. Espectrometría de masas (MS)

La espectrometría de masas (por sus siglas en inglés, MS) es una técnica analítica con grandes ventajas como: alta sensibilidad, identificación y cuantificación de los compuestos a nivel de trazas además proporciona información estructural e isotópica de las moléculas. El principio básico de MS es generar iones a partir de compuestos inorgánicos u orgánicos mediante un método adecuado de ionización, separar estos iones por su relación masa/carga ( $m/z$ ), detectarlos cualitativa y cuantitativamente mediante su respectiva  $m/z$  y abundancia. Los analitos pueden ser ionizados térmicamente, por campos eléctricos o impactando electrones, iones o fotones energéticos. Los iones pueden ser átomos ionizados, clústeres, moléculas o sus fragmentos. La separación se efectúa por campos eléctricos o magnéticos estáticos o dinámicos dependiendo del principio de funcionamiento del espectrómetro de masas.<sup>[28]</sup>

El acoplamiento de ambas técnicas GC-MS da lugar a una técnica combinada que permite la separación e identificación de muestras complejas con una gran sensibilidad (ppb- ppt). Después de la separación de los compuestos en la columna cromatográfica éstos pasan inmediatamente al espectrómetro de masas a través de la línea de transferencia, la cual conecta el extremo final de la columna cromatográfica con la cámara de ionización del espectrómetro, es aquí donde se hace el cambio de presión, de presión atmosférica al alto vacío, que se requiere en GC-MS.<sup>[29]</sup>

La ionización electrónica es una de las más utilizadas en MS debido a que se acopla de manera muy eficiente a cromatografía de gases, consiste en generar electrones acelerados, a 70 eV generalmente, mediante un filamento incandescente los cuales colisionan con las moléculas o átomos de la muestra. Por convención se utiliza 70 eV debido a que existen enormes bibliotecas virtuales con espectros de masas en los cuales se observa una fragmentación reproducible independientemente del equipo que se esté utilizando, lo que permite la identificación de los compuestos en muestras diversas.

Posteriormente los iones generados pasan por un analizador másico, generalmente un cuadrupolo, debido a su costo y sencillez, consiste en cuatro barras metálicas colocadas de forma paralela a las cuales se les aplica un voltaje constante y una radiofrecuencia oscilante generando un campo eléctrico que produce variaciones en las trayectorias de los iones dependiendo de su relación masa-carga. El cuadrupolo permite dos modos de operación SCAN (escaneo completo de los iones) en el cual se detectan todos los iones dentro de un intervalo de  $m/z$  determinado y monitoreo selectivo de iones (SIM, por sus siglas en inglés) solo detecta iones de  $m/z$  específica lo que permite seleccionar los iones característicos de un compuesto disminuyendo las interferencias, aumentando la sensibilidad y selectividad del análisis. Por último el detector mide la cantidad de iones no deflectados en el analizador másico.

### 2.1.3. Electroforesis capilar (CE)

La electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica moderna que permite la separación rápida y eficiente de componentes ionizados presentes en pequeños

volúmenes de muestra. La separación por electroforesis está basada en las diferencias de velocidades que los analitos adquieren al ser sometidos a un campo eléctrico. Actualmente, la CE se considera cada vez más como un método de separación alternativo, capaz de realizar un análisis más rápido y eficiente que el obtenido por cromatografía de líquidos de alta resolución (por sus siglas en inglés, HPLC) o como una técnica complementaria a HPLC para aumentar la información obtenida del análisis.<sup>[23]</sup>

La separación se lleva a cabo en un tubo capilar de sílice fundida de diámetro interno , 10-75  $\mu\text{m}$ , y longitud 20–100 cm, que se llena con una solución amortiguadora que constituye el medio de separación a partir de los viales situados en los extremos del capilar. La muestra, contenida en otro vial, se introduce por uno de los extremos del capilar reemplazando en el momento de la inyección uno de los viales de solución amortiguadora por el vial de muestra y aplicando en él una pequeña sobrepresión o un pequeño voltaje. El campo eléctrico necesario para llevar a cabo la separación se consigue conectando una fuente de alimentación de alto voltaje (10,000-30,000 V, que corresponden a corrientes de 5-100  $\mu\text{A}$ ) a los extremos del capilar de separación a través de los viales de solución amortiguadora.<sup>[30]</sup>

La velocidad de migración de un analito que está sometido a un campo eléctrico es determinado por la movilidad electroforética del analito y la movilidad electrosmótica de la solución amortiguadora dentro del capilar. El flujo electrosmótico (por sus siglas en inglés EOF) es la cantidad de flujo del líquido en el capilar y es una consecuencia de la carga superficial en la pared interna del capilar, resulta del efecto de aplicar un campo eléctrico en la solución, controla la cantidad de tiempo que los solutos permanecen en el capilar por superposición de flujo. Es muy importante el control del EOF ya que éste varía con el pH, por ejemplo, a elevados valores de pH el EOF puede ser tan rápido que resulte en la elución de los solutos antes de que la separación haya ocurrido. De manera opuesta, a valores bajos o moderados de pH, la pared del capilar cargada negativamente puede causar la adsorción de solutos catiónicos mediante atracciones coulómbica, sin embargo, esto puede alterar la carga o la estructura de los analitos.

El EOF es dependiente de la solución amortiguadora, de su viscosidad  $\eta$ , de su constante dieléctrica  $\epsilon$  y de su pH, que a su vez está relacionado con el potencial zeta ( $\zeta$ ). El potencial  $\zeta$  está relacionado de forma inversa a la carga por unidad superficial de área, el número de electrones de valencia y la raíz cuadrada de la concentración del electrolito. La implicación directa de esas variables es que el flujo del líquido en el capilar depende tanto del pH como del tamaño del capilar. La concentración de la solución amortiguadora es importante ya que cuando la concentración es alta, disminuye el potencial  $\zeta$  y el EOF. Una elevada fuerza iónica genera una corriente grande, y por lo tanto eleva la temperatura. Puede distorsionar la forma del pico si la conductividad difiere de la conductividad de la muestra.<sup>[31]</sup>

Para controlar el EOF es muy común que se adicionen modificadores orgánicos los cuales cambian el potencial  $\zeta$  y la viscosidad (usualmente disminuyen el EOF), es difícil predecir su efecto, en la mayoría de los casos esto se evalúa experimentalmente. También es común que se adicionen surfactantes los cuales son adsorbidos en la superficie interna del capilar mediante interacciones hidrofóbicas y/o iónicas. Dependiendo de su naturaleza (aniónicos o catiónicos) y pueden incrementar o disminuir el EOF.

El monitoreo de la separación se lleva a cabo en el capilar colocando un detector en un punto del capilar, generalmente antes del extremo de salida. Un ordenador se encarga del control de la instrumentación, la adquisición y tratamiento de los datos suministrados por el detector.

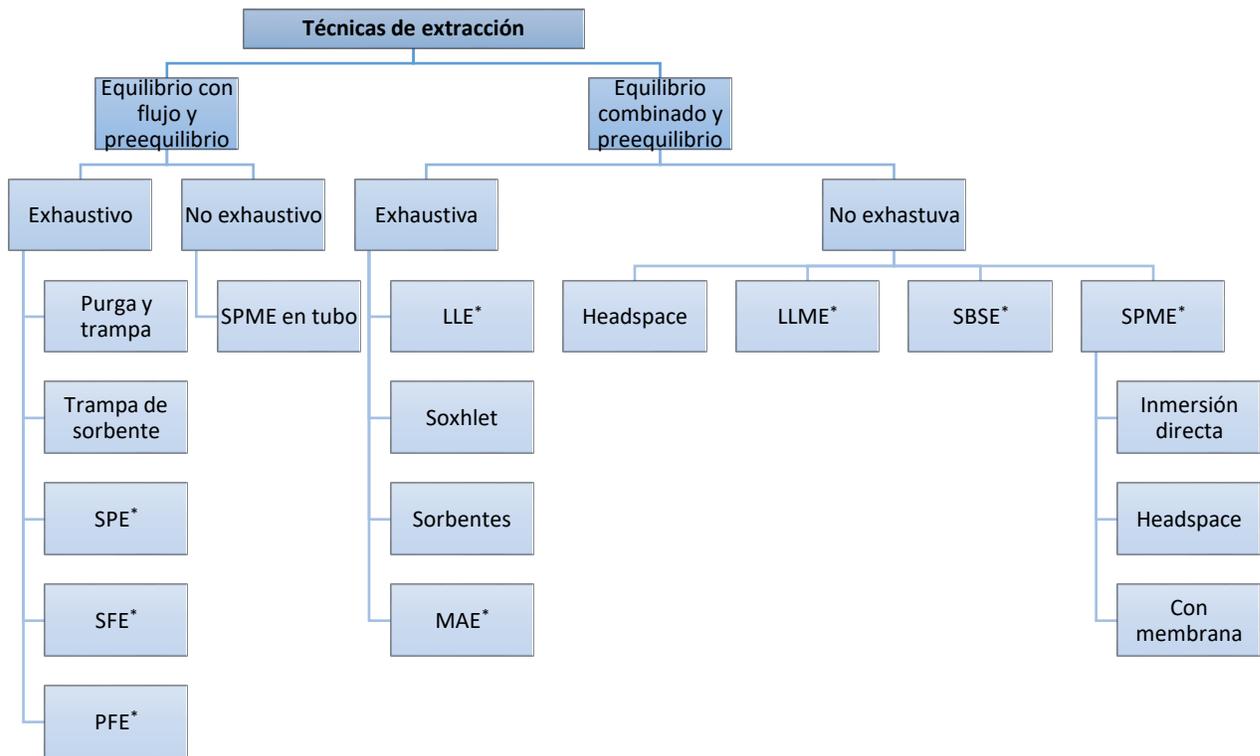
La gran versatilidad de la CE radica en sus numerosos modos de operación, dado que el mecanismo de separación de cada uno de ellos es diferente, estos ofrecen información tanto certera como complementaria. Los distintos modos de separación electroforética capilar incluyen: electroforesis capilar por zona (CZE, por sus siglas en inglés), electroforesis en gel capilar (CGE, por sus siglas en inglés), cromatografía electrocinética micelar (MEKC, por sus siglas en inglés), electrocromatografía capilar (CEC, por sus siglas en inglés), enfoque isoelectrico capilar (CIEF, por sus siglas en inglés), isotacoforesis capilar (CITP, por sus siglas en ingles).<sup>[32]</sup>

## 2.2. Técnicas de preparación de muestras

El procedimiento analítico para muestras complejas consta de varias etapas: muestreo, preparación de muestras, separación, cuantificación, evaluación estadística y toma de decisiones. Los errores cometidos en cualquier etapa pueden generar resultados erróneos. Por tal motivo, en los últimos años se han implementado importantes avances en el desarrollo de la instrumentación, que implica la miniaturización de los dispositivos analíticos y el acoplamiento de los pasos en un solo sistema.<sup>[33,34]</sup>

El concepto básico de un método de preparación de muestras es convertir una matriz compleja en una o varias fracciones más simples, sin perder información de la matriz original, en la **Imagen 2.2** se muestran las técnicas de extracción más utilizadas.<sup>[33]</sup> Los objetivos principales son: la eliminación de interferencias, con lo que se aumenta la selectividad del método, aumentar la concentración del analito incrementando la sensibilidad del ensayo, convertir el analito en una forma más adecuada para la detección o separación, proporcionar un método robusto y reproducible que sea independiente de las variaciones en la matriz de la muestra.

Muchos métodos tradicionales de preparación de muestras siguen utilizando las tendencias de los últimos años como: utilizar tamaños de muestra más pequeños incluso para el análisis de trazas, mayor especificidad o mayor selectividad en la extracción, aumento del potencial de automatización o de métodos en línea que reduzcan las operaciones manuales dándole un enfoque más amigable con el medio ambiente (química verde) con menos residuos y el uso de pequeños volúmenes o sin disolventes orgánicos.<sup>[1]</sup>



\* Ver abreviaturas

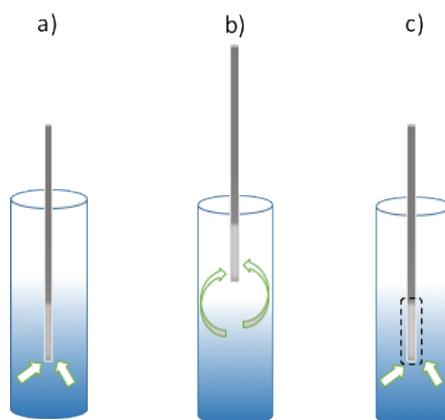
**Imagen 2.2** Clasificación de las técnicas de extracción.[33]

### 2.2.1. Microextracción en Fase Sólida (SPME)

La SPME es una técnica miniaturizada la cual fue desarrollada para abordar la necesidad de preparación rápida de muestras, se basa en la extracción y preconcentración de los analitos en una pequeña cantidad de fase sobre un soporte sólido, el cual se expone a la muestra durante un período de tiempo definido.

Consta de dos enfoques importantes, uno en el que se alcanza un equilibrio de reparto entre la matriz de muestra y la fase de extracción, aquí las condiciones de convección no afectan la cantidad extraída. El segundo enfoque utiliza tiempos cortos de extracción del preequilibrio, la cantidad de analito extraído está relacionada con el tiempo y agitación constante, aquí la cuantificación puede realizarse basándose en la acumulación de analitos en el revestimiento en un tiempo medido.[33,35-37] Se pueden realizar tres modos básicos de

extracción mediante SPME: extracción directa, extracción de espacio de cabeza (headspace) y extracción con protección de membrana. **(Imagen 2.3)**



**Imagen 2.3** Modos de operación para SPME: (a) inmersión directa; (b) headspace; (c) protección con membrana.[36]

En el modo de extracción directa, la fibra se sumerge en la solución de la muestra y los analitos se transfieren directamente desde la matriz de la muestra al recubrimiento. La agitación de la muestra acelera la transferencia de masa de los analitos de la muestra a la fase de extracción, lo que en consecuencia acelera el proceso de extracción.

Las condiciones de equilibrio se describen en la **Ecuación (1)**, de acuerdo con la ley de conservación de masa, si se consideran sólo dos fases (por ejemplo, la matriz de muestra y el revestimiento de fibra) :

$$n = \frac{K_{fs}V_fV_s}{K_{fs}V_f+V_s}C_0 \quad \text{Ecuación (1)}$$

Donde  $n$  es la cantidad extraída del analito,  $C_0$  la concentración inicial del analito de interés en la muestra,  $V_s$  el volumen de muestra,  $V_f$  volumen de la fibra, y  $K_{fs}$  es el coeficiente de distribución de los analitos entre la fibra y la muestra. Esta ecuación indica que la cantidad de analito extraído sobre el recubrimiento ( $n$ ) es linealmente proporcional a la concentración de analito en la muestra ( $C_0$ ), que es la base analítica para la cuantificación usando SPME.

Debido a que el volumen de la muestra es muy grande comparado con el del revestimiento, entonces  $V_s \gg K_{fs} V_f$  la **Ecuación (1)** se puede simplificar a la **Ecuación (2)**,

$$n = K_{fs} V_f C_0 \quad \text{Ecuación (2)}$$

Donde se observa que la cantidad de analito extraída es independiente del volumen de la muestra, debido a esto la SPME por inmersión directa es convenientemente utilizada para el muestreo *in situ*.

El método de extracción en el equilibrio es un método de cuantificación ampliamente utilizado para SPME. En este método, una pequeña cantidad de fase de extracción (revestimiento de fibra SPME u otro sorbente o polímero en un formato apropiado) se expone a una matriz de muestra hasta que se alcanza un equilibrio (**Cuadro 2.1**)

En el modo de extracción por headspace, la fibra se coloca en el espacio por encima de la matriz de muestra (“espacio de cabeza”); para obtener una tasa de difusión favorable, se requiere que los analitos sean volátiles, la extracción por headspace puede evitar de manera efectiva la interferencia de las macromoléculas.

En el modo headspace se debe considerar el gas inerte en el espacio de cabeza para describir las condiciones de equilibrio quedando la expresión matemática siguiente:

$$n = \frac{K_{fs} V_f V_s C_0}{K_{fs} V_f + K_{gs} V_g + V_s} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde  $K_{gs}$  es el coeficiente de distribución de los analitos entre el gas inerte y la muestra,  $V_g$  es el volumen del gas inerte. Una de las grandes ventajas de la extracción en modo headspace es que el revestimiento no está directamente en contacto con la muestra lo que aumenta el tiempo de vida de la fibra.

Para el análisis de compuestos no volátiles con la interferencia de macromoléculas, tanto la extracción directa como la extracción por headspace son inaplicables, la extracción con membrana es la mejor opción, con la protección de la membrana de acceso selectivo, se

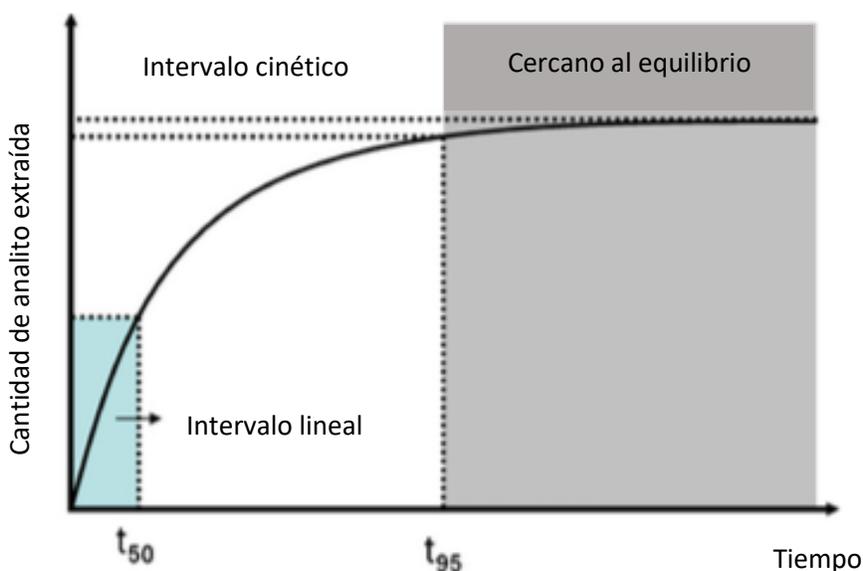
impide el paso de las macromoléculas no deseadas y el recubrimiento se mantiene alejado de la contaminación.[38]

SPME es principalmente un método de extracción de equilibrio en lugar de una técnica de extracción exhaustiva. En la mayoría de los casos, los analitos no se extraen completamente. La concentración de un analito se determina por su relación lineal con la cantidad de analito extraído por el revestimiento de fibra (como se mostró en la **Ecuación (1)**). Sin embargo, si el coeficiente de distribución ( $K_{fs}$ ) es muy grande, el término de  $K_{fs} V_f$  puede ser mucho mayor que  $V_s$  ( $V_s \ll K_{fs} V_f$ ). Entonces podemos lograr

$$n \approx V_s C_0 \quad \text{Ecuación (4)}$$

En este caso la cantidad de analito extraída dependerá del volumen de la muestra y la concentración del compuesto en la muestra.

El proceso de SPME generalmente sigue el perfil mostrado en la **Imagen 2.4** Cuando el tiempo de muestreo es mayor que  $t_{95}$ , la extracción casi alcanza el equilibrio. Si el tiempo de muestreo es menor que  $t_{95}$ , la extracción es un proceso cinético. Y hay casi una captación de masa lineal cuando el tiempo de muestreo es menor que  $t_{50}$ .



**Imagen 2.4** Perfil típico de extracción para SPME.[39]

Para describir el proceso cinético de SPME, el coeficiente de difusión es esencial. En los últimos años se implementaron varios métodos de calibración basados en difusión para la cuantificación de SPME. Estos métodos de calibración se desarrollan a partir de la primera ley de difusión de Fick, el modelo de interface, el modelo de flujo cruzado y los procesos cinéticos de absorción/ adsorción y desorción. Se utilizan principalmente para el muestreo *in situ*.

En el **Cuadro 2.1** se enlistan los diferentes métodos de calibración así como sus principales ventajas y desventajas.

**Cuadro 2.1** Métodos de calibración para SPME.<sup>[40]</sup>

		Ventajas	Desventajas
Tradicional	Estándar externo	No requiere una preparación extensiva de la muestra.	Debe haber un blanco de matriz para la calibración. El procedimiento de muestreo y las condiciones cromatográficas deben permanecer constantes.
	Adiciones estándar	Apropiada para muestras de composición desconocida y complejas (corrección de los efectos de matriz).	Amplia preparación y análisis de muestras para un gran número de muestras.
	Estándar interno	Permite compensar y/o corregir los efectos de matriz, pérdida de los analitos durante la preparación de la muestra e irreproducibilidad en los parámetros.	Estándar interno adecuado para muestras complejas, no son fáciles de encontrar. Los estándares marcados isotópicamente son caros y no están disponibles para todos los analitos de interés.
En el equilibrio		Cuando el volumen de la muestra es muy grande. Ej. muestras de campo, la concentración de analitos es independiente del volumen de la muestra.	Los coeficientes de distribución de los analitos entre el revestimiento de fibra y la matriz de muestra (K) deben ser conocidos o determinados.
Extracción exhaustiva		La concentración del analito de interés puede ser fácilmente calculado con la concentración del analito extraída por la fibra y el volumen de la muestra.	Sólo es adecuado para volúmenes pequeños de muestras y coeficientes de distribución muy grandes, o requiere dispositivos o métodos especiales para lograr.
Basado en la difusión	Primera ley de difusión de Fick	Adecuada para el muestreo promedio ponderado en el tiempo (TWA) la tasa de muestreo es independiente de la velocidad.	La tasa de muestreo en agua es muy baja.
	Modelo de interface y modelo de flujo cruzado	Alta velocidad y corto tiempo de muestreo, minimizado el efecto competitivo para recubrimiento sólido. Adecuado para el muestreo <i>in situ</i> .	La velocidad de flujo de la matriz de muestreo debe controlarse o determinarse. Limitado al régimen de muestreo lineal.
	Calibración cinética con estándar	Adecuado para el muestreo TWA, especialmente donde la convección y las concentraciones de analitos siempre cambian.	Requiere un estándar y el valor de K debe conocerse o determinarse.
	Calibración cinética sin estándar	No necesita carga estándar. Las concentraciones de todos los analitos extraídos en la muestra pueden calcularse.	Se necesita muestrear dos veces, las condiciones para el muestreo deben mantenerse constantes. Inadecuado para monitoreo a largo plazo. El valor K debe conocerse o determinarse.

El dispositivo comercial SPME fue fabricado por Supelco Co. en 1993, consiste en un soporte y una fibra. El soporte de SPME se parece a una jeringa modificada. La fibra es de sílice fundida o de acero inoxidable recubierta con membranas de polímero con un grosor específico que está protegida por un tubo hueco de acero inoxidable. Hay dos tipos de soportes: soporte automático y soporte manual. El soporte automático se utiliza para los inyectores automáticos de GC y HPLC. En consecuencia, hay fibras automáticas sin resorte y fibras manuales con resorte para coincidir con los dos tipos de soportes.

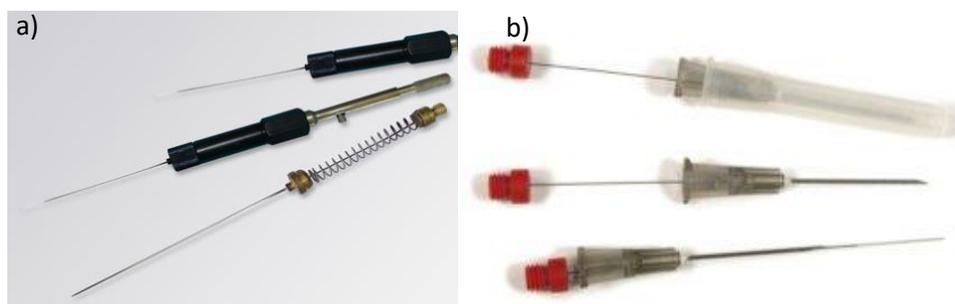
Elegir un recubrimiento de fibra SPME adecuado es la clave para lograr resultados de análisis favorables. Hay cuatro criterios principales que se usan comúnmente para seleccionar la fibra adecuada para una aplicación específica son los siguientes: el peso molecular y el tamaño de los analitos, la polaridad de los analitos, el intervalo de concentración de los analitos, y la complejidad de la muestra. Supelco Co. ha enumerado la regla general para la selección de la fibra comercial SPME hacia diferentes analitos según su peso molecular, volatilidad y polaridad (**Cuadro 2.2**).

**Cuadro 2.2** Selección de fibra comercial para SPME.<sup>[38]</sup>

Tipo de análisis	Fibra SPME recomendada
Compuestos gaseosos y de bajo peso molecular (PM 30-225)	75/85 µm carboxen/PDMS
Compuestos no polares y volátiles (PM 60-275)	100 µm PDMS
Compuestos volátiles, amino y nitro aromáticos (PM 50-300)	65 µm PDMS/DVB
Compuestos polares y semivolátiles (PM 80-300)	85 µm PA
Compuestos no polares y semivolátiles (PM 80-500)	30 µm PDMS
Compuestos polares y de alto peso molecular (PM 125-600)	7 µm PDMS
Alcoholes y compuestos polares (PM 40-275)	60 µm PEG
Compuestos aromáticos (volátiles y semivolátiles C <sub>3</sub> -C <sub>20</sub> ) (PM 40-275)	50/30 µm DVB/carboxen/PDMS

Varias fibras están disponibles comercialmente para análisis de SPME, incluyendo PDMS, poliacrilato (PA), divinilbenceno (DVB), carboxen (CAR) y Carbowax (CW), y las fibras están disponibles en diferentes espesores para recubrimientos individuales, mezclas o copolímeros. Estas fibras son adecuadas para aplicaciones de SPME para compuestos orgánicos no polares, como benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX), hidrocarburos aromáticos polinucleares (HAP), pesticidas, etc. y compuestos orgánicos polares, tales como fenoles, alcoholes, etc.

Con el objetivo de mejorar diversos aspectos de la técnica se han ido desarrollando diferentes métodos de preparación de fibras para SPME. En las últimas décadas, con la elaboración de los dispositivos para SPME *in vivo*, la técnica se ha aplicado para analizar algunos compuestos producidos por microorganismos, insectos, plantas, animales y seres humanos. Los analitos investigados hasta la fecha incluyen contaminantes ambientales, como son: productos farmacéuticos y de cuidado personal, retardantes de llama, feromonas, metabolitos y proteínas. La viabilidad y aplicabilidad futura de las técnicas de SPME *in vivo* dependen del desarrollo y la comercialización de dispositivos y fases de extracción adecuadas para diferentes tipos de aplicaciones, lo que puede hacer que las técnicas sean más convenientes y más aplicables. Los dispositivos disponibles comercialmente se muestran en la **Imagen 2.5**.<sup>[36]</sup>



**Imagen 2.5** Fotografías de los formatos para SPME a) tradicional b) *in vivo*.

El diseño de las fibras para SPME *in vivo* es diferente al que se maneja para la SPME tradicional, teniendo como principal diferencia la resistencia y adhesión de la fase polimérica al soporte. Las diferentes configuraciones están diseñadas principalmente para: acoplarse convenientemente a instrumentos analíticos, tratar diferentes muestras (por

ejemplo, la SPME en tubo y la barra de agitación, la microextracción se usa principalmente en muestras acuosas, y las fibras SPME se pueden usar en muestras líquidas, gaseosas y semisólidas, y para mejorar la sensibilidad analítica al aumentar las áreas de la superficie o las relaciones de área de superficie a volumen de las fases de extracción. Hoy en día, la fibra es la configuración SPME más utilizada, principalmente por su amplia aplicabilidad en muestras gaseosas, líquidas y semisólidas. Por esta razón, la preparación de fibras SPME se ha estudiado más ampliamente que los dispositivos SPME en otras configuraciones. De hecho, las estrategias de preparación de fibras SPME también se pueden extrapolar fácilmente a la preparación de dispositivos SPME en otras configuraciones.<sup>[38]</sup>

#### 2.2.1.1. Métodos de preparación para dispositivos SPME

La diversidad de las propiedades fisicoquímicas de los analitos de interés y la complejidad de las matrices de muestra requieren el desarrollo de nuevos dispositivos SPME para cubrir las diferentes necesidades de nuevas investigaciones. Desde la concepción de SPME, múltiples configuraciones, amplios materiales de extracción así como numerosos métodos de preparación de dispositivos SPME se han introducido para su aplicación. El **Cuadro 2.3** presenta los principios desde las perspectivas de la química y la física para la preparación de fibras que cumplen con las propiedades deseables, se proporciona una vista general de la preparación de fibras.<sup>[3-5]</sup>

**Cuadro 2.3** Comparación de diferentes métodos de preparación de fibras para SPME.<sup>[38]</sup>

Método	Dificultad técnica	Reproducibilidad	Estabilidad
Deposición física	Baja	Pobre	Mecánicamente inestable, la estabilidad térmica y química depende del material de revestimiento utilizado
Electrodeposición/ Electroquímica	Baja	Aceptable	Mecánicamente inestable, la estabilidad térmica y química depende del material de revestimiento utilizado <sup>[39]</sup>
Inmersión	Baja	Aceptable	Mecánicamente inestable, la estabilidad térmica y química depende del material de revestimiento y el pegamento utilizado <sup>[8]</sup>

**Cuadro 2.3** Comparación de diferentes métodos de preparación de fibras para SPME (continuación).

Método	Dificultad técnica	Reproducibilidad	Estabilidad
Sol-gel	Aceptable	Pobre	Mecánicamente estable, inestable a altas temperaturas y pH extremo <sup>[9]</sup>
Enlace químico	Alta	Aceptable	Mecánicamente estable, la estabilidad térmica y química depende del material de revestimiento y el entrecruzamiento utilizado <sup>[40]</sup>
Electrospinning (hilado)	Aceptable	Buena	Mecánicamente estable, la estabilidad térmica y química depende del material de revestimiento y el pegamento utilizado <sup>[10]</sup>
Anodización	Aceptable	Aceptable	Mecánica y térmicamente estable, la estabilidad química depende del material de revestimiento utilizado <sup>[41]</sup>
Polimerización <i>in situ</i> / crecimiento hidrotérmico	Alta	Pobre	Aceptable estabilidad mecánica, la estabilidad química depende del material de revestimiento utilizado <sup>[42]</sup>

#### 2.2.1.2. Fases poliméricas desarrolladas

Es importante mencionar que los avances en el desarrollo de los materiales de recubrimiento más utilizados, incluidos los líquidos iónicos, los líquidos iónicos poliméricos, los materiales de carbono, los polímeros impresos molecularmente, estructuras metálicas metal-orgánicas, metales y óxidos metálicos, polímeros conductores, sílice modificada, así como sus compositos, en fibras SPME deben cumplir con los principios básicos para la preparación de fibras SPME como selectividad, sensibilidad y estabilidad en términos de las propiedades fisicoquímicas de los materiales de recubrimiento.<sup>[3,41]</sup>

El **Cuadro 2.4** resume algunos revestimientos utilizados para SPME, sus métodos de preparación y propiedades. Estos han sido utilizados con éxito en el muestreo *in vivo*, se ha observado que PDMS no es la fase preferida, debido a la naturaleza altamente hidrófoba de su superficie. Las superficies de PDMS sin modificar pueden presentar un grado apreciable de adsorción inespecífica.<sup>[3]</sup>

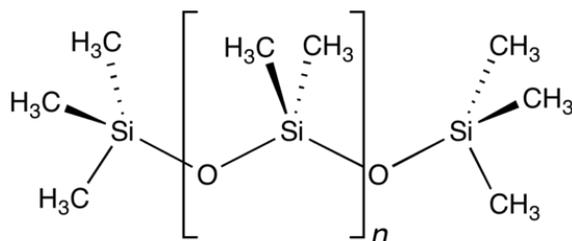
**Cuadro 2.4** Resumen revestimientos SPME biocompatibles.[3]

Tipo de revestimiento	Método de preparación	Ventajas	Desventajas
PDMS	Fibras huecas comerciales colocadas sobre un hilo de acero inoxidable	Facilidad de preparación. Excelente reproducibilidad entre fibras 6% RSD	Pobre eficiencia de extracción para compuestos polares. Revestimiento no adherido al soporte. Largos tiempos de equilibrio
El PAN + C <sub>18</sub> (u otro sorbente SPE adecuado)	Método de inmersión sobre alambre de acero inoxidable	Flexibilidad en la selección del sorbente, buena robustez mecánica y química. Adecuado para la esterilización en autoclave. Excelente eficiencia de extracción. Buena reproducibilidad entre fibras <10% RSD	La eficiencia de extracción disminuye aproximadamente un 15% después de la esterilización en autoclave
El PEG + C <sub>18</sub> (u otro sorbente SPE adecuado)	Método de inmersión sobre alambre de acero inoxidable	Flexibilidad en la selección del sorbente. Tiempos de equilibrado cortos (<5 min). Mejor sensibilidad que el PPY.	No es estable para la esterilización en autoclave. Reproducibilidad entre fibras del 15-25%
PPY	Oxidación química del monómero de pirrol con persulfato de amonio sobre fibra óptica de sílice	Tiempos de equilibrado cortos (2 min). Adecuado para acoplamiento directo a IMS	Evaluación limitada realizada
PPY	Electrodeposición sobre acero inoxidable o platino	Tiempos de equilibrio cortos. Adecuado para autoclave	Pobre reproducibilidad entre fibras. Rango dinámico lineal limitado y posibles efectos de desplazamiento. La eficiencia de extracción disminuyó un 30% después de la esterilización en autoclave
Fibras biocompatibles (aglutinante + C <sub>18</sub> u otro sorbente adecuado)	Recubrimiento sobre aleación de metal flexible	Buena estabilidad mecánica y química. Recubrimiento por lotes sobre aleación de metal flexible	Largos tiempos de equilibrio

El polidimetilsiloxano (PDMS) es el polímero orgánico a base de silicio más utilizado conocido por su baja energía superficial, que ofrece interesantes propiedades, tales como baja fricción, baja adhesión e hidrofobicidad, también es conocido por su estabilidad

química, bajo impacto ambiental (inerte y no tóxico) debido a estas características tiene grandes aplicaciones biológicas, desde lentes de contacto hasta dispositivos médicos. Se ha encontrado que su hidrofobicidad depende de su porcentaje en peso y masa molecular.<sup>[5]</sup>

Industrialmente el polímero se obtiene a partir de la hidrólisis del dimetildiclorosilano y se termina la cadena polimérica con cloruro de trimetilsililo (**Imagen 2.6**).



**Imagen 2.6** Fórmula estructural del polidimetilsiloxano industrial

El PDMS es un polímero reticulable o entrecruzable, la red del polímero PDMS se ensambla reticulando las cadenas de polímero. Las diferentes relaciones base/agente curante, da diferentes grados de reticulación. Cuanto menor sea el grado de reticulación de la red, más suave será. En general, los polímeros entrecruzables son termoestables, la razón de tal comportamiento se debe a la red tridimensional que forman, al elevarse la temperatura de ésta las cadenas se compactan, haciendo al polímero más duro, a este proceso se le conoce como curación del polímero.<sup>[42]</sup>

El proceso de polimerización se suele dar en dos etapas: en la primera se produce la polimerización parcial, formando cadenas lineales, mientras que en la segunda el proceso se completa entrelazando las moléculas aplicando calor y/o presión durante el proceso. También pueden obtenerse produciendo la reacción de entrelazamiento de las cadenas al ser mezcladas (comúnmente con un catalizador). La reacción de curado es irreversible, de forma que el polímero resultante no puede ser reciclado, ya que si se incrementa la temperatura el polímero no funde, sino que alcanza su temperatura de degradación.<sup>[43,44]</sup>

### 2.3. Fabricación de fibras

Para la adhesión del polímero a la superficie de acero inoxidable es importante que la superficie se encuentre limpia, libre de contaminantes y homogénea, para esto existen diversos métodos de limpieza, dependiendo de la técnica de polimerización empleada será la importancia que tenga la limpieza de la superficie en la metodología, algunos de ellos se explican a continuación:

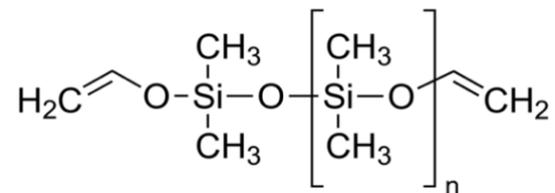
1. **Limpieza con disolventes:** consiste en limpiar la superficie de acero inoxidable con disolventes principalmente metanol y acetona, la forma de limpieza es diversa, en ocasiones el alambre se sumerge en los diferentes disolventes y se deja secar o se ultrasonica sumergido en el disolvente y se deja secar; algunas otras únicamente se pasa un paño de tela impregnado con el disolvente sobre la superficie, el uso de disolventes es en definitiva el método más sencillo y rápido, aunque existen técnicas de polimerización en las que no es suficiente para lograr la adhesión del polímero.<sup>[45]</sup>
2. **Limpieza mediante disoluciones de ácido e hidróxido de sodio:** generalmente consiste en sumergir los alambres por un intervalo de tiempo de 30-60 min en disoluciones de HCl (0.1-0.5M) y NaOH (1-2M) posteriormente enjuagarlos con agua desionizada y dejarlos secar. Es un método de limpieza sencillo con el que se logra una buena limpieza de la superficie.<sup>[12,46]</sup>
3. **Limpieza con plasma:** es un método menos utilizado para la limpieza de la superficie de acero inoxidable debido a que el dispositivo que genera el arco de plasma no es tan común. Consiste en pasar determinado número de veces un haz de plasma sobre la superficie de acero inoxidable, el plasma se genera excitando moléculas de aire con un voltaje elevado. Los haces de plasma se emplean para limpiar y activar superficies minuciosamente. También proporcionan un efecto adicional de limpieza al ser capaces de eliminar partículas libres de las superficies. Después de la limpieza con plasma los alambres están listos para la adhesión del polímero, es un método rápido con el que se obtienen buenos resultados.

### 2.3.1. Técnicas de polimerización

En los últimos años se han desarrollado gran variedad de técnicas para la fabricación de fibras de diversos polímeros en las cuales se distinguen dos principales.

#### 2.3.1.1. A partir del polímero comercial

Se describen diversas técnicas para la fijación de un polímero a una superficie (alambre de acero inoxidable o placas de acero inoxidable) a partir del kit comercial Sylgard 184<sup>®</sup>, el cual se cura térmicamente, el polímero se obtiene con grupos vinilo terminales (**Imagen 2.7**).<sup>[11,12]</sup> Tanto la terminación como la reticulación del polímero se puede llevar a cabo con distintos agentes los cuales tienen diferentes grupos terminales y modifica en mayor o menor proporción las propiedades del polímero. Algunos de los principales grupos de terminación son: hidruros, metilos, hidroxilo, aminas y epóxidos.



**Imagen 2.7** Fórmula estructural del polímero obtenido del kit Sylgard 184<sup>®</sup>.

Las técnicas utilizadas para la adhesión del polímero a la superficie de acero inoxidable son diversas pero la principal y más utilizada debido a su simplicidad es la inmersión directa, la cual consiste en sumergir durante un tiempo determinado el alambre de acero inoxidable en la mezcla de elastómero con agente curante, posteriormente el polímero se cura durante un tiempo y temperatura definidas. <sup>[8,48-50]</sup>

El cepillado consiste en esparcir la mezcla de polímero con agente curante a partir de un pequeño pincel o cepillo sobre la superficie deseada; posteriormente se hace el curado del polímero, mediante esta técnica se reporta una débil estabilidad y baja robustez para usos a largo plazo.<sup>[44]</sup> Otra de las técnicas más utilizadas debido a que se observa una buena estabilidad y adhesión del polímero a la superficie haciéndolo un método más robusto es la aspersion, esto se atribuye a una unión más efectiva de múltiples capas delgadas de las

pequeñas partículas de suspensión en la superficie. La aspersion consiste en esparcir partículas muy finas sobre una superficie a alta presión. La aspersion de partículas finas se repite durante varias capas seguido del curado térmico del polímero lo que le da una buena fijación al acero inoxidable.<sup>[43,51]</sup>

Otra de las formas más utilizadas para la fabricación de fibras SPME con PDMS como recubrimiento es comprar el tubo de PDMS del diámetro y grosor requerido cortarlo a la longitud deseada para posteriormente con algún pegamento biocompatible pegarlo al alambre de acero inoxidable, es un método muy sencillo del cual se reporta una buena eficiencia y reproducibilidad.<sup>[44,52-54]</sup>

### 2.3.1.2. Síntesis del polímero

#### 2.3.1.2.1. Sol-gel

La técnica sol-gel en general es muy usada para la fabricación de óxidos metálicos, especialmente de silicio y titanio. El proceso implica la conversión de monómeros, principalmente alcóxidos en una solución coloidal (sol) que actúa como precursor para formar una red (o gel) de partículas discretas o polímeros entrecruzados.

Por otro lado, la técnica sol-gel, que se ha utilizado para preparar fibras SPME en los últimos años, es un método común para la preparación de polímeros inorgánicos y materiales híbridos inorgánicos-orgánicos en condiciones suaves. Frecuentemente, las fibras SPME preparadas mediante la técnica de sol-gel tienen ventajas como: bajo costo, homogeneidad del material, estructura porosa, alta estabilidad térmica y fuerte adhesión del recubrimiento al sustrato. En general las fibras fabricadas por dicho proceso se hacen sobre una superficie de vidrio tratada previamente, debido a que pueden enlazarse químicamente en la superficie de la fibra de sílice fundida. Además, la comprensión de los mecanismos de transformación e interacciones entre sol y gel en el estado de gel coloidal ha llevado al desarrollo de materiales con una estructura adaptada.<sup>[9, 55,56]</sup>

Sin embargo, en el método sol-gel la adsorción en los sitios de los recubrimientos pueden no ser completamente accesibles, ya que los caminos de difusión son muy tortuosos y los poros pueden bloquearse por grandes estructuras.<sup>[56]</sup>

## 2.4. Caracterización del revestimiento polimérico

Para caracterizar las fibras se utiliza la microscopía electrónica de barrido, con la cual se obtienen imágenes de la homogeneidad de la fibra y el diámetro del recubrimiento. También se utilizan técnicas como espectroscopía infrarroja, resonancia magnética nuclear y termogravimetría para determinar la estructura y estabilidad del polímero.

### 2.4.1. Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), utiliza un haz de electrones para formar una imagen ampliada de la superficie de un objeto. Es un instrumento que permite tanto la observación como caracterización superficial de sólidos inorgánicos y orgánicos. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque una gran parte de la muestra.

Su funcionamiento consiste en hacer incidir un barrido de haz de electrones sobre la muestra. Al alcanzar el haz la superficie de la muestra se generan principalmente electrones retrodispersados, electrones secundarios además de radiación electromagnética (rayos X) y otras partículas menos significativas.<sup>[60]</sup>

El microscopio electrónico de barrido está equipado con diversos detectores que recogen la energía para transformarla en imágenes y datos, entre los que se pueden mencionar: el detector de electrones secundarios para obtener imágenes de alta resolución (SEI, por sus siglas en inglés), un detector de electrones retrodispersados permite la obtención de imágenes de composición y topografía de la superficie (BEI, por sus siglas en inglés), un detector de energía dispersiva (EDS, por sus siglas en inglés) permite coleccionar los rayos X generados por la muestra así como realizar diversos análisis semicuantitativos y de distribución de elementos en superficies.<sup>[61]</sup>

Se pueden realizar estudios de los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de los distintos materiales. Las principales utilidades del SEM son la alta resolución (~1 nm), la gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras. La preparación de las muestras es relativamente sencilla; las

principales características son: muestra sólida y conductora. Caso contrario, la muestra es recubierta con una capa de carbón o una capa delgada de un metal como el oro para darle propiedades conductoras. De lo contrario, las muestras no conductoras se trabajan en bajo vacío.

## 2.5. Aplicaciones de SPME en agua

Las muestras de agua ambiental incluyen agua potable, agua de mar, agua de lluvia, agua de río y aguas residuales. El monitoreo acuático, requiere de la implementación de métodos rápidos, selectivos y con un alto grado de sensibilidad para la determinación de contaminantes traza en matrices complejas. En este sentido la SPME, como técnica de extracción sin disolventes, es aplicable tanto para el análisis en el laboratorio como *in situ*. Fibras comerciales de SPME que incluyen PA, PDMS, CAR-PDMS, PDMS-DVB y CW-DVB, así como fibras con nuevos materiales de recubrimiento, como NiTi-ZrO<sub>2</sub>, nanotubos de carbono, polianilina (PANI) entre otras se han utilizado para el análisis de contaminantes ambientales en muestras acuosas.<sup>[38]</sup>

Cuando hablamos de fuentes de contaminación, debemos definir la fuente de contaminación puntual y la no puntual. Los contaminantes de fuente puntual provienen de una fuente discreta de contaminación cuyos aportes en el medio acuático se pueden definir a través de mediciones de residuos químicos en agua, sedimentos o biota y / o debido a una serie de otros factores, como la incidencia variable de morbilidad o mortalidad. Algunos ejemplos de fuentes puntuales son las plantas municipales de tratamiento de aguas residuales, los efluentes industriales, las extracciones de recursos y los sitios de disposición de tierras. <sup>[65]</sup>Una fuente no puntual de contaminación hídrica afecta los cuerpos de agua desde fuentes como escorrentías de áreas agrícolas que drenan hacia los ríos, o desechos lavados por el viento hacia el mar. La contaminación por parte de una fuente no puntual puede ser producto del aporte de numerosas fuentes diferentes y sin una solución específica del problema, haciéndola difícil de regular.

La descarga del efluente en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) es una vía principal para la introducción de contaminantes en aguas naturales. La eficiencia de

eliminación en estas plantas de los diversos contaminantes seleccionados en 14 países muestran una variación específica en la eliminación del compuesto, que van desde 12.5 a 100%. Los procesos de tratamiento avanzados, como la adsorción de carbón activado, los procesos de oxidación, la nanofiltración, la ósmosis inversa, los biorreactores de membrana pueden lograr una eliminación más alta y uniforme. Sin embargo, independientemente de la tecnología empleada, la eliminación de los contaminantes depende de sus propiedades fisicoquímicas, así como de las condiciones de tratamiento. La evaluación de remoción en las aguas residuales municipales debe abarcar una serie de aspectos que inicia desde las fuentes hasta los usos finales. Después de la liberación de los contaminantes, una mejor comprensión y modelado de su destino en las aguas superficiales es esencial para predecir con eficacia sus impactos en el entorno receptor.<sup>[62]</sup>

La presencia de los PPCPs en el ambiente acuático proviene del uso generalizado tanto de productos farmacéuticos como de cuidado personal: cremas, champú, geles, fragancias, desodorantes, cosméticos, jabones, detergentes, entre otros. Después del uso de estos productos, los PPCPs terminan en aguas residuales domésticas, que generalmente se envían a plantas de tratamiento de aguas residuales o se liberan directamente en el ambiente. Debido a sus propiedades fisicoquímicas muchos PPCPs no se eliminan fácilmente, la incapacidad de efectuar la eliminación completa de éstos en las plantas de tratamiento de aguas residuales plantea un riesgo potencial para los organismos acuáticos y la salud pública. <sup>[63-65]</sup>

Las mayores concentraciones de PPCPs se han encontrado en aguas residuales y aguas naturales cerca de afluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. Los datos publicados sugieren una distribución ubicua de estos compuestos en el ambiente acuático. Los productos farmacéuticos, generalmente son compuestos polares con grupos ionizables dependiendo del pH. El principio activo puede ser excretado sin ningún cambio, como un metabolito principal o una mezcla de metabolitos, dependiendo del compuesto su persistencia en el medio ambiente es variable por lo que pueden acumularse, alcanzando niveles biológicamente activos. Se incorporan a través de las excreciones humanas y animales, biosólidos de PTAR, vertidos de aguas tratadas, desechos industriales, así como

de los residuos de la atención sanitaria y veterinaria, pueden inducir efectos fisiológicos en humanos a dosis bajas [66,67]

Aunque existen medidas de concentración única de productos farmacéuticos, en diversos países, el interés en los últimos años es dar información detallada sobre la variación en el tiempo de concentración, carga en los efluentes y ríos de aguas residuales así como el destino de estos compuestos en el medio acuático.[18, 19] En los estudios realizados en diversos países como Suiza, Estados Unidos, Canadá, China, Alemania, entre otros, se han medido concentraciones de diversos fármacos como son: carbamazepina, ácido clofíbrico, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno. En los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales y en aguas superficiales (ríos, lagos) se han encontrado estos compuestos en concentraciones de  $\mu\text{g L}^{-1}$ . En México se tiene poca información sobre la presencia de contaminantes emergentes, que tienen diversos orígenes y que presentan un problema ambiental. Los trabajos realizados en aguas residuales y naturales se centran en la determinación de diversos contaminantes farmacéuticos como el naproxeno, carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, entre otros; determinándose en concentraciones del orden de  $\mu\text{g L}^{-1}$  y  $\text{ng L}^{-1}$  dependiendo de la población, ubicación y proceso de tratamiento a que son sometidas las aguas. [68,71]

El intervalo de concentraciones en las muestras de agua para los almizcles y filtros UV muestra que estos compuestos, debido a su carácter lipófilo y persistencia, poseen un considerable potencial de bioacumulación[65,72-74]. A principios de la década de 1990, estas observaciones fueron confirmadas por numerosos estudios para aguas europeas, que también ampliaron el alcance mediante la detección de nitro almizcles en biota, grasa humana y leche.[6, 36] Los almizcles y filtros UV son compuestos con relativo bajo peso molecular, siendo suficientemente volátiles y se vaporizan fácilmente sin descomposición, cumpliendo así los requisitos esenciales para su determinación por GC. Los fármacos también se pueden determinar por CG pero, generalmente, deben pasar por un proceso de derivatización, debido a esto y a que son moléculas ionizables (de acuerdo a su pka) generalmente se prefieren analizar mediante HPLC y CE.

Las concentraciones de los productos farmacéuticos, filtros UV, almizcles determinados en aguas superficiales, influente y efluente de PTAR así como los biosólidos hasta el 2018 se encuentran en el **Cuadro 2.5**. Las propiedades fisicoquímicas de los PPCPs mencionados se muestran en el **Anexo I**.

**Cuadro 2.5** Concentraciones de productos farmacéuticos, filtros UV y almizcles detectados en aguas superficiales, influente y efluente de PTAR, biosólidos.

Familia	Contaminante emergente	Influente (ng L <sup>-1</sup> )	Efluente (ng L <sup>-1</sup> )	Aguas superficiales	Biosólidos (ng kg <sup>-1</sup> )
<b>Fármacos</b>	Ibuprofeno	1681-33,764 <sup>[75]</sup>	143-4,239 <sup>[75]</sup>	1-2,370 <sup>[75]</sup>	380 <sup>[75]</sup>
	Naproxeno	838-1,173 <sup>[75]</sup>	170-370 <sup>[75]</sup>	1-59 <sup>[75]</sup>	-
	Diclofenaco	69-1,500 <sup>[75]</sup>	58-599 <sup>[75]</sup>	0.5-154 <sup>[75]</sup>	70 <sup>[75]</sup>
<b>Almizcles</b>	Galaxolida	43-16,600 <sup>[76]</sup>	10-3,730 <sup>[76]</sup>	64-12,470 <sup>[78]</sup>	8,000-20,000 <sup>[76]</sup>
	Tonalida	8,600-12,500 <sup>[76]</sup>	13-2,120 <sup>[76]</sup>	52-6780 <sup>[78]</sup>	1000-2800 <sup>[76]</sup>
<b>Filtros UV</b>	4-MBC	39-409 <sup>[77]</sup>	5-404 <sup>[77]</sup>	2.3-545 <sup>[78]</sup>	0.002-38.3 <sup>[77]</sup>
	Oxibenzona	3-3112 <sup>[77]</sup>	5-191 <sup>[77]</sup>	2.5-175 <sup>[78]</sup>	0.001-21.16 <sup>[77]</sup>
	2-EHMC	-	-	2.7-224 <sup>[78]</sup>	-
	Octocrileno	12-785 <sup>[77]</sup>	4-538 <sup>[77]</sup>	1.1-4450 <sup>[78]</sup>	0.003-41.61 <sup>[77]</sup>
	Padimato-O	-	-	-	-

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

---

#### 3.1. Fibras de PDMS

##### 3.1.1. Reactivos y materiales

Para la fabricación y evaluación de las fibras de PDMS se utilizó el kit Sylgard 184, bote de elastómero (Dimetilsiloxano, dimetilvinilsiloxano terminado, silica trimetilada)/agente curante (Dimetil, trimetilsiloxano terminado, dimetilsiloxano,, dimetilvinilsiloxano terminado, silica dimetilada y trimetilada, tetrametil tetravinil ciclotetrasiloxano, octametilsiloxano, xileno, etilbenceno) Down Corning Corporation, Midland, EUA;. Galaxolida 55.8%, Sigma-Aldrich, China; Tonalida 99.3%, Sigma-Aldrich, EUA; 4-MBC 99.7%, Fluka, Alemania; Oxibenzona 100%, Fluka, China; 2-EHMC 98.9%, Fluka, Suiza; Octocrileno 99.2%, Fluka, Alemania; Padimato-O 99.0%, Fluka, EUA; Fenantreno (estándar interno) 99.0%, ChemService, EUA; Metanol grado reactivo, J.T Baker, Trinidad y Tobago; Agua desionizada ultrapura tipo 1, Milipore Direct-Q 3 UV; acrodiscos de nylon tamaño de poro 0.45  $\mu\text{m}$ . Alambres de acero inoxidable d.i 127 y 203.2  $\mu\text{m}$  y longitud de 7.2 y 8 cm respectivamente. Microtubo de PTFE d.i. 0.3 mm, Cole-Parmer.

##### 3.1.2. Equipos e instrumentos

Balanza analítica Sartorius Modelo CP1245. Vortex, Thermolyne 37600. Microcentrífuga, D2012 Plus, DLAB. Parrilla de agitación magnética, Mirak, Thermolyne. Dremel 3000, Bosch. Estufa. J.M Ortiz. Generador de plasma de alta frecuencia Modelo BD-20, Electro-Technic Products Inc. Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama, Agilent 6890N. Cromatógrafo de gases Agilent 6890N acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973.

##### 3.1.3. Muestras

Se determinaron 7 contaminantes emergentes (2 almizcles,5 filtros UV) en aguas naturales (riachuelos, canal de Xochimilco), influente y efluente de 2 PTAR (Coyoacán y CU) ver **Cuadro 3.1**. Las muestras de agua se tomaron y almacenaron en frascos ámbar sellados de 1 L previamente lavados con solución alcalina (Extran®), posteriormente se enjuagaron con

agua desionizada y se pusieron en la estufa durante 8 hrs a 160 °C. Durante el muestreo los frascos se enjuagaron con la muestra 3 veces antes de tomarla, éstas se mantuvieron en refrigeración a 4 °C, se procuró analizar las muestras en los tres días subsecuentes a su muestreo. Previo al almacenamiento se les tomó el pH con tiras de papel y se corroboró que tuvieran un pH aproximado de 7.

Antes del análisis las muestras se filtraron con vacío para eliminar la mayor cantidad de partículas suspendidas y finalmente se pasa muestra suficiente para análisis por acrodiscos de nylon con tamaño de poro de 0.45 µm. La muestra resultante no se debe observar turbia ni con partículas suspendidas, de éstos se toman 3 mL para el análisis por SPME.

**Cuadro 3.1** Sitios de muestreo

<b>Muestra</b>	<b>Sitio de muestreo</b>
<b>1 Influyente Coyoacán</b> <b>2 Efluente Coyoacán</b>	PTAR Coyoacán Canal Nacional 49, San Francisco Culhuacán de la Magdalena, CDMX (19.346710, -99.119170)
<b>3 Influyente CU</b> <b>4 Efluente CU</b>	PTAR Circuito Universitario y Cerro del Agua, CDMX (19.332604, -99.178176)
<b>5 Arroyo Avándaro</b>	Valle de Bravo, Estado de México. (19.162424, -100.135761)
<b>6 Canal de Xochimilco</b>	Embarcadero Xochimilco, CDMX (19.250471, -99.094235)
<b>7 Arroyo Salamanca</b>	“El estanco”, Salamanca, Guanajuato (20.755655, -101.158927)
<b>8 Río Lerma</b>	Col. Los Sauces, Salamanca, Guanajuato (20.559992, -101.218181)

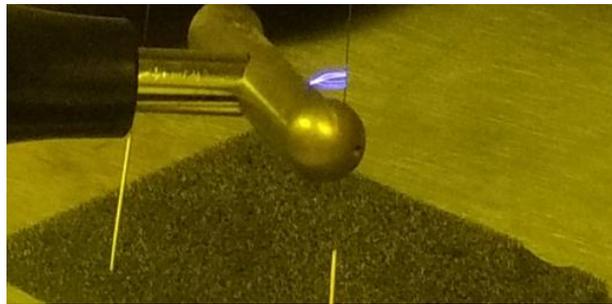
### 3.1.4. Métodos

#### 3.1.4.1. Limpieza de la superficie de acero inoxidable

Para las fibras de PDMS se probaron 3 métodos de limpieza, mediante disoluciones de HCl y NaOH, con plasma y con acetona.

El procedimiento para la limpieza con disoluciones consistió en sumergir durante 2 horas los alambres de acero inoxidable en una disolución de NaOH 1 M, posteriormente se enjuagaron con agua desionizada y se sumergieron en una disolución 0.1 M de HCl durante 30 min luego se enjuagaron nuevamente con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.<sup>[12]</sup>

Para la limpieza con plasma se hizo pasar el haz sobre el alambre de acero inoxidable durante 30 segundos como se observa en la **Imagen 3.1**.



**Imagen 3.1** Limpieza del alambre de acero inoxidable con plasma.

Para la limpieza con disolventes únicamente se impregnó un paño de tela con acetona y se pasó 3 veces por la superficie del alambre de acero inoxidable. Se dejaba secar a temperatura ambiente y se continuaba con el proceso de polimerización.

#### 3.1.4.2. Optimización

Las fibras de PDMS se obtuvieron mediante polimerización inducida por calor a partir de una base de dimetilsiloxano y un agente curante (mezcla de compuestos) que finalizan la cadena polimérica. Se realizó un análisis exploratorio univariado para determinar las condiciones óptimas para la formación y adhesión del polímero sobre el alambre de acero inoxidable. Se partió de las condiciones reportadas en artículos que preparan fibras a partir del kit Sylgard 184.<sup>[12,31]</sup> Se probaron relaciones de base y agente curante, velocidad y tiempo de homogenización así como la eliminación de las burbujas en la mezcla, el tiempo y temperatura de curado para obtener la consistencia y superficie deseada en las fibras. El

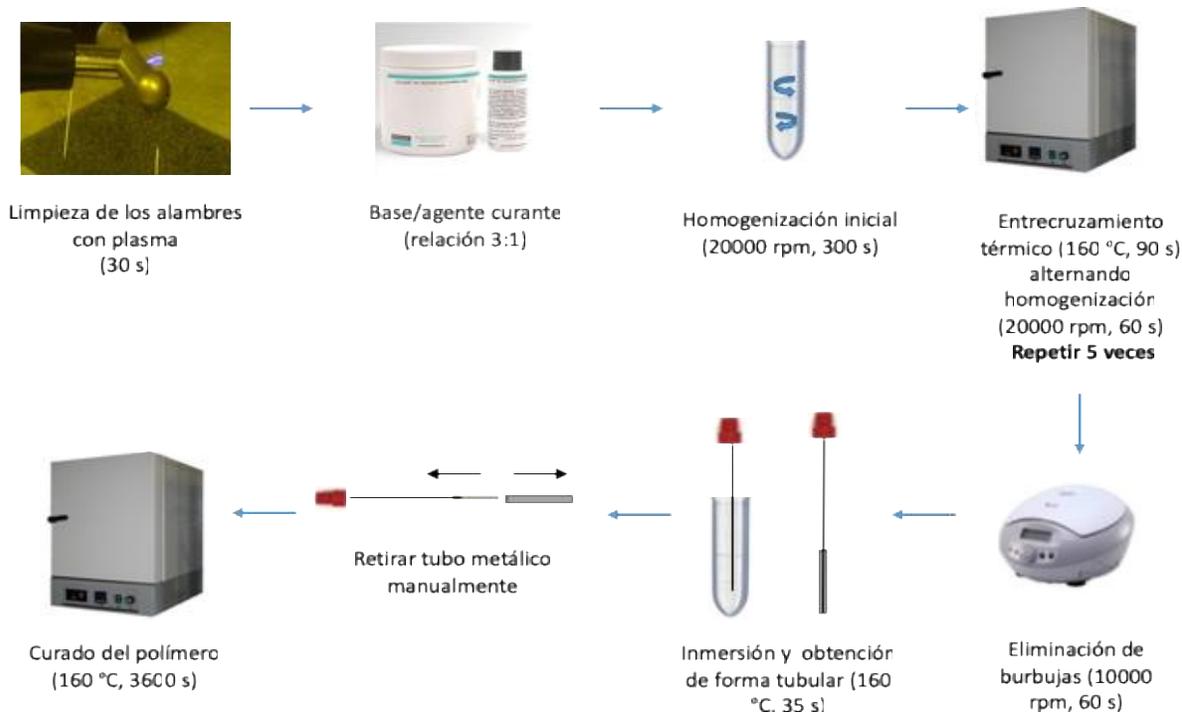
procedimiento exploratorio para la fabricación de las fibras de PDMS se describe en el **Cuadro 3.2.**

**Cuadro 3.2** Análisis exploratorio para la elaboración de las fibras de PDMS

Variable	Condiciones probadas	Condición optimizada
Base/agente curante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2:1</li> <li>• 3:1</li> <li>• 6:1</li> <li>• 10:1</li> <li>• 12:1</li> </ul>	3:1*
Homogenización de la mezcla	Velocidad: 10000 rpm Tiempo: 60, 120, 180, 240, 300 s (Al inicio)	20000 rpm durante 300 s al inicio y 60 s alternando con el tiempo de curado.
	Velocidad: 20000 rpm Tiempo: 60, 120, 180, 240, 300 s (Al inicio)	
	Velocidad: 20000 rpm Tiempo: 60, 120, 180 s. (Alternando con tiempo de curado)	
Tiempo y temperatura de curado	Previo a la adhesión Temperatura: 160° C Tiempo: 60, 120, 180, 240, 300 s (continuo)	Temperatura: 160° C Tiempo previo a la adhesión: 90 s alternando la homogenización
	Previo a la adhesión Temperatura: 160° C Tiempo: 60, 90, 120, 150, 180 s (alternados)	
	Para la adhesión Temperatura: 160° C Tiempo: 25, 30, 35, 40, 45 s	Tiempo para la adhesión: 35 s.
	Posterior a la adhesión Temperatura: 160° C Tiempo: 900, 1800, 2700, 3600 s	Tiempo posterior a la adhesión: 3600 s.
Eliminación de burbujas mediante centrifugación	Velocidad: 5000 rpm Tiempo: 60, 120, 180, 240, 300 s	10000 rpm durante 60 s.
	Velocidad: 10000 rpm Tiempo: 60, 120, 180 s	

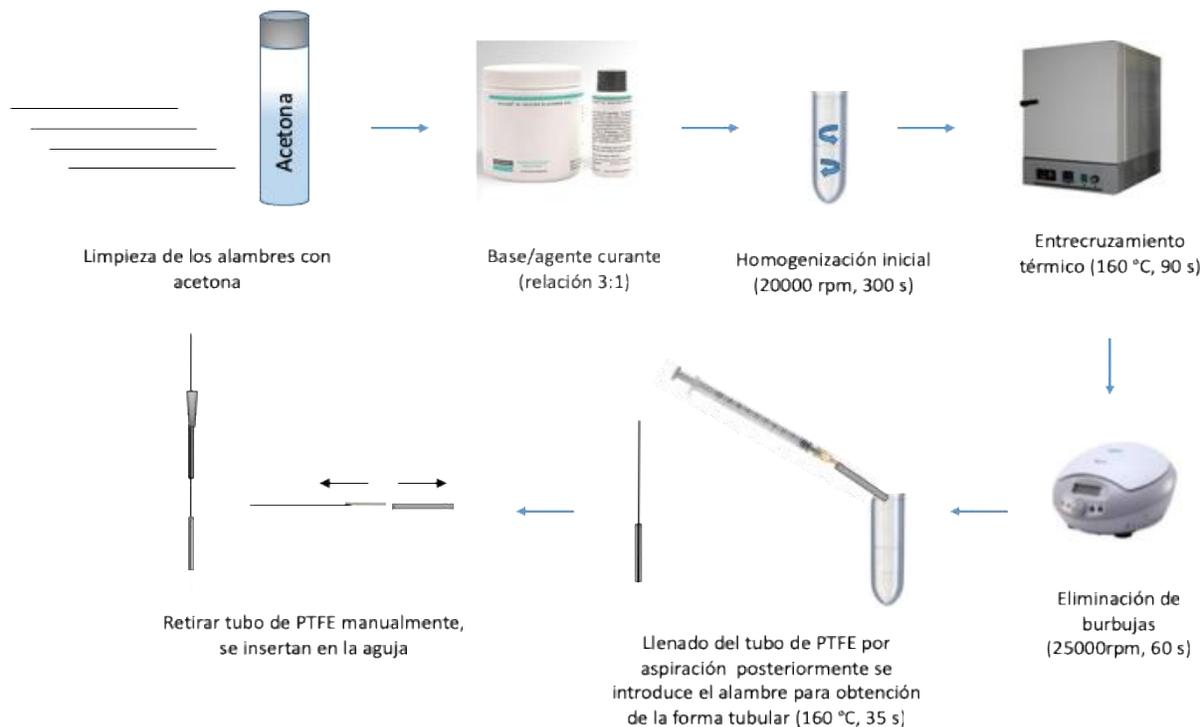
\* Base= 0.096 g /Agente curante= 0.32 g

A partir del análisis exploratorio, inicialmente se propuso la metodología para la fabricación de fibras de PDMS mostradas en la **Imagen 3.2.** Previo a su utilización es importante que las fibras se sellen con el mismo polímero en la base para evitar fugas y caídas de presión en el inyector del cromatógrafo de gases donde se acondicionan a 270° C durante 20 min.



**Imagen 3.2** Procedimiento preliminar para la fabricación de fibras de PDMS.

A partir de este procedimiento se continuó con la optimización de ciertos pasos como la limpieza del alambre de acero inoxidable, consistencia del polímero y obtención de la forma tubular de la fibra obteniéndose el procedimiento final que se observa en la **Imagen 3.3**.



**Imagen 3.3** Procedimiento final para la fabricación de fibras de PDMS.

Las fibras obtenidas con el procedimiento preliminar se evaluaron determinando su reproducibilidad inter e intra-día y entre fibras, así como la linealidad, recobro y límites de detección a partir de la determinación de 7 contaminantes emergentes (2 almizcles y 5 filtros UV) por GC en agua fortificada.

#### 3.1.4.3. Caracterización de las fibras

Los estudios de la superficie de las fibras de PDMS se realizaron mediante microscopía electrónica de barrido Tesla BS 300. El aumento fue de 100 a 2000x.

#### 3.1.4.4. Evaluación de las fibras

Se determinaron 7 PCPs en agua fortificada por SPME-GC utilizando las fibras de PDMS fabricadas con la metodología preliminar, las condiciones de extracción análisis se tomaron de un trabajo previo realizado en el laboratorio para la determinación de PCPs por SPME. [79] Se evaluó el tiempo de extracción 5, 10, 15, 20 y 25 min para cada analito. En viales de 8 mL se transfirieron 3 mL de agua fortificada con HHCB, AHTN, BP-3, O-PABA, 4-MBC, 2-EHMC, OCT a  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  y Fenantreno como estándar interno (EI) a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , la disolución se homogeneizó con un Vortex durante 1 min se colocó una barra de agitación magnética de 6 x 10 mm; el vial se selló con un tapón horadado de polipropileno y una septa de teflón, posteriormente se agitó durante 5 min a 1200 rpm para equilibrar el sistema. Pasado el tiempo de equilibrio se realizó la SPME por inmersión directa a los diferentes tiempos probados a 1200 rpm. Después del tiempo de extracción se realizó la desorción térmica en el inyector a  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 10 min en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama, Agilent 6890N. El inyector se utilizó en modo *splitless* (1 min) a  $260 \text{ }^\circ\text{C}$ , el programa de temperatura fue  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 1 min, incremento de temperatura  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  hasta  $300 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 5 min; temperatura del detector  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ . La columna utilizada fue una columna Agilent DB-5, 5% fenilo 95% polidimetilsiloxano (30 m x 0.25mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ).

La repetibilidad se evaluó inter e intra día, así mismo, se determinó la reproducibilidad entre fibras a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , así como la linealidad en un intervalo de 1-25  $\mu\text{g L}^{-1}$  y el recobro a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ , se calcularon los límites de detección ( $\text{LD} = b + 3S_b$ ) y cuantificación ( $\text{LC} = b + 10S_b$ ) obtenidos con las fibras de PDMS fabricadas<sub>[80]</sub>.

Adicionalmente para evaluar la eficiencia de las fibras fabricadas con respecto a las comerciales de PDMS se realizó una comparación evaluando la repetibilidad, linealidad, recobro, los LD y LC obtenidos de la determinación de los 7 contaminantes emergentes en agua fortificada por SPME-GC con una fibra fabricada y una comercial utilizando la metodología antes descrita.

### 3.2. Validación del método para la determinación de PCPs en agua por SPME-GC-MS

Para la validación se utilizaron las fibras de PDMS fabricadas con la metodología optimizada, se realizó el análisis de los 7 PCPs en agua fortificada utilizando un cromatógrafo de gases Agilent 6890N acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973, inyector modo *splitless* 1 min a 250 °C el programa de temperatura fue 120 °C durante 1 min, incremento de temperatura 10 °C min<sup>-1</sup> hasta 300 °C durante 5 min. Se utilizó electroionización (70 eV), la temperatura de la línea de transferencia fue de 280 °C, de la fuente de ionización 230 °C y del cuadrupolo 150 °C. La identificación y cuantificación de los analitos se realizó en modo de monitoreo selectivo de iones (por sus siglas en inglés, SIM) en el **Cuadro 3.3** se muestran los m/z utilizados en el estudio de cada uno de los compuestos. Durante la validación se utilizó agua tipo 1 contenida en un vial ámbar de 20 mL perfectamente sellado.

**Cuadro 3.3** Valores de m/z para la identificación y cuantificación de los analitos en modo SIM

Compuesto	m/z
HHCB	213, 243
AHTN	213, 243
BP-3	227, 228
4-MBC	211, 254
O-PABA	165, 277
2-EHMC	161, 178
OCT	204, 249

### 3.2.1. Repetibilidad

Se estudió la repetibilidad intra-día de la metodología a dos niveles de concentración, en la concentración del límite de cuantificación para cada analito y a 5000 ng L<sup>-1</sup>, el análisis se realizó por triplicado en ambos niveles. Además se evaluó la repetibilidad inter-día a partir del triplicado obtenido del análisis intra-día y, se realizó un análisis por triplicado en un día diferente (n=6).

### 3.2.2. Recobro

El recobro del método se evaluó en dos niveles de concentración, a una concentración baja, en el límite de cuantificación de cada analito y en una alta a 5000 ng L<sup>-1</sup>, la concentración predicha utilizada para el cálculo se obtuvo a partir de la ecuación de la recta ( $y = mx + b$ ) obtenida de la curva de calibración para cada analito y el área relativa de la repetibilidad intra-día a partir de la siguiente ecuación:

$$C_{analito} = \frac{y - b}{m} \times C_{e.interno}$$

### 3.2.3. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC)

El LD se consideró como la concentración en la que la intensidad de señal fue 3 veces la relación señal/ ruido. El LC se determinó como la concentración en la que la intensidad de la señal fue 10 veces la relación señal/ ruido.

### 3.2.4. Linealidad

Con el objetivo de determinar el intervalo de trabajo se analizan algunas muestras y se determina aproximadamente en que concentraciones se encuentran cada uno de los analitos, el intervalo de trabajo para cada analito fue diverso como se observa en el **Cuadro 3.4**. Posteriormente se evaluó la linealidad del método a partir del intervalo de trabajo determinado para cada analito a partir de una curva de calibración de cinco puntos, por triplicado.

**Cuadro 3.4** Concentraciones evaluadas en la curva de calibración para el estudio de aguas residuales y naturales por SPME-GC-MS

<b>Compuesto</b>	<b>Concentraciones evaluadas (ng L<sup>-1</sup>)</b>
<b>HHCB</b>	1000, 4000, 8000, 12000, 16000
<b>AHTN</b>	1, 2.5, 5, 7.5, 10
<b>BP-3</b>	5000, 7500, 10000, 12500, 15000
<b>4-MBC</b>	150, 175, 200, 225, 250
<b>O-PABA</b>	250, 275, 300, 325, 350
<b>2-EHMC</b>	250, 275, 300, 325, 350
<b>OCT</b>	700, 725, 750, 775, 800

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 4.1. Fibras de PDMS

#### 4.4.1. Limpieza de los alambres de acero inoxidable

Para la limpieza de los alambres de acero inoxidable se probaron tres diferentes técnicas: disoluciones de HCl e NaOH, plasma y con acetona; los resultados obtenidos con los dos primeros métodos mostraron que con ambos procedimientos de limpieza el polímero se quedaba adherido al alambre. Sin embargo, utilizando el plasma se observaba una mejor adhesión. También se realizó la polimerización sin limpieza, pero se observó que no era uniforme, la superficie del polímero quedaba con grietas o poros. Posteriormente se probó la limpieza con acetona observándose resultados similares a los obtenidos con el plasma, una buena adhesión del polímero al alambre de acero inoxidable, por lo que se seleccionó este método debido a su simplicidad y rapidez para el proceso de limpieza.

#### 4.4.2. Desarrollo

La polimerización inducida por calor generalmente se lleva a cabo por radicales libres, por lo que es importante que los tiempos y las temperaturas se mantengan controladas para que las fibras sean reproducibles. A partir de lo encontrado en la literatura, para la preparación de las fibras de PDMS se consideraron las siguientes variables:

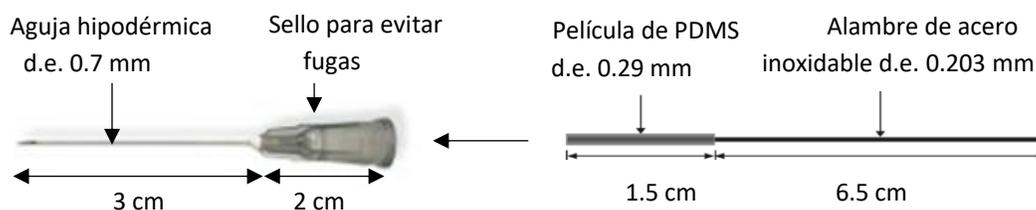
1. *Relación base/ agente curante*: nos da diferentes grados de entrecruzamiento. Cuanto menor sea el grado de reticulación de la red, más suave será el polímero.
2. *Homogenización de la mezcla*: es esencial para que la polimerización y reticulación sea homogénea.
3. *Tiempo y temperatura de curado*: factores muy importantes para formar la capa delgada y tubular de polímero así como conseguir que se quede adherida al alambre de acero inoxidable. También es importante para que el polímero tenga la resistencia deseable. Son factores dependientes por lo que se puede dejar fijo uno y modificar el otro para su optimización.

4. *Eliminación de burbujas*: es importante quitar todas las burbujas de la mezcla mediante centrifugación, para obtener una superficie, uniforme y homogénea.

Se observó que para la obtención de las fibras son determinantes la relación de base/ agente curante así como el tiempo y temperatura de curado ya que la consistencia y adhesión del polímero al alambre dependen directamente de estas variables. Partiendo de esto, se realizó un análisis univariado descrito en la **Sección 3.1.4.2** con el objetivo de determinar las condiciones óptimas para cada uno de los factores antes mencionados y obtener la adhesión del polímero. Las fibras obtenidas con la metodología preliminar, eran aparentemente uniformes pero al caracterizarlas por microscopía electrónica de barrido se observó que el polímero presentaba una superficie acanalada en vez de lisa (los resultados de la caracterización se discuten más adelante **Sección 4.4.3**). La fase polimérica tenía una longitud de 1.2 cm, un espesor aproximado de 0.35 mm, ésta se introducía en la aguja hipodérmica 22 G x 1 ¼ " (0.7mm x 32mm).

Con el objetivo de mejorar, automatizar, hacer más rápida y sencilla la metodología preliminar, se continuó la optimización para la fabricación de las fibras con lo que se logró corregir varios problemas que se observaban al caracterizarlas.

Con la metodología optimizada se logró disminuir el tiempo de fabricación, haciendo más sencilla la limpieza, a partir del cambio de molde, de un tubo metálico a un tubo de teflón (PTFE), se logró obtener una superficie lisa y homogénea, esto se comprobó al caracterizar la fibra por microscopía electrónica de barrido, el esquema de las fibras obtenidas con la metodología optimizada se muestra en la **Imagen 4.1**. Para estas fibras la fase polimérica tenía una longitud de 1.5 cm, un espesor aproximado de 0.29 mm de igual manera las fibras se introdujeron en una aguja hipodérmica 22 G x 1 ¼ " (0.7mm x 32mm)



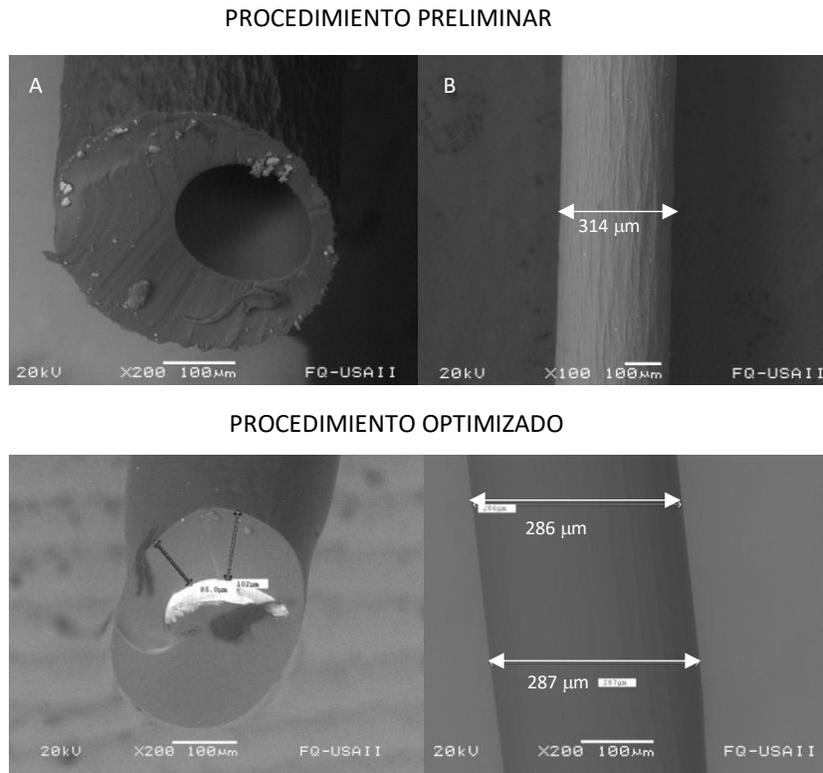
**Imagen 4.1** Esquema de la fibra de PDMS con el procedimiento optimizado.

#### 4.4.3. Caracterización de las fibras

La microscopía electrónica de barrido es la técnica más utilizada para la caracterización de fibras para SPME debido a que permite obtener el diámetro y homogeneidad de la superficie.

Las imágenes obtenidas con ambos procedimientos se muestran en la **Imagen 4.2** donde se observa que las fibras obtenidas con el procedimiento preliminar tienen un mayor espesor así mismo se observa una superficie acanalada, esto se debe a que el interior del tubo metálico con el que se fabricaban las fibras no era una superficie pulida, para la optimización se buscó un tubo con una superficie interna lisa y un diámetro interno menor a 0.4 mm (D.I. de la aguja hipodérmica) para que la fibra entrara a la aguja sin dañarse.

En la **Imagen 4.2B** se puede observar un recubrimiento homogéneo en el sentido que no se observan grietas o poros. Con las **Imágenes 4.2A y B** se determinaron las dimensiones de la fibra.



**Imagen 4.2** Imágenes SEM de las fibras obtenidas con ambos procedimientos.

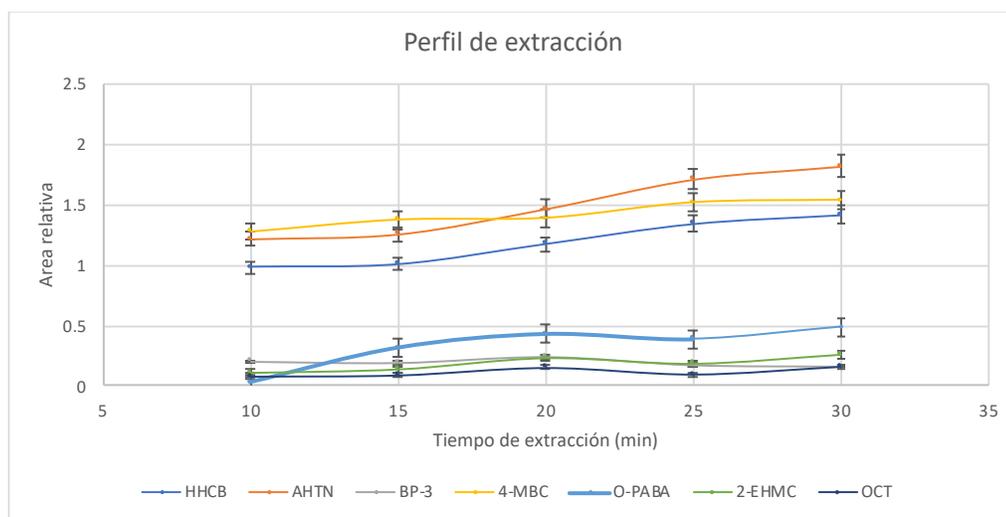
A) Sección transversal B) Superficie

En la **Imagen 4.2A** se observa que el alambre no queda centrado, un problema difícil de corregir debido a que al insertar el alambre dentro del molde (tubo metálico o de PTFE) es difícil que el alambre no se mueva y se quede en el centro durante los 35 s del tiempo de curado térmico. En diversos estudios se observa este mismo detalle, sin ser un problema determinante en los recobros, reproducibilidad y repetibilidad del análisis.<sup>[12,46]</sup>

#### 4.4.4. Evaluación de las fibras de PDMS fabricadas

La SPME, al ser una técnica no exhaustiva, es importante optimizar las condiciones de trabajo como: tiempo y temperatura de equilibrio, extracción y desorción, velocidad de agitación, adición de sales, estas condiciones se tomaron de un estudio previo, realizado anteriormente en el grupo de trabajo.

Previo a la evaluación de las fibras, se estableció el tiempo de extracción óptimo para cada uno de los analitos a partir del perfil de extracción; como se mencionó en la **Sección 3.1.4.4**. En la **Imagen 4.3** se muestra el perfil de extracción para cada compuesto, en donde se observa que en el intervalo de tiempo estudiado BP-3, O-PABA, 2-EHMC y OCT presentan un máximo de absorción en 20 min, aunque prácticamente permanece constante a diferencia del HHCB, AHTN y 4-MBC que en los tiempos estudiados se encontraron en el intervalo cinético.



**Imagen 4.3** Perfiles de extracción para HHCB, AHTN, BP-3, 4-MBC, O-PABA, 2-EHMC y OCT, Fenantreno (EI) por SPME-GC a 25  $\mu\text{g L}^{-1}$  en agua (n=3).

Debido a que los compuestos con menor respuesta presentaron un pequeño máximo de absorción en 20 min este se eligió como tiempo óptimo de extracción. A partir de estos primeros resultados se observa que con las fibras fabricadas de PDMS se logra la extracción y desorción simultánea de los dos grupos de PCPs de interés: almizcles y filtros UV.

Una vez establecidas las condiciones de extracción se continuó con la evaluación de las fibras de PDMS fabricadas, a partir del análisis de 7 PCPs en agua fortificada por SPME-GC. Inicialmente se evaluó la repetibilidad intra e inter-día así como la reproducibilidad entre fibras y se comparó con la obtenida con una fibra comercial de PDMS los resultados se observan en el **Cuadro 4.1**

**Cuadro 4.1** Comparación de repetibilidad y reproducibilidad de fibras fabricadas vs. fibras comerciales

Compuesto	Fibras fabricadas			Fibras comerciales*		
	Repetibilidad 10 µg L <sup>-1</sup> (n=3)		Reproducibilidad 10 µg L <sup>-1</sup> (n=3)	Repetibilidad 10 µg L <sup>-1</sup> (n=3)		Reproducibilidad 10 µg L <sup>-1</sup> (n=3)
	Intra-día CV(%)	Inter-día CV(%)	Inter-fibra CV(%)	Intra-día CV(%)	Inter-día CV(%)	Inter-fibra CV(%)
HHCB	5.7	9.1	14.4	4.3	8.1	13.16
AHTN	8.9	11.6	18.0	4.9	4.5	9.9
BP-3	9.9	12.4	20.4	10.3	18.6	20.7
4-MBC	7.8	9.3	8.6	1.0	16.3	10.2
O-PABA	10.7	11.6	24.0	10.7	17.1	18.2
2-EHMC	7.5	13.5	30.5	12.8	10.8	15.3
OCT	4.6	14.0	35.7	13.5	13.7	33.6

\*Supelco, PDMS (d<sub>f</sub> 100 µm)

En el cuadro anterior podemos observar una variación aceptable con las fibras de PDMS fabricadas en la determinación de los PCPs, comparable con la observada con las fibras

comerciales, en ambos casos se observa que la variación intra-día es menor al 15% para todos los analitos, además como es de esperarse la variación intra-día ( $CV < 13\%$ ) es menor a la inter-día ( $CV < 18\%$ ) para ambas fibras. Se observa que aunque la reproducibilidad inter-fibra con las fibras comerciales ( $CV < 33\%$ ) es menor que con las fabricadas ( $CV < 35\%$ ), la diferencia entre ambas fibras es menor al 10%, por lo que es importante determinar si esta variación entre ambas fibras es significativa o no.

Después de la evaluación de la reproducibilidad y repetibilidad se evaluó la linealidad, recobro, límites de detección y cuantificación de los PCPs por SPME-GC utilizando las fibras fabricadas, cada análisis se realizó por triplicado como se describe en la **Sección 3.1.4.4**, los resultados obtenidos se compararon con los de una fibra comercial de PDMS como se observa en el **Cuadro 4.2**. En el **Anexo II** se muestran las curvas de calibración obtenidas con ambas fibras para cada analito.

De acuerdo con los resultados, se observa que la sensibilidad obtenida a partir de la pendiente de la curva de calibración con ambas fibras, es muy similar para cada uno de los analitos, los límites de detección y cuantificación calculados a partir de la curva de calibración son muy parecidos cumpliendo con los objetivos de la fabricación de las fibras, permitiendo la determinación de todos los analitos de interés y reduciendo de manera importante el costo de las fibras; los resultados de la comparación estadística se resumen en el **Cuadro 4.2**; se espera obtener límites de detección y cuantificación menores a partir del análisis por GC-MS debido al aumento de sensibilidad que se obtiene con el acoplamiento a espectrometría de masas

**Cuadro 4.2** Linealidad, recobro, limites de detección y cuantificación de los PCPs obtenidos por SPME-CG con las fibras fabricadas y una fibra comercial.

Compuesto	Intervalo lineal ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Fibras fabricadas					Fibras comerciales*				
		Ec. lineal	R <sup>2</sup>	Recobro 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=3)	LD <sup>a</sup> $\mu\text{g L}^{-1}$	LC <sup>b</sup> $\mu\text{g L}^{-1}$	Ec. lineal	R <sup>2</sup>	Recobro 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=3)	LD <sup>a</sup> $\mu\text{g L}^{-1}$	LC <sup>b</sup> $\mu\text{g L}^{-1}$
<b>HHCb</b>	1-25	$y=0.4462(\pm 0.0142)x - 0.0099(\pm 0.0215)$	0.9919	92.8 ± 3.3	1.5	3.0	$y=0.5274(\pm 0.0146)x + 0.08464(\pm 0.0221)$	0.9939	120.5 ± 7.0	0.5	2.0
<b>AHTN</b>	1-25	$y=0.6360(\pm 0.0224)x + 0.0637(\pm 0.0339)$	0.9901	91.3 ± 5.4	1.0	2.7	$y=0.6810(\pm 0.0153)x + 0.03290(\pm 0.0232)$	0.9959	120.1 ± 10.0	0.4	2.8
<b>BP-3</b>	5-25	$y=0.2324(\pm 0.0135)x + 0.0013(\pm 0.0224)$	0.9786	120.0 ± 8.9	0.4	2.0	$y=0.1699(\pm 0.0135)x + 0.0272(\pm 0.0225)$	0.9608	101.6 ± 11.9	0.7	2.2
<b>4-MBC</b>	1-25	$y=0.7953(\pm 0.0354)x - 0.1053(\pm 0.0537)$	0.9844	100.3 ± 1.5	2.0	5.5	$y=0.6099(\pm 0.0328)x + 0.0561(\pm 0.0497)$	0.9775	109.1 ± 2.1	0.6	4.3
<b>O-PABA</b>	1-25	$y=0.1758(\pm 0.0107)x - 0.0155(\pm 0.0162)$	0.9715	84.4 ± 11.2	0.4	1.6	$y=0.1739(\pm 0.0117)x + 0.0169(\pm 0.0177)$	0.9655	81.8 ± 14.1	0.3	1.5
<b>2-EHMC</b>	5-25	$y=0.0917(\pm 0.0067)x - 0.0229(\pm 0.0111)$	0.9666	93.9 ± 12.3	0.2	0.8	$y=0.0430(\pm 0.0044)x + 0.0009(\pm 0.0074)$	0.9360	98.9 ± 16.0	0.1	0.9
<b>OCT</b>	5-25	$y=0.0498(\pm 0.0061)x - 0.0073(\pm 0.0102)$	0.9130	85.7 ± 14.5	0.1	0.3	$y=0.0161(\pm 0.0018)x + 0.0055(\pm 0.0030)$	0.9259	80.2 ± 18.7	0.2	0.9

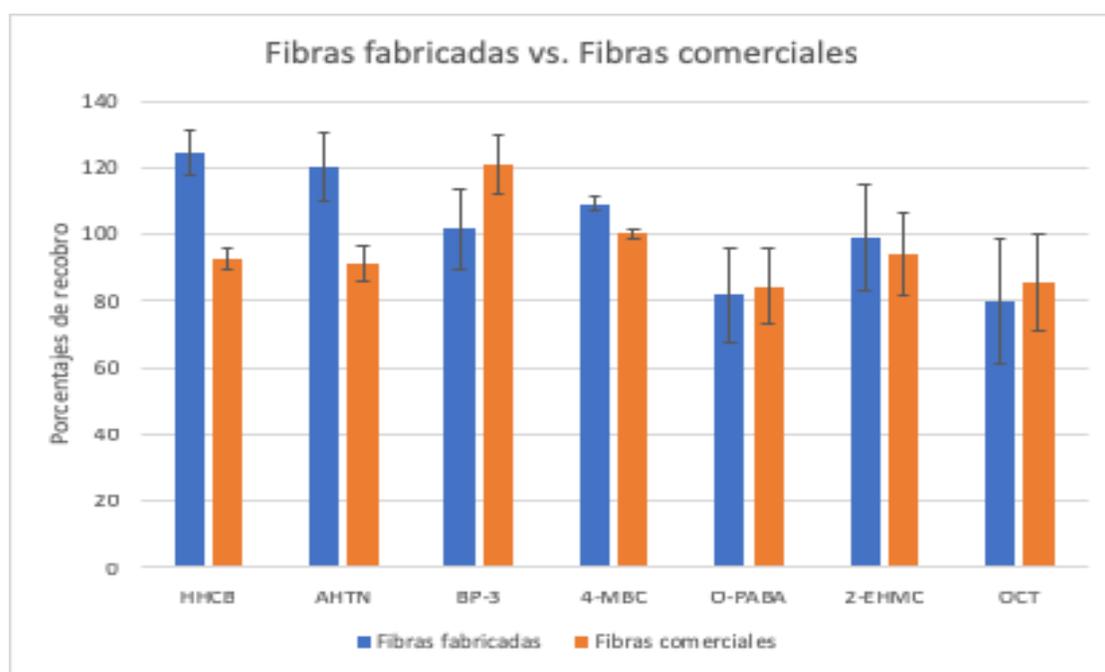
\*Supelco, PDMS ( $d_f$  100  $\mu\text{m}$ )

<sup>a</sup>LD=  $b + 3S_b$

<sup>b</sup>LC=  $b + 10 S_b$

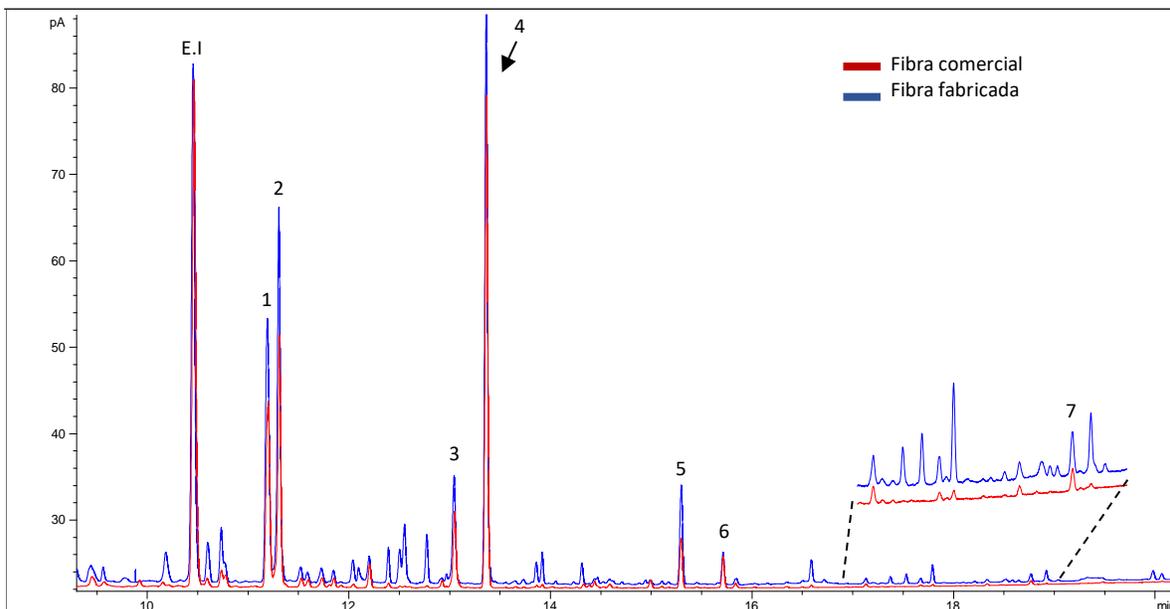
Así mismo se puede apreciar que los recobros a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  obtenidos con ambas fibras son aceptables en el análisis de trazas ( $100 \pm 20\%$ ) para todos los analitos. En cuanto a la linealidad se muestra una tendencia lineal ( $R^2 > 0.9100$ ) con ambas fibras para todos los compuestos de interés.

En la **Imagen 4.4** se observa que con las fibras fabricadas se obtiene un mayor recobro de los almizcles y menor en los filtros UV, contrario a lo que ocurre con las fibras comerciales, también se observa que en general el recobro es menor con las fibras comerciales para la mayoría de los analitos esto probablemente se deba al mayor volumen de fase de las fibras fabricadas.



**Imagen 4.4** Comparación del recobro a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $n=3$ ) entre las fibras de PDMS fabricadas y las fibras comerciales.

En la **Imagen 4.5** se muestran de manera comparativa los cromatogramas obtenidos con una fibra fabricada y una comercial en la determinación de los PCPs en agua fortificada, esto con el objetivo de evaluar la capacidad de absorción de las fibras fabricadas. Se observa que la capacidad de absorción es ligeramente mayor para la mayoría de los analitos con las fibras fabricadas.



**Imagen 4.5** Cromatograma por SPME-GC obtenido de la comparación del recobro a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  entre las fibras de PDMS fabricadas y la fibra comercial. 1. HHCB; 2. AHTN; 3. BP-3; 4. 4-MBC; 5. O-PABA; 6.2-EHMC; 7. OCT; Fenantreno (E.I).

Respecto al tiempo de vida de las fibras fabricadas, se observa un comportamiento muy similar al de las comerciales, éste es muy variable ya que depende de diversos factores: modo de extracción, tipo de la fase, uso de derivatizante, complejidad de la matriz, habilidad del analista, entre otros. Debido a esto no se puede establecer un intervalo de tiempo que aplique de manera general a las fibras para SPME, esto se cumple tanto para las fibras comerciales como las fabricadas.

Por todo lo anterior podemos decir que con las fibras fabricadas se obtiene una buena repetibilidad, reproducibilidad y precisión en la determinación de dichos compuestos.

Con el objetivo de determinar si los valores obtenidos con la fibra comercial y la fabricada son equivalentes se realizó una comparación estadística mediante una t student con un 95% de confianza, se compararon las medias ( $\bar{x}$ ) obtenidas con ambas fibras a partir de los datos del recobro a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ , los resultados se resumen en el **Cuadro 4.3**. En el **Anexo III** se encuentra el análisis estadístico completo.

**Cuadro 4.3** Resumen de la comparación de dos medias muestrales (t student) para 7 PCPs en agua mediante SPME-GC con una fibra comercial y una fabricada

Hipótesis	Compuesto	t  (Valor crítico)	t (observada)	Interpretación
$H_0: X_1 - X_2 = 0$ $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$	HHCB	2.776	5.524	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es mayor con un 95% de confianza respecto a las fibras comerciales.
	AHTN	2.776	4.329	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es mayor con un 95% de confianza respecto a las fibras comerciales.
	BP-3	2.776	0.230	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es igual que con las fibras comerciales con un 95% de confianza.
	4-MBC	2.776	6.113	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es mayor con un 95% de confianza respecto a las fibras comerciales.
	O-PABA	2.776	4.461	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es menor con un 95% de confianza respecto a las fibras comerciales.
	2-EHMC	2.776	0.028	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es igual que con las fibras comerciales con un 95% de confianza.
	OCT	2.776	5.066	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras fabricadas es menor con un 95% de confianza respecto a las fibras comerciales.

En el cuadro anterior podemos observar que para 5 de los analitos estudiados: HHCB, AHTN, 4-MBC, O-PABA y OCT los valores de las medias obtenidos con la fibra fabricada y la comercial son estadísticamente diferentes. Estas diferencias se asocian a la diferencia de espesor (volumen de la fase) que existe entre ambas fibras, al proceso de polimerización, y principalmente a las propiedades fisicoquímicas de cada analito, las cuales son determinantes en los resultados obtenidos del análisis.

Para evaluar si los valores obtenidos con las fibras fabricadas con el procedimiento preliminar son equivalentes a los obtenidos con el procedimiento optimizado, se realizó un análisis estadístico mediante una t student con un 95% de confianza a partir de un análisis

por triplicado a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  de los PCPs en agua por SPME-GC, los resultados se resumen en el **Cuadro 4.4**. En el **Anexo IV** se encuentra el análisis estadístico completo.

**Cuadro 4.4** Resumen de la comparación de dos medias muestrales (t student) para 7 PCPs mediante SPME con los dos diferentes métodos de fabricación de fibras de PDMS

Hipótesis	Compuesto	t  (Valor crítico)	t (observada)	Interpretación
$H_0: X_1 - X_2 = 0$ $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$	HHCB	2.776	-8.615	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras del procedimiento final es mayor con un 95% de confianza respecto al procedimiento inicial.
	AHTN	2.776	-3.458	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras del procedimiento final es mayor con un 95% de confianza respecto al procedimiento inicial.
	BP-3	2.776	9.504	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con las fibras del procedimiento inicial es mayor con un 95% de confianza respecto al procedimiento final.
	4-MBC	2.776	0.217	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con las fibras de diferentes procedimientos es igual con un 95% de confianza.
	O-PABA	2.776	2.130	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con las fibras de diferentes procedimientos es igual con un 95% de confianza.
	2-EHMC	2.776	-2.395	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con las fibras de diferentes procedimientos es igual con un 95% de confianza.
	OCT	2.776	0.581	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con las fibras de diferentes procedimientos es igual con un 95% de confianza..

Se observó que independientemente del tipo de procedimiento utilizado las fibras de PDMS fabricadas permiten el análisis y determinación de los PCPs, las diferencias observadas en HHCB, AHTN y BP-3 se pueden asociar a las propiedades fisicoquímicas de los analitos, los compuestos más volátiles presentan una diferencia significativa en la absorción con ambas fibras.

Con el objetivo de determinar si el comportamiento observado con las fibras fabricadas es similar al de las fibras comerciales se realizó el mismo análisis estadístico con dos fibras comerciales de PDMS los resultados se resumen en el **Cuadro 4.5** obteniéndose un comportamiento muy similar al observado con las fibras de PDMS fabricadas, donde se observa una diferencia significativa para HHCB, AHTN y BP-3, adicionalmente con las fibras

comerciales se observó una diferencia significativa excepto para el Octocrileno, esto se puede asociar a la baja respuesta que se obtiene para este compuesto con éstas fibras. En el **Anexo V** se encuentra el análisis estadístico completo.

**Cuadro 4.5** Resumen de la comparación de dos medias muestrales (t student) para 7 PCPs mediante SPME con dos fibras comerciales

Hipótesis	Compuesto	t  (Valor crítico)	t (observada)	Interpretación
$H_0: X_1 - X_2 = 0$ $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$	HHCB	2.776	4.926	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales no es igual con un 95% de confianza.
	AHTN	2.776	7.662	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales no es igual con un 95% de confianza.
	BP-3	2.776	5.111	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales no es igual con un 95% de confianza.
	4-MBC	2.776	0.936	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales es igual con un 95% de confianza.
	O-PABA	2.776	0.751	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales es igual con un 95% de confianza.
	2-EHMC	2.776	0.962	$H_0$ se acepta la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales es igual con un 95% de confianza.
	OCT	2.776	5.121	$H_0$ se rechaza la cantidad absorbida con diferentes fibras comerciales no es igual con un 95% de confianza.

Con el objetivo de evaluar si el desempeño de las fibras fabricadas y comerciales es estadísticamente similar se realiza una prueba de apareamiento de datos donde se compara las respuesta obtenidas con ambas fibras, mediante esta prueba se confirma que el desempeño las fibras fabricadas y comerciales son estadísticamente iguales y que las diferencias observadas entre ambas fibras no es estadísticamente significativa con un 95% de confianza los detalles de la prueba se describen en el **Anexo VI** . Lo anterior nos permite demostrar que las fibras fabricadas se comportan de manera similar a las fibras comerciales

en la determinación de PCPs en agua fortificada, así mismo observamos que al fabricar las fibras se reduce el costo hasta en un 99.1%, la comparación se observa en el **Cuadro 4.6** .

**Cuadro 4.6** Comparación del costo de una fibra fabricada de PDMS vs. una comercial.

	Costo por fibra fabricada (\$)	Costo de fibra comercial (\$)
<b>Alambre de acero inoxidable</b>	1.66	
<b>Kit Silgard 184</b>	0.0025	Paquete con 3 fibras
<b>Tubo de teflón</b>	0.50	12,247.00
<b>Sello</b>	0.10	
<b>Aguja</b>	1.20	
<b>Total</b>	3.50	4,082.33

#### 4.2. Determinación de PCP en agua mediante SPME-GC-MS

Después de evaluar que las fibras fabricadas, se observa que funcionan muy bien para la determinación de los PCPs por SPME-CG, se procedió a la validación del método para su determinación en agua por SPME-CG-MS, las condiciones instrumentales como se mencionó anteriormente se tomaron de un trabajo previo realizado en el laboratorio.

##### 4.2.1. Validación del método

###### 4.2.1.1. Repetibilidad

En el **Cuadro 4.7** se muestra la repetibilidad del método, intra-día e inter-día, evaluada a partir del %CV para cada analito. Se observó que hubo mayor variación a menor concentración de cada uno de los analitos, esto es algo que se esperaba ya que a menores concentraciones cualquier variación en lo experimental e instrumental afecta significativamente la respuesta. En general en ambos análisis, intra-día e inter-día, se obtuvieron % CV menores al 20% para todos los analitos; lo cual se considera aceptable para análisis de muestras ambientales donde los analitos de interés generalmente se encuentran a nivel de trazas.

#### 4.2.1.2. Recobro

Se obtuvieron recobros aceptables entre 85%-116% para cada uno de los analitos. En el **Cuadro 4.7** se muestran los resultados, en donde se observa que en ambos niveles de concentración el analito con menor porcentaje de recobro fue el OCT esto se puede asociar a la menor sensibilidad observada para este compuesto. También se observa que hay una mejor precisión a mayor concentración ( $CV < 15\%$ ) que a menor concentración esto es de esperar debido a que se está trabajando en la capacidad límite del detector.

**Cuadro 4.7** Resultados de precisión y recobro para el análisis de aguas residuales y superficiales por SPME-GC-MS.

Compuesto	En los LC ng L <sup>-1</sup> (n=3)		5000 ng L <sup>-1</sup> (n=3)		Recobro (n=3)	
	Intra-día CV(%)	Inter-día CV(%)	Intra-día CV(%)	Inter-día CV(%)	En los LC (%)	5000 ng L <sup>-1</sup> (%)
<b>HHCB</b>	18.9	13.6	3.1	11.5	91.1±6.6	110.7±1.6
<b>AHTN</b>	17.7	24.1	3.2	10.8	115.9±12.2	94.1±2.6
<b>BP-3</b>	17.3	24.5	13.9	13.8	114.3±1.5	109.0±0.3
<b>4-MBC</b>	13.1	9.8	6.5	7.3	106.8±11.1	89.7±3.0
<b>O-PABA</b>	18.0	20.6	13.5	14.9	101.6±5.8	115.4±2.3
<b>2-EHMC</b>	19.9	20.5	14.2	13.6	108.4±7.8	109.9±2.1
<b>OCT</b>	18.1	22.2	11.3	16.4	91.3±3.4	84.2±0.3

#### 4.2.1.3. Linealidad del método

La linealidad se evaluó a partir de curvas de calibración relativas obteniéndose para cada uno de los analitos una tendencia lineal ( $R^2 > 0.9000$ ) en el intervalo de concentración estudiado, el cual se determinó como se indica en la **Sección 3.2.4**, los resultados nos indican que los datos se ajustan de manera aceptable a la ecuación de una recta, esto se comprueba a partir de una prueba de bondad de ajuste (prueba Fisher) **ver Anexo VII**. Los

coeficientes de determinación y las ecuaciones lineales con el correspondiente error asociado a la pendiente y a la ordenada para cada compuesto se muestran en el **Cuadro 4.8**. Las curvas de calibración se muestran en el **Anexo VII**.

#### 4.2.1.4. Límites de detección y cuantificación del método

Los límites de detección y cuantificación para HHCB y AHTN ( $0.5 \text{ ng L}^{-1}$ ) son comparables a los observados en la literatura para la determinación de PCPs en agua.<sup>[32]</sup> En general tanto para los almizcles como para los filtros UV se alcanzaron LD aceptables ( $\text{LD} < 400 \text{ ng L}^{-1}$ ) con excepción del BP-3 el cual presentó el LD más alto ( $2000 \text{ ng L}^{-1}$ ) probablemente por el grupo hidroxilo presente en su estructura lo cual disminuye su baja volatilidad dificultando su análisis por GC-MS, esto también explica que el LC para el BP-3 sea mayor ( $5000 \text{ ng L}^{-1}$ ) al de los demás compuestos. En el **Cuadro 4.8** se muestran los límites de detección y cuantificación obtenidos para cada uno de los analitos.

**Cuadro 4.8** Resultados de la linealidad, límites de detección y cuantificación para el análisis de aguas residuales y superficiales por SPME-GC-MS (n=3).

Compuesto	Ec. lineal	Intervalo lineal ( $\text{ng L}^{-1}$ )	R <sup>2</sup>	LD <sup>a</sup> $\text{ng L}^{-1}$	LC <sup>b</sup> $\text{ng L}^{-1}$
HHCB	$y=0.2674(\pm 0.0082) x - 0.1392(\pm 0.1607)$	1000-16000*	0.9939	0.3	1
AHTN	$y=25.6871(\pm 1.6214) x - 0.0230(\pm 0.0199)$	1-10	0.9750	0.3	1
BP-3	$y=0.0150(\pm 0.0015) x - 0.1063(\pm 0.0326)$	5000-15000	0.9381	1500	5000
4-MBC	$y=0.2223(\pm 0.0209) x - 0.0541(\pm 0.0085)$	150-250	0.9471	45	150
O-PABA	$y=0.223(\pm 0.0194) x - 0.1065(\pm 0.0117)$	250-350	0.9540	75	250
2-EHMC	$y=0.2050(\pm 0.0254) x - 0.0958(\pm 0.0153)$	250-350	0.9129	75	250
OCT	$y=0.0581(\pm 0.0079) x - 0.0792(\pm 0.0118)$	700-800	0.8982	210	700

\*Intervalo de trabajo <sup>a</sup>LD= 3 S/N <sup>b</sup>LC= 10 S/N

Con el objetivo de evaluar si los alcances del método desarrollado a partir de las fibras fabricadas para SPME son equivalentes a los obtenidos con otros métodos que utilizan diferentes técnicas de preparación de muestra realizando el análisis por GC-MS en el

**Cuando 4.9** se comparan los límites de detección reportados en la literatura con diversas técnicas, donde se observa que los límites de detección obtenidos para los almizcles, HHCB y AHTN, son menores a los obtenidos con las otras técnicas, por lo que podemos decir que se tiene buena precisión con las fibras fabricadas para los almizcles, en contraste con lo observado para los filtros UV en donde se obtienen límites de detección mayores a los obtenidos con otras técnicas. El BP-3 es el analito donde se obtiene una mayor diferencia con respecto a los encontrados en la literatura, ésto se asocia a las propiedades fisicoquímicas de este analito, el cual al ser el más polar de los compuestos analizados, no es tan afín al PDMS, teniendo como consecuencia un mayor límite de detección, esto podría mejorarse con una derivatización. De igual manera, para los 4 filtros UV restantes: 4-MBC, O-PABA, 2-EHMC y OCT se observan límites de detección mayores a los obtenidos con otros métodos pero aceptables de acuerdo al intervalo de concentración en la que estos analitos se han determinado en diversos cuerpos de agua (**ver Cuadro 2.5**).

**Cuadro 4.9** Límites de detección reportados con diversas técnicas de preparación de muestra vs. SPME con las fibras fabricadas.

Familia	Contaminante emergente	SPME (ng L <sup>-1</sup> )	LLE* (ng L <sup>-1</sup> )	DLLME* (ng L <sup>-1</sup> )	SPE* (ng L <sup>-1</sup> )	MEPS* (ng L <sup>-1</sup> )
Almizcles	HHCB	0.3	20.0 <sup>[76]</sup>	0.6 <sup>[85]</sup>	2.3 <sup>[86]</sup>	-
	AHTN	0.3	20.0 <sup>[76]</sup>	0.5 <sup>[85]</sup>	1.2 <sup>[86]</sup>	-
Filtros UV	BP-3	1500	26.0 <sup>[77]</sup>	6.0 <sup>[77]</sup>	0.1 <sup>[77]</sup>	61.0 <sup>[77]</sup>
	4-MBC	45	61.0 <sup>[77]</sup>	1.5 <sup>[77]</sup>	0.1 <sup>[77]</sup>	53.0 <sup>[77]</sup>
	O-PABA	75	22.0 <sup>[77]</sup>	6.0 <sup>[77]</sup>	5.0 <sup>[77]</sup>	-
	2-EHMC	75	24.0 <sup>[77]</sup>	2.0 <sup>[77]</sup>	0.3 <sup>[77]</sup>	35.0 <sup>[77]</sup>
	OCT	210	33.0 <sup>[77]</sup>	3.0 <sup>[77]</sup>	5.0 <sup>[77]</sup>	87.0 <sup>[77]</sup>

\* Valores reportados en la literatura

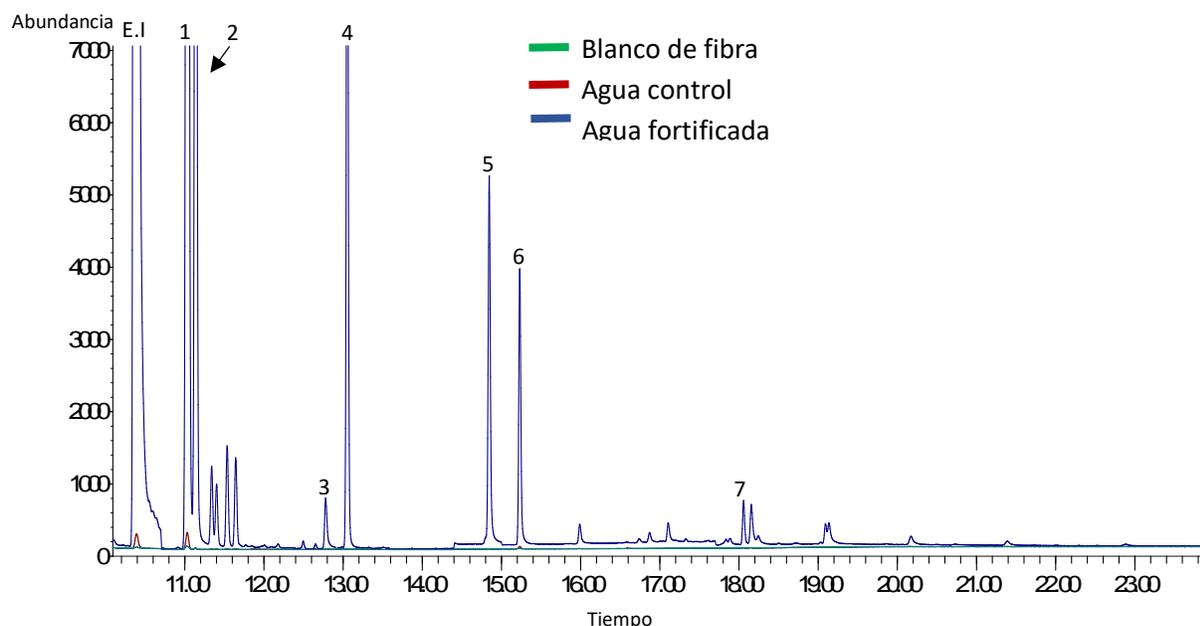
Para evaluar la exactitud de un método generalmente se estudia su veracidad y precisión. La evaluación práctica de la veracidad se fundamenta en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos comúnmente, ésta se determina contra un valor de referencia, existen dos técnicas básicas para su evaluación: a partir de

estándares certificados o de la comparación con un método alternativo. En el presente trabajo no fue posible evaluar la veracidad del método por ninguna de éstas técnicas, en principio porque los analitos estudiados son considerados emergentes, por lo que hasta el momento no existen comercialmente estándares certificados, por lo que se tendrían que evaluar mediante un método alternativo que contemple la determinación de almizcles y filtros UV simultáneamente o el desarrollo de un método alternativo dentro del laboratorio. En el presente trabajo únicamente se determinó la precisión del método.

### 4.3. Aplicación de las fibras de PDMS

#### 4.3.1. Análisis de aguas residuales

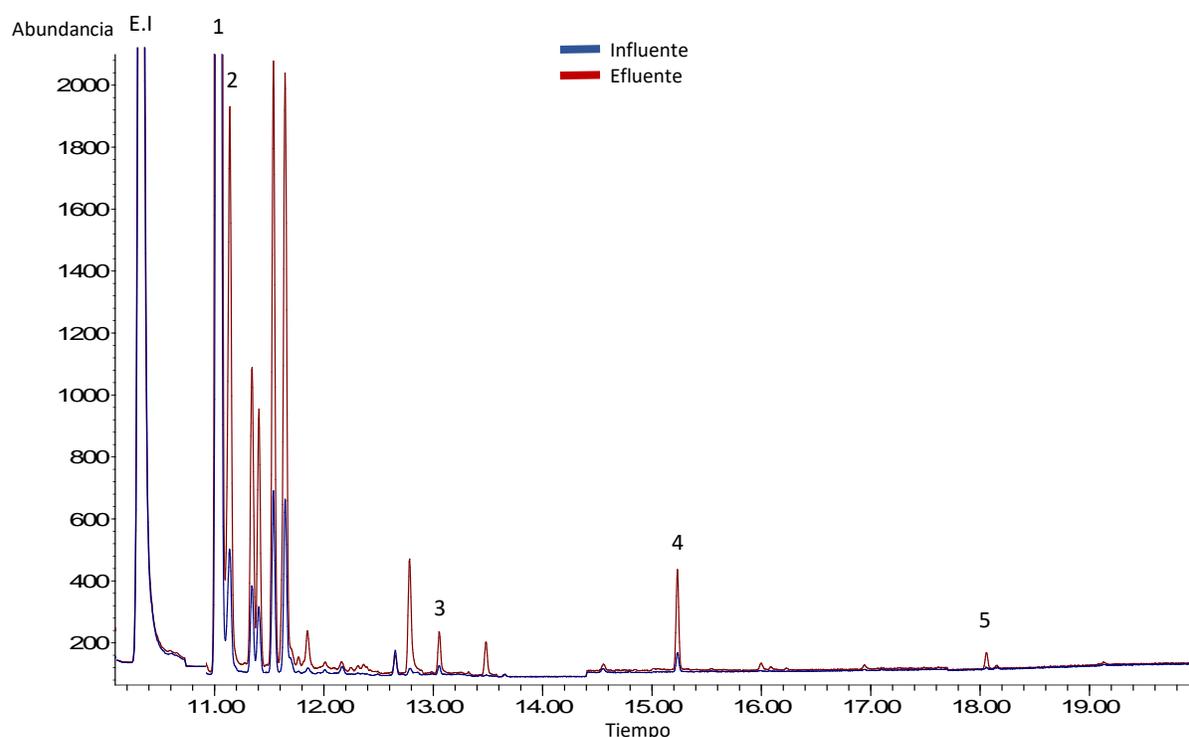
Para la determinación de PCPs en aguas residuales primero se buscó un agua control lo cual resultó complicado debido a que como ya se ha reportado los almizcles (HHCB y AHTN) son ubicuos. [21,81] Como agua control se utilizó agua mineral embotellada “Peñafiel” la cual previamente se desgasificó en un baño ultrasónico por 10 min. En la **Imagen 4.6** se muestra el análisis del agua control donde se observa una señal en el tiempo de retención de HHCB sin embargo se encuentra por debajo del límite de detección y se compara con una muestra de agua fortificada a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito y  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  del E.I.



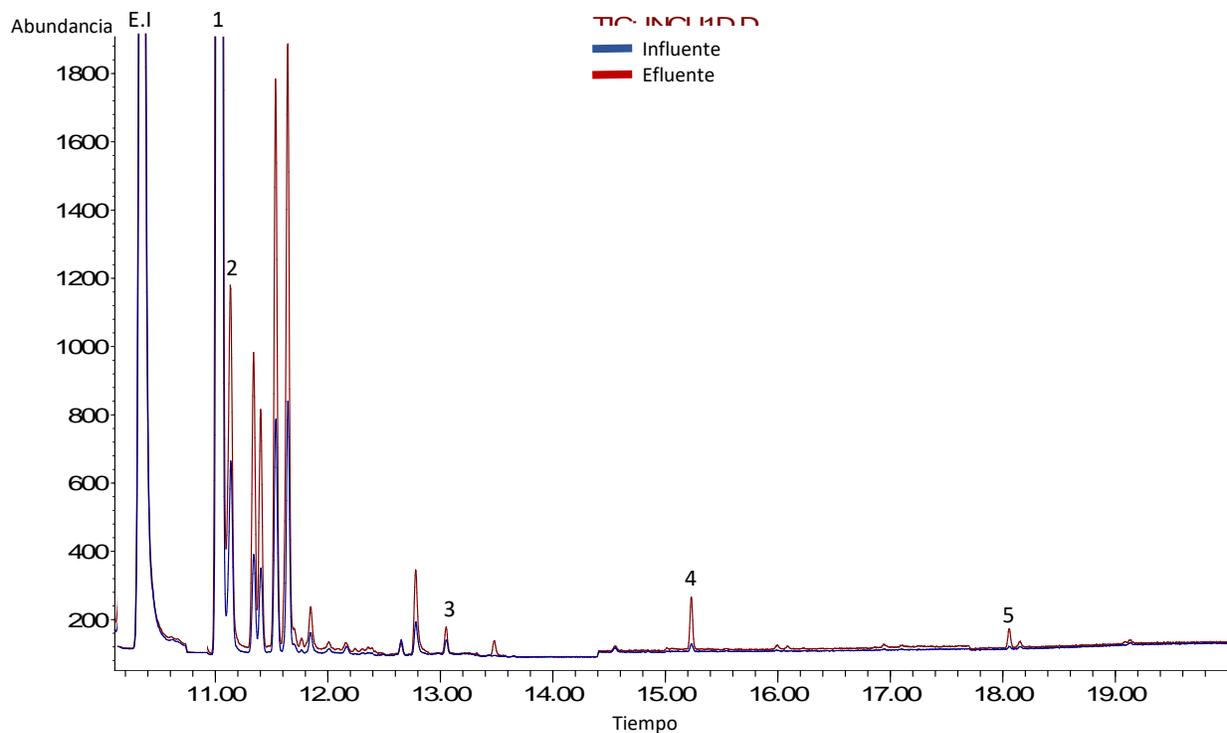
**Imagen 4.6** Análisis por SPME-GC-MS en modo SIM. 1. HHCB; 2. AHTN; 3. BP-3; 4. 4-MBC; 5. O-PABA; 6.2-EHMC; 7. OCT; Fenantreno (E.I.).

Posteriormente se tomaron muestras del influente y efluente de dos plantas de tratamiento de aguas residuales “PTAR Coyoacán” y “PTAR CU” las cuatro muestras se analizaron mediante la metodología desarrollada por SPME-GC-MS utilizando las fibras fabricadas.

En las muestras de agua residual se identificaron 5 de los analitos de interés: HHCB, AHTN, 4-MBC, 2-EHMC y OCT de los cuales HHCB y AHTN fueron cuantificables en todas las muestras pero se observó una disminución en la concentración del efluente de ambos sitios, Coyoacán (**Imagen 4.7**) y CU (**Imagen 4.8**), a diferencia de los otros 3 analitos los cuales se pudieron cuantificar en ambos influentes pero no en los efluentes, por lo que se observa en el **Cuadro 4.10** el tratamiento de las aguas reduce la presencia de estos compuestos pero no logra su remoción total.



**Imagen 4.7** Análisis por SPME-GC-MS en modo SIM. Muestras de PTAR Coyoacán. 1. HHCB; 2. AHTN; 3. 4-MBC; 4.2-EHMC; 5. OCT; Fenantreno (E.I).



**Imagen 4.8** Análisis por SPME-GC-MS en modo SIM. Muestras de PTAR CU. 1. HHCB; 2. AHTN; 3. 4-MBC; 4.2-EHMC; 7. OCT; Fenantreno (E.I.).

**Cuadro 4.10** Resultados de la identificación y cuantificación de PCP en aguas residuales por SPME-GC-MS.

Compuesto	PTAR Coyoacán n=3		PTAR CU n=3	
	Influyente ng L <sup>-1</sup> ± D.E (%CV)	Efluente ng L <sup>-1</sup> ± D.E (%CV)	Influyente ng L <sup>-1</sup> ± D.E (%CV)	Efluente ng L <sup>-1</sup> ± D.E (%CV)
<b>HHCB</b>	11500 ± 0.2 (1.4)	2600 ± 0.2 (9.1)	5400 ± 0.3 (4.9)	2700 ± 0.2 (7.9)
<b>AHTN</b>	3.6 ± 0.1 (2.0)	1.6 ± 0.1 (6.1)	2.4 ± 0.2 (8.1)	1.7 ± 0.1 (9.9)
<b>BP-3</b>	ND	ND	ND	ND
<b>4-MBC</b>	<LC	<LC	<LC	<LC
<b>O-PABA</b>	ND	ND	ND	ND
<b>2-EHMC</b>	282.5 ± 1.6 (0.6)	258.2 ± 4.0 (1.5)	254.0 ± 1.7 (0.7)	<LC
<b>OCT</b>	708.0 ± 3.3 (0.5)	ND	711.8 ± 2.5 (0.4)	ND

Del cuadro anterior podemos concluir que se obtiene una buena precisión ( $CV < 9.9\%$ ) lo que revela que SPME cumple con el objetivo de separar los analitos de interés en las muestras de agua residual. El O-PABA y BP-3 no se detectaron en ninguna de las muestras, en el caso del BP-3 puede ser asociado a la baja sensibilidad que se obtiene para este analito con el método debido a sus características fisicoquímicas que lo hacen menos afín a la fase polimérica y dificultan su análisis por GC-MS, debido a esto frecuentemente para su análisis por esta técnica se realiza una derivatización. También se observa que el OCT logra removerse de las muestras con el tratamiento de las aguas residuales ya que se logra cuantificar en ambos influentes pero no se detecta en ninguno de los efluentes.

#### 4.3.2. Análisis de diferentes cuerpos de agua

Así mismo se tomaron muestras de aguas naturales como son: el embarcadero Xochimilco, un arroyo en Valle de Bravo, uno ubicado en Salamanca, Gto., así como una muestra del Río Lerma que pasa por una zona de Salamanca (ver características en la **Sección 3.1.3**), las cuatro muestras se analizaron mediante la metodología desarrollada por SPME-GC-MS

En el **Cuadro 4.11** se muestran los resultados de las muestras. Se observó que en todas las muestras se identificaron HHCB y AHTN pero únicamente se cuantificaron en las muestras del río Lerma y Xochimilco. En la muestra del río Lerma el único compuesto no detectado fue el OCT. En la muestra de Xochimilco se identificaron 5 de los PCPs estudiados: HHCB, AHTN, 4-MBC, 2-EHMC y OCT, cuantificándose únicamente el HHCB. En el arroyo de Salamanca se identificaron HHCB, AHTN, 4-MBC y O-PABA este último fue el único cuantificable. Podemos observar que se logró la identificación y cuantificación con las fibras de PDMS fabricadas de los PCPs estudiados a nivel de trazas ( $\text{ng L}^{-1}$ ) en diversos cuerpos de agua con una precisión en términos de ( $CV < 15\%$ ).

**Cuadro 4.11** Resultados de la identificación y cuantificación de PCP en aguas superficiales por SPME-GC-MS.

Compuesto	Xochimilco n=3	Río Lerma n=3	Arroyo Salamanca n=3	Arroyo Avándaro n=3
	ng L <sup>-1</sup> ± D.E (%CV)			
<b>HHCB</b>	1161 ± 0.1 (5.2)	1545 ± 0.8 (12.2)	<LC	<LC
<b>AHTN</b>	<LC	1.27 ± 0.3 (3.0)	<LC	<LC
<b>BP-3</b>	ND	<LC	ND	ND
<b>4-MBC</b>	<LC	<LC	<LC	ND
<b>O-PABA</b>	ND	<LC	250.0 ± 6.7 (14.7)	ND
<b>2-EHMC</b>	<LC	<LC	ND	ND
<b>OCT</b>	<LC	ND	ND	ND

Los resultados obtenidos en aguas residuales y superficiales de los PCPs se comparan con los reportados en la literatura en el **Cuadro 4.12** donde se puede observar que las concentraciones determinadas de los PCPs en el presente trabajo se encuentran dentro del intervalo de concentraciones que se han reportado en otros sitios, tanto en plantas de tratamiento de agua residual como en aguas superficiales, diversos estudios han reportado que la concentración de estos analitos depende mucho de la zona y época del año, esto aplica principalmente a los filtros UV los cuales en épocas como primavera y verano son más utilizados en cremas y aerosoles para protección solar, por lo que se determinan concentraciones mayores de estos compuestos.

**Cuadro 4.12** Intervalos de concentración reportados para diversos cuerpos de agua obtenidos con diversas técnicas vs. los resultados obtenidos con las fibras fabricadas para SPME-GC-MS.

Familia	Contaminante emergente	Influyente (ng L <sup>-1</sup> )	Efluente (ng L <sup>-1</sup> )	Aguas superficiales (ng L <sup>-1</sup> )	Influyente* (ng L <sup>-1</sup> )	Efluente* (ng L <sup>-1</sup> )	Aguas* superficiales (ng L <sup>-1</sup> )
Almizcles	HHCB	5,400-11,500	2,600-2,700	1545-1161	43-16,600 <sup>[76]</sup>	10-3,730 <sup>[76]</sup>	64-12,470 <sup>[78]</sup>
	AHTN	2.4-3.6	1.6-1-7	≤ 1.27	8,600-12,500 <sup>[76]</sup>	13-2,120 <sup>[76]</sup>	52-6780 <sup>[78]</sup>
Filtros UV	4-MBC	-	-	-	39-409 <sup>[77]</sup>	5-404 <sup>[77]</sup>	2.3-545 <sup>[78]</sup>
	BP-3	-	-	-	3-3112 <sup>[77]</sup>	5-191 <sup>[77]</sup>	2.5-175 <sup>[78]</sup>
	2-EHMC	254.6-282.5	≤ 258.2		32.8-1134 <sup>[77]</sup>	5-755.9 <sup>[77]</sup>	2.7-224 <sup>[78]</sup>
	OCT	700-711.8	-	-	12-785 <sup>[77]</sup>	4-538 <sup>[77]</sup>	1.1-4450 <sup>[78]</sup>
	O-PABA	-	-	≤ 250	12.9-418 <sup>[77]</sup>	-	≤ 5 <sup>[77]</sup>

\*Valores reportados en la literatura

## CONCLUSIÓN

---

Lo anterior nos permite demostrar que las fibras fabricadas funcionan para la determinación de PCPs en aguas residuales y otros cuerpos de agua, así como para el desarrollo de otros proyectos debido a las ventajas que ofrecen ante las fibras comerciales, algunas de estas son: resistencia y flexibilidad que presenta el polímero soportado sobre el alambre de acero inoxidable, debido a que en las fibras comerciales el polímero está soportado sobre sílice fundida haciéndolas frágiles. Adicionalmente la fabricación de las fibras permite variar el grosor y longitud de la fase de acuerdo con las necesidades del análisis. Otra de las ventajas de las fibras fabricadas es que se pueden utilizar tanto para el análisis por HPLC como por GC, y en el caso de esta última las fibras se desorben directamente en el inyector además se reduce el costo hasta en un 99.1%.

## PERSPECTIVAS

---

- ✚ Determinar otros compuestos orgánicos con características fisicoquímicas afines al PDMS.
- ✚ A partir de la metodología desarrollada probar la fabricación de fibras con otro tipo de fases poliméricas.
- ✚ Determinar los mismos u otros compuestos en otras matrices como suelo, sedimento y organismos vivos.

## 5. Estancia de Investigación en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

---

### 5.1. Fabricación de fibras de poli(EDGMA-co-4VP)

Se realizó una estancia en la Universidad Nacional Autónoma de Hidalgo (UAEH) en el Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería con el Dr. José Antonio Rodríguez Ávila, donde se desarrolló una nueva fase polimérica de poli(EDGMA-co-4VP) para la determinación de 3 fármacos (diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno) en agua por SPME-CE.

Los fármacos son un grupo importante de contaminantes ambientales emergentes, debido a su capacidad inherente para inducir efectos fisiológicos en humanos a dosis bajas. Un número cada vez mayor de estudios ha confirmado la presencia de varios fármacos en diferentes lugares del medio ambiente, lo que genera preocupación acerca de los posibles efectos adversos para los humanos y la vida silvestre. Los fármacos son compuestos polares con grupos ionizables dependiendo del pH, el principio activo puede ser excretado sin ningún cambio, como un metabolito principal o como una mezcla de metabolitos, dependiendo del compuesto su persistencia en el medio ambiente es variable pueden permanecer hasta años, por lo que pueden acumularse, alcanzando niveles biológicamente activos. Debido a que los fármacos son diseñados para generar un efecto terapéutico a bajas concentraciones, generalmente no son detectados en las EDAR, dificultando de esta manera su óptima eliminación.<sup>[82]</sup>

Debido a que en la actualidad la SPME no se utiliza con frecuencia como técnica de preparación de muestra en electroforesis capilar (CE, por sus siglas en inglés) se desea evaluar si la fibra desarrollada permite la extracción de los fármacos, ésta se considera una fase polar, ideal para la extracción de analitos con grupos polares como los fármacos de interés.

## 5.2. Materiales

Para la fabricación y evaluación de las fibras de poli(EDGMA-co-4VP) se utilizó 4-vinilpiridina (95% Aldrich, Inglaterra); dimetacrilato de etilenglicol (98%, Aldrich, EUA) como entrecruzante; persulfato de potasio (99%, General Chemical Division, USA) como iniciador; metanol (grado HPLC, J.T Baker, EUA); HSO<sub>4</sub> (98%, J.T Baker, USA), naproxeno (100%, Sigma-Aldrich, China); paracetamol (98%, Aldrich, EUA); ibuprofeno (100%, Sigma, India); diclofenaco (100%, Sigma, India); borato de sodio decahidratado ( grado reactivo, J.T Baker, EUA); fosfato de potasio monobásico (99.7%, J.T Baker, EUA); doxiciclina (estándar interno) 93%, Sigma-Aldrich, EUA.

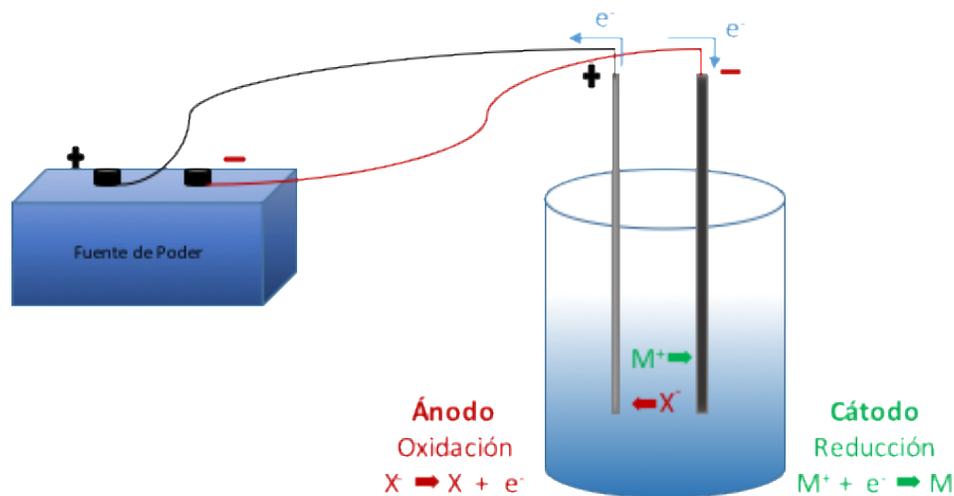
## 5.3. Equipos e instrumentos

Potenciostato/ Galvanostato, PGSTAT AT302N, Metrohm Autolab, software Nova 2.0. Fuente de Poder DC, GPC3030D, G.W. Espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés), Frontier, Perkin-Elmer. Potenciómetro 450, Corning Science Products. Baño ultrasónico 8892, Cole-Parmer.

## 5.4. Métodos

### 5.4.1. Limpieza

La limpieza de las barras de acero inoxidable se realizó mediante electropulido, la cuál es una técnica de acabado químico para superficies, mediante la cual el metal se disuelve electrolíticamente, ion por ion, de la superficie de un objeto metálico. El objetivo primario es minimizar la microrrugosidad, reduciendo la adhesión de suciedad o residuos, mejorando la limpieza de las superficies. **(Imagen 5.1)**. Industrialmente se utilizan para eliminar capas de óxido formadas sobre superficies metálicas antes de procesos de soldadura. Esto mejora la fuerza de la soldadura y aumenta la resistencia a la corrosión.<sup>[47]</sup>



**Imagen 5.1** Celda electroquímica para electropulir superficies

Antes del proceso de electropulido las barras de acero inoxidable se pulen con lija 1200 y se limpian con acetona. Posteriormente para el electropulido se prepara una disolución de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) 2.5 M en ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 5 M a  $70^\circ C$  en esta disolución se sumergen la barra de acero inoxidable que se desea pulir, al ánodo, y como contraelectrodo otra barra de acero inoxidable, al cátodo, se hace pasar corriente (1.5 A) con una fuente de poder durante 1.5 minutos con agitación continua.

## 5.4.2. Optimización

### 5.4.2.1. Electropolimerización

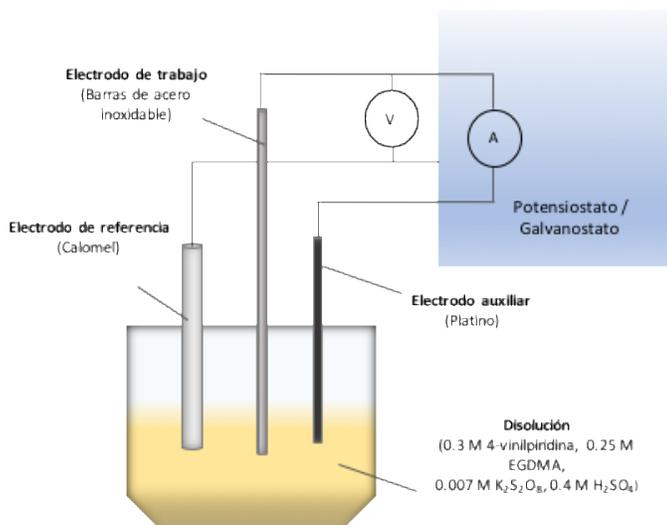
La polimerización electroquímica (ECP, por sus siglas en inglés) es una técnica, que ha sido ampliamente desarrollada para producir películas de polímeros que se sintetizan para aplicaciones en microelectrónica, fotoelectroquímica, electrocatálisis o almacenamiento de energía. El flujo de una corriente anódica a través de una disolución que contiene un disolvente, un electrolito y un monómero da lugar a la generación de una película polimérica sobre el ánodo. Las películas poliméricas así electrogeneradas se caracterizan por las altas conductividades electrónicas (hasta  $10^5 S cm^{-1}$ ).<sup>[57]</sup>

La electropolimerización (o polimerización electroquímica electroiniciada) es un proceso rápido. En pocos segundos después del inicio de la polarización anódica, o del flujo de corriente anódico, el electrodo se recubre con una película negra. Los requerimientos tecnológicos no son restrictivos, con algunos monómeros es posible trabajar en soluciones acuosas con temperaturas y presiones ambientales. La condición más restrictiva es el requerimiento de una atmósfera inerte si se desea producir películas para algunas aplicaciones específicas.<sup>[58]</sup>

El mecanismo de la polimerización parece complejo ya que cuando se estudia el comportamiento electroquímico del monómero en diferentes disolventes, o empleando distintos electrolitos en el mismo disolvente, se llega a distintos resultados: obtención de productos no poliméricos, obtención de polímeros en disolución, o generación de películas poliméricas con diferentes propiedades, por ejemplo, la conductividad. Similares resultados se obtienen cuando se utilizan como electrodo diferentes materiales.<sup>[59]</sup>

De acuerdo con las características de su proceso de electroiniciación, la electropolimerización puede agruparse en la polimerización por electrooxidación (EOP) y procesos de polimerización por electrorreducción (ERP). Para la diferenciación entre las iniciaciones, una de las técnicas más poderosa y rápida para diferenciar entre ambas posibilidades es la voltamperometría cíclica.

Para la celda electroquímica se utilizaron barras de acero inoxidable previamente electropulidas como electrodos de trabajo, el potencial en las celdas fue controlado a partir de un electrodo de referencia (electrodo de calomel) y como contraelectrodo un electrodo de platino (**Imagen 5.2**).<sup>[58]</sup> La corriente fue suministrada por el potenciostato/galvanostato, fabricado por Metrohm Autolab, con el software NOVA 2.0. El seguimiento de la reacción se llevó a cabo mediante voltamperometría cíclica. Al final de la electrólisis, el electrodo de trabajo se retiró inmediatamente y se dejó secar a temperatura ambiente durante toda la noche.



**Imagen 5.2** Celda electroquímica para electropolimerización

Se realizó un análisis exploratorio para determinar las condiciones necesarias para la formación y adhesión del polímero a las barras de acero inoxidable. Se partió de las condiciones óptimas de un trabajo previo para la elaboración de fibras de acrilato<sup>[57]</sup>, estas fueron: concentración del monómero (0.6 M 4-vinilpiridina), entrecruzante (0.5 M EGDMA), iniciador (0.007 M  $K_2S_2O_8$ ), ácido (0.005 M  $H_2SO_4$ ) y condiciones del equipo, potencial inicial (0 V), potencial máximo (0.5 V), potencial mínimo (-1.8 V), velocidad ( $0.1 \text{ V s}^{-1}$ ), número de ciclos (25). El análisis exploratorio univariado se resume en el **Cuadro 5.1**.

**Cuadro 5.1** Análisis exploratorio para la elaboración de fibras poli (EGDMA- co-4VP)

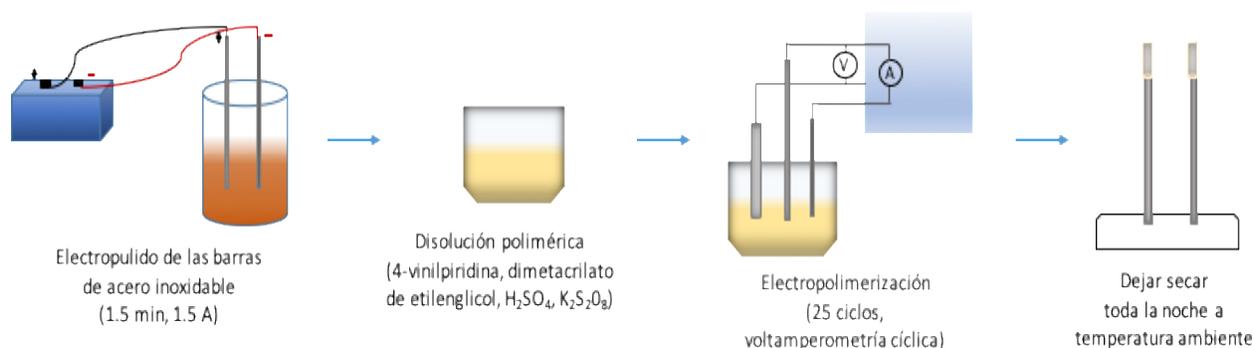
Variable	Condiciones probadas	Condiciones óptimas
4-vinilpiridina	0.6, 0.3, 0.1 M	No se logran determinar
EGDMA	0.5, 0.25, 0.08 M	No se logran determinar
$H_2SO_4$	0.8, 0.4, 0.1, 0.005 M	0.4 M
Número de ciclos	50, 25, 20, 15, 10	25
Potencial mínimo	-1.5, -1.8 V	-1.8 V

A partir de los resultados anteriores se plantea un Diseño Central Compuesto (por sus siglas en inglés, CCD) para determinar las concentraciones óptimas de monómero y entrecruzante para la formación del polímero evaluando la capacidad de adsorción y desorción de los fármacos de interés. La optimización se muestra en el **Cuadro 5.2**.

**Cuadro 5.2** CCD para la elaboración de fibras de 4-vinilpiridina y dimetacrilato de etilenglicol

Variable	Condiciones probadas	Condiciones óptimas	
		Sorción	Desorción
4-vinilpiridina	0.35, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 M	0.05	0.2
EGDMA	0.35, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 M	0.2	0.35

La metodología obtenida a partir de los resultados de la optimización para la fabricación de fibras de poli(EDGMA-co-4VP) utilizando electropolimerización se describe en la **Imagen 5.3**.



**Imagen 5.3** Proceso para la fabricación de fibras de poli (EGDMA- co-4VP)

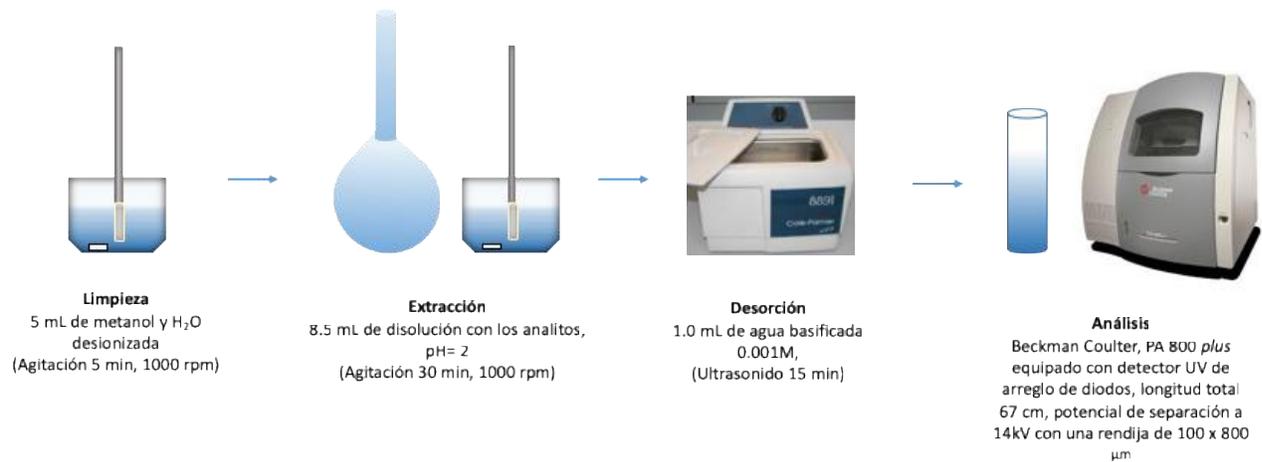
Es importante que previo a la utilización de las fibras éstas se acondicionen sumergiéndolas en metanol y agua desionizada para quitar los excedentes de monómero y entrecruzante que puedan haber quedado durante la polimerización.

#### 5.4.3. Evaluación de las fibras

El análisis instrumental se realizó en un equipo de electroforesis capilar (Beckman Coulter, PA 800 *plus*) equipado con detector UV de arreglo de diodos. Las separaciones se realizaron en un capilar de sílice fundida (75  $\mu\text{m}$  d.i) con una longitud total de 67 cm (Beckman). Para soluciones estándar y muestras, las separaciones se realizaron en dirección normal utilizando una longitud efectiva de 30 cm. El electrolito de trabajo fue fosfato monobásico 30 mM con 5% de isopropanol ajustado a pH 7,00. El instrumento fue operado a 14 kV, lo que generó un nivel de corriente de aproximadamente 120  $\mu\text{A}$ .

Las disoluciones estándar de diclofenaco, naproxeno e ibuprofeno se introdujeron mediante inyección hidrodinámica a 0,5 psi durante 5 s. La detección se realizó a tres diferentes longitudes de onda (en los máximos de absorción de cada analito) 240, 230 y 220 nm respectivamente utilizando una rendija de 100  $\times$  800  $\mu\text{m}$ . Los tiempos de migración se obtuvieron a partir del análisis de los estándares (50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) para cada compuesto.

Posteriormente para determinar la efectividad de las fibras de poli(EDGMS-co-4VP) se prepararon 10 mL de agua fortificada con cada uno de los analitos a 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y la doxiciclina (EI) a 30  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , se ajustó el pH a 2 con HCl 1 M, se homogeneizó con un Vortex durante 1 min y se tomaron 1.5 mL para analizar en CE (previo a la extracción), los 8.5 mL restantes se transfieren a viales de 20 mL, se colocó una barra de agitación magnética de 10 mm y se agitó durante 5 min a 1000 rpm para equilibrar el sistema, pasado el tiempo de equilibrio se realizó la SPME por inmersión directa 30 min a 1000 rpm, de aquí se tomaron otros 1.5 mL para analizar por electroforesis capilar (posterior a la extracción). Después del tiempo de extracción se realizó la desorción en 1 mL de agua basificada (NaOH 0.001 M) en un baño ultrasónico durante 15 min, este también se analizó por CE . El procedimiento experimental se describe en el **Imagen 5.4**.



**Imagen 5.4** Procedimiento para el análisis de fármacos por SPME-CE.

## 5.5. Resultados y discusión

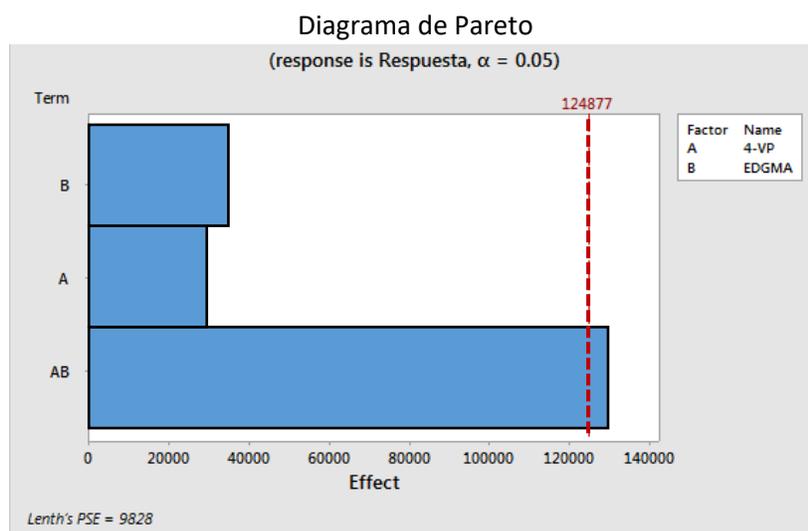
### 5.5.1. Limpieza de las barras de acero inoxidable

La limpieza de las barras de acero inoxidable se realizó mediante electropolido, tal como se describe en la **Sección 5.3.1**, se eligió este método de limpieza debido a que en trabajos anteriores realizados en el laboratorio se obtuvieron buenos resultados. Es esencial que previo a la electropolimerización las barras se limpien de lo contrario el inicio de la polimerización se tarda un poco, provocando que en los 25 ciclos que se establecieron para la formación de la fase no se logre un recubrimiento homogéneo y del espesor deseado. [96]

### 5.5.2. Desarrollo

#### 5.5.2.1. Obtención y adhesión del copolímero

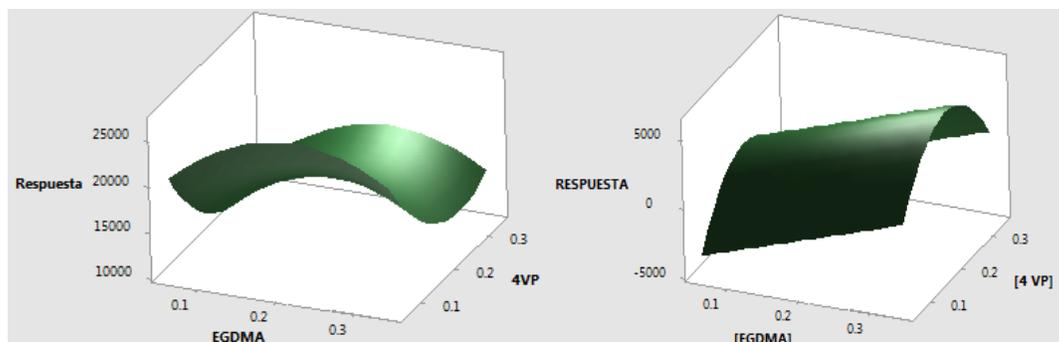
El diseño de experimentos descrito en la **Sección 5.3.2.1** para la optimización de las fibras con 4-VP y EGDMA mostró la importancia de las concentraciones de monómero y polímero en la absorción y desorción de los fármacos, en la **Imagen 5.5** se muestra el diagrama de Pareto donde se observa que la relación de concentraciones de ambos tiene un efecto significativo con un 95% de confianza en la fabricación de las fibras.



**Imagen 5.6** Diagrama de Pareto para la optimización de las fibras con 4-VP Y EGDMA.

En la **Imagen 5.6** se muestran los gráficos de superficie de respuesta obtenidos para la absorción y desorción de los analitos. Se observa que a mayor concentración de EGDMA y

menor concentración de 4-VP hay más absorción de los analitos pero que la máxima respuesta obtenida en la desorción se encuentra a una concentración molar de [0.3414] EGDMA y [0.2014] 4-VP por lo que se seleccionaron estas condiciones para la polimerización de las fibras. Esta diferencia entre las condiciones óptimas de absorción y desorción se pueden explicar por el entrecruzamiento de la red polimérica y la afinidad de los analitos a ésta.



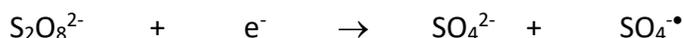
**Imagen 5.6** Gráficos de superficie de respuesta para la optimización de las fibras con 4-VP Y EGDMA

### 5.5.2.2. Electropolimerización

La electroiniciación del copolímero reticulado de 4-VP y EGDMA se asocia a procesos de polimerización por electroreducción. De acuerdo con la literatura el pico de reducción en la solución ácida se atribuye a la reducción directa de iones hidrógeno disociados para formar radicales de hidrógeno, el ácido actúa como un indicador redox favoreciendo la polimerización<sup>[57]</sup>



El pico de reducción de la solución de persulfato es atribuido a la reducción de iones persulfato

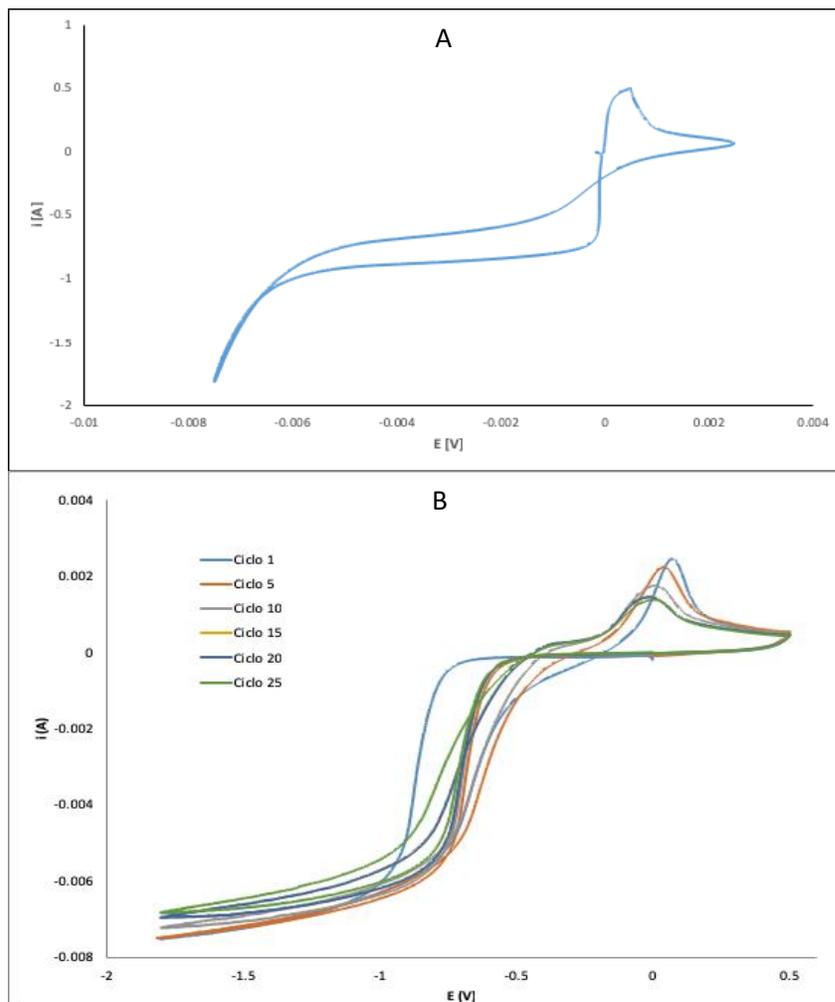


La reducción tanto de ácido sulfúrico como de persulfato de potasio se junta en un pico ancho centrado alrededor de -1.1 V. Cuando se introduce el monómero se observa una

única reducción a -1.2 V que se atribuye a la reducción de iones hidrógeno. La presencia del ácido y del persulfato proporciona las mejores condiciones para el inicio de la polimerización, obteniéndose un comportamiento significativo de pasivación del electrodo lo que ayuda a obtener recubrimientos más uniformes. De acuerdo con estos estudios se sabe que los radicales sulfato producidos por la reducción de los iones persulfato inician la polimerización de la siguiente manera:



A partir de lo anterior, para el estudio de formación del poli (EGDMA- co-4VP) se realizó voltamperometría cíclica, los resultados se muestran en la **Imagen 5.7**.



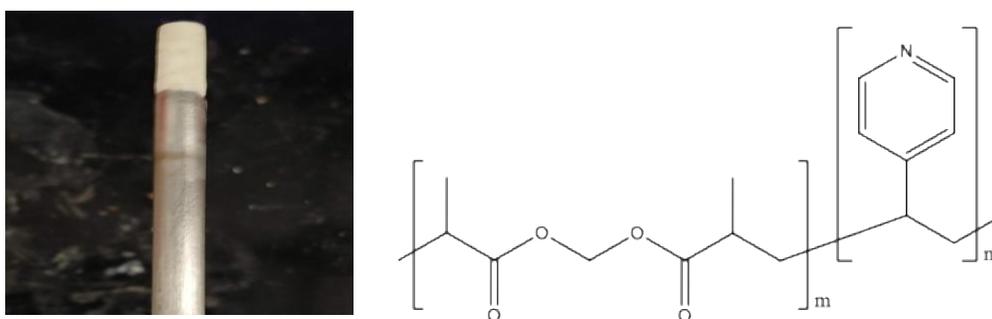
**Imagen 5.7** Voltamperogramas obtenidos durante la formación del recubrimiento

A) Ciclo 1 B) Desarrollo de los 25 ciclos

En la **Imagen 5.7** se observó un único pico de reducción a  $-0.7\text{ V}$  que se vuelve cada vez más débil pasando a potenciales más negativos con el aumento de número de ciclos lo que indica que el electrodo se está pasivando, esta es una evidencia de la polimerización ya que la formación de una película de polímero sobre el electrodo de acero inoxidable reduciría el área de superficie electroactiva reduciendo la corriente, el aumento de la resistencia debido a la presencia del recubrimiento polimérico hace que el potencial máximo cambie a valores más negativos.

En el semiciclo anódico, el voltamperograma mostraba una histéresis de bucle de corriente (tendencia de un material a conservar una de sus propiedades, en ausencia del estímulo que la ha generado), lo cual también indica que el polímero se está formando en la superficie del electrodo<sup>[92]</sup> (**Imagen 5.7A**). De acuerdo con la literatura se sabe que con las condiciones utilizadas no se produce una reducción directa del monómero.<sup>[57]</sup> Los voltamperogramas obtenidos de los 25 ciclos necesarios para la formación de una película de grosor y uniformidad deseables se observan en la **Imagen 5.7B**.

De acuerdo con lo mencionado la estructura del recubrimiento polimérico obtenido a partir de la electropolimerización y una fotografía de la fibra obtenida para su aplicación por SPME-CE se observan en la **Imagen 5.8**.

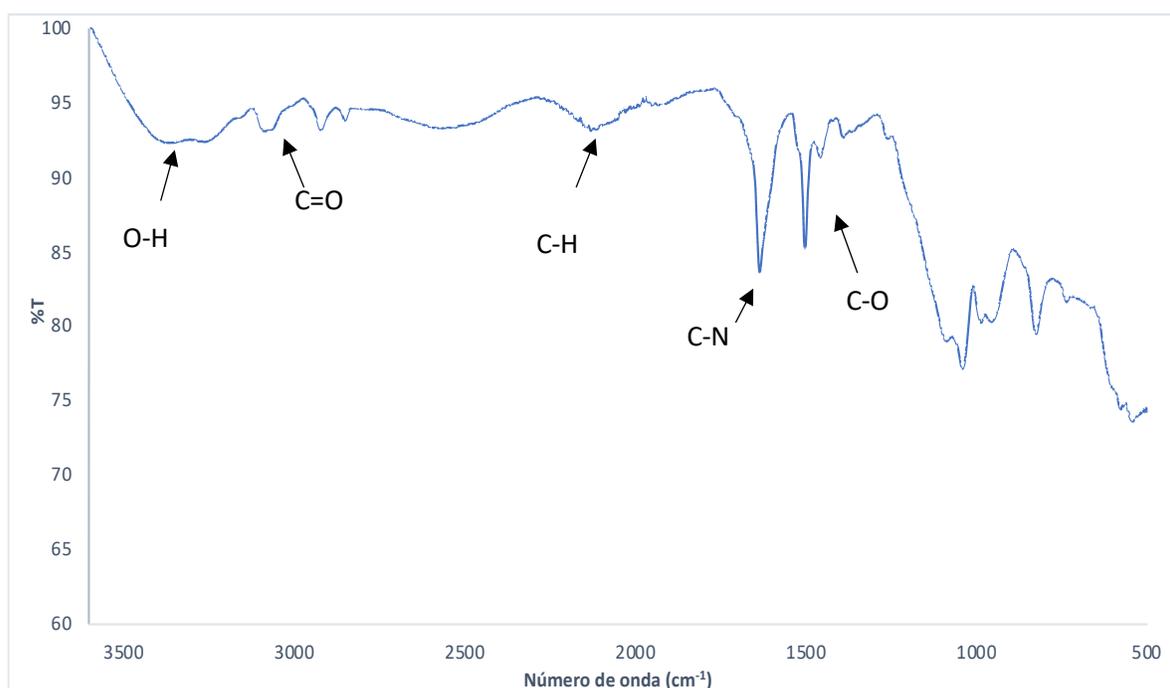


**Imagen 5.8** Fotografía de la fibra SPME y estructura del poli (EGDMA-co-4-VP)

### 5.5.2.3. Caracterización

Con el objetivo de identificar las bandas características del copolímero obtenido se realizó un FT-IR. De la literatura se sabe que las vibraciones características del anillo de piridina se

encuentran aproximadamente a 1590, 1550, 1460 y 1410  $\text{cm}^{-1}$ , pero que al copolimerizarse la mayoría de éstas no se observan o su intensidad se ve disminuida. En la **Imagen 5.9** se observa una banda a 3050  $\text{cm}^{-1}$  asociada a la vibración del enlace C=O, la señal intensa de 1650  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyó al fuerte efecto de acoplamiento del C-N, la banda ancha ubicada en 3450  $\text{cm}^{-1}$  se debe al estiramiento O-H de moléculas de agua que se pueden formar.[83] Entre 1300-1400  $\text{cm}^{-1}$  se observan señales asignadas a la vibración del enlace C-O, y a la señal de 2100  $\text{cm}^{-1}$  se le atribuye la vibración del enlace C-H.[84]

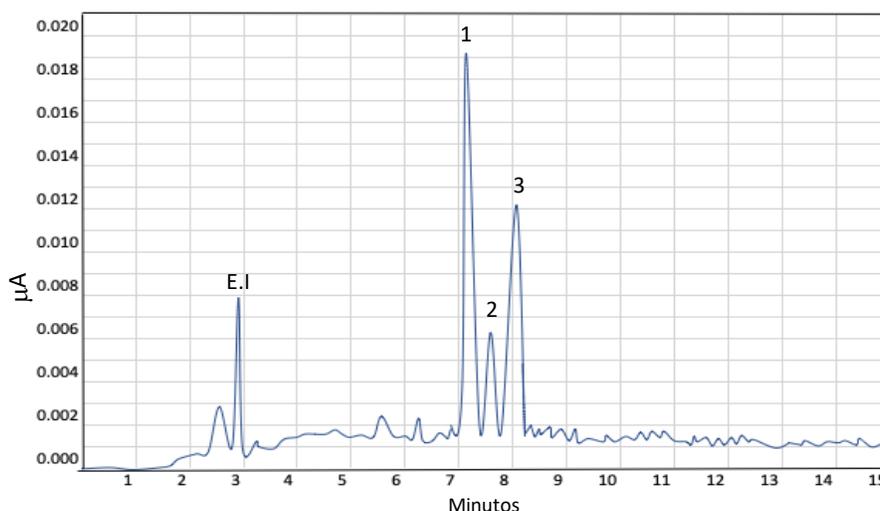


**Imagen 5.9** Espectro FT-IR obtenido del poli (EDGMA – co- 4VP).

Como perspectivas del proyecto se deja la caracterización del polímero por microscopía electrónica de barrido resultados que hasta el término de la estancia no se pudieron obtener con el objetivo de determinar y confirmar la homogeneidad y espesor de las fibras, pero de acuerdo con lo observado y con estudios microestructurales de recubrimientos formados en similares condiciones se observó una porosidad superficial visible, la causa de esta porosidad es que el electrodo no puede pasivarse completamente para producir un perfil lineal de corriente/potencial.

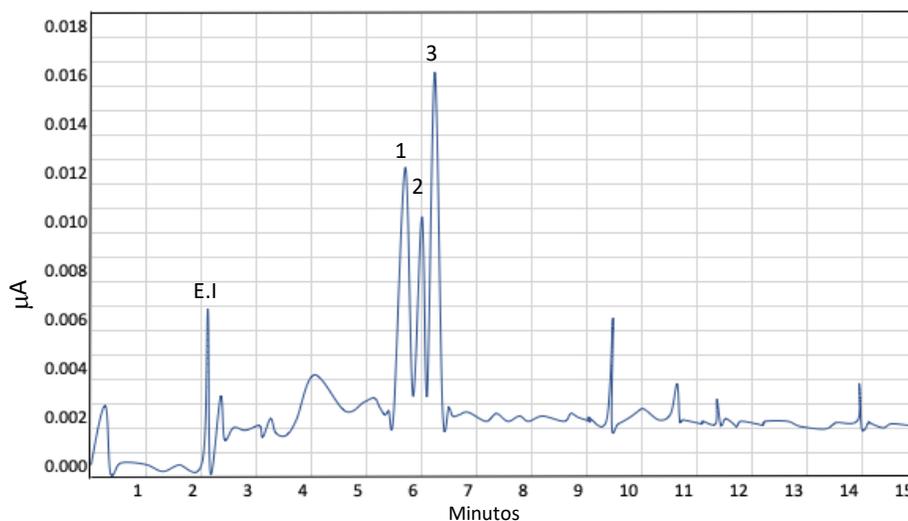
### 5.5.3. Determinación de fármacos en agua mediante SPME-CE

Primero se analizaron estándares individuales de naproxeno, ibuprofeno y diclofenaco a una concentración de  $30 \mu\text{g mL}^{-1}$  en agua y una longitud de onda de 214 nm por CE, con el objetivo de determinar sus tiempos de migración, posteriormente se inyectó una mezcla obteniéndose el electroferograma de la **Imagen 5.10** en donde se identifican los tres analitos.



**Imagen 5.10** Electroferograma del análisis de una disolución estándar con 1. Diclofenaco, 2. Ibuprofeno, 3. Naproxeno, E.I por CE

Para probar la efectividad de las fibras se determinaron las condiciones para la sorción y desorción por SPME, con el objetivo de evaluar si el polímero extraía los fármacos de interés. Con las condiciones optimizadas del polímero se realizó el análisis de la disolución estándar a  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  a una longitud de onda de 214 nm antes y después de la sorción de los analitos, en los electroferogramas se observó una disminución de la señal, así mismo se realizó el análisis del microlitro obtenido de la desorción, en el electroferograma se observaron las tres señales de los fármacos (**Imagen 5.11**), el análisis se realizó por triplicado.



**Imagen 5.11** Electroferograma del análisis de una disolución estándar con 1.Diclofenaco, 2. Ibuprofeno, 3.Naproxeno, E.I Doxiciclina por SPME-CE.

Con esto se concluyó que el copolímero desarrollado sí permite el análisis de los fármacos a partir de las primeras condiciones planteadas pero como perspectiva del proyecto se debe desarrollar la optimización y validación del método por SPME-CE para la determinación de estos fármacos para posteriormente probar las fibras en muestras de agua.

### 5.6. Conclusión preliminar

Se fabricaron fibras para SPME mediante electropolimerización de poli(EDGMA-co-4VP) para la determinación de naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno en agua por electroforesis capilar.

### 5.7. Perspectivas

- ✚ Caracterizar por microscopía electrónica de barrido las fibras de poli(EDGMA-co-4VP)
- ✚ Optimizar y validar la metodología para la determinación de los fármacos en agua.
- ✚ Aplicar las fibras de poliy la metodología desarrollada para la determinación de los fármacos en diversos cuerpos de agua.
- ✚ Probar si la fase polimérica desarrollada se puede utilizar en otros analitos con propiedades fisicoquímicas afines.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. Smith, R.M., *Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques*. Journal of Chromatography A, 2003. **1000**(1): p. 3-27.
2. Poole, S. K.; Dean, T. A.; Oudsema, J. W.; Poole, C. F., *Sample preparation for chromatographic separations: an overview*. Analytica Chimica Acta, 1990. **236**: p. 3-42.
3. Vuckovic, D.; Zhang, X.; Cudjoe, E.; Pawliszyn, J., *Solid-phase microextraction in bioanalysis: New devices and directions*. Journal of Chromatography A, 2010. **1217** (25): p. 4041-4060.
4. Liu, S.; Hu, Q.; Zheng, J.; Xie, L.; Wei, S.; Jiang, R.; Zhu, F.; Liu, Y.; Ouyang, G., *Knitting aromatic polymers for efficient solid-phase microextraction of trace organic pollutants*. Journal of Chromatography A, 2016. **1450**, 9-16.
5. Zhang, Y.; Karasu, F.; Rocco, C.; van der Ven, L. G. J.; van Benthem, R. A. T. M.; Allonas, X.; Croutxé-Barghorn, C.; Esteves, A. C. C.; de With, G., *PDMS-based self-replenishing coatings*. Polymer, 2016, **107**: p. 249-262.
6. Xu, J.; Chen, G.; Huang, S.; Qiu, J.; Jiang, R.; Zhu, F.; Ouyang, G., *Application of in vivo solid-phase microextraction in environmental analysis*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016. **85**: p. 26-35.
7. Augusto, F.; Carasek, E.; Silva, R. G. C.; Rivellino, S. R.; Batista, A. D.; Martendal, E., *New sorbents for extraction and microextraction techniques*. Journal of Chromatography A, 2010. **1217** (16): p. 2533-2542.
8. Zheng, J.; Liang, Y.; Liu, S.; Jiang, R.; Zhu, F.; Wu, D.; Ouyang, G., *Simple fabrication of solid phase microextraction fiber employing nitrogen-doped ordered mesoporous polymer by in situ polymerization*. Journal of Chromatography A, 2016. **1427**: p. 22-28.
9. Chong, S. L.; Wang, D.; Hayes, J. D.; Wilhite, B. W.; Malik, A., *Sol–Gel Coating Technology for the Preparation of Solid-Phase Microextraction Fibers of Enhanced Thermal Stability*. Analytical Chemistry, 1997, **69** (19): p. 3889-3898.
10. Qiu, J.; Chen, G.; Zhu, F.; Ouyang, G., *Sulfonated nanoparticles doped electrospun fibers with bioinspired polynorepinephrine sheath for in vivo solid-phase microextraction of pharmaceuticals in fish and vegetable*. Journal of Chromatography A, 2016, **1455**: p. 20-27.
11. Mirnaghi, F. S.; Chen, Y.; Sidisky, L. M.; Pawliszyn, J., *Optimization of the Coating Procedure for a High-Throughput 96-Blade Solid Phase Microextraction System Coupled with LC–MS/MS for Analysis of Complex Samples*. Analytical Chemistry, 2011. **83** (15): p. 6018-6025.
12. Li, S.; Lu, C.; Zhu, F.; Jiang, R.; Ouyang, G., *Preparation of C18 composite solid-phase microextraction fiber and its application to the determination of*

- organochlorine pesticides in water samples*. *Analytica Chimica Acta*, 2015. **873**: p. 57-62.
13. Li, S.; Zhu, F.; Jiang, R.; Ouyang, G., *Preparation and evaluation of amino modified graphene solid-phase microextraction fiber and its application to the determination of synthetic musks in water samples*. *Journal of Chromatography A*, 2016. **1429**: p. 1-7.
  14. Azenha, M. A.; Nogueira, P. J.; Silva, A. F., *Unbreakable Solid-Phase Microextraction Fibers Obtained by Sol-Gel Deposition on Titanium Wire*. *Analytical Chemistry*, 2006. **78** (6): p. 2071-2074.
  15. Zewe, J. W.; Steach, J. K.; Olesik, S. V., *Electrospun Fibers for Solid-Phase Microextraction*. *Analytical Chemistry*, 2010. **82** (12): p. 5341-5348.
  16. Huang, S.; Xu, J.; Tao, X.; Chen, X.; Zhu, F.; Wang, Y.; Jiang, R.; Ouyang, G., *Fabrication of polyaniline/silver composite coating as a dual-functional platform for microextraction and matrix-free laser desorption/ionization*. *Talanta*, 2017, **172**: p. 155-161.
  17. Zhu, F.; Liang, Y.; Xia, L.; Rong, M.; Su, C.; Lai, R.; Li, R.; Ouyang, G., *Preparation and characterization of vinyl-functionalized mesoporous organosilica-coated solid-phase microextraction fiber*. *Journal of Chromatography A*, 2012. **1247**: p. 42-48.
  18. Hu, X.; Zhang, M.; Ruan, W.; Zhu, F.; Ouyang, G., *Determination of organophosphorus pesticides in ecological textiles by solid-phase microextraction with a siloxane-modified polyurethane acrylic resin fiber*. *Analytica Chimica Acta*, 2012. **736**: p. 62-68.
  19. Hu, Y.; Yang, Y.; Huang, J.; Li, G., *Preparation and application of poly(dimethylsiloxane)/ $\beta$ -cyclodextrin solid-phase microextraction membrane*. *Analytica Chimica Acta*, 2005, **543** (1): p. 17-24.
  20. Sauv e, S.; Desrosiers, M., *A review of what is an emerging contaminant*. *Chemistry Central Journal*, 2014. **8**(1): p. 15.
  21. Brausch, J.M.; Rand, G.M., *A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity*. *Chemosphere*, 2011. **82**(11): p. 1518-1532.
  22. Poole, C.F.; Poole, S.K., *Chromatography today*. 2012: Elsevier.
  23. Li, S.F.Y., *Capillary electrophoresis: principles, practice and applications*. Vol. 52. 1992: Elsevier.
  24. Pawliszyn, J., *Handbook of solid phase microextraction*. Elsevier: 2011
  25. McNair, H.M.; Miller J.M, *Basic gas chromatography*. 2011: John Wiley & Sons.
  26. Dettmer-Wilde, K.; Engewald, W., *Practical Gas Chromatography*. 2016: Springer.
  27. Díez, L. M. P., *Fundamentos de cromatografía*. Dextra: 2015.

28. Edmond de Hoffmann, V., *Mass Spectrometry*. 2007, Wiley, London.
29. Shrader, S., *Introductory mass spectrometry*. 2013: CRC Press.
30. Altria, K.D., *Capillary electrophoresis guidebook: principles, operation, and applications*. Vol. 52. 1996: Springer Science & Business Media.
31. Flores-Rojas, G.; Bucio, E., *Radiation-grafting of ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) and glycidyl methacrylate (GMA) onto silicone rubber*. *Radiation Physics and Chemistry*, 2016. **127**: p. 21-26.
32. Weinberger, R., *Practical capillary electrophoresis*. 2000: Elsevier.
33. Pawliszyn, J., *Handbook of solid phase microextraction*. 2011: Elsevier.
34. Dean, J.R., *Extraction techniques in analytical sciences*. Vol. 34. 2010: John Wiley & Sons.
35. Wercinski, S.S.; Pawliszyn, J., *Solid phase microextraction theory*. *Solid Phase Microextraction A Practical Guide*.(Ed, Wercinski, SAS) Marcel Dekker, Inc., New York, 1999: p. 1-26.
36. Lord, H.; Pawliszyn, J., *Evolution of solid-phase microextraction technology*. *Journal of Chromatography A*, 2000. **885**(1): p. 153-193.
37. de Fátima Alpendurada, M., *Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis*. *Journal of Chromatography A*, 2000. **889**(1): p. 3-14.
38. Ouyang, G.; Jiang, R., *Solid phase microextraction: recent developments and applications*. 2016: Springer.
39. Huang, S.; He, S.; Xu, H.; Wu, P.; Jiang, R.; Zhu, F.; Luan, T.; Ouyang, G., *Monitoring of persistent organic pollutants in seawater of the Pearl River Estuary with rapid on-site active SPME sampling technique*. *Environmental Pollution*, 2015, **200**: p.149-158.
40. Ouyang, G.; Pawliszyn, J., *A critical review in calibration methods for solid-phase microextraction*. *Analytica Chimica Acta*. 2008, **627** (2): p. 184-197.
41. Gierak, A.; Seredych, M.; Bartnicki, A., *The preparation, properties and application of carbon fibers for SPME*. *Talanta*, 2006. **69** (5): p. 1079-1087.
42. Clarson, S.J.; Semlyen, J.A., *Siloxane polymers*. 1993: Prentice Hall.
43. Stevens, M.P., *Polymer chemistry: an introduction*. 1990: oxford university press New York.
44. Ke, Y.; Zhu, F.; Jiang, R.; Wang, Y.; Yue, L.; Liu, H.; Zeng, F.; Ouyang, G., *Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in leather products using solid-phase microextraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry*. *Microchemical Journal*, 2014. **112**: p. 159-163.

45. Liu, S.; Xie, L.; Zheng, J.; Jiang, R.; Zhu, F.; Luan, T.; Ouyang, G., *Mesoporous TiO<sub>2</sub> nanoparticles for highly sensitive solid-phase microextraction of organochlorine pesticides*. *Analytica chimica acta*, 2015. **878**: p. 109-117.
46. Xu, J.; Wu, R.; Huang, S.; Yang, M.; Liu, Y.; Liu, Y.; Jiang, R.; Zhu, F.; Ouyang, G., *Polyelectrolyte microcapsules dispersed in silicone rubber for in vivo sampling in fish brains*. *Analytical chemistry*, 2015, **87** (20): p. 10593-10599.
47. Beamud, E.; Núñez, P.; García-Plaza, E.; Rodríguez, D.; González, A.; García, J., *Impact of electrolyte concentration on surface gloss in electropolished stainless steel*. *Procedia Manufacturing*, 2017. **13**: p. 663-670.
48. Huang, Z.; Liu, S.; Xu, J.; Yin, L.; Zheng, J.; Zhou, N.; Ouyang, G., *Porous organic polymers with different pore structures for sensitive solid-phase microextraction of environmental organic pollutants*. *Analytica Chimica Acta*, 2017. **989**: p. 21-28.
49. Zheng, J.; Li, S.; Wang, Y.; Li, L.; Su, C.; Liu, H.; Zhu, F.; Jiang, R.; Ouyang, G., *In situ growth of IRMOF-3 combined with ionic liquids to prepare solid-phase microextraction fibers*. *Analytica Chimica Acta*, 2014. **829**: p. 22-27.
50. Li, L.; Xia Z.; Pawliszyn J., *Selective extraction and enrichment of glycoproteins based on boronate affinity SPME and determination by CIEF-WCID*. *Analytica Chimica Acta*, 2015. **886**: p. 83-90.
51. Tang, Y.; Xu, J.; Chen, L.; Qiu, J.; Liu, Y.; Ouyang, G., *Rapid in vivo determination of fluoroquinolones in cultured puffer fish (Takifugu obscurus) muscle by solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. *Talanta*, 2017. **175**: p. 550-556.
52. Ouyang, G.; Oakes, K. D.; Bragg, L.; Wang, S.; Liu, H.; Cui, S.; Servos, M. R.; Dixon, D. G.; Pawliszyn, J., *Sampling-Rate Calibration for Rapid and Nonlethal Monitoring of Organic Contaminants in Fish Muscle by Solid-Phase Microextraction*. *Environmental Science & Technology*, 2011. **45** (18): p. 7792-7798.
53. Huang, S.; Xu, J.; Wu, J.; Hong, H.; Chen, G.; Jiang, R.; Zhu, F.; Liu, Y.; Ouyang, G., *Rapid detection of five anesthetics in tilapias by in vivo solid phase microextraction coupling with gas chromatography-mass spectrometry*. *Talanta*, 2017. **168**: p. 263-268.
54. Chen, G.; Jiang, R.; Qiu, J.; Cai, S.; Zhu, F.; Ouyang, G., *Environmental fates of synthetic musks in animal and plant: An in vivo study*. *Chemosphere*, 2015. **138**: p. 584-591.
55. Sarafraz-Yazdi, A.; Yekkebash A., *A non-ionic surfactant-mediated sol-gel coating for solid-phase microextraction of benzene, toluene, ethylbenzene and o-xylene in water samples using a gas chromatography-flame ionization detector*. *New Journal of Chemistry*, 2014. **38**(9): p. 4486-4493.
56. Zhang, G.; Zang, X.; Li, Z.; Wang, C.; Wang, Z., *Polydimethylsiloxane/metal-organic frameworks coated fiber for solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in river and lake water samples*. *Talanta*, 2014, **129**: p. 600-605.

57. Cram, S.; Spinks, G.; Wallace, G.; Brown, H., *Mechanism of electropolymerisation of methyl methacrylate and glycidyl acrylate on stainless steel*. *Electrochimica acta*, 2002. **47** (12): p. 1935-1948.
58. Cram, S.; Spinks, G.; Wallace, G.; Brown, H., *Electrochemical polymerization of acrylics on stainless steel cathodes*. *Journal of applied polymer science*, 2003. **87** (5): p. 765-773.
59. Ling, X.; Byerley, J.; Pritzker, M.; Burns, C., *Critical effect of pH on the formation of organic coatings on mild steel by the aqueous electropolymerization of 2-vinylpyridine*. *Journal of applied electrochemistry*, 1997. **27** (12): p. 1343-1348.
60. Goldstein, J.I., et al., *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. 2017: Springer.
61. Goldstein, J., *Practical scanning electron microscopy: electron and ion microprobe analysis*. 2012: Springer Science & Business Media.
62. Luo, Y., et al., *A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment*. *Science of the Total Environment*, 2014. **473**: p. 619-641.
63. Ebele, A.J.; Abou-Elwafa Abdallah M.; Harrad S, *Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment*. *Emerging Contaminants*, 2017. **3**(1): p. 1-16.
64. Yao, L.; Zhao, J.-L.; Liu, Y.-S.; Zhang, Q.-Q.; Jiang, Y.-X.; Liu, S.; Liu, W.-R.; Yang, Y.-Y.; Ying, G.-G., *Personal care products in wild fish in two main Chinese rivers: Bioaccumulation potential and human health risks*. *Science of The Total Environment*, 2017.
66. Jobling, S.; Tyler, C. R., *Introduction: the ecological relevance of chemically induced endocrine disruption in wildlife*. *Environmental health perspectives*, 2006. **114** (Suppl 1), 7.
67. López-Serna, R.; Pérez, S.; Ginebreda, A.; Petrović, M.; Barceló, D., *Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction–liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry*. *Talanta*, 2010. **83** (2): p. 410-424.
68. Estrada-Arriaga, E. B.; Cortés-Muñoz, J. E.; González-Herrera, A.; Calderón-Mólgora, C. G.; de Lourdes Rivera-Huerta, M.; Ramírez-Camperos, E.; Montellano-Palacios, L.; Gelover-Santiago, S. L.; Pérez-Castrejón, S.; Cardoso-Vigueros, L., *Assessment of full-scale biological nutrient removal systems upgraded with physico-chemical processes for the removal of emerging pollutants present in wastewaters from Mexico*. *Science of the Total Environment*, 2016. **571**: p. 1172-1182.
69. Zhang, D.; Gersberg, R. M.; Ng, W. J.; Tan, S. K., *Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: a review*. *Environmental Pollution*, 2014. **184**: p.620-639.

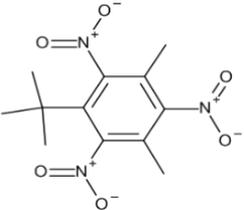
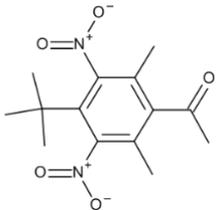
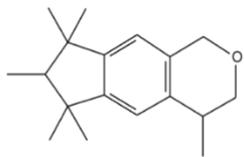
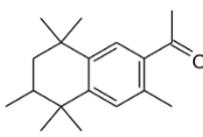
70. Ternes, T.A., *Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2001. **20**(8): p. 419-434.
71. Wang, L., Y. Sun.; Liu Q., *Determination of pharmaceuticals and personal care product components in wastewater using capillary electrophoresis coupled with solid phase extraction*. Analytical Letters, 2015. **48**(6): p. 944-954.
72. Rimkus, G.G., *Synthetic musk fragrances in the environment*. 2004: Springer Science & Business Media.
73. Raineri, S.; Barranco, A.; Primec, M.; Langgerholc, T., *Occurrence and toxicity of musks and UV filters in the marine environment*. Food and Chemical Toxicology, 2017. **104**: p. 57-68.
74. Peck, A.M.; Hornbuckle, K.C., *Synthetic musk fragrances in urban and rural air of Iowa and the Great Lakes*. Atmospheric Environment, 2006. **40**(32): p. 6101-6111.
75. Petrie, B.; Barden R.; Kasprzyk-Hordern B., *A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring*. Water Research, 2015. **72**: p. 3-27.
76. Clara, M.; Gans, O.; Windhofer, G.; Krenn, U.; Hartl, W.; Braun, K.; Scharf, S.; Scheffknecht, C., *Occurrence of polycyclic musks in wastewater and receiving water bodies and fate during wastewater treatment*. Chemosphere, 2011. **82** (8): p. 1116-1123.
77. Ramos, S.; Homem, V.; Alves, A.; Santos, L., *A review of organic UV-filters in wastewater treatment plants*. Environment international, 2016. **86**: p. 24-44.
78. Gros, M.; Petrović M.; Barceló D., *Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters*. Talanta, 2006. **70**(4): p. 678-690.
79. Cabrera, P.J. *Determinación de productos de cuidado personal en lechuga mediante técnicas de preparación de muestras minuatizadas seguida de cromatografía de gases-espectrometría de masas*. UNAM, Facultad de Química, 2017.
80. Miller, J. C., *Estadística y quimiometría para química analítica*. Pearson Educación: 2002.
81. Petrie, B.; Barden R.; Kasprzyk-Hordern B., *A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring*. Water Research, 2015. **72**: p. 3-27.
82. Ebele, A. J.; Abou-Elwafa Abdallah, M.; Harrad, S., *Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment*. Emerging Contaminants, 2017. **3** (1): p. 1-16. Castrillejo,
83. Y.; Hernández, P.; Rodríguez, J.; Vega, M.; Barrado, E., *Electrochemistry of scandium in the eutectic LiCl–KCl*. Electrochimica Acta, 2012. **71**: p. 166-172.

84. Xue, Y.; Xiao, H., *Antibacterial/Antiviral Property and Mechanism of Dual-Functional Quaternized Pyridinium-type Copolymer*. *Polymers*, 2015. **7** (11): p. 2290-2303.
85. Ramos, S.; Homem, V.; Santos, L., *Simultaneous determination of synthetic musks and UV-filters in water matrices by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography tandem mass-spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 2019.

## ANEXOS

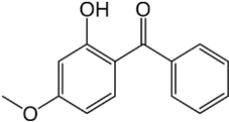
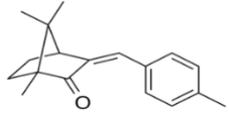
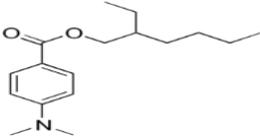
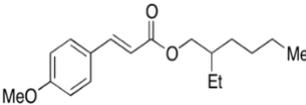
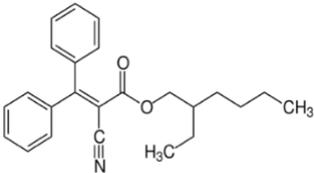
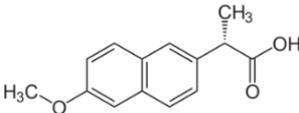
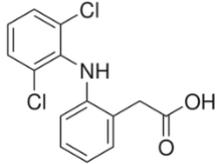
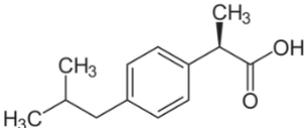
### ANEXO I

**Cuadro 2.1** Estructura y propiedades fisicoquímicas de algunos contaminantes emergentes.

	Nombre IUPAC	Nombre común (abreviación)	Estructura	Log K <sub>OW</sub>	pK <sub>a</sub>	S (mg L <sup>-1</sup> )
ALMIZCLES	1-terbutil-3,5-dimetil-2,4,6-trinitrobenzeno	Almizcle xileno		4.9	-	0.490
	4-terbutil-2,6-dimetil-3,5-dinitroacetofenona	Almizcle cetona		4.3	-	0.460
	1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil-ciclopenta[g]-2-benzopirano	Galaxolida (HHCB)		5.9	-	1.750
	1-(5,6,7,8-tetrahidro-3,5,5,6,8,8-hexametil-2-naftalenil)-etanona	Tonalida (AHTN)		5.7	-	1.250

K<sub>OW</sub>: constante de reparto octanol/agua, K<sub>a</sub>: constante de acidez, S: solubilidad en agua a 25° C.

**Cuadro 2.1** Estructura y propiedades fisicoquímicas (continuación).

	Nombre IUPAC	Nombre común (abreviación)	Estructura	Log K <sub>ow</sub>	pK <sub>a</sub>	S (mg L <sup>-1</sup> )
FILTROS UV	(2-hidroxi-4-metoxifenil)-fenilmetanona	Oxibenzona (BP-3)		3.7	7.6	3.700
	1,7,7-trimetil-3-[(4-metilfenil)metilen]-biciclo[2.2.1]heptanona	4-metilbencilideno canfor (4-MBC)		5.1	-	0.017
	2-etilhexil-4-(dimetilamino)benzoato	Padimato-O (O-PABA)		5.7	-	0.005
	2-etilhexil-3-(4-metoxifenil)-2-propanoato	2-etilhexil metoxicinamato (2-EHMC)		5.3	-	0.002
	2-etilhexil-2-ciano-3,3-difenil-2-propanoato	Octocrileno (OCT)		7.1	-	0.004
FÁRMACOS	ácido-2-(6-metoxi-2-naftil)propanoico	Naproxeno		3.2	4.15	15.900
	ácido-2-(2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil)acético	Diclofenaco		4.5	4.15	2.370
	ácido-2-(4-isobutilfenil)-2-metilpropanoico	Ibuprofeno		4.0	5.2	21.000

K<sub>ow</sub>: constante de reparto octanol/agua, K<sub>a</sub>: constante de acidez, S: solubilidad en agua a 25° C.

## Anexo II

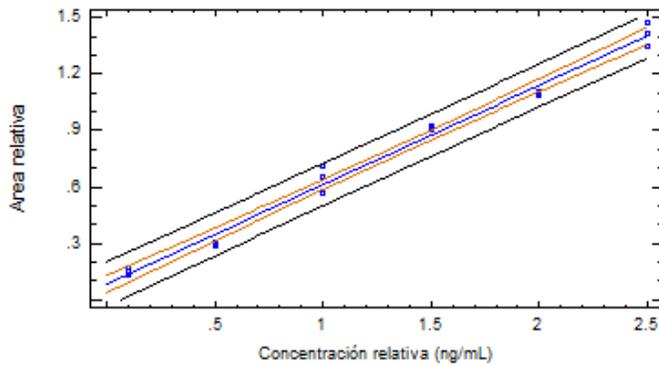
Todos los análisis estadísticos se realizaron a partir del programa STATGRAPHICS Centurion y la comparación de medias con XLSTAT.

Curvas de calibración obtenidas con las **fibras fabricadas** para los PCP por SPME-GC.

Dado que el *Valor-P* es menor que .05 se dice que existe una relación estadísticamente significativa entre *y* y *x* con un nivel de confianza del 95%, lo que nos indica que los datos obtenidos ajustan al método de regresión lineal utilizado.

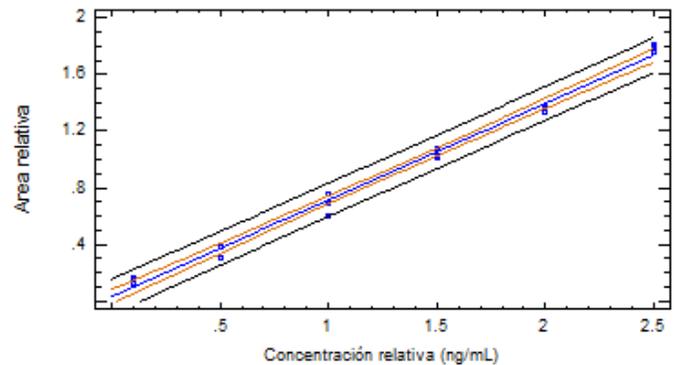
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
.15	. 0

HHCB  
 $y = .0846443 + .527455*x$



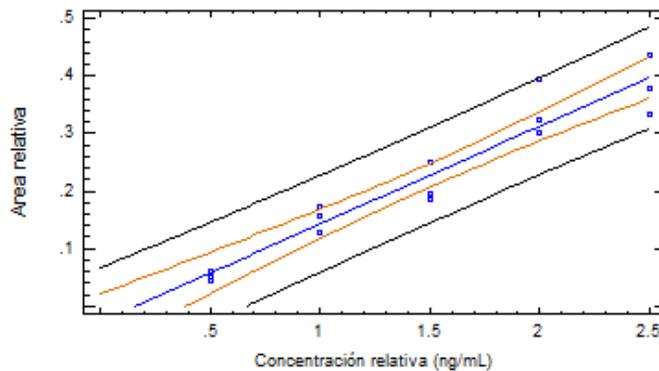
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
1973.71	. 0

AHTN  
 $y = .032901 + .681044*x$



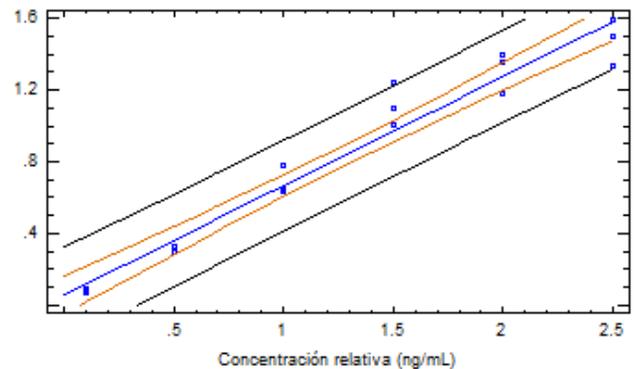
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
156.27	. 0

BP-3  
 $y = -.0272183 + .169897*x$



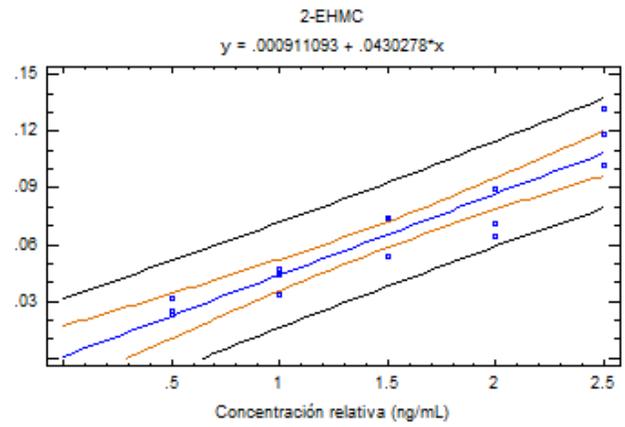
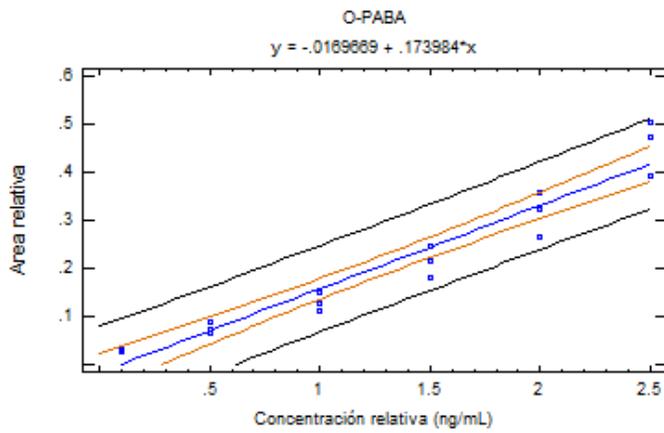
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
344.17	. 0

4-MBC  
 $y = .0561194 + .609888*x$

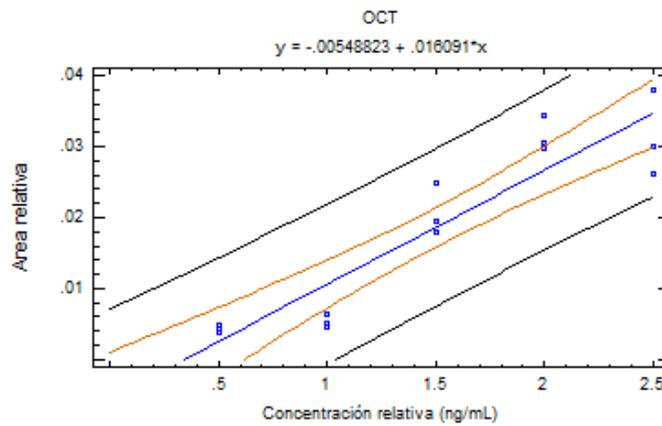


<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
220.6	. 0

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
91.95	. 0



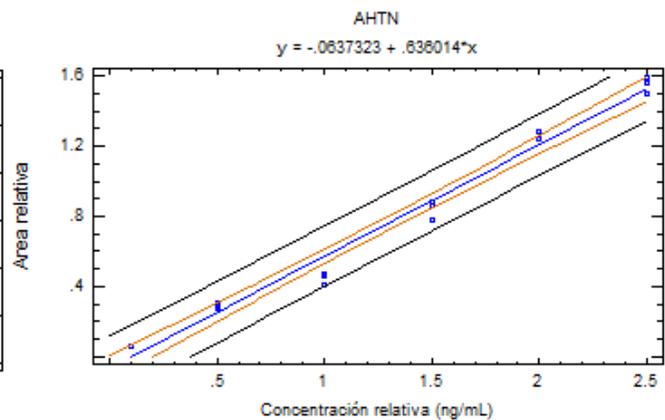
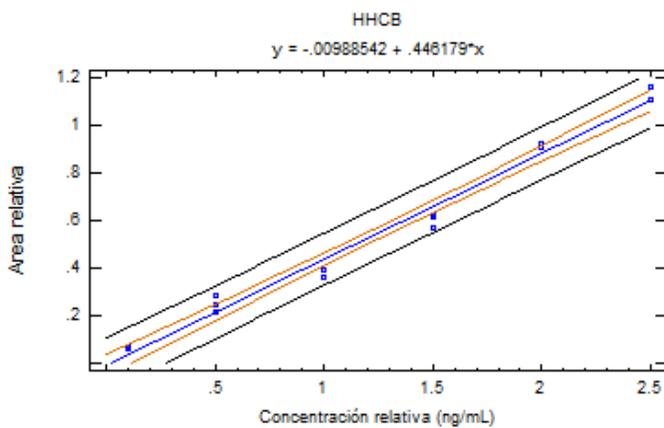
*Razón-F*      *Valor-P*



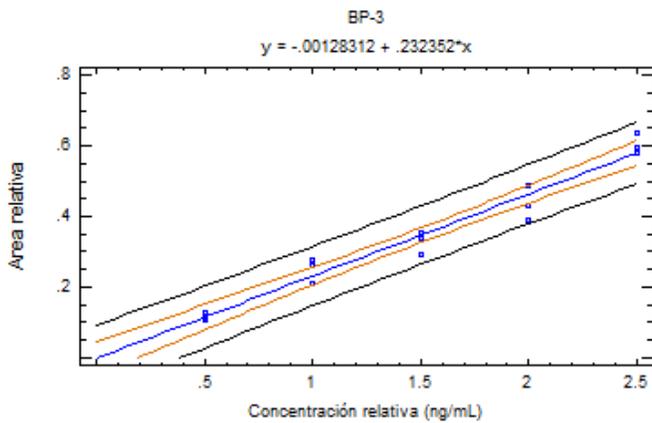
Curvas de calibración obtenidas con una **fibra comercial** para los PCP por SPME-GC.

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
979.93	. 0

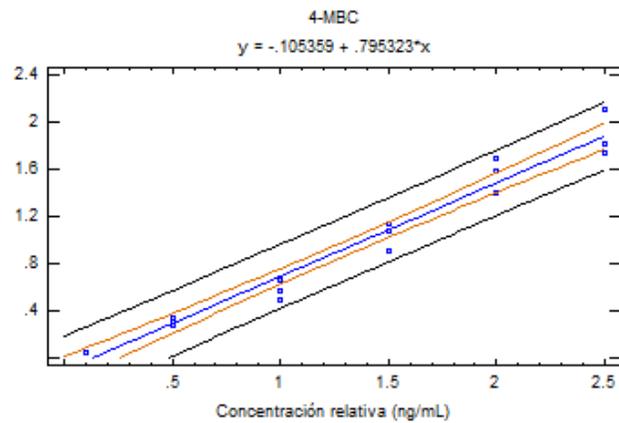
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
804.19	. 0



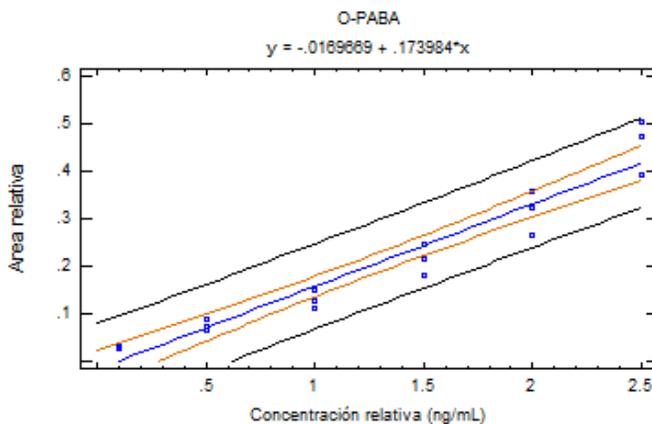
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>294.11</b>	<b>. 0</b>



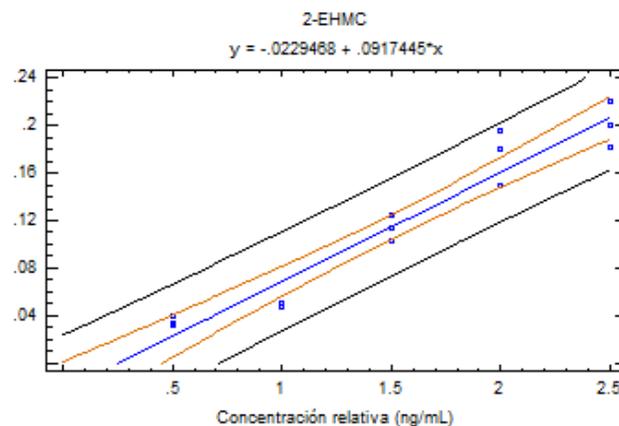
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>502.55</b>	<b>. 0</b>



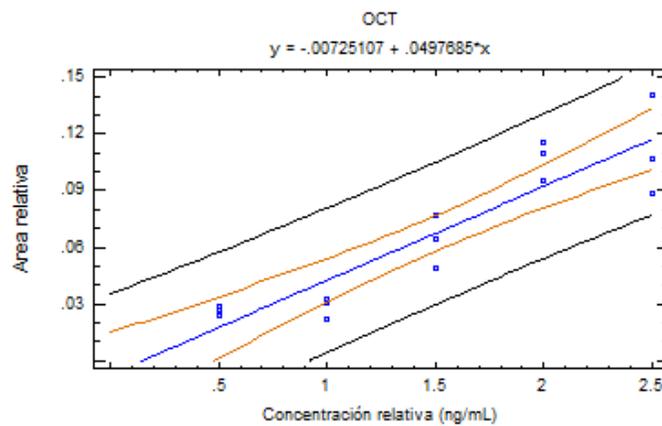
<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>268.81</b>	<b>. 0</b>



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>185.21</b>	<b>. 0</b>



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>65.16</b>	<b>. 0</b>



### Anexo III

Se realiza el análisis estadístico completo para la comparación de dos medias muestrales de 7 PCP mediante SPME con una fibra comercial y una fabricada

Los pasos que se siguieron son los siguientes:

- 1) Primero se determina si los datos presentan una distribución paramétrica normal
- 2) Se plantea la hipótesis nula y alternativa

$$H_0: X_1 - X_2 = 0$$

$$H_1: X_1 - X_2 \neq 0$$

- 3) Se establece el nivel de confianza  $1 - \alpha = 95\%$
- 4) Demostramos la homocedasticidad de los datos, a partir de una prueba Fisher

$$H_0: S_1^2 / S_2^2 = 1$$

$$H_1: S_1^2 / S_2^2 \neq 1$$

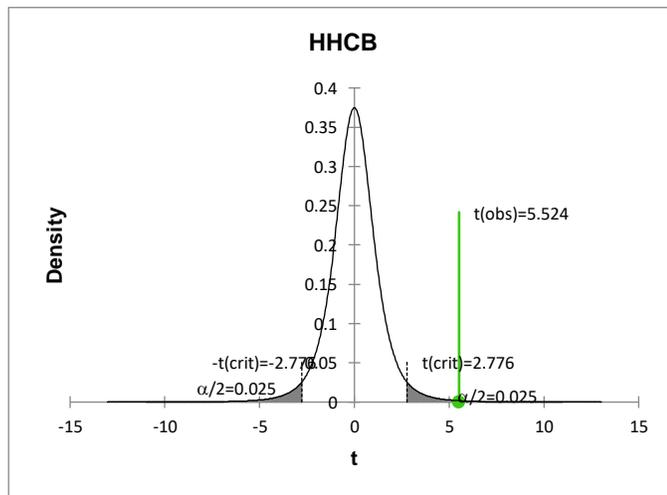
El resultado para cada uno de los analitos se muestran a continuación:

#### HHCB

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	9.146
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	5.524
t crítica	2.776

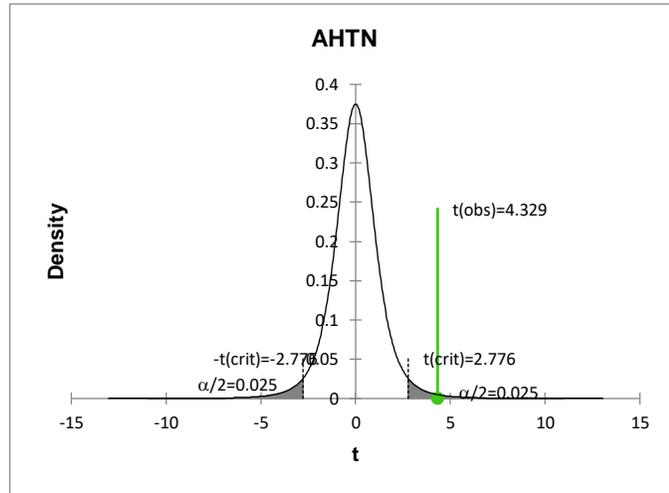


### AHTN

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	1.00
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	4.329
t  crítica	2.776

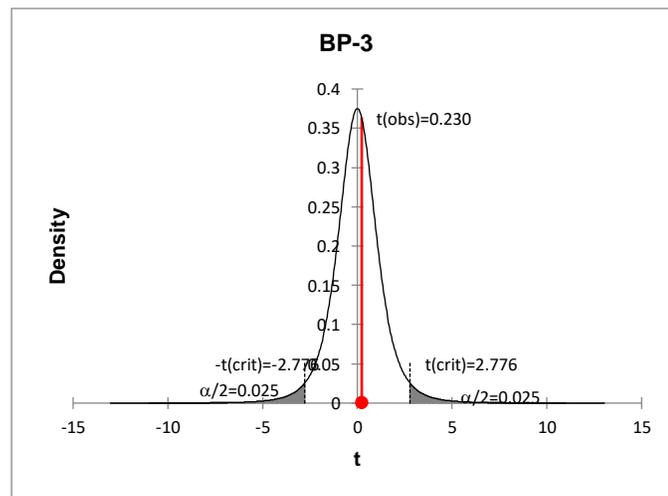


### BP-3

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	1.866
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.230
t  crítica	2.776

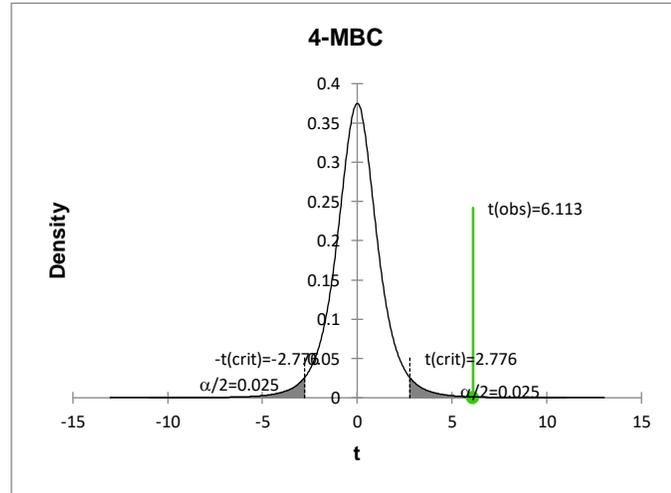


#### 4-MBC

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	2.615
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	6.113
t  crítica	2.776

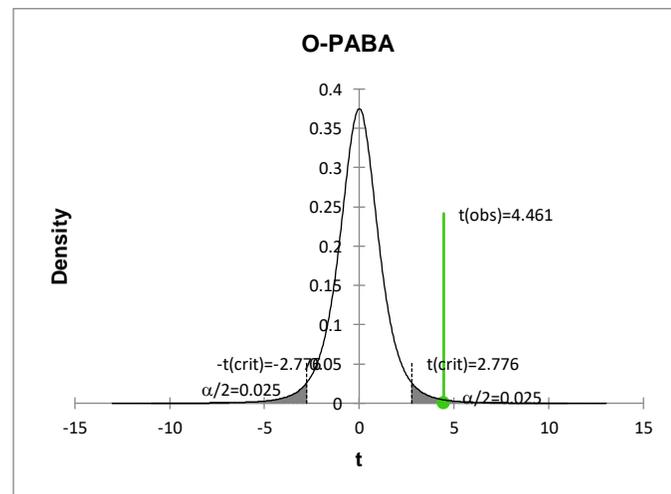


#### O-PABA

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	5.873
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	4.461
t  crítica	2.776

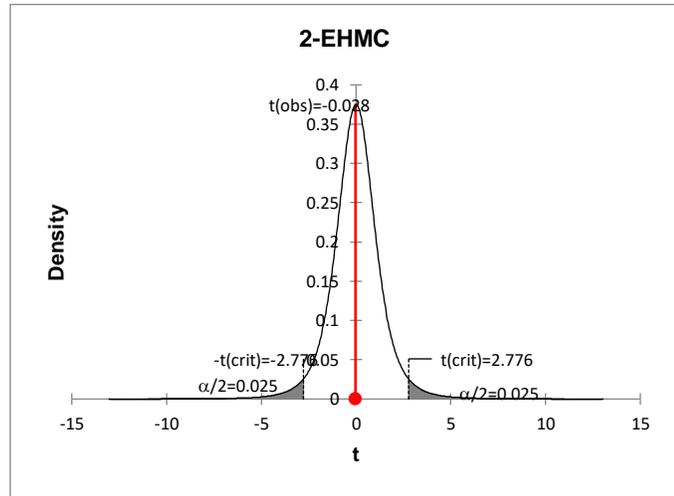


## 2-EHMC

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	1.677
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.028
t crítica	2.776

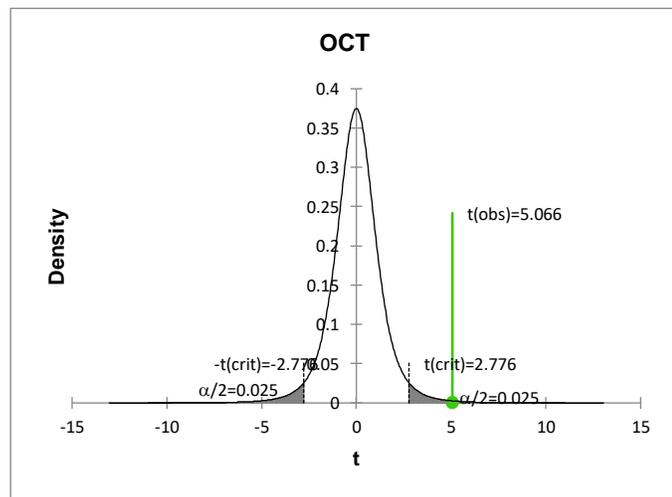


## OCT

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	17.207
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	5.066
t crítica	2.776



## Anexo IV

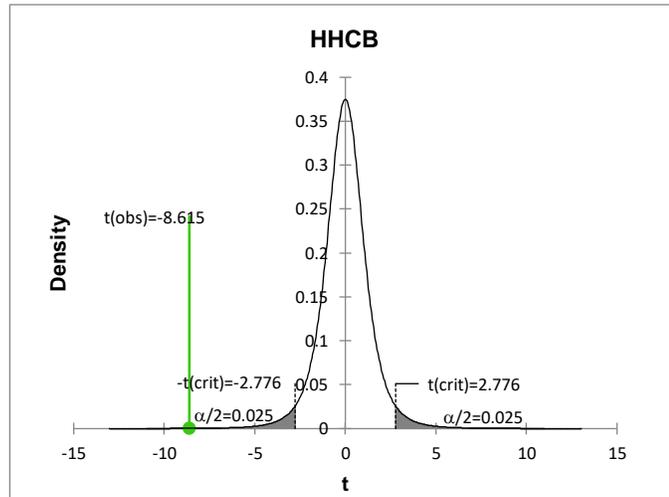
Al igual que en el Anexo 1, se realiza el análisis estadístico para la comparación de dos medias muestrales de 7 PCP mediante SPME con dos fibras fabricadas por distintos procedimientos de elaboración, el resultado para cada uno de los analitos se muestran a continuación:

### HHCB

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	0.606
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	-8.615
t  crítica	2.776

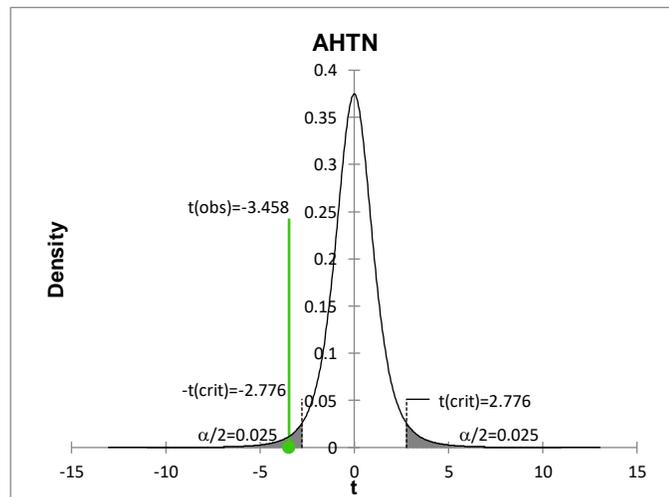


### AHTN

- 5) Paramétrica
- 6)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 7) 95% de confianza
- 8) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	17.015
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	-3.458
t  crítica	2.776

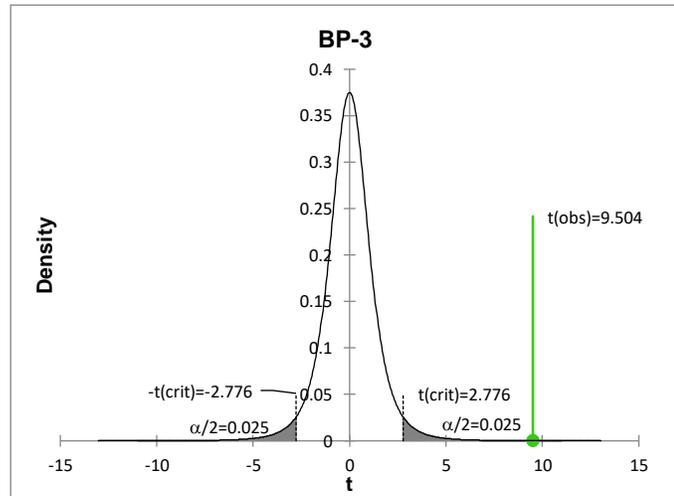


### BP-3

- 5) Paramétrica
- 6)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 7) 95% de confianza
- 8) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	12.976
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	9.504
t  crítica	2.776

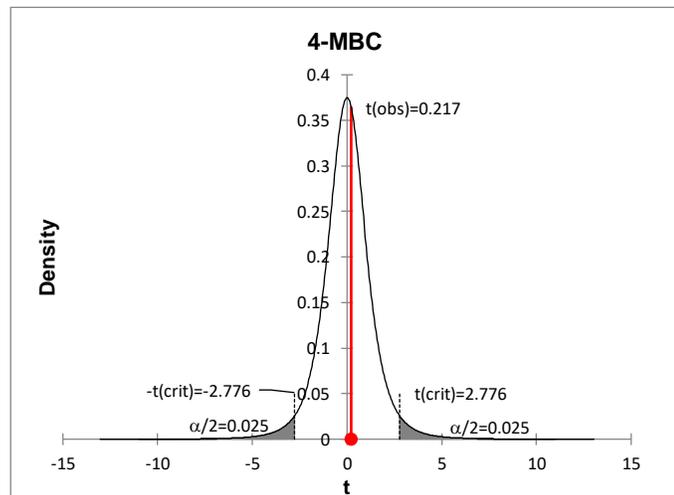


### 4-MBC

- 5) Paramétrica
- 6)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 7) 95% de confianza
- 8) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	1.461
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.217
t  crítica	2.776

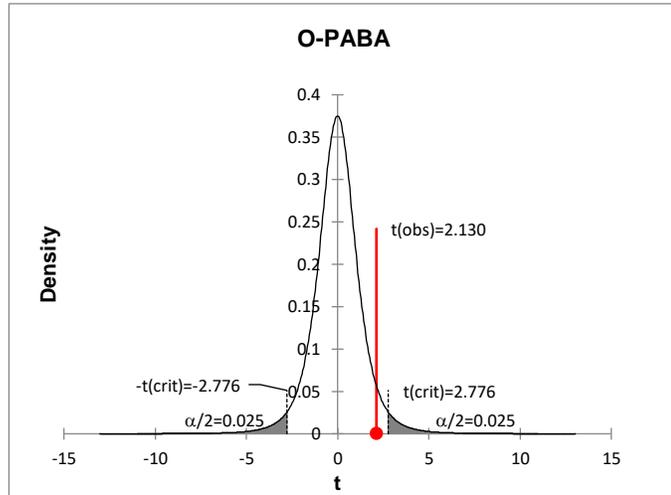


### O-PABA

- 5) Paramétrica
- 6)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 7) 95% de confianza
- 8) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	19.100
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	2.130
t crítica	2.776

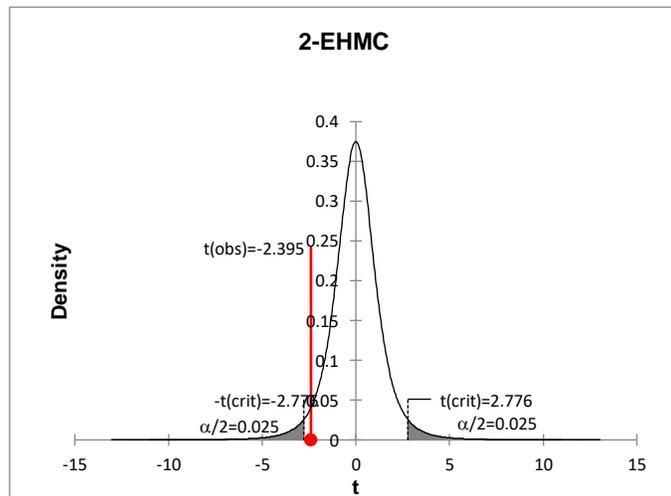


### 2-EHMC

- 5) Paramétrica
- 6)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 7) 95% de confianza
- 8) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	0.463
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	-2.395
t crítica	2.776

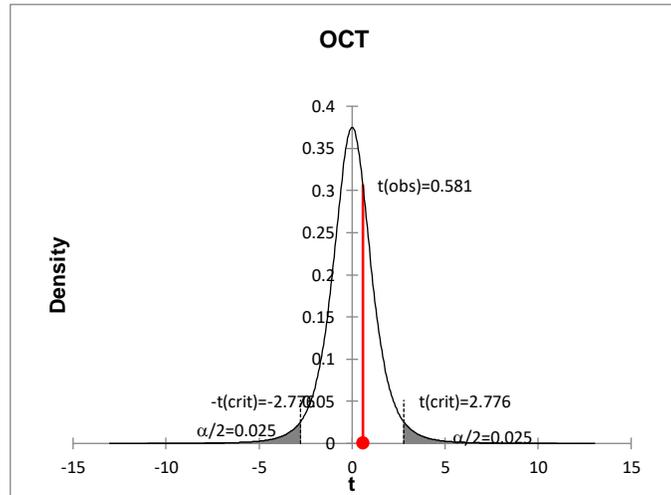


### OCT

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	29.451
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.581
t crítica	2.776



### Anexo V

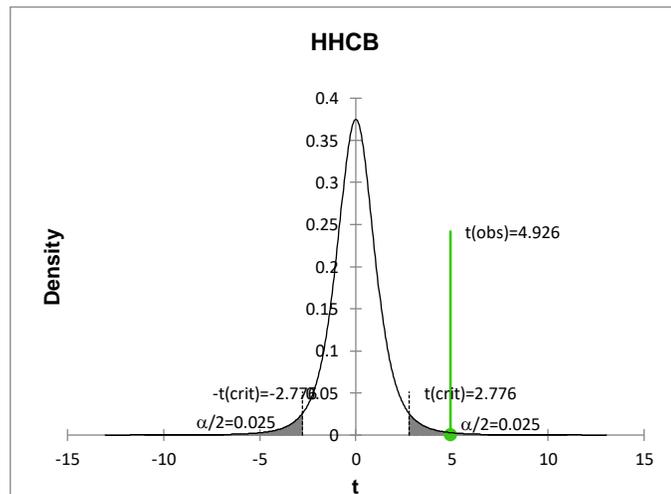
Así mismo se realizó el análisis estadístico completo para la comparación de dos medias muestrales (t student) para 7 PCPs mediante SPME con dos fibras de PDMS comerciales.

### HHCB

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	2.448
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	4.926
t crítica	2.776

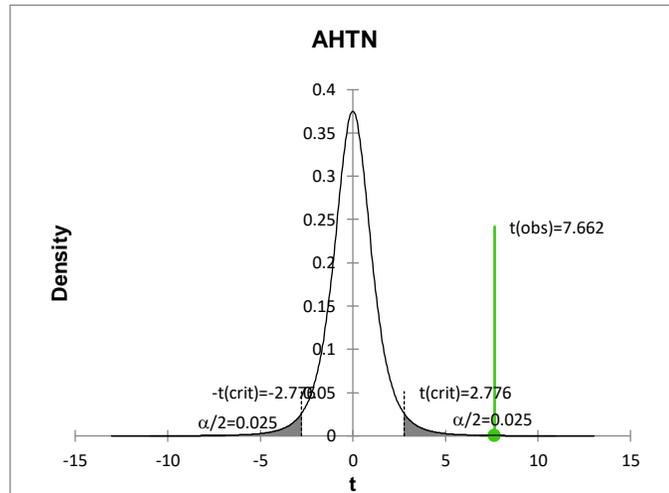


### AHTN

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	0.386
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	7.662
t  crítica	2.776

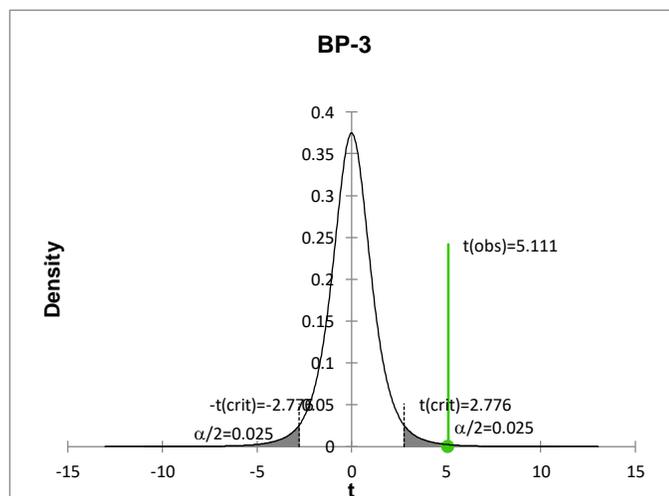


### BP-3

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	4.752
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	5.111
t  crítica	2.776

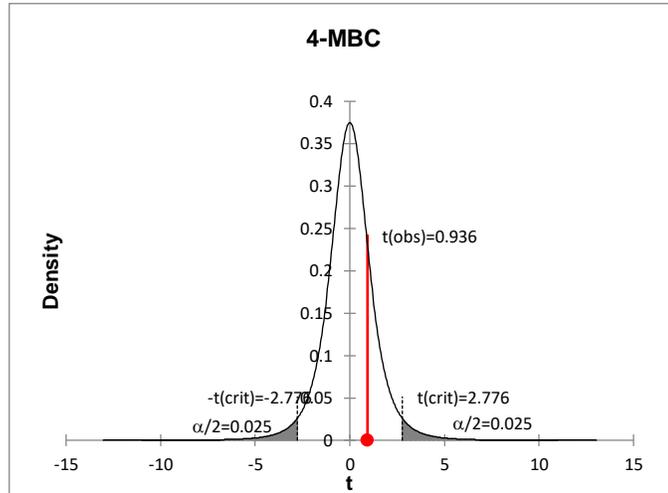


#### 4-MBC

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	0.913
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.936
t crítica	2.776

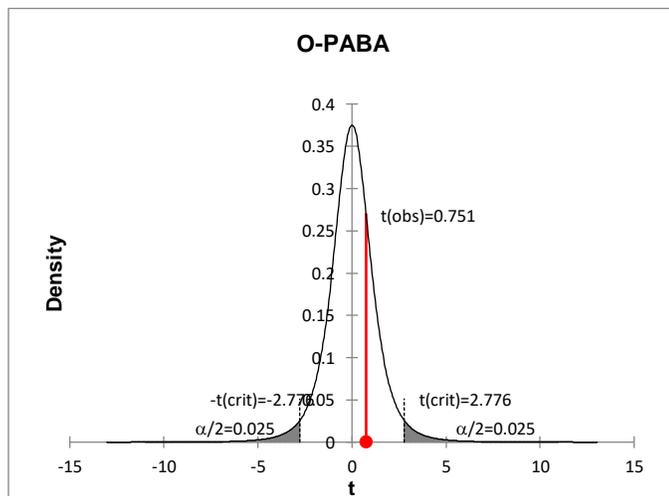


#### O-PABA

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	19.100
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.751
t crítica	2.776

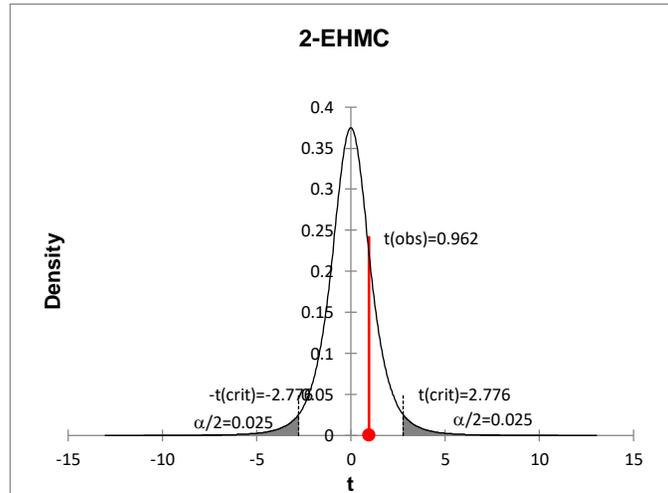


## 2-EHMC

- 1) Paramétrica
- 2)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 3) 95% de confianza
- 4) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	0.150
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	0.962
t crítica	2.776

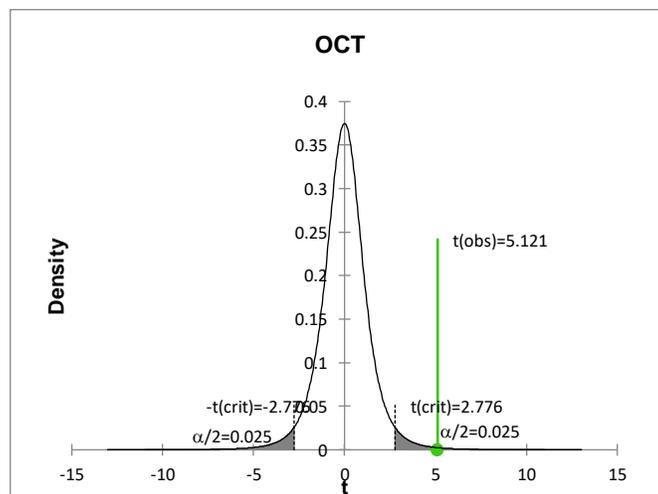


## OCT

- 5) Paramétrica
- 6)  $H_0: X_1 - X_2 = 0$   
 $H_1: X_1 - X_2 \neq 0$
- 7) 95% de confianza
- 8) Homocedástica

Prueba Fisher	
F observada	29.451
F crítica	39.000

Prueba t student	
t observada	5.121
t crítica	2.776



## Anexo VI

### Prueba de apareamiento de datos (t)

Se desea evaluar el desempeño de las fibras fabricadas respecto al de las comerciales a partir del análisis de PCPs en agua a  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  con Fenantreno como estándar interno. Las áreas relativas obtenidas con ambas fibras se muestran en el **Cuadro I**.

**Cuadro I.** Áreas relativas de PCPs e

Analitos	Fib fabricadas	Fib comerciales	Diferencia
Galaxolida	0.2456	0.2073	-0.0382
Tonalida	0.2926	0.2556	-0.0370
4-MBC	0.0688	0.0987	0.0299
Padimato	0.1991	0.2903	0.0911
Oxibenzona	0.0755	0.0642	-0.0112
2-EHMC	0.0123	0.0340	0.0217
Octocrileno	0.0133	0.0201	0.0067
		$\bar{X}_d =$	0.0090
		$S_d =$	0.0416

1) Es paramétrica por el teorema central del límite.  
 2)  $H_0: \bar{X}_d = 0$   
 $H_1: \bar{X}_d \neq 0$   
 3) 95% de confianza

$$4) t_0 = \frac{\bar{x}_d \sqrt{n}}{s_d} = \frac{0.0090 \sqrt{7}}{0.0416} = 0.572$$

$$\tau = 7-1 \quad t_c = 2.45$$

$t_0 < t_c \therefore H_0$  se acepta

Las diferencias en las determinaciones con las fibras fabricadas y comerciales no son significativas.

## Anexo VII

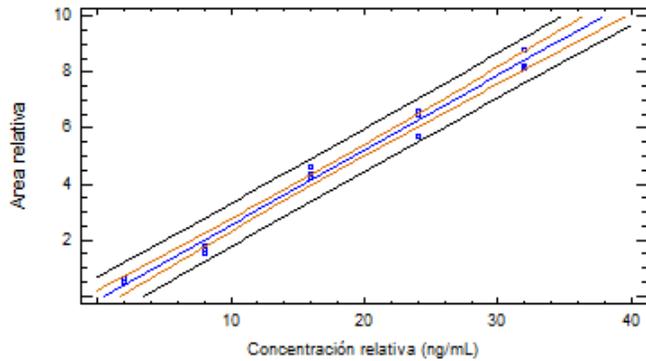
Curvas de calibración para la determinación de los 7 PCP en aguas residuales y naturales por SPME-GC-MS.

Dado que el *Valor-P* es menor que .05 se dice que existe una relación estadísticamente significativa entre  $y$  y  $x$  con un nivel de confianza del 95%, lo que nos indica que los datos obtenidos ajustan al método de regresión lineal utilizado.

<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
1065.08	. 0

HHCB

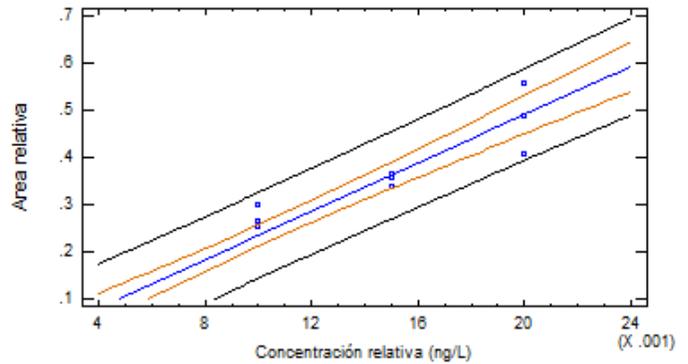
$$y = -.139246 + .267449 \cdot x$$



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
250.97	. 0

AHTN

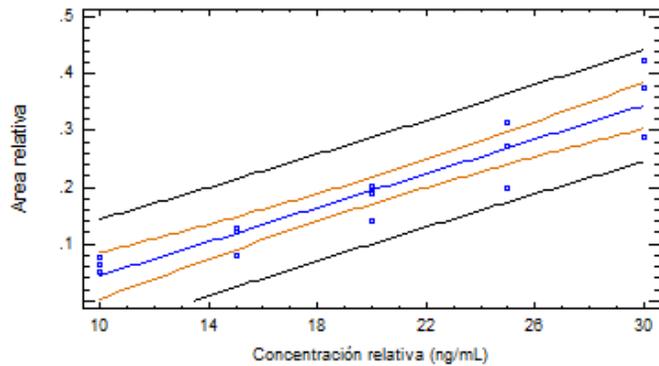
$$y = -.0230049 + 25.6871 \cdot x$$



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
95.45	. 0

BP-3

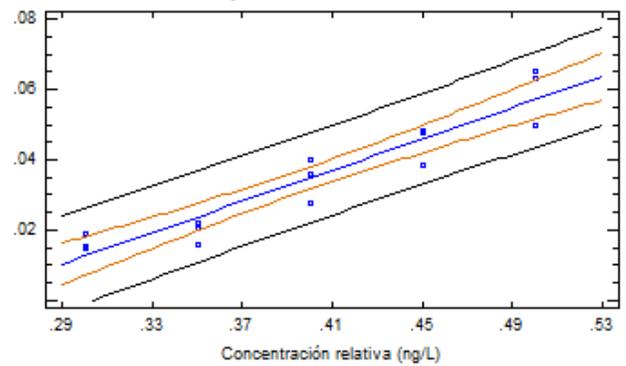
$$y = -.106255 + .0150254 \cdot x$$



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
113.25	. 0

4-MBC

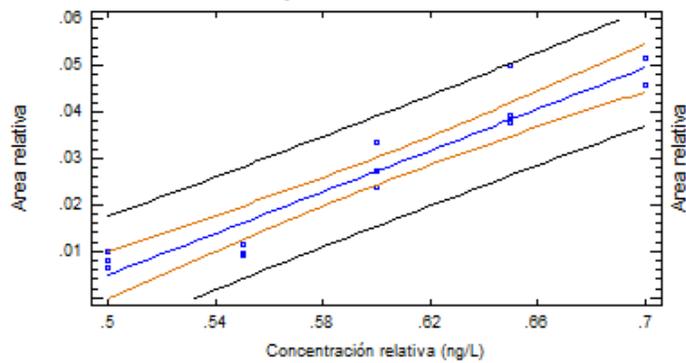
$$y = -.0540799 + .222264 \cdot x$$



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
131.88	. 0

O-PABA

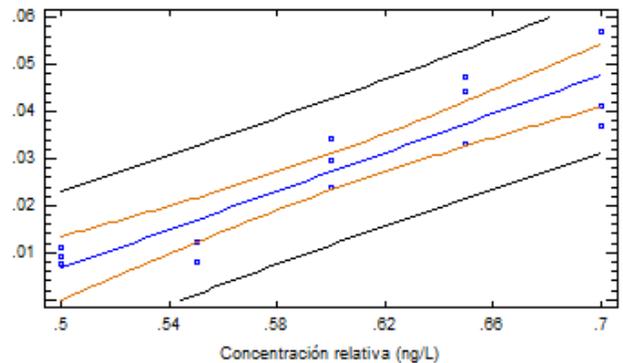
$$y = -.106519 + .22299 \cdot x$$



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
65.09	. 0

2-EHMC

$$y = -.0958252 + .205037 \cdot x$$



<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
54.28	. 0

