



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

Optimización y validación de un método cromatográfico para determinar ácidos carboxílicos perfluoroalquilados en muestras ambientales. Análisis de su movilidad y retención de los compuestos en un piedemonte regado con agua residual

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA

M. en C. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela

Dra. Blanca Lucía Prado Pano  
Instituto de Geología, UNAM

Ciudad de México, noviembre, 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

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

**TEMA DE TESIS**

**Optimización y validación de un método cromatográfico para determinar ácidos carboxílicos perfluoroalquilados en muestras ambientales. Análisis de su movilidad y retención de los compuestos en un piedemonte regado con agua residual**

**T E S I S**

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

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

**M. en C. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela**

Dra. Blanca Lucía Prado Pano  
Instituto de Geología, UNAM



Ciudad de México,

2022

## **Jurado asignado**

PRESIDENTE: Dra. Josefina de Gyves Marciniak

VOCAL: Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez

VOCAL: Dr. Alberto Rojas Hernández

VOCAL: Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez

SECRETARIO: Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero

## **Lugar donde se desarrolló el trabajo**

Laboratorio 132, Departamento de Edafología, Edificio Principal, Instituto de Geología, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México.



---

Tutor  
Dra. Blanca Lucía Prado Pano



---

Sustentante  
M. en C. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela

## **Agradecimientos**

Al CONACYT por la beca otorgada para realizar los estudios de doctorado del alumno Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela con número CVU 662871.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM por su invaluable apoyo a lo largo de mis estudios de posgrado.

Al Dr. José Luz González Chávez y el Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero por ser parte del Comité Tutoral dentro del Programa de Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM y brindarme todo su apoyo y asesoría a lo largo del proyecto

Al proyecto DGAPA PAPIIT IV200321. Potencial de diseminación ambiental de SARS-COV-2; Un enfoque de riesgo a partir del suelo y ciclo urbano del agua en el centro de México.

DGAPA PAPIIT IG101221. Respuesta de las interacciones entre contaminantes, nutrientes y microorganismos al tratamiento del agua en los suelos del Valle del Mezquital y su efecto en la dispersión de multidrogoresistencia.

Proyecto SEP-CONACYT-ANUIES-ECOS NORD FRANCIA 000000000296672, Comprender y modelar el rol de la estructura del suelo en los procesos de retención, degradación y transporte de contaminantes.

Al Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental del Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (LUNA-ICAT), UNAM. Por el uso de instalaciones, equipos, materiales y reactivos necesarios para el desarrollo de la tesis.

A la M. en C. Viridiana Maturano Rojas muestras del Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental, ICAT, UNAM. Por la asesoría y apoyo brindando en el uso de instrumentos del laboratorio para el tratamiento de muestras ambientales.

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

Al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM) de la UNAM, por el uso de sus instalaciones y materiales para la toma, transporte y almacenamiento de las muestras recolectadas para el presente trabajo.

A la Dra. Olivia Zamora Martínez y al Laboratorio de Cromatografía del Departamento de Ciencias Ambientales y del Suelo del Instituto de Geología, UNAM. Por el apoyo y asesoría técnica brindado en la planeación, desarrollo e implementación de los análisis cromatográficos realizados para el presente trabajo.

Al M. en C. Mario Cayetano Salazar del Instituto de Geografía, UNAM. Por el apoyo brindado durante la asesoría y toma de muestras ambientales dentro de la Zona Metropolitana del Valle de México.

A la Dra. Lucy Natividad Mora Palomino del Instituto de Geología, UNAM. Por el apoyo técnico brindado durante la toma de muestras ambientales en el Valle del Mezquital, Hidalgo.

Al jurado evaluador Dra. Josefina de Gyves y Marciniak, Dra. Araceli Peña Álvarez, Dr. Alberto Rojas Hernández, Dra. Alma Revilla y Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero. Por su valioso tiempo, apoyo y correcciones brindadas para la tesis doctoral.

## Productos académicos

### Publicaciones

Mario Rodríguez-Varela, Juan C. Durán-Álvarez, Blanca Jiménez-Cisneros, Olivia Zamora, Blanca Prado. *Ocurrence of perfluorinated carboxylic acids in Mexico City's wastewater: A monitoring study in the sewerage and mega wastewater treatment plant*, Science of the Total Environment, 774, 145060, (2021).

DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.145060

### Congresos

SETAC Latin America 13<sup>th</sup> Biennial Meeting. Presentación oral. *Method validation, determination, and fate of short and long PFCAs in raw and treated wastewater from Mexico City*, Universidad de Cartagena y la Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Cartagena de Indias, Colombia (2019).



## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>4</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>7</b>
<b>ACRÓNIMOS</b> .....	<b>9</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>10</b>
<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	<b>12</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
<b>4. CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES</b> .....	<b>14</b>
4.1. ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PERFLUORADOS (PFCAs).....	14
4.2. HITOS EN LA PRODUCCIÓN DE PFCAs.....	15
4.3. DESTINO AMBIENTAL .....	16
4.4. DETERMINACIÓN AMBIENTAL .....	19
<b>5. CAPÍTULO 2. EL SITIO DE ESTUDIO</b> .....	<b>21</b>
<b>6. CAPÍTULO 3. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	<b>23</b>
6.1. CRITERIOS Y SELECCIÓN DE LOS COMPUESTOS A EVALUAR .....	23
6.2. PUNTOS DE MONITOREO Y TOMA MUESTRA .....	25
6.3. TOMA DE MUESTRA .....	28
6.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS PFCAs POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA VÍA HPLC-MS/MS/QQQ .....	28
6.5. CONDICIONES DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE PFCAs.....	29
6.6. ANÁLISIS DE BLANCOS Y ESTRATEGIAS ANALÍTICAS PARA REDUCIR LA CONTRIBUCIÓN DE INTERFERENTES DE PFCAs CONTENIDOS INTRÍNSECAMENTE EN MATERIALES E INSTRUMENTOS.....	30
6.7. VALIDACIÓN INSTRUMENTAL DEL SISTEMA HPLC-MS/MS.....	32
6.8. PRETRATAMIENTO DE MUESTRA. EVALUACIÓN DE LA PÉRDIDA DE ANALITOS EN EL PROCESO DE CENTRIFUGACIÓN EN MATRICES ACUOSAS.....	33
6.9. EXTRACCIÓN DE PFCAs DE MATRICES ACUOSAS. AGUA (GRADO HPLC), RESIDUAL CRUDA, RESIDUAL TRATADA, SUPERFICIAL Y SUBTERRÁNEA.....	33
6.10. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS SPE-HPLC-MS/MS/QQQ PARA LA DETERMINACIÓN DE PFCAs EN MATRICES ACUOSAS. ....	35
6.11. ANÁLISIS DE PFCAs EN LAS MUESTRAS DE AGUA.....	37

6.12. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS PARA LOS ESTUDIOS DE TRANSPORTE DE PFCAs .....	38
6.13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	39
<b>7. CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>40</b>
7.1. IDENTIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS PFCAs MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS.....	40
7.2. IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE LAS REACCIONES DE FRAGMENTACIÓN SELECTIVAS ION PRECURSOR-ION PRODUCTO CUANTITATIVAS Y DE CONFIRMACIÓN. EXPERIMENTOS DE BARRIDO DE ION-FRAGMENTO, <i>PRODUCT ION</i> .....	43
7.3. OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS INSTRUMENTALES DEL ESPECTRÓMETRO DE MASAS. INCREMENTO DE LA SEÑAL ANALÍTICA EN LAS REACCIONES DE TRANSICIÓN. ...	44
7.4. CONDICIONES DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE PFCAs.....	44
7.5. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN INSTRUMENTALES DEL SISTEMA HPLC-MS/MS DEPENDIENTES DE LA FASE MÓVIL CROMATOGRÁFICA.....	47
7.6. ANÁLISIS DE BLANCOS Y ESTRATEGIAS ANALÍTICAS PARA REDUCIR LA CONTRIBUCIÓN DE INTERFERENTES DE PFCAs CONTENIDOS EN MATERIALES E INSTRUMENTOS .....	49
7.6.1. ANÁLISIS DE BLANCOS Y REDUCCIÓN DE INTERFERENCIAS DEL CROMATÓGRAFO DE LÍQUIDOS .....	49
7.6.2. ANÁLISIS DE BLANCOS Y REDUCCIÓN DE INTERFERENCIAS EN LOS MATERIALES UTILIZADOS DURANTE EL TRATAMIENTO DE MUESTRAS .....	51
7.7. VALIDACIÓN INSTRUMENTAL DEL SISTEMA HPLC-MS/MS.....	52
7.8. PRETRATAMIENTO DE MUESTRA. EVALUACIÓN DE LA PÉRDIDA DE ANALITOS EN EL PROCESO DE CENTRIFUGACIÓN EN MATRICES ACUOSAS .....	55
EXTRACCIÓN DE PFCAs DE MATRICES ACUOSAS. AGUA (GRADO HPLC), RESIDUAL CRUDA, RESIDUAL TRATADA, SUPERFICIAL Y SUBTERRÁNEA.....	55
7.9. VALIDACIÓN DEL MÉTODO SPE-HPLC-MS/MS/QQQ PARA LA DETERMINACIÓN DE PFCAs EN MATRICES ACUOSAS.....	61
7.10. ANÁLISIS DE PFCAs EN LAS MUESTRAS DE AGUA.....	71
7.11. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL EN LA CONCENTRACIÓN DE LOS PFCAs .....	75

7.12. DESTINO AMBIENTAL DE LOS PFCAs EN UN PIEDEMONTE REGADO CON AGUA RESIDUAL EN EL VALLE DEL MEZQUITAL.....	79
<b>8. CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS .....</b>	<b>82</b>
8.1. CONCLUSIONES.....	82
8.2. PERSPECTIVAS.....	83
<b>9. REFERENCIAS .....</b>	<b>84</b>
<b>10. ANEXO 1 .....</b>	<b>93</b>
<b>11. ANEXO 2 .....</b>	<b>109</b>
<b>12. ANEXO 3 .....</b>	<b>116</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de los ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs) ....	14
Figura 2. Hitos del uso y producción de PFCAs .....	16
Figura 3. Fuentes, rutas de acceso, concentraciones y destino ambiental de los PFCAs en el ambiente .....	18
Figura 4. Rutas y puntos de monitoreo del drenaje dentro de la Zona Metropolitana del Valle de México; Gran Canal de Desagüe, Emisor Central y el canal de irrigación Tlamaco-Juandhó.....	26
Figura 5. Esquema y localización de los puntos de monitoreo elegidos dentro de la PTAR Atotonilco.....	27
Figura 6. Sitios de monitoreo correspondientes al piedemonte de irrigación agrícola. Donde, CI= Canal de irrigación, AS= Agua Subterránea y AM= Agua de Manantial .....	38
Figura 7. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluorobutanoico PFBA.....	40
Figura 8. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluorohexanoico PFHxA.....	40
Figura 9. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluoroheptanoico PFHpA.....	41
Figura 10. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluorooctanoico PFOA.....	41
Figura 11. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluoroundecanoico PFUnA.....	42
Figura 12. Cromatograma por monitoreo de reacción múltiple del análisis de la disolución estándar de PFCAs (1 mg L <sup>-1</sup> ). PFBA (tr=5.397 min), PFHxA (tr=16.732 min), PFHpA (tr=20.110 min), PFOA (tr=22.144 min) y PFUnA (tr=26.072 min) ...	45

Figura 13. Efecto del acetato de amonio ( $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ ) sobre la separación cromatográfica de PFCAs. a) Cromatograma sin $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ , b) Cromatograma con $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ .	46
Figura 14. Efecto de la concentración de $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ sobre la señal analítica de los PFCAs	46
Figura 15. Secuencias cromatográficas de prueba para la identificación de PFCAs en el cromatógrafo	50
Figura 16. Porcentajes de recuperación promedio para los PFCAs estudiados después de aplicar la extracción en fase sólida	56
Figura 17. Condiciones evaluadas en el proceso de SPE. a) disolventes de lavado, b) disolventes de elución y c) volumen de elución	58
Figura 18. Condiciones evaluadas en el proceso de SPE. a) volumen de fuga, b) velocidad de carga de muestra y c) flujo de nitrógeno en la etapa de evaporación	59
Figura 19. Curvas de calibración de los ácidos carboxílicos perfluorados	61
Figura 20. Comparación del efecto matriz a través de las curvas de recobro. a) PFBA, b) PFHxA, c) PFHpA, d) PFOA y e) PFUnA	68
Figura 21. Procedimiento experimental para la determinación de PFCAs en muestras de agua	69
Figura 22. Concentraciones de PFCAs promedio determinadas en las aguas residuales de la Zona Metropolitana del Valle de México. A) Gran Canal de Desagüe, B) Túnel Emisor Central	72
Figura 23. Concentraciones promedio de los cinco PFCAs estudiados en el transecto de 0 a 10 Km en el Gran Canal de Desagüe y el Canal de irrigación agrícola Tlamaco-Juandhó 70 km en el estado de Hidalgo. CAR= Canal de Agua Residual y CI= Canal de irrigación	74
Figura 24. Concentraciones de PFCAs promedio en el influente y los efluentes de la Planta de Tratamiento de Agua Residual de Atotonilco. A) Concentraciones de los PFCAs determinadas de forma independiente, B) Concentraciones de $\Sigma\text{PFCAs}$	78

Figura 25. Concentración de PFCAs en el piedemonte. A) PFBA, B) PFHxA, C) PFHpA, D) PFOA y E) PFUnA. .... 81

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Técnicas analíticas utilizadas para determinar PFCAs en matrices de diferente naturaleza. (1) Los PFCAs determinados por cromatografía de gases y por cromatografía de líquidos con detección UV fueron derivatizados previo a su determinación, (2) Esta metodología se basó en la detección másica de aductos ionizables. ....	20
Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de los ácidos carboxílico perfluorados seleccionados para el estudio .....	23
Tabla 3. Parámetros instrumentales evaluados del espectrómetro de masas .....	29
Tabla 4. Iones fragmento seleccionados para el seguimiento selectivo de PFCAs mediante reacciones de fragmentación empleando el modo de adquisición de monitoreo de reacción múltiple (MRM).....	30
Tabla 5. Parámetros instrumentales optimizados del sistema HPLC-MS/MS.....	30
Tabla 6. Materiales con una posible contribución de PFCAs evaluados durante el proceso de toma y preparación de muestra .....	31
Tabla 7. Condiciones experimentales utilizadas para los cartuchos de extracción en fase sólida .....	34
Tabla 8. Optimización de las condiciones experimentales en cada etapa de la extracción en fase sólida .....	34
Tabla 9. Reacciones de transición y fragmentaciones ion precursor-ion producto cuantitativo y de confirmación de los PFCAs objetivo .....	43
Tabla 10. Parámetros instrumentales óptimos del espectrómetro de masas .....	44
Tabla 11. Parámetros instrumentales del espectrómetro de masas dependientes de la fase móvil .....	47
Tabla 12. Condiciones de operación del sistema HPLC-MS/MS desarrollado ....	48
Tabla 13. Contribución analítica total de los interferentes para cada PFCA estudiado .....	49
Tabla 14. Contribución en la señal analítica (área) de los PFCAs objetivo inherentes en los materiales de toma, pretratamiento y tratamiento de muestra (n=60) .....	52
Tabla 15. Parámetros de desempeño empleados para la validación instrumental del sistema HPLC-MS/MS en la determinación de PFCAs .....	54
Tabla 16. Porcentajes de recuperación de los PFCAs durante la centrifugación de agua residual cruda (n=3) .....	55
Tabla 17. Condiciones óptimas del protocolo de extracción en fase sólida (SPE) .. .....	60
Tabla 18. Parámetros de las ecuaciones de la recta en agua residual cruda, tratada y de manantial (n=3).....	63
Tabla 19. Porcentajes de desviación estándar relativa (%RSD) calculados para los PFCAs evaluados (n=7) .....	63

Tabla 20. Relación señal-ruido y precisión intermedia de los PFCAs objetivo a tres niveles de concentración (n=10) .....	65
Tabla 21. Porcentajes de recobro determinados para los cinco PFCAs evaluados en tres niveles de concentración (n=3).....	66
Tabla 22. Resumen de los parámetros de desempeño del método validado para la determinación PFCAs en agua.....	70

## ACRÓNIMOS

Símbolo	Significado
PFCAs	Ácidos Carboxílico Perfluorados
PFBA	Ácido perfluorobutanoico
PFHxA	Ácido perfluorohexanoico
PFHpA	Ácido perfluoroheptanoico
PFOA	Ácido perfluorooctanoico
PFUnA	Ácido perfluoroundecanoico
FTOHs	Alcoholes fluorotelomerados
PAPs	Ácidos fosfóricos polifluorados
PTFE	Politetrafluoroetileno
PP	Polipropileno
MeOH	Metanol
SPE	Extracción en Fase Sólida (por sus siglas en inglés)
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia (por sus siglas en inglés)
MS/MS	Espectrometría de Masas Tándem (por sus siglas en inglés)
HLB	Balance Hidrofílico-Lipofílico (por sus siglas en inglés)
WAX	Intercambio Aniónico Débil (por sus siglas en inglés)
ESI	Electrospray
<i>full</i> SCAN	Barrido completo de masas (por sus siglas en inglés)
IP	Ion Producto (por sus siglas en inglés)
MRM	Monitoreo de Reacción Múltiple (por sus siglas en inglés)
r	Coefficiente de Correlación de Pearson
%RSD	Porcentaje de Desviación Estándar Relativa
%RSD <sub>inter</sub>	Porcentaje de Desviación Estándar Relativa Intermedia
%R	Porcentaje de Recobro
SNR	Relación Señal-Ruido
LD	Límite de Detección
LC	Límite de Cuantificación
ARC	Agua Residual Cruda
ART	Agua Residual Tratada
AS	Agua Subterránea
AM	Agua de Manantial
PTAR	Planta de Tratamiento de Agua Residual
$\alpha$	Riesgo estadístico a un nivel de confianza dado
$\sigma$	Desviación Estándar
$\bar{x}$	Media aritmética
ANOVA	Análisis de la Varianza

## 1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la necesidad de impulsar la producción agrícola para satisfacer las demandas alimentarias de las poblaciones ocupa los primeros lugares en la agenda de todo gobierno. Si a ello se le agrega el actual problema de escasez de agua, el cumplimiento de este objetivo se vuelve una tarea titánica. Para abatir ambos problemas, se ha contemplado el reúso del agua residual como una alternativa capaz de dar solución al estrés hídrico. No obstante, la aplicación de este tipo de riego facilita la entrada y diseminación de contaminantes del tipo orgánico, inorgánico y biológico en el medio ambiente. Dentro de estos contaminantes resaltan los denominados contaminantes orgánicos emergentes del tipo persistente, los cuales son sustancias que se utilizan de forma cotidiana en múltiples tipos de productos, exhiben una elevada estabilidad, una gran movilidad medioambiental y cuya presencia en el ambiente, incluso a nivel de trazas ( $\text{ng L}^{-1}$ –  $\text{mg L}^{-1}$ ) puede producir efectos perniciosos tanto en el ambiente como en algunos organismos expuestos.

El estudio de la dispersión de estos compuestos desde las aguas residuales en las diferentes matrices ambientales es fundamental para regiones en donde este tipo de agua es aplicada en riego. Un claro ejemplo de esto lo encontramos en el distrito de riego 003 Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo, el cual por más de 100 años, ha recibido las aguas residuales de la Zona Metropolitana del Valle de México y las ha utilizado en el riego de aproximadamente 95,000 ha (Siebe et al., 2016). Estudios previos en la zona han demostrado la presencia de fármacos tales como: carbamazepina, sulfametoxazol y triclosán, así como plastificantes como bisfenol A en las aguas residuales utilizadas en el riego, en las aguas subterráneas e inclusive en el suelo, en concentraciones comprendidas entre las decenas y centenas de nanogramos por litro (Durán-Álvarez et al., 2014; Gibson et al., 2010; Murillo-Torres et al., 2012; Salazar-Ledesma et al., 2018).

La determinación de concentraciones de contaminantes a nivel de trazas en matrices ambientales trae consigo un reto analítico para su cuantificación, siendo necesario desarrollar metodologías analíticas capaces de extraer, identificar y cuantificar a este tipo de sustancias con la mayor precisión y certeza posible en matrices tan complejas como el agua residual.

Bajo este contexto, los objetivos de este trabajo fueron: en una primera etapa el de desarrollar y validar una metodología analítica basada en la técnica de extracción en fase sólida seguida por cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada con espectrometría de masas útil para determinar cinco ácidos carboxílicos perfluorados con diferente longitud de cadena perfluorada en aguas residuales. Asimismo, en una segunda etapa se realizó un estudio de identificación de los contaminantes de interés en las aguas residuales producidas en la Zona Metropolitana del Valle de México y su movilidad desde el Valle hasta la zona de producción agrícola del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo.

En la primera sección de este documento se presentan las hipótesis y los objetivos de la tesis.

En el capítulo 1 se describen brevemente los antecedentes de los ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs). Los antecedentes de los PFCAs están centrados en: 1) El origen y propiedades físicas y químicas de los PFCAs, 2) Las principales vías de diseminación de los contaminantes a través de las aguas residuales tanto crudas como tratadas, 3) Los efectos nocivos potenciales de los compuestos en los organismos, 4) Las metodologías analíticas basadas utilizadas para su cuantificación.

Posteriormente, en el Capítulo 2 se hace una por una descripción del sitio de estudio, que incluyen: 1) La posible distribución y rutas de drenaje empleadas en la Zona Metropolitana del Valle de México, monitoreadas en el año del estudio (2019) y 2) El distrito de riego 003 del Valle del Mezquital y 3) El piedemonte agrícola en donde se aplica el riego con agua residual por más de cien años dentro del pueblo de Tlahuelilpan dentro del Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo.

En el Capítulo 3 se describen los materiales y las metodologías desarrolladas para la construcción del método analítico y los estudios de movilidad de PFCAs. En la primera parte se resumen los instrumentos, materiales y reactivos utilizados. En la segunda, se presentan los sitios de estudio y protocolos de toma de muestra empleados en la Zona Metropolitana y la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco. El tercer apartado señala todos los pasos que se realizaron para extraer y analizar a los ácidos carboxílicos perfluorados mediante extracción en fase sólida seguida por su separación y detección mediante cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada con espectrometría de masas tándem. La cuarta sección del capítulo compila las pruebas de desempeño utilizadas durante la validación del método. En el quinto apartado se describe el protocolo de monitoreo y toma de muestra utilizados para evaluar el destino ambiental de los PFCAs en el piedemonte regado con agua residual en el Valle del mezquital.

El Capítulo 4 del trabajo presenta los resultados obtenidos durante el desarrollo del método y el seguimiento ambiental de los contaminantes en tres sitios de interés: 1) La Zona Metropolitana del Valle de México, 2) La Planta de Tratamiento de Atotonilco y 3) El piedemonte del Valle del Mezquital.

En el Capítulo 5 se muestran las conclusiones obtenidas a partir del análisis y discusión de los resultados del proyecto y se describen las perspectivas de futuros trabajos de investigación que permitirán tanto complementar los resultados del presente trabajo como dar pie al surgimiento de otras líneas de investigación vinculadas con la química ambiental.

## **2. HIPÓTESIS**

El desarrollo y validación de una metodología de extracción en fase sólida seguida por cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada con espectrometría de masas de triple cuadrupolo (SPE-HPLC-MS/MS) permitirá la determinación de PFCAs en aguas residuales crudas y tratadas, así como en agua subterránea y superficial en concentraciones de  $\text{ng L}^{-1}$ . El método servirá para establecer los patrones de concentración y movilidad de cinco PFCAs con diferente longitud de cadena desde la Zona Metropolitana del Valle de México hasta un piedemonte localizado en un distrito de riego agrícola dentro del Valle del Mezquital, Hidalgo. Se espera encontrar diferencias en los patrones de concentración de los PFCAs objetivo dependiendo del tipo agua residual estudiada y del tratamiento de agua residual aplicado. Asimismo, se identificará una correlación entre la movilidad a través del suelo y el carácter hidrofóbico e hidrofílico de los compuestos, el cual es conferido por la longitud y características de la cadena perfluorada.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo general**

Desarrollar, validar e implementar una metodología analítica basada en extracción en fase sólida seguida por cromatografía de líquidos acoplada por espectrometría de masas tándem para la determinación, monitoreo y evaluación del destino ambiental de ácidos carboxílicos perfluoroalquilados en aguas residuales y de manantial, desde la Zona Metropolitana del Valle de México hasta el distrito de riego agrícola del Valle del Mezquital, Hidalgo.

### **3.2. Objetivos particulares**

- Desarrollar, optimizar y validar una metodología analítica basada en extracción en fase sólida seguida por cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada con espectrometría de masas de triple cuadrupolo (SPE-HPLC-MS/MS/QqQ) para la determinación de cinco ácidos carboxílicos perfluoroalquilados (PFCAs) con diferente longitud de cadena alquílica, a saber: ácido perfluorobutanoico, ácido perfluorohexanoico, ácido perfluoroheptanoico, ácido perfluorooctanoico y ácido perfluoroundecanoico para su determinación en agua residual cruda, agua residual tratada, así como en agua subterránea y superficial en concentraciones de  $\text{ng L}^{-1}$ .
- Monitorear la concentración de los PFCAs en las aguas residuales desde la Zona Metropolitana del Valle de México hasta su llegada a los campos de producción agrícola y la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco en el Valle del Mezquital, Hidalgo; durante un periodo de 6 meses (abril 2019-octubre 2019) con el objetivo de identificar y establecer los patrones de concentración a lo largo del trayecto.
- Estudiar el efecto de los tratamientos primario convencional y secundario biológico aplicados en los influentes de la Planta de Tratamiento de Atotonilco sobre las concentraciones de los PFCAs estudiados.

- Estudiar y relacionar la movilidad de los PFCAs de interés en el agua de infiltración de los suelos agrícolas en un piedemonte regado con agua residual por más de 90 años con el carácter hidrofóbico e hidrofílico de los compuestos.

## 4. CAPÍTULO 1. Antecedentes

### 4.1. ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PERFLUORADOS (PFCAs)

Dentro de la vasta cantidad de sustancias que se han sintetizado con el objetivo de impulsar el crecimiento industrial y que después encuentran como destino final el medio ambiente, existen un grupo de moléculas orgánicas que destacan por su elevada resistencia térmica y química, y que, debido a ello, permanecen por largos períodos de tiempo en el ambiente, llegando incluso a presentar vidas medias de varios días en la atmósfera e incluso de años y/o décadas en suelos y sedimentos; estas sustancias son denominadas contaminantes orgánicos persistentes (POP, por sus siglas en inglés) (de Voogt et al., 2006).

Dentro de dicha clasificación de moléculas se encuentran los compuestos orgánicos perfluorados (PFAs, por sus siglas en inglés), los cuales están compuestos por una estructura química peculiar; es decir, una parte de la molécula está conformada por cadenas alifáticas alifáticas lineales o ramificadas en donde los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono fueron sustituidos por átomos de flúor (C-F) y exhiben un carácter mayoritariamente hidrofóbico y la otra parte está asociada a un grupo funcional hidrofílico, tal como: ácidos sulfónicos, ácidos carboxílicos y sulfonamidas (Ecuación 1) (Buck et al., 2011).



Ecuación 1

Donde X= R-SO<sub>3</sub>H, R-COOH, R-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Las cadenas alifáticas perfluoradas que contienen como grupo terminal un ácido carboxílico son llamados ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs, por sus siglas en inglés (Figura 1). La estructura química les confiere propiedades físicas, químicas y biológicas únicas. Por un lado, la energía del enlace C-F (466 kJ mol<sup>-1</sup>) les brinda una elevada estabilidad termodinámica. Además, los dota de propiedades superficiales específicas al presentar repelencia contra el agua y las grasas, por lo que exhiben una funcionalidad como “súper surfactantes” (Arvaniti & Stasinakis, 2015a; Buck et al., 2011).

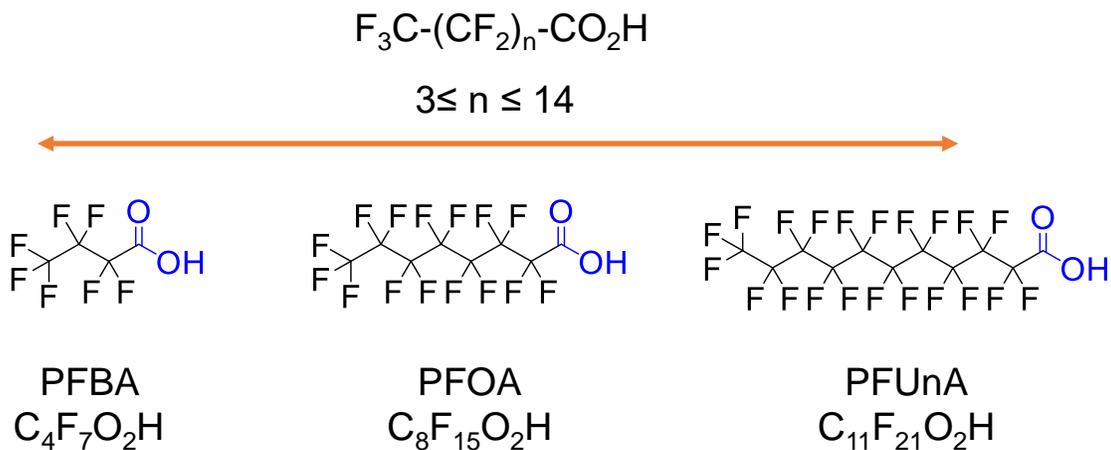


Figura 1. Estructura química de los ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs).  
Elaboración propia

Dichas propiedades superficiales impulsaron su uso en productos y procesos industriales a gran escala, tales como: la industria de los cosméticos, las pinturas y el papel, recubrimientos metálicos, lubricantes, espumas contra incendio, empaques de comida, productos de limpieza, precursores de teflones (PTFE), formulaciones de pesticidas, textiles, la industria de los plásticos y semi conductores, entre otras (Arvaniti & Stasinakis, 2015a; Z. Wang et al., 2017).

Asimismo, la longitud de la cadena alifática influye en dos propiedades fundamentales de las moléculas. En este sentido, las moléculas con una longitud de cadena corta ( $C \leq 6$ ) muestran una volatilidad superior en comparación con sus análogos de cadena larga ( $C \geq 7$ ). Una tendencia similar se observa con respecto a los pKas, en donde la mayoría de ellos están calculados entre 0.7-0.9 pH (Rayne & Forest, 2009), por lo que, a pH ambientales (6-8 pH) los compuestos están especiados de forma preferente como aniones, aumentando la solubilidad acuosa de los mismos.

Como resultado de esta conjunción de propiedades, los PFCAs son considerados como contaminantes refractarios a cualquier proceso de atenuación natural, tanto a degradaciones químicas (fotólisis e hidrólisis) como a procesos de biodegradación. Asimismo, la volatilidad y solubilidad (particularmente de los compuestos de cadena corta) les concede una movilidad hídrica y atmosférica. Como resultado, los PFCAs han sido encontrados ubicuamente en diversas esferas del ecosistema (Hamid et al., 2018; Xiao et al., 2015; Zareitalabad et al., 2013).

#### **4.2. HITOS EN LA PRODUCCIÓN DE PFCAs**

Los compuestos perfluorados comenzaron a desarrollarse a partir de los años 1950 (Figura 2), cuando el ácido carboxílico perfluorooctanoico (PFOA) fue utilizado por primera vez como agente surfactante en la industrialización de barnices y repelentes por la empresa 3M. Al mismo tiempo, Tefal inició la producción de los productos de politetrafluoroetileno (PTFE), mejor conocido como teflón®. Después, durante los años 1970-1980 se introdujo la producción de PFCAs de cadena corta y la industrialización internacional, dominada esencialmente por empresas de Europa Occidental, Estados Unidos y Japón [Wang et al, 2012]; tendencia que se mantendría en crecimiento hasta finales de los años 1990 y principio de los 2000's, donde a raíz de investigaciones originadas dentro de los ramos de la salud y el medio ambiente se prohibió el uso de múltiples compuestos perfluorados, como los ácidos perfluorosulfónicos (PFSA), así como agregar tanto al PFOA como a sus sales de amonio a la lista de compuestos prohibidos por la Convención de Estocolmo [Stockholm convention 2015] y también, se propuso sustituir la producción de los PFCAs de cadena larga ( $C \geq 8$ ) por sus análogos de cadena corta ( $C \leq 6$ ). Entretanto, la producción de los PFCAs de cadena larga se centró en países con escasas regulaciones tales como Rusia, India, y China, entre otros (Z. Wang et al., 2017).

En el año 2015 el ácido carboxílico perfluorooctanoico (PFOA) fue enlistado y actualmente es el único de los PFCAs que ha sido prohibido (Europa, Australia) de acuerdo con la Convención de Estocolmo y restringido en países como Estados Unidos. No obstante, existen muchos otros compuestos desconocidos con base poli-

alquilados que, a través de procesos de manufactura, como residuos y/o como subproductos de degradación pueden dar como resultado la formación de ácidos carboxílicos perfluorados (D'Hollander et al., 2010).



Figura 2. Hitos del uso y producción de PFCAs. Elaboración Propia

#### 4.3. DESTINO AMBIENTAL

Los PFCAS encuentran su destino ambiental mediante fuentes directas o indirectas de contaminación (Figura 3). Las fuentes directas están relacionadas con la manufactura y uso de los compuestos, mientras que las fuentes indirectas son aquellas en los que los PFCAs están presentes como impurezas o son resultado de la degradación de sustancias poli-fluoradas que encuentran como producto más estable a los ácidos carboxílicos perfluorados (Prevedouros et al., 2006); o bien, estas dos fuentes de contaminación pueden actuar de forma conjunta; tal como lo señalan algunos autores (Dannenberg J. J, 1998; Simons, 1949). Ellos indican que las fuentes directas contienen a los ácidos perfluorooctanoico (PFOA) y perfluorononanoico (PFNA) como su componente mayoritario. No obstante, dependiendo de los métodos de síntesis, aproximadamente el 30 % m/m de las impurezas relacionadas contienen mezclas de homólogos de PFCAs con una longitud de cadena comprendida entre 4-14 carbonos.

Los PFCAs tienen al transporte atmosférico y acuoso como principales vías de acceso a larga distancia hacia el medio ambiente (Figura 3) (Chen et al., 2017; Rankin et al., 2016). El transporte atmosférico de los PFCAs ha sido previamente estudiado y demostrado alrededor del mundo. Un claro ejemplo de las fuentes de contaminación fue expuesto por Armitage et al., quienes demostraron que de un promedio de 2723-5935 MT de perfluorooctanoato el 55 % fue transportado vía acuosa, el 31 % por aire y el 14% por suelo (Armitage et al., 2006).

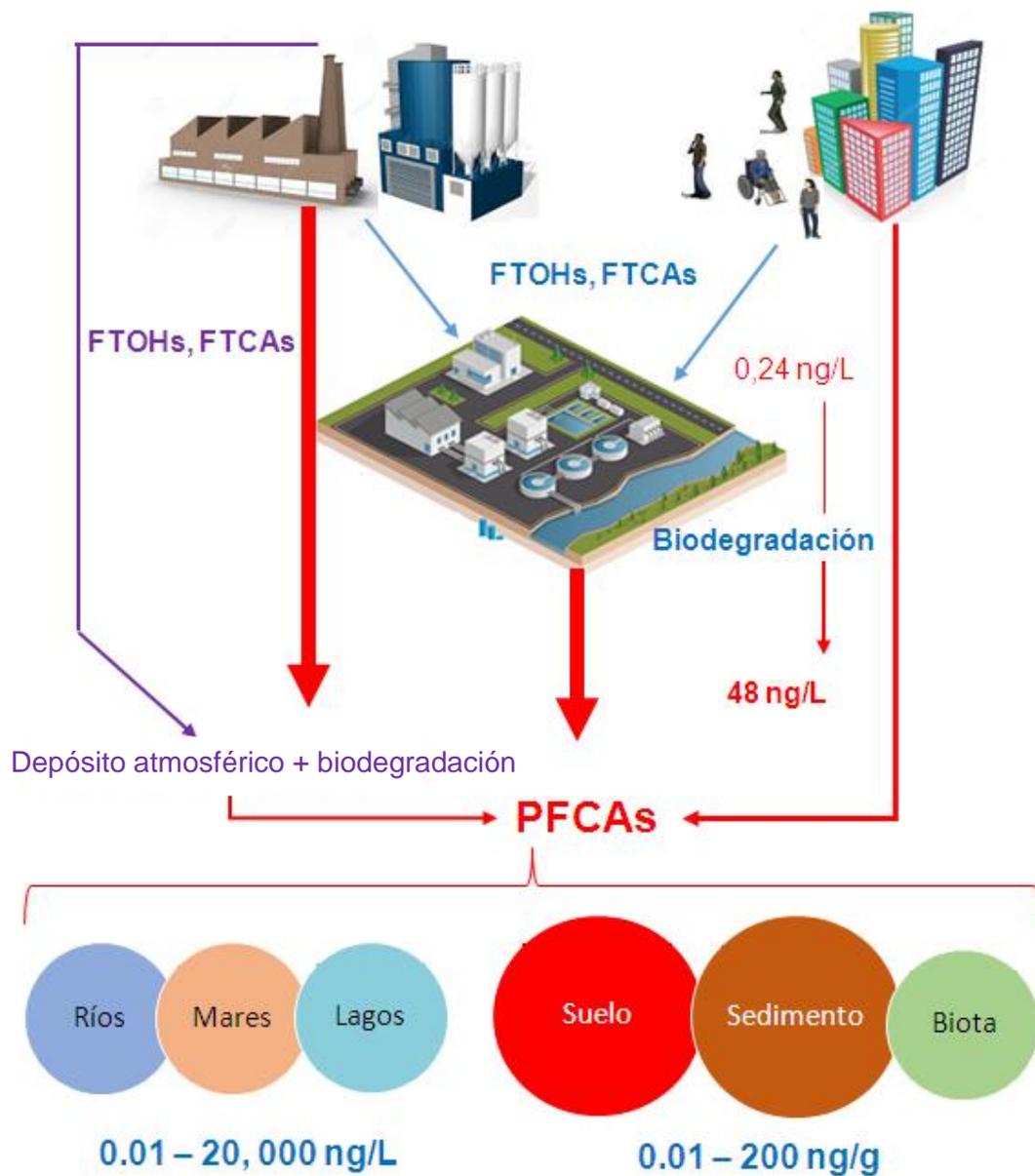
De manera similar, Macdonald et al, 2000 estimaron que entre 2-12 t año<sup>-1</sup> de PFOA que era transportado e introducido al océano ártico a través de corrientes marinas del norte de Europa y el océano Pacífico (Macdonald et al., 2000).

La mayoría de los residuos de PFCAs son dispuestos al medio ambiente a través de las aguas residuales de origen industrial o doméstico, en donde han sido detectados en concentraciones comprendidas entre las decenas y los miles de nanogramos por litro (Becker et al., 2008; Clara et al., 2008; Sun et al., 2012; Z. Wang et al., 2015).

Adicionalmente, las aguas residuales generadas en las plantas de tratamiento surgen como una fuente secundaria de contaminación indirecta de PFCAs hacia aguas superficiales, por ejemplo: En un estudio realizado por Sinclair & Kannan, (2006), se observó un incremento de 58 a 1, 050 ng L<sup>-1</sup> en las concentraciones de PFOA en los influentes y los efluentes de plantas de tratamiento. Los autores concluyeron que si bien el tratamiento primario convencional (coagulación-floculación-sedimentación) no promovía el aumento en la concentración del compuesto, este tratamiento fue ineficaz para removerlo; en contraste, al monitorear las concentraciones de PFOA en aguas residuales posterior a un tratamiento secundario aerobio (por lodos activados), estas incrementaban su concentración. El aumento en las concentraciones posterior a un tratamiento secundario ha sido confirmado por diversos investigadores, quienes atribuyen el incremento en la concentración de PFCAs a la biodegradación de compuestos precursores, por ejemplo: Alcoholes fluorotelomerados (FTOHs), Ácidos carboxílicos fluorados saturados e insaturados (FTCA y FTUCA), entre otros [(Clara et al., 2008; Coggan et al., 2019; Eriksson et al., 2017; Schultz, Barofsky, et al., 2006; Schultz, Higgins, et al., 2006; Taniyasu et al., 2005).

Una vez en el ambiente la movilidad de los PFCAs está regida por sus propiedades fisicoquímicas tales como la volatilidad, pKa's e hidrofobicidad, que, a su vez, dependerán fuertemente de la longitud de la cadena perfluorada. En este sentido, la hidrofobicidad de los compuestos aumentará y la volatilidad disminuirá conforme incrementa la longitud de su cadena, haciendo que su movilidad esté restringida y sean adsorbidos por suelos, sedimentos y sólidos suspendidos (Z. Wang et al., 2014; Zhou et al., 2017). Entretanto, mientras menor sea su longitud, la volatilidad e hidrofobicidad aumentarán promoviendo su transporte mediante partículas de polvo o bien su infiltración a los acuíferos (Gomis et al., 2015; Nguyen et al., 2017; Z. Wang et al., 2014).

Asimismo, debido a las interacciones producidas entre los átomos de flúor con diferentes moléculas biológicas (lípidos y proteínas), los compuestos pueden ser bioacumulados y migrar entre la cadena trófica (Ghisi et al., 2019; He et al., 2016). Lo que ha desembocado en múltiples estudios, en los cuales los PFCAs fueron encontrados en sangre humana, orina, semen y leche materna (Antignac et al., 2013; Pan et al., 2019).



- Fuentes directas atmosféricas y acuosas
- Fuentes indirectas atmosféricas
- Fuentes indirectas acuosas

Figura 3. Fuentes, rutas de acceso, concentraciones y destino ambiental de los PFCAs en el ambiente. Elaboración Propia

Es sabido que la exposición crónica a los PFCAs de cadena larga está relacionada con interrupciones endócrinas y efectos teratogénicos en los organismos de la vida silvestre como en humanos (Souza et al., 2020; Vested et al., 2013), además de estar vinculado a efectos tales como carcinogénesis, neurotoxicidad, inmunotoxicidad y genotoxicidad, entre otros (Stahl et al., 2011).

#### 4.4. DETERMINACIÓN AMBIENTAL

La presencia de los PFCAs en el medio ambiente ha sido determinada en concentraciones a nivel de trazas ( $\text{ng L}^{-1}$  a  $\text{mg L}^{-1}$ ) y en múltiples tipos de matrices como son aguas residuales crudas y tratadas, aguas de ríos y mares, suelos y sedimentos, biota, entre otras. Los bajos niveles de concentración y la complejidad de las matrices evaluadas requieren de metodologías analíticas que ostenten una elevada sensibilidad, selectividad y precisión capaces de cuantificar este tipo de compuestos.

Bajo este contexto, diversas metodologías de extracción de analitos de matrices acuosas y el análisis cuantitativo han sido desarrolladas y evaluadas. Entre ellas, las técnicas que combinan la separación física de los analitos de una mezcla con una detección espectrométrica o espectroscópica (“hyphenated techniques”), en este caso, la cromatografía tanto de gases como de líquidos acoplada con espectrometría de masas han surgido como las herramientas cuantitativas más exploradas en la determinación de PFCAs en matrices naturales y están resumidas en la Tabla 1 (Patel et al., 2010).

El acoplamiento entre las técnicas cromatográficas tanto de gases como de líquidos con espectrometría de masas (CG-MS y HPLC-MS/MS, respectivamente) permitió el análisis de las series homólogas de PFCAs con límites de detección y cuantificación bajos, respuestas lineales y precisiones aceptables, así como una gran selectividad. De igual manera, ambas metodologías pueden adaptarse a diferentes técnicas extractivas tales como extracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase sólida (SPME), extracciones líquido-líquido (LLE) y extracciones líquido-sólido (LSE) simples o asistidas.

Sin embargo, existen diferencias sustanciales entre ellos. Por un lado, la cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas requiere de un procedimiento de tratamiento de muestra extenuante, ya que para extraer y cuantificar es necesario hacer una derivatización de los PFCAs, mediante la esterificación del grupo carboxilato con grupos metilo, isobutilo e incluso alcoholes (Alzaga et al, 2004; Dufková et al, 2012, Wen-Lin et al, 2012). Dicho proceso aumenta la eficiencia de extracción, la volatilidad de los derivados y concede fragmentaciones específicas  $[M\text{-derivado}]^-$  que aumentan la selectividad en el espectrómetro de masas, pero compromete la cuantitatividad del método y extienden el tiempo de análisis total.

Por el otro, la cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas facilita el análisis directo de los PFCAs, debido a que los compuestos son altamente solubles en los disolventes orgánicos utilizados en HPLC (MeOH). Además, las fragmentaciones moleculares obtenidas en el espectrómetro de masas dan como resultado el ion molecular  $[M\text{-H}]^-$  y los fragmentos estables correspondientes a rupturas ( $-\text{CF}_2-$ ), lo que facilita un seguimiento selectivo de los analitos. Adicionalmente, la extracción de los PFCAs del medio acuoso es desarrollada por un proceso de extracción en fase sólida simple, utilizando cartuchos de extracción selectivos a moléculas aniónicas (Taniyasu et al, 2005; Campo et al, 2015; Xiao et al, 2015; Chen et al, 2017).

Tabla 1. Técnicas analíticas utilizadas para determinar PFCAs en matrices de diferente naturaleza. (1) Los PFCAs determinados por cromatografía de gases y por cromatografía de líquidos con detección UV fueron derivatizados previo a su determinación, (2) Esta metodología se basó en la detección másica de aductos ionizables.

PFCAs	País	Análisis de muestra	Tipo de matriz	LC	Concentración de las muestras	Referencia
C4-C9	China	<sup>(1)</sup> LC-UV	Agua (degradación)	0.6-1.5 mg L <sup>-1</sup>	N.A.	(Yang et al., 2022)
C7-C14	China	<sup>(1)</sup> DLLME-CG-MS	Agua de río	2.7-9.0 ng mL <sup>-1</sup>	8.5-150.1 ng L <sup>-1</sup>	(Hu et al., 2020)
C4-14	China	SPE-UHPLC-Q-Orbitrap	Agua subterránea	0.5-250.0 pg L <sup>-1</sup>	0.3-32.9 ng L <sup>-1</sup>	(Liu et al., 2020)
C6, C8	Reino Unido	<sup>(2)</sup> SPE-HPLC-ICP-MS/MS	Agua (desionizada)	0.5-0.8 mg L <sup>-1</sup>	0.5-3.4 µg L <sup>-1</sup>	(Jamir et al., 2019)
C4-C14	España	SPE-LC-MS/MS	Agua de río	0.01-2 ng L <sup>-1</sup>	0.01-233 ng L <sup>-1</sup>	(Campo et al., 2015)
			Sedimentos	0.04-8 ng g <sup>-1</sup>	0.01-3.67 ng g <sup>-1</sup>	
			Biota	0.02-2.3 pg µL <sup>-1</sup>	0.79-431 pg*µL <sup>-1</sup>	
C4-C12	Singapur	SPE-LC-MS/MS	Agua urbana	0.01-2 ng L <sup>-1</sup>	0.5-40 ng*L <sup>-1</sup>	(Chen et al., 2017)
			Sedimentos	0.04- 2 ng g <sup>-1</sup>	1-1.7 ng g <sup>-1</sup>	
C6-C12	5 continentes	LLE-SPE-UPLC-MS/MS	Suelos	20 pg g <sup>-1</sup>	29-14,300 pg g <sup>-1</sup>	(Rankin et al., 2016)
C8	EUA	LLE-LC-MS/MS	Suelos (urbanos)	0.07 ng g <sup>-1</sup>	105-125.7 ng g <sup>-1</sup>	(Xiao et al., 2015)
		SPE-LC-MS/MS	Agua subterránea	N.I.	<100–20000 ng L <sup>-1</sup>	
C4-C12	China	SPE-LC-MS/MS	Agua residual (planta de tratamiento)	0.91-2.17ng L <sup>-1</sup>	0.24-48 ng L <sup>-1</sup>	(Sun et al., 2012)
C4-C9	Brasil, Francia	LC-MS/MS	Agua potable	0.47-12 ngL <sup>-1</sup>	3.4-62 ng L <sup>-1</sup>	(Schwanz et al., 2016)
C6-C12	Dinamarca	UBE-LC-MS/MS	Agua residual (planta de tratamiento)	0.2-2.2 ngL <sup>-1</sup>	< LDC-24 ng L <sup>-1</sup>	(Bossi et al., 2008)
C5-C12	República Checa	<sup>(1)</sup> SPE-GC-NCI/MS SPE-LC-MS/MS	Agua de río	0.84-81 ng L <sup>-1</sup>	<LDC-12 ng L <sup>-1</sup>	(Dufková et al., 2009)
C4-C12	España	<sup>(1)</sup> IP-SPME-GC-NCI/MS	Agua residual (planta de tratamiento)	0.05-2.5 µg L <sup>-1</sup>	0.05-8.2 µg L <sup>-1</sup>	(Alzaga & Bayona, 2004)
C7-C10	China	<sup>(1)</sup> HS-SPME-SFE-GC-NCI/MS	Sedimentos	1.3-1.8 ng g <sup>-1</sup>	<LDC-4473 ng L <sup>-1</sup>	(W. L. Liu et al., 2011)

A pesar de que ambas metodologías pueden ser implementadas, las dos requieren de experimentos complementarios que permitan cuantificar interferentes de PFCAs a lo largo del análisis. Estos interferentes han sido identificados en los materiales e instrumentos de uso común en el laboratorio, por ejemplo: en los empaques de politetrafluoroetileno (PTFE, teflón®) utilizados en las líneas de transporte de disolventes de la fase móvil del cromatógrafo, como residuos a nivel de trazas en disolventes orgánicos (metanol, acetonitrilo, etcétera), residuos en los cartuchos de extracción, entre otros (EPA, 2018). Para solventar este inconveniente es necesario determinar el contenido de residuos perfluorados en los diferentes materiales utilizados, y con ello, calcular la contribución de los interferentes en la señal analítica a través del análisis de blancos en los materiales, los instrumentos, los reactivos, etcétera.

## 5. CAPÍTULO 2. El Sitio de estudio

La Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) está conformada por 59 municipios del Estado de México, 1 municipio del estado de Hidalgo y las 16 alcaldías de la Ciudad de México, lo que la convierte en la urbanización más grande de América Latina albergando aproximadamente a más de 20 millones de personas (OCDE, 2015). La ZMVM genera un flujo de agua residual promedio de 1663 Mm<sup>3</sup> por año (Chamizo-Checa et al., 2020) compuesto principalmente por una mezcla de agua residual industrial y doméstica con una fuerte carga de agua de lluvia (Chávez et al., 2011).

El agua residual se recolecta a través de un complejo sistema de drenaje que distribuye un flujo promedio de 1255.8 Mm<sup>3</sup> año<sup>-1</sup> a través de 9 interceptos que convergen en un Túnel de Drenaje profundo denominado “Túnel Emisor Central” y un canal de aguas residuales a cielo abierto llamado “Gran Canal de Desagüe” que transporta en promedio 407.2 Mm<sup>3</sup> año<sup>-1</sup>. El agua residual es transportada 80 km al norte de la ZMVM hacia el distrito de riego 003 del Valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo, donde es utilizada como agua para riego agrícola en la producción de alimentos para ganado (Figura 4) (Chamizo-Checa et al., 2020). Una vez en el Valle, el agua residual es distribuida en todas las áreas agrícolas mediante una compleja red de canales de irrigación (Gibson et al., 2010).

Una de las dos vías, el Túnel Emisor Central que representa el 75 % del flujo total anual, llega a la Planta de Tratamiento de Agua Residual de Atotonilco con el objetivo de reducir los riesgos en la salud en los pobladores del Valle asociados al reúso sistemático del agua residual. La PTAR fue instalada en el año 2015 y estuvo diseñada con el objetivo de tratar al menos el 60 % (aproximadamente 30 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>) del agua procedente del Túnel Emisor Central. El tratamiento está focalizado en remover sólidos y agentes patógenos, mientras que, la mayoría de la materia orgánica es mantenida en el agua con el fin de enriquecer los suelos agrícolas del Valle.

Al llegar a la planta, el agua residual es dividida en cuatro tipos de corrientes (Figura 2). Por un lado, cuando el caudal del influente sobrepasa la capacidad de tratamiento

de la planta, el sobre flujo es desviado sin tratamiento hacia el Río Tula, mientras que el influente de agua residual que ingresa a la planta es dividido en dos corrientes. La primera de ellas (corriente A) pasa a través de un sistema de tratamiento primario convencional (coagulación-floculación-sedimentación), seguido por una etapa de cloración. Entretanto, la corriente B es tratada biológicamente usando un sistema de lodos activados antes de una etapa de desinfección vía cloración. Posteriormente, ambos efluentes (tanto primario como secundario) son mezclados con la corriente de sobre flujo en el Río Tula antes de ser descargados y distribuidos en el Valle para su uso agrícola.

Por un lado, una parte del agua residual que llega directamente desde el Túnel Emisor Central y es distribuida en el Valle alcanza un piedemonte en el poblado de Tlahuelilpan en el centro del Valle del Mezquital, donde vía el canal de distribución Tlamaco-Juandhó se distribuye el agua residual en la zona agrícola. El piedemonte exhibe una geometría convexa con una ligera pendiente entre los 2 ° y los 5 ° (Hernández-Martínez et al., 2014). En la parte superior del piedemonte 2090 m. s. n. m. se encuentra el canal de distribución de agua residual cruda Tlamaco-Juandhó derivado del gran Canal de Desagüe de la Ciudad de México. La infiltración de 25 m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup> de agua residual producida durante los riegos agrícolas por inundación ha promovido la formación y recarga del acuífero. En la parte más baja del piedemonte, aproximadamente a los 2040 m. s. n. m., se localiza el manantial Cerro Colorado. Este manantial ha sido el encargado de abastecer a cerca de 700 mil habitantes en la región y su agua es utilizada esencialmente para actividades agrícolas y de consumo (Chávez et al., 2011; Lesser-Carrillo et al., 2011).

## 6. CAPÍTULO 3. Desarrollo experimental

### 6.1. CRITERIOS Y SELECCIÓN DE LOS COMPUESTOS A EVALUAR

#### 6.1.1. Compuestos seleccionados

Los estándares de los ácidos carboxílicos perfluorados (PFCAs) seleccionados para este estudio fueron: ácido perfluoro butanoico (PFBA,  $\geq 98$  % pureza), ácido perfluoro hexanoico (PFHxA,  $\geq 98$  % pureza), ácido perfluoro heptanoico (PFHpA, 99 % pureza), ácido perfluoro octanoico (PFOA, 98 % pureza) y ácido perfluoro undecanoico (PFUnA, 95 % pureza) (TablaX) y fueron adquiridos en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

La selección de estos compuestos se realizó con base en los siguientes criterios: 1) Los PFCAs elegidos han sido encontrados de forma consistente y ubicua en el medio ambiente, particularmente en diferentes cuerpos de agua tanto residuales como naturales, 2) Estos compuestos presentan propiedades físicas y químicas diferentes, tales como: volatilidad, solubilidad e hidrofobicidad dependiendo de la longitud de su cadena alquílica (Tabla 2). Las diferentes propiedades de los compuestos resultan interesantes en términos de que éstas pueden direccionar sustancialmente el destino ambiental de los contaminantes. Motivo por el cual, se seleccionaron dos compuestos de cadena corta (PFBA, PFHxA), un compuesto de longitud intermedia (PFHpA) y dos compuestos de cadena larga (PFOA y PFUnA).

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas de los ácidos carboxílicos perfluorados seleccionados para el estudio

Propiedades	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
Fórmula mínima	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_6\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_7\text{CO}_2\text{H}$	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_{10}\text{CO}_2\text{H}$
<sup>a,b</sup> Masa molecular (g mol <sup>-1</sup> )	214.04	314.05	364.06	414.07	564.09
<sup>a,b</sup> Presión de vapor a 25 °C (mmHg)	6.37	1.98	0.13	0.032	N.D.
<sup>a,b</sup> Punto de fusión (°C)	-17.5	14	30	60	100.3
<sup>a,b</sup> Punto de ebullición (°C)	121	157	176	189	<sup>b</sup> 239
<sup>a</sup> Solubilidad en agua a 25 °C (mg L <sup>-1</sup> )	$2.4 \times 10^5$	$1.57 \times 10^4$	$4.37 \times 10^5$	$9.5 \times 10^3$	N.D.
<sup>#a</sup> pKa	0.08	-0.16	-0.15	3.8	-0.17

N.D. No determinado. <sup>a</sup><http://www.chemspider.com/>;

<sup>b</sup><https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

#### 6.1.2. Instrumentación

Cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia Agilent 1620, Infinity series (Agilent Technologies®) acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Agilent 6420 (Agilent Technologies®)

Extractor multi muestra Manifold marca Waters® (Milford, MA, USA)  
Centrífuga con rotor de 6 × 150 mL de 11, 000 rpm marca Eppendorf  
Purificador y desionizador de agua Mili-Q marca Merck®, modelo Elix reference 5  
Balanza analítica con capacidad de 0.0001-250 g, marca Ohaus®, modelo explorer  
Bomba de vacío de 115 V, 60 Hz y 3.9 A marca Welch, modelo 2522B-1  
Dispensador de nitrógeno de seis vías Mini-vap marca Supelco (Bellefonte, PA, USA)

### 6.1.3. Reactivos y disolventes

Los reactivos y disolventes: Acetato de amonio ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ , ≥99 % pureza, HPLC), hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ , 28-30 % pureza), metil-ter-butil-eter (MTBE, ≥99.8% pureza, HPLC), el metanol, acetonitrilo y agua grado HPLC se compraron en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). El agua Mili-Q (15  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  a 25 °C) fue producida en el laboratorio mediante un purificador y desionizador de agua.

### 6.1.4. Columnas y cartuchos

Columna pre guarda **Zorbax SB-C8** (2.1 × 30 mm, con un tamaño de partícula de 1.8  $\mu\text{m}$ ) marca Agilent Technologies  
Columna cromatográfica **Zorbax SB-C18** (4.6 × 150 mm, con 3.5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula) marca Agilent Technologies  
Cartuchos de extracción en fase sólida **Oasis HLB**® de 6 cc, con 200 mg de sorbente de extracción y 30  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula, Waters® (Milford, MA, USA)  
Cartuchos de extracción en fase sólida **Oasis WAX**® 6 cc, con 150 mg de sorbente de extracción y 30  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula, Waters® (Milford, MA, USA)

### 6.1.5. Materiales

Filtros de acero inoxidable, Agilent Technologies®  
Adaptador de bomba binaria de acero inoxidable, Agilent Technologies®  
Tubos para centrífuga de polipropileno (PP) con una capacidad de 150 cc, Thermo Scientific  
Reservorios para extracción en fase sólida Sep-Pak® con capacidad de 60 cc, Waters® (Milford, MA, USA)  
Adaptadores de reservorios de extracción en fase sólida Sep-Pak®, Waters® (Milford, MA, USA)  
Filtros de Nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro marca Milipore®  
Bailer para muestreo de polipropileno (PP) sin marca de 1.2 m de longitud y 10 cm de diámetro.  
Botellas de polipropileno (PP) color ámbar con capacidad de 1 L

### 6.1.6. Software

El análisis de los espectros de masa se realizó con el programa MassHunter versión 5.3 marca Agilent Technologies.  
El análisis estadístico de los resultados se hizo con el programa Statgraphics Centurion XVI.I (Statgraphics Inc.).

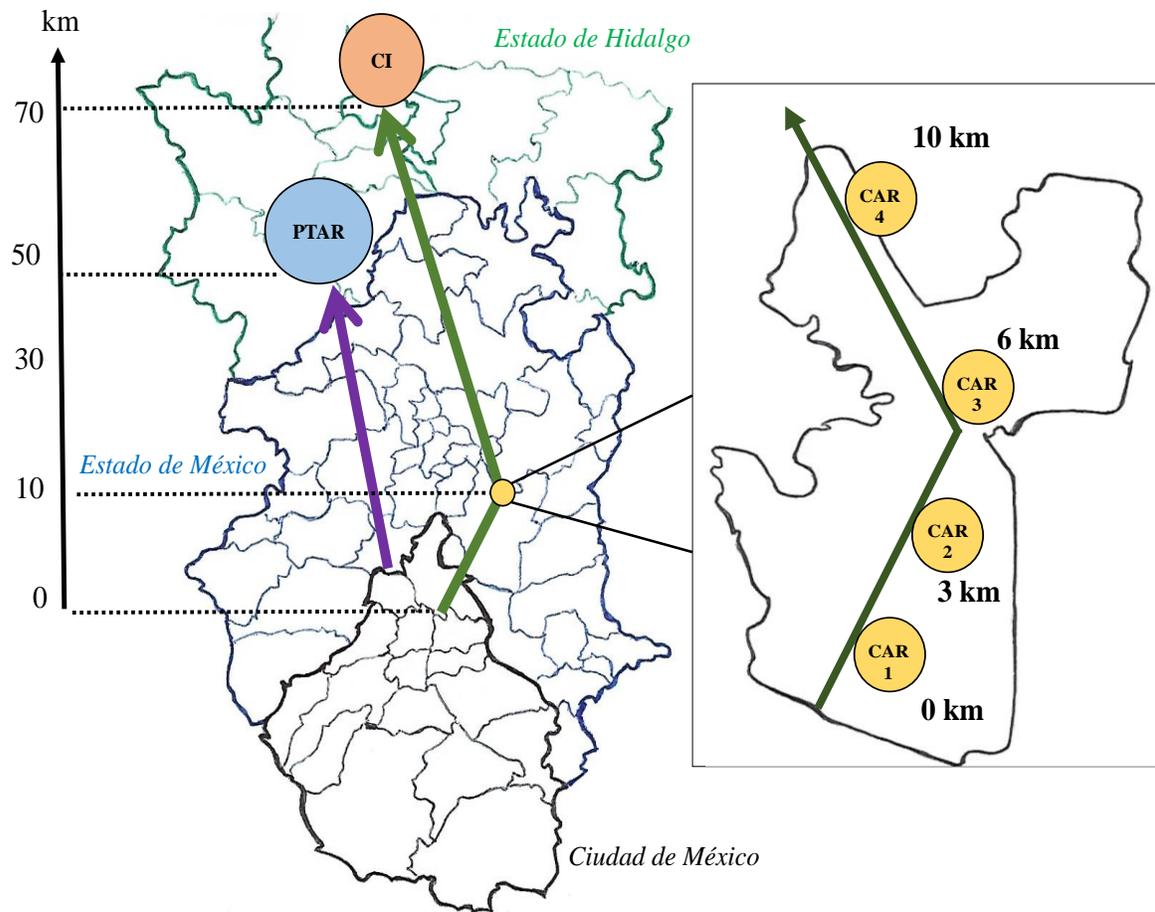
## **6.2. PUNTOS DE MONITOREO Y TOMA MUESTRA**

### **6.2.1. Selección de los sitios de monitoreo en la Zona Metropolitana del Valle de México**

La red de monitoreo para la determinación de los PFCAs objetivo se condujo dentro de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) en dos de las principales vías de transporte de agua residual cruda, a saber: 1) el Gran Canal de Desagüe y 2) en la salida del túnel de drenaje profundo Emisor Central. Cada una representa la gran salida de agua de la CdMx al Valle del Mezquital y la Planta de Tratamiento de Atotonilco, respectivamente, ambas en el estado de Hidalgo. Adicionalmente, se eligió el canal de distribución de aguas residuales Tlamaco-Juandhó como un punto de monitoreo dentro del Valle del Mezquital, al saber que se trata de un canal derivado del Gran Canal de Desagüe. Para este estudio, se establecieron 6 puntos de monitoreo mostrados en la Figura 4, los cuales incluyen: **I)** Un transecto compuesto por 4 puntos de monitoreo (CAR 1-4) distribuidos en una zona industrial a lo largo de 10 km en el Gran Canal de Desagüe, ubicado en el municipio de Ecatepec, Estado de México, **II)** El túnel de drenaje profundo Emisor Central (TAR), localizado en el municipio de Tepeji, Hidalgo y **III)** El canal de distribución de agua residual cruda Tlamaco-Juandhó (CI), dentro del pueblo de Tlahuelilpan, Hidalgo.

### **6.2.2. Selección de los sitios de toma de muestra en la Planta de Tratamiento de Agua Residual de Atotonilco, Hidalgo**

El destino ambiental de los PFCAs posterior a un tratamiento de las aguas residuales se evaluó monitoreando la concentración de los compuestos en el influente y el efluente de la planta de tratamiento de agua residual (PTAR) de Atotonilco, Hidalgo. Para ello, se tomaron muestras en el interior de la planta en 4 puntos de monitoreo representativos del sistema de tratamiento esquematizado en la Figura 5, a saber: **I)** Influyente de la planta de tratamiento (IN), **II)** Efluente del tratamiento primario (Coagulación-Floculación, T1), **III)** Efluente del tratamiento secundario (Lodos activados, T2) y **IV)** Efluente de la planta de tratamiento, el cual es producto de la mezcla entre los efluentes primario y secundario (ME).



-  Ruta gran canal de desagüe (CAR)
-  Puntos de monitoreo en el Canal de Agua Residual (CAR, 1-4)
-  Canal de Irrigación Tlamaco-Juandhó; Tlahuelilpan, Hidalgo.
-  Ruta túnel profundo Emisor Central (DT)
-  Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR)

*Figura 4. Rutas y puntos de monitoreo del drenaje dentro de la Zona Metropolitana del Valle de México; Gran Canal de Desagüe, Emisor Central y el canal de irrigación Tlamaco-Juandhó. Elaboración Propia*

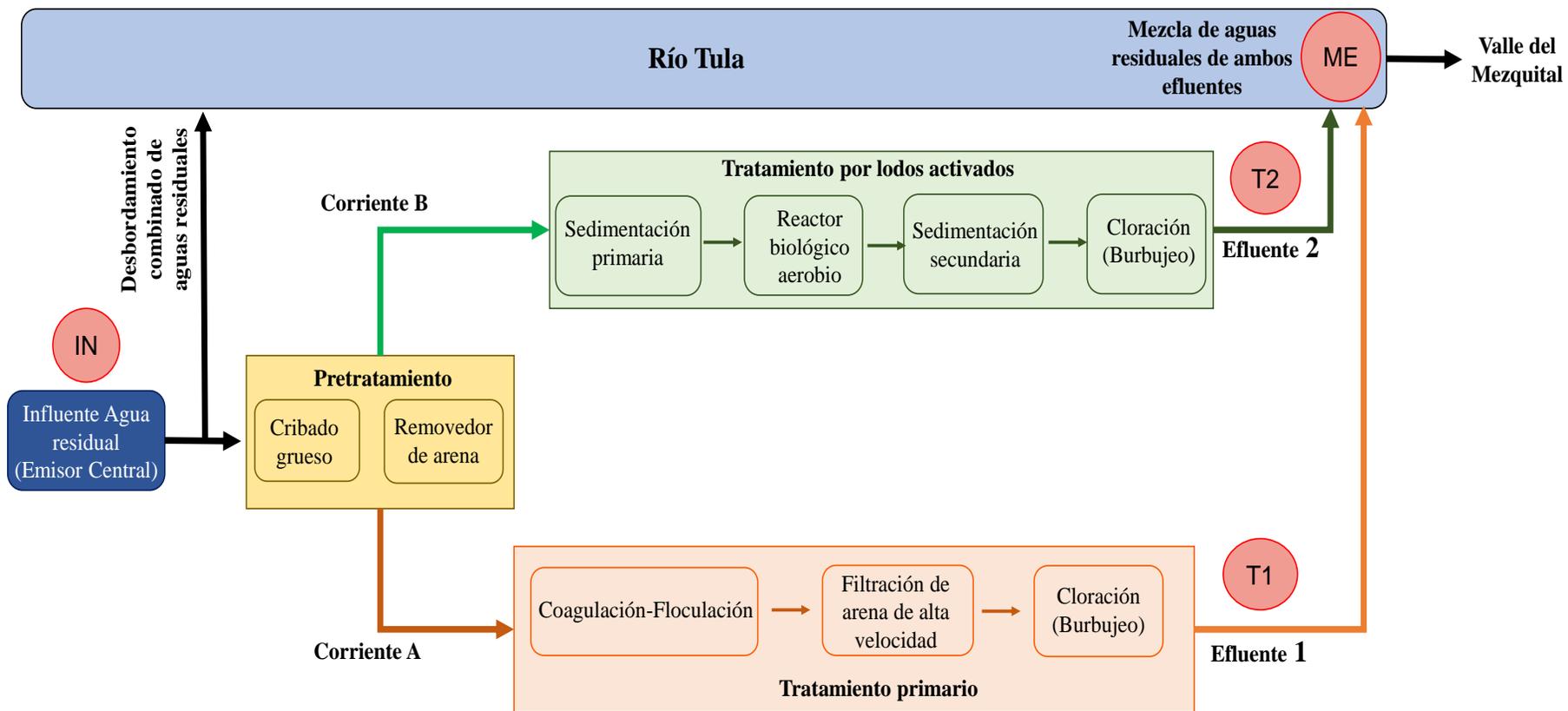


Figura 5. Esquema y localización de los puntos de monitoreo elegidos dentro de la PTAR Atotonilco. Elaboración propia

### **6.3. TOMA DE MUESTRA**

#### **6.3.1. Protocolo de toma de muestras para el agua residual del túnel de drenaje profundo, los canales de agua residual y la planta de tratamiento**

Las muestras provenientes del Gran Canal de Desagüe, el túnel Emisor Central, la PTAR de Atotonilco y el canal de irrigación Tlamaco-Juandhó fueron tomadas entre los meses de abril-octubre del año 2019, de acuerdo con lo señalado en la norma mexicana (NMX-AA-003, 1980) y con las recomendaciones establecidas en el método 537 de la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2018).

Con el fin de reducir los posibles interferentes en el evento de muestreo y la contaminación cruzada, se efectuaron dos acciones preventivas, a saber: 1) lavado previo de las botellas de polipropileno (PP) ámbar con una disolución de hidróxido de amonio en metanol (0.1 %v/v), seguido por un lavado con agua Mili-Q, y 2) se utilizaron blancos de muestra en todos los sitios a lo largo de la campaña de monitoreo.

Debido a la complejidad de las muestras estudiadas, no fue posible adquirir y/o producir un blanco de muestra similar a las matrices de agua estudiadas, por tal motivo, se optó por tomar 1L de agua adicional a la muestra para cada sitio a lo largo del monitoreo con el objetivo de utilizarla como un blanco de muestra. Con este análisis de blancos se determinó la contribución de cada analito contenido en la muestra a la señal analítica, permitiendo así, hacer las correcciones de los blancos durante la evaluación de los parámetros de desempeño de la validación del método. Los blancos de muestra se analizaron de acuerdo con el método desarrollado en este trabajo, el cual esta resumido en la Figura 21 (sección 7.10.6)(H. Cantwell, 2019).

Las muestras se tomaron arrojando una cubeta amarrada a una cuerda en cada punto de toma de muestra, Antes de tomar la muestra representativa, se lavaron las botellas de polipropileno (PP) 10 veces con la matriz correspondiente al punto de toma de muestra. Posteriormente se tomó y transfirió 1 L de muestra a una botella de polipropileno. Finalmente, tanto las muestras como los blancos de muestras fueron transportados hasta el laboratorio en una hielera, donde se refrigeraron a 4 °C para su posterior análisis.

### **6.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS PFCAs POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA VÍA HPLC-MS/MS/QqQ**

#### **6.4.1. Identificación estructural de los PFCAs mediante espectrometría de masas**

Los PFCAs estudiados presentan una elevada polaridad, una volatilidad y una solubilidad en agua que son directa e indirectamente proporcionales a la longitud de su cadena alquílica, respectivamente; estas propiedades permiten analizar a los compuestos directamente mediante HPLC-MS/MS(QqQ). Para conseguir este objetivo se preparó una disolución metanólica de 1 mg L<sup>-1</sup> de cada PFCA; posteriormente, se transfirió una alícuota de 1 mL a un vial ámbar de HPLC y se inyectó 1 µL de cada estándar a un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia (Agilent 1260 Infinity series) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent 6420).

#### 6.4.2. Identificación de los fragmentos de masa. Experimentos de barrido total de iones fragmento (*full Scan*)

La identificación de los fragmentos de masa más estables, el ion molecular y el pico base de los PFCAs se obtuvo aplicando un barrido completo de iones fragmento dentro del intervalo 50-600 m/z. El análisis de masas se condujo empleando el modo de ionización electrospray negativo (ESI -) con un voltaje de fragmentación y capilar de 70 y 4000 V, respectivamente. La presión del nebulizador se mantuvo en 11 psi, la temperatura 300 °C y el flujo de gas de secado (N<sub>2</sub>) 11 L min<sup>-1</sup>.

#### 6.4.3. Identificación de las reacciones de transición selectivas ion precursor-ion producto cuantitativo y de confirmación. Experimentos de barrido de ion-fragmento (*Product Ion*)

La identificación selectiva de las reacciones de transición mediante la selección de pares de iones fragmento característicos para cada analito se realizó empleando el modo de adquisición de barrido de ion-fragmento o ion producto (*Product ion*, PI) operado en modo de ionización electrospray negativo (ESI-). Una vez identificadas, se seleccionaron aquellas que brindaban la mayor señal analítica. El análisis se realizó aplicando una energía de colisión de 20 eV, así como un voltaje de fragmentación y de aceleración de 135 y 4 V, respectivamente. En el cuadrupolo uno se utilizó como ion precursor al ion molecular de cada compuesto [M-H]<sup>-</sup>, mientras que, en el cuadrupolo tres se empleó un barrido total de iones fragmento comprendido entre 40-1000 m/z.

#### 6.4.4. Optimización de los parámetros instrumentales del espectrómetro de masas. Incremento de la señal analítica en las reacciones de transición, en el modo de adquisición de monitoreo de reacción múltiple (MRM)

Una vez identificados las reacciones de transición (pares de fragmentos ion precursor-ion producto) tanto cuantitativos como de confirmación; se optimizaron de modo univariable las parámetros instrumentales del espectrómetro de masas que promueven un valor máximo en la señal analítica. Los parámetros evaluados están señalados en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros instrumentales evaluados del espectrómetro de masas

Parámetro instrumental	Niveles evaluados
Voltaje de fragmentación (V)	65, 70, 75, 105, 135
Energía de colisión (eV)	0, 3, 5, 9
Voltaje de aceleración (V)	0, 2, 4, 7
Muestreo por segundo "Dwell" (m sec <sup>-1</sup> )	50, 100, 200

#### 6.5. CONDICIONES DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE PFCAS

La separación cromatográfica de los PFCAs se efectuó inyectando 10 µL de una mezcla de estándares de los PFCAs objetivo y hacerlos pasar a través de una columna en fase reversa ZORBAX SB-C18 (4.6 × 1500 mm y 3.5 µm de tamaño de

partícula). La fase móvil estuvo compuesta por Agua con  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$  1 mM y MeOH con  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$  1 mM con un flujo constante de  $0.3 \text{ mL min}^{-1}$ . El gradiente utilizado durante la separación inició con el 40 % de B (5 min), la fracción B se incrementó lentamente hasta 100 % (20 min) y permaneció constante por 5 min, para regresar a condiciones iniciales (3 min) y se mantuvo constante durante los 5 min finales. Los pares de iones fragmento utilizados durante la separación son mostrados en la Tabla 4.

Tabla 4. Iones fragmento seleccionados para el seguimiento selectivo de PFCAs mediante reacciones de fragmentación empleando el modo de adquisición de monitoreo de reacción múltiple (MRM)

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

La separación e identificación cromatográfica estuvo condicionada por la presencia y concentración del acetato de amonio ( $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ ) como un aditivo de la fase móvil. A causa de ello se evaluaron tres concentraciones, a saber: 1, 5 y 10 mM.

#### 6.5.1. Optimización de las condiciones de operación instrumentales del sistema HPLC-MS/MS dependientes de la fase móvil cromatográfica y el volumen de inyección

Definidas los iones fragmento característicos y las condiciones de operación cromatográficas, se optimizaron los parámetros instrumentales del espectrómetro de masas dependientes tanto de la naturaleza del analito como de la composición de la fase móvil. Los parámetros instrumentales optimizados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros instrumentales optimizados del sistema HPLC-MS/MS

Parámetro instrumental	Niveles evaluados
Temperatura del gas de secado ( $^{\circ}\text{C}$ )	200, 250, 300
Flujo del gas de secado ( $\text{L min}^{-1}$ )	7, 9, 11, 13
Presión del nebulizador (psi)	9, 12, 15
Voltaje capilar (V)	1000, 4000, 7000
Volumen de inyección ( $\mu\text{L}$ )	5, 10

#### 6.6. ANÁLISIS DE BLANCOS Y ESTRATEGIAS ANALÍTICAS PARA REDUCIR LA CONTRIBUCIÓN DE INTERFERENTES DE PFCAs CONTENIDOS INTRÍNSECAMENTE EN MATERIALES E INSTRUMENTOS

### 6.6.1. Análisis de blancos y reducción de interferencias instrumentales

Con el objetivo de reducir las interferencias promotoras del ruido de fondo instrumental, los filtros de entrada de disolvente y de purga (PTFE) fueron removidos y en su lugar se colocaron filtros de entrada de disolvente de acero inoxidable y una columna de guarda ZORBAX SB-C8 (2.1 × 30 mm con un tamaño de partícula de 1.8 µm) de acuerdo con lo indicado por (Jahnke & Berger, 2009).

Además, se implementó un procedimiento de lavado instrumental previo, durante y posterior a la inyección de estándares y/o muestras. El lavado instrumental estuvo compuesto por: 1) lavado general con una mezcla de disolventes Agua:MeOH (NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO 1mM) durante 30 min, 2) cinco inyecciones de blanco instrumental en las condiciones cromatográficas de operación señaladas en la sección (Condiciones de separación cromatográfica de PFCAs), 3) el análisis de 6 inyecciones de blancos (instrumentales y materiales), estándares analíticos de PFCAs (100 µg L<sup>-1</sup>) o muestras, según se requiera, 4) aplicación de 8 ciclos de lavado con la fase móvil sin inyección y 5) al concluir el análisis cromatográfico se realizó un lavado general con Agua:MeOH (NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO 1mM) durante 30 min.

La composición de la mezcla de disolventes utilizados como fase móvil de la separación cromatográfica descritos en la Tabla 12 apartado 7.5 fueron utilizados como blancos de disolvente y blancos de procedimiento.

### 6.6.2. Análisis de blancos y reducción de interferencias en los materiales utilizados durante el tratamiento de muestras

De modo similar a lo expuesto en la sección anterior, se evaluó la contribución en la señal analítica de los diferentes materiales utilizados durante la etapa de muestreo y preparación de muestra (Tabla 6). Asimismo, se evaluaron dos procedimientos de lavado de material, con el objetivo de reducir el ruido de fondo. Para ello, se aplicaron tres ciclos de lavado sucesivo con 5 mL de la disolución hasta completar un volumen total de 15 mL. En el primer procedimiento se utilizó una disolución de MeOH (100 %v/v); mientras que en el segundo se utilizaron 20 mL de una disolución 0.1 M de metil tert-butil éter (MTBE, por sus siglas en inglés) en metanol.

Tabla 6. Materiales con una posible contribución de PFCAs evaluados durante el proceso de toma y preparación de muestra

<b>Etapas</b>	<b>Materiales</b>
Toma de muestra	Recipientes de polipropileno (PP)
Pretratamiento de muestra (filtración)	Tubos de centrífuga
	Filtros de Nylon
Extracción en fase sólida (SPE)	Llaves del Manifold
	Mangueras de succión
	Reservorios para SPE de polipropileno
	Adaptadores de reservorios SPE de polipropileno
Instrumental	Filtros de entrada/válvula de purga

Después de lavar todos los materiales, se prepararon blancos de procedimiento de todos los materiales de plástico descritos en la Tabla 6. Para ello se añadieron 5 mL de una mezcla Agua:MeOH (60:40) con  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2$  1mM a cada componente, posteriormente se transfirieron a un vial HPLC de 2 mL para su posterior análisis cromatográfico.

## 6.7. VALIDACIÓN INSTRUMENTAL DEL SISTEMA HPLC-MS/MS

Se validaron los parámetros de desempeño típicos de una validación instrumental cromatográfica, a saber: intervalo lineal, precisión, límite de detección y límite de cuantificación.

### 6.7.1. Intervalo lineal

La linealidad del instrumento se evaluó inyectando por triplicado diez disoluciones independientes de una mezcla de estándares de PFCAs en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.005-0.1  $\text{mg L}^{-1}$  por triplicado ( $n=3$ ). Las curvas de calibración fueron inyectadas en diferentes días. La linealidad del sistema se evaluó a partir de del cálculo del coeficiente de correlación de Pearson ( $r^2$ ) a un nivel de confianza del 95 % ( $\alpha=0.05$ ).

### 6.7.2. Precisión

La precisión se evaluó inyectando siete disoluciones de una mezcla de estándares de PFCAs de forma independiente a lo largo del intervalo lineal por triplicado ( $n=3$ ). Las concentraciones evaluadas fueron: 0.04, 0.1 y 0.5  $\text{mg L}^{-1}$ . El análisis se determinó calculando el coeficiente de variación (%CV) descrito en la ecuación 1.

$$\%RSD = \left( \frac{\sigma}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

### 6.7.3. Límite de detección (LDD) y cuantificación (LDC)

Los límites de detección se establecieron mediante la inyección de tres concentraciones de una mezcla de estándares analíticos (0.003, 0.005 y 0.008  $\text{mg L}^{-1}$ ) de forma independiente por heptuplicado ( $n=7$ ). Se determinó como límite de detección a la concentración en la cual, la relación entre la señal analítica del analito y la señal del ruido de fondo exhiba un factor de tres ( $\text{SNR} \geq 3$ ), de acuerdo con la Ecuación 2 [Miller y Miller]. El límite de cuantificación se estableció cuando la relación señal-ruido (SNR) mostrara una magnitud por un factor de 10 de acuerdo con la ecuación 3 [Miller y Miller].

$$\text{SNR}_{LDD} = \frac{\text{Señal analítica (área) del analito}}{\text{Señal analítica (área) del ruido de fondo}} \geq 3 \quad \text{Ecuación (2)}$$

$$\text{SNR}_{LDC} = \frac{\text{Señal analítica (área) del analito}}{\text{Señal analítica (área) del ruido de fondo}} \geq 10 \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde:  $\bar{X}$ =media y  $\sigma$  = desviación estándar.

## **6.8. PRETRATAMIENTO DE MUESTRA. EVALUACIÓN DE LA PÉRDIDA DE ANALITOS EN EL PROCESO DE CENTRIFUGACIÓN EN MATRICES ACUOSAS**

Con el fin de excluir a la materia sólida suspendida de las muestras de agua previo a su percolación a través de los cartuchos de extracción, se evaluó la pérdida de analitos durante el centrifugado de las muestras. Para ello, 250 mL de agua residual cruda previamente filtrados, fueron fortificados con una mezcla de estándares analíticos ( $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ) y cargadas en 12 tubos para centrífuga de polipropileno y centrifugadas a 10,500 rpm durante 10 min por triplicado ( $n=3$ ). Posteriormente, la fase acuosa se decantó y analizó vía HPLC-MS/MS. Sabiendo la concentración añadida y con la concentración determinada, se calculó el porcentaje de recobro (%r) tal como lo señala la Ecuación 4.

$$\%r = \frac{C_r}{C_c} \times 100 \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde:  $C_r$  = concentración del estándar analítico recuperado,  $C_c$  = concentración del estándar analítico cargado.

## **6.9. EXTRACCIÓN DE PFCAs DE MATRICES ACUOSAS. AGUA (GRADO HPLC), RESIDUAL CRUDA, RESIDUAL TRATADA, SUPERFICIAL Y SUBTERRÁNEA**

La extracción de los PFCAs objetivo de las matrices acuosas bajo estudio se efectuó vía extracción en fase sólida fuera de línea (SPE, por sus siglas en inglés) con base en los métodos establecidos por (Taniyasu et al., 2008), además se consideraron las recomendaciones establecidas en el método 537 de la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2018). El desarrollo del procedimiento de extracción estuvo compuesto por: 1) evaluación del proceso de filtración de agua en el pretratamiento de la muestra, 2) selección del cartucho de extracción, 3) análisis y reducción de los interferentes del proceso de extracción y 4) establecimiento de las condiciones de extracción óptimas.

Para establecer las condiciones experimentales se emplearon matrices fortificadas con una disolución de estándares de PFCAs de  $0.02 \text{ mg L}^{-1}$  de concentración constante; excepto para los experimentos de volumen de fuga, los cuales se hicieron en condiciones de concentración variable. La eficiencia de cada etapa optimizada se analizó mediante el cálculo del porcentaje de recobro del fortificado (% r) de acuerdo con lo señalado en la ecuación 4.

La optimización del procedimiento de extracción se realizó para todas las matrices involucradas. Para conseguir este objetivo, las disoluciones evaluadas fueron percoladas a través de los cartuchos de extracción en fase sólida utilizando un extractor multi muestra (manifold).

### **6.9.1. Selección del cartucho en fase sólida (SPE)**

Para elegir el adsorbente de extracción más eficiente se evaluaron dos cartuchos de extracción en fase sólida. El primero de ellos es un cartucho universal de balance hidrofílico-lipofílico OASIS HLB (N-vinilpirrolidona y divinilbenceno, de 6 cc con 200

mg de adsorbente y 30 µm de tamaño de partícula). El segundo es un cartucho intercambio aniónico débil OASIS WAX (6cc con 150 mg de adsorbente y 30 µm de tamaño de partícula). Este cartucho mantiene la misma estructura química que los HLB, pero ha sido funcionalizado con una molécula de piperazina. Durante esta etapa, el procedimiento de extracción utilizado fue el recomendado por el fabricante y está resumido en la Tabla 7.

Tabla 7. Condiciones experimentales utilizadas para los cartuchos de extracción en fase sólida

Etapa	OASIS HLB	OASIS WAX
Acondicionamiento	MeOH y Agua (5 y 5 mL)	MeOH y Agua (5 y 5 mL)
Carga	250 mL estándar/muestra	250 mL estándar/muestra
Lavado	5 mL de MeOH (5 %v/v)	5 mL de CH <sub>3</sub> COOH (2 %v/v)
Elución	5 mL de MeOH (100 %v/v)	1) 5 mL de MeOH (100 %v/v) 2) 5 mL de NH <sub>4</sub> OH en MeOH (1 %v/v)

### 6.9.2. Optimización de las condiciones de extracción en fase sólida

Para la extracción por SPE se utilizaron los cartuchos de intercambio aniónico débil OASIS WAX. La optimización del procedimiento de extracción incluyó: 1) selección de los disolventes y volumen de lavado, 2) selección de los disolventes y volumen de elución, 3) flujo utilizado en la etapa de carga de muestra, 4) determinación del volumen de fuga y 5) evaporación del disolvente de elución con nitrógeno de ultra alta pureza (N<sub>2</sub> UAP 5.0). Las condiciones experimentales evaluadas se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Optimización de las condiciones experimentales en cada etapa de la extracción en fase sólida

Etapa	Condiciones evaluadas
Acondicionamiento	1) 5 mL NH <sub>4</sub> OH en MeOH (0.1 %v/v) 2) 5 mL MeOH (100 %v/v), 3) 5 mL de agua (Mili-Q)
Lavado	1) 5 mL de NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> COO (25 mM, pH=9.2) 2) 5 mL de MeOH (30 %V/V)
Elución	5 mL de MeOH (100 %v/v) 5 mL de MeOH con NH <sub>4</sub> OH (0.1 %v/v) 10 mL de MeOH con NH <sub>4</sub> OH (0.1 %v/v)
Velocidad de carga de muestra	Vacío aplicado a 5 mL min <sup>-1</sup> Vacío aplicado a 10 mL min <sup>-1</sup>
Evaporación	N <sub>2</sub> con un flujo de 5 mL min <sup>-1</sup> N <sub>2</sub> con un flujo de 30 mL min <sup>-1</sup>
Volumen de fuga	50 mL de una disolución fortificada con 1 mg L <sup>-1</sup> de PFCAs 100 mL de una disolución fortificada con 1 mg L <sup>-1</sup> de PFCAs 250 mL de una disolución fortificada con 1 mg L <sup>-1</sup> de PFCAs 500 mL de una disolución fortificada con 1 mg L <sup>-1</sup> de PFCAs

## 6.10. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS SPE-HPLC-MS/MS/QQQ PARA LA DETERMINACIÓN DE PFCAs EN MATRICES ACUOSAS.

El método analítico se validó considerando los parámetros de desempeño característicos para una determinación de compuestos orgánicos en niveles de concentración de ng L<sup>-1</sup> en matrices complejas. La validación del método se desarrolló preparando curvas de calibración de matriz cruzada en tres matrices acuosas i.e., agua residual cruda, agua residual tratada y agua superficial de manantial. La validación se hizo con base en lo expuesto en las guías de validación nacional [CCAYAC,2017] e internacional [Eurachem, 2017]. Es importante mencionar que en todos los parámetros de desempeño analítico evaluados se utilizaron blancos de muestra, instrumentales y de materiales para realizar la corrección de la señal analítica, de acuerdo con las ecuaciones 5 y 6.

$$S_A = S_T - S_B - \Sigma S_I \quad \text{Ecuación (5)}$$

$$S_I = A_{LI} + A_R + A_{TC} + A_{CSPE} + A_{RSPE} + A_{ARSPE} \quad \text{Ecuación (6)}$$

Donde: S<sub>A</sub> = señal analítica, S<sub>T</sub> = señal total medida, ΣS<sub>I</sub> = sumatoria de la contribución total de señales interferentes, S<sub>B</sub>= señal del blanco de muestra, A<sub>LI</sub>= área de las llaves del manifold, A<sub>R</sub>= área del recipiente (PP), A<sub>TC</sub>= área de los tubos de centrífuga, A<sub>CSPE</sub> = área del cartucho SPE, A<sub>RSPE</sub>= área del reservorio SPE, A<sub>ARSPE</sub>= área de los adaptadores del reservorio SPE.

### 6.10.1. Linealidad

La linealidad del método SPE-HPLC-MS/MS/Qqq se evaluó inyectando por quintuplicado diez disoluciones independientes de una mezcla de estándares de PFCAs en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.5-300 ng L<sup>-1</sup>. Las disoluciones curvas de calibración fueron inyectadas en diferentes días. La linealidad del sistema se evaluó a partir de dos criterios: 1) Determinación del coeficiente de correlación de Pearson (r) a través del método de mínimos cuadrados y 2) Evaluación de los residuales a lo largo del intervalo lineal. El ajuste del método por mínimos cuadrados y la evaluación del gráfico de residuales se hicieron a un nivel de confianza del 95 % (α=0.05).

### 6.10.2. Precisión

La precisión del método se determinó a través del cálculo de la desviación estándar relativa (%RSD) Ecuación 7, para tres niveles de concentración por heptuplicado a lo largo del intervalo lineal. Para cada analito, se utilizaron tres disoluciones fortificadas de 30, 160 y 220 ng L<sup>-1</sup>. Se consideró como una precisión aceptable aquellas que presentaran coeficientes de variación ≤10 % de acuerdo con lo sugerido por (Peters et al., 2007).

$$\%RSD = \left( \frac{\sigma}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación (7)}$$

### 6.10.3. Exactitud

La exactitud del método se determinó a través de experimentos de recobro, a tres niveles de concentración por triplicado. Las concentraciones empleadas para la fortificación de las muestras fueron: 15, 120 y 250 ng L<sup>-1</sup>. El porcentaje de recobro (%R) se calculó según lo mostrado en la ecuación 8. Se consideró como un valor de recobro aceptable aquel que exhibiera magnitudes comprendidas dentro del intervalo de 60-120 % tal como sugiere (Peters et al., 2007).

$$\%R = \frac{C_R}{C_C} \times 100 \quad \text{Ecuación (8)}$$

Donde: C<sub>R</sub>= concentración de analito recuperado, C<sub>C</sub>= concentración de analito cargado

### 6.10.4. Límites de detección (LD) y cuantificación (LC)

Se consideró como límite de detección (LD) al nivel de concentración más bajo en donde la señal analítica fuera diferenciable con respecto al ruido de fondo con una precisión aceptable. Para ello, el LD debió cumplir con dos condiciones, a saber: 1) La señal analítica debe ser al menos 3 veces mayor que la señal correspondiente al ruido de fondo, Ecuaciones 9 y 10. 2) la desviación estándar relativa (%RSD) del área obtenida para un determinado nivel de concentración debe ser ≤ 10%. La desviación estándar relativa se calculó en condiciones de precisión intermedia, de acuerdo con lo establecido en el Anexo C de la (Eurolab España & P.P. Morillas y colaboradores, 2016) Ecuación 11. Para calcular determinar el LD para cada analito se evaluaron tres disoluciones fortificadas de 1, 3 y 5 ng L<sup>-1</sup> por triplicado en siete días diferentes.

$$SNR = \frac{[A_F]}{[A_{rf}]} \geq 3 \quad \text{Ecuación (9)}$$

$$[A_{FA}] = [A_T] - [A_I] - [A_B] \quad \text{Ecuación (10)}$$

$$\%RSD_{inter} = \left( \frac{S}{\bar{X}} \right) \times 100 \quad \text{Ecuación (11)}$$

Donde: SNR= relación señal/ruido, A<sub>F</sub> = área de analito fortificado, A<sub>rf</sub> = área del ruido de fondo, A<sub>T</sub> = área total, A<sub>I</sub> = área de las interferencias, A<sub>B</sub> = área de los blancos de muestra, %RSD<sub>inter</sub> = desviación estándar relativa (precisión intermedia).

Por su parte, se consideró como límite de cuantificación (LC) al nivel de concentración más bajo en donde la señal analítica pudiera ser cuantificable con precisión y exactitud, esto es: 1) formen parte de la curva de calibración con una linealidad aceptable y 2) los porcentajes de desviación estándar relativa deben ser menores al quince por ciento ( %RSD<15) (Peters et al., 2007) y 3) que la señal muestre un área analítica de al menos 4 veces la identificada para el límite de detección (LD). En este sentido, se eligió como LC al nivel de concentración más bajo de la curva de calibración.

## **6.10.5. Evaluación del efecto matriz**

El efecto matriz se evaluó por medio de la comparación *vis-á-vis* entre las curvas de recobro obtenidas en las diferentes matrices validadas contra la curva de recobro generada a partir de experimentos en agua libre de interferencias (Mili-Q), evaluando las pendientes obtenidas a través de pruebas de significancia al 95 % de confianza ( $\alpha=0.05$ ).

## **6.11. ANÁLISIS DE PFCAs EN LAS MUESTRAS DE AGUA**

Todas las muestras de agua recolectadas fueron sometidas al método de cuantificación validado en el presente trabajo, el cual se describe a continuación: El cartucho se acondicionó con 5 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  en MeOH (0.1 %v/v) seguido por 5 mL de MeOH y 5 mL de agua, respectivamente. Las muestras de agua se percolaron en cartuchos de extracción en fase sólida de intercambio aniónico débil OASIS WAX® con un flujo de  $5 \text{ mL min}^{-1}$ , el lavado se realizó con 5 mL de  $\text{NH}_4\text{CHOOH}$  (0.1 %v/v) con un pH=9.2 y 5 mL de MeOH (5 %v/v). Los analitos se eluyeron con 6 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  en MeOH (0.1 %v/v) por gravedad. Los eluatos fueron gentilmente evaporados con nitrógeno de ultra alta pureza ( $\text{N}_2$ , UAP 5.0) con un flujo de  $5 \text{ mL min}^{-1}$ . Finalmente, las muestras fueron reconstituidas en 250  $\mu\text{L}$  de fase móvil cromatográfica y transferidas a insertos de HPLC para su posterior análisis vía HPLC-MS/MS/QqQ.

### **6.11.1. Estudios de movilidad de PFCAs a través del suelo en un piedemonte irrigado con agua residual en el Valle del Mezquital, Hidalgo**

El estudio de la movilidad de los PFCAs a través del suelo se realizó a partir del monitoreo de la concentración de los compuestos de interés en el agua de percolación a través del suelo a un nivel macro escala en un piedemonte localizado en el pueblo de Tlahuelilpan dentro del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo. Para ello se establecieron 3 sitios de toma de muestra dentro de un piedemonte irrigado con agua residual cruda por más de 90 años en el pueblo de Tlahuelilpan, Hidalgo. Los puntos de monitoreo seleccionados son: 1) El canal de distribución de agua residual Tlamaco-Juandhó, localizado en la parte superior del piedemonte (CI, 2090 m. s. n. m.), 2) El agua subterránea producto de la infiltración del agua residual al acuífero en la parte media del piedemonte (AS, 2070 m. s. n. m) y 3) El agua subterránea tomada de un manantial, en la zona de descarga del piedemonte estudiado, Cerro Colorado (AM, 2050 m. s. n. m.) (Figura 6).

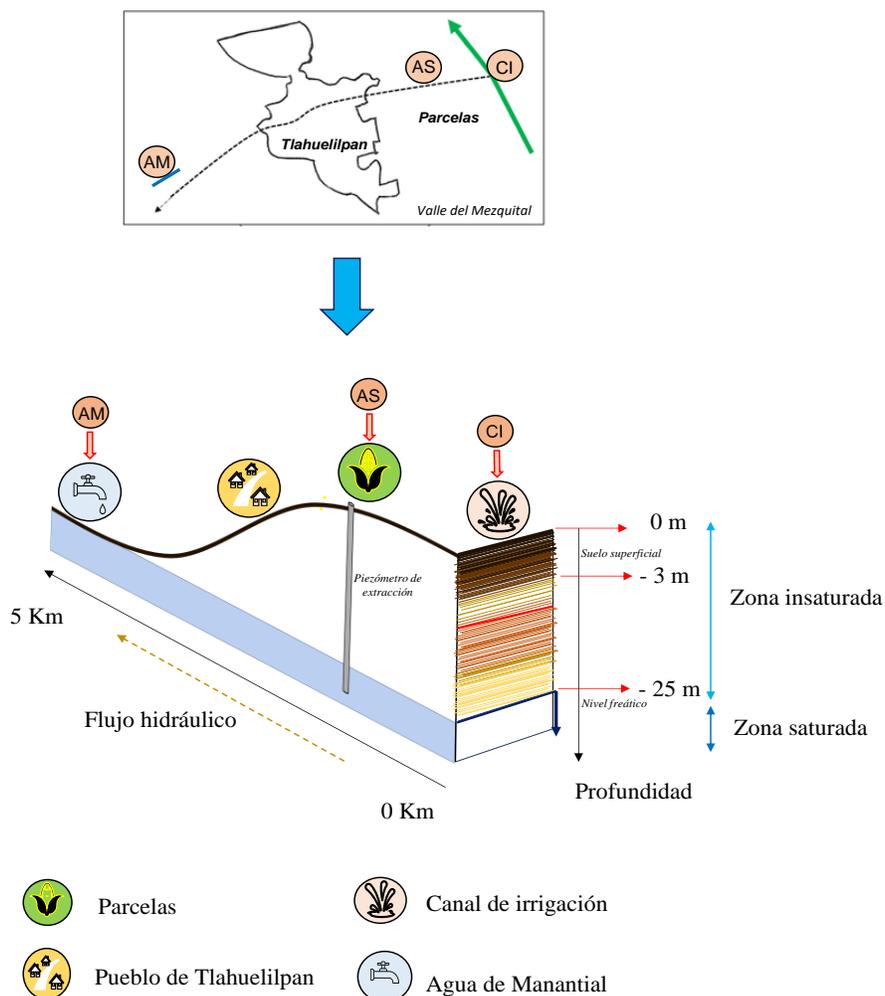


Figura 6. Sitios de monitoreo correspondientes al piedemonte de irrigación agrícola. Donde, CI= Canal de irrigación, AS= Agua Subterránea y AM= Agua de Manantial. Elaboración propia

## 6.12. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS PARA LOS ESTUDIOS DE TRANSPORTE DE PFCAs

La toma de muestras de los estudios de movilidad de PFCAs a través del suelo a escala piedemonte se hicieron entre los años de 2019-2020.

### 6.12.1. Toma de muestras del canal de irrigación, agua subterránea y de manantial

Los sitios de monitoreo son: **I)** El canal de distribución de agua residual cruda Tlamaco-Juandhó (CI) alimentado por el agua proveniente del Gran Canal de Desagüe, **II)** Agua subterránea (AS) producto de la infiltración del agua residual a través del suelo, la cual fue recolectada mediante la instalación de un piezómetro de monitoreo instalado a 24 m de profundidad y localizado en la parte media del piedemonte (parcelas agrícolas) y **III)** Agua de manantial Cerro Colorado (AM).

El agua residual proveniente del canal de distribución y el agua del manantial se tomaron con el procedimiento señalado previamente. El agua subterránea (acuífero) se extrajo del subsuelo a través de un piezómetro profundo de 24 m. Previo a la toma de muestra se retiró el agua subterránea estancada introduciendo un muestreador (bailer) de polipropileno de 1.2 m de longitud y 10 cm de diámetro. El bailer se introdujo diez veces antes de obtener una muestra representativa. Posteriormente se extrajo 1 L de agua subterránea fresca, se transfirió a una botella de polipropileno ámbar y se guardó en una hielera hasta su arribo al laboratorio, donde se guardó a 4 °C hasta su posterior análisis.

### **6.13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI.I (Statgraphics Inc.) Las homocedasticidad e igualdad entre las concentraciones de los PFCAs para diferentes muestras se evaluaron a través de pruebas F-Fisher y t-Student. Asimismo, se hizo un análisis de varianza multivariable (ANOVA) para evaluar los niveles de concentración para cada analito en todos los sitios de estudio. Las pruebas de significancia se hicieron con un 95 % de confianza ( $\alpha=0.05$ ).

## 7. CAPÍTULO 4. Resultados y Discusión

### 7.1. IDENTIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE LOS PFCAs MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

#### 7.1.1. Identificación de los fragmentos de masa (Barrido Total de Iones, *Full SCAN*)

La identificación estructural de los PFCAs objetivo se estableció con los espectros de masa obtenidos a través de los experimentos de barrido completo de iones (*full scan*). Posteriormente, se seleccionaron los iones fragmento más abundantes para cada analito y se evaluaron las abundancias relativas en experimentos de fragmentación específicos del tipo Barrido de ion-fragmento (*product ion*). En las Figuras 7-11 se muestran los espectros de masa obtenidos para cada ácido carboxílico perfluorado.

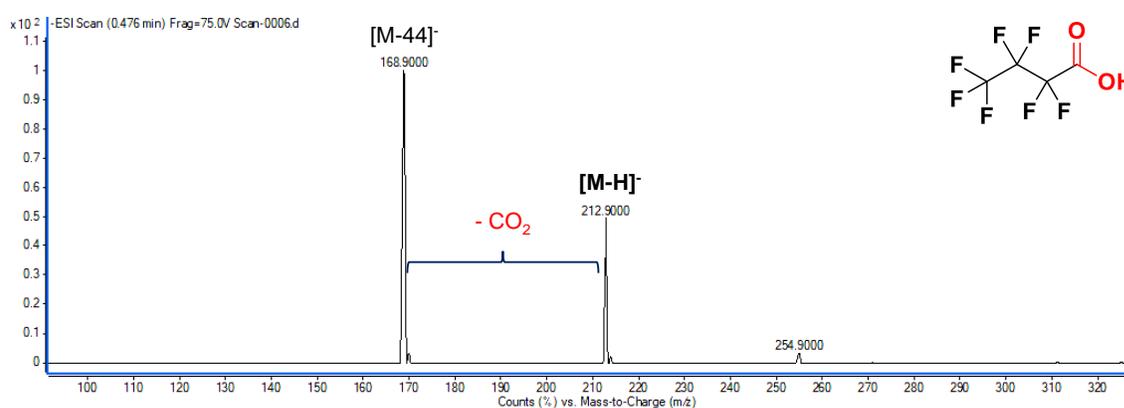


Figura 7. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluorobutanoico PFBA. Elaboración propia

La Figura 7 muestra el espectro de masas del ácido carboxílico perfluorobutanoico (PFBA). En el espectro se observa el ion molecular [M-H]<sup>-</sup> 313.0 m/z, igualmente se aprecia como pico base al ion fragmento 168.9 m/z, quien representa la pérdida del ion carboxilato [M-44]<sup>-</sup>.

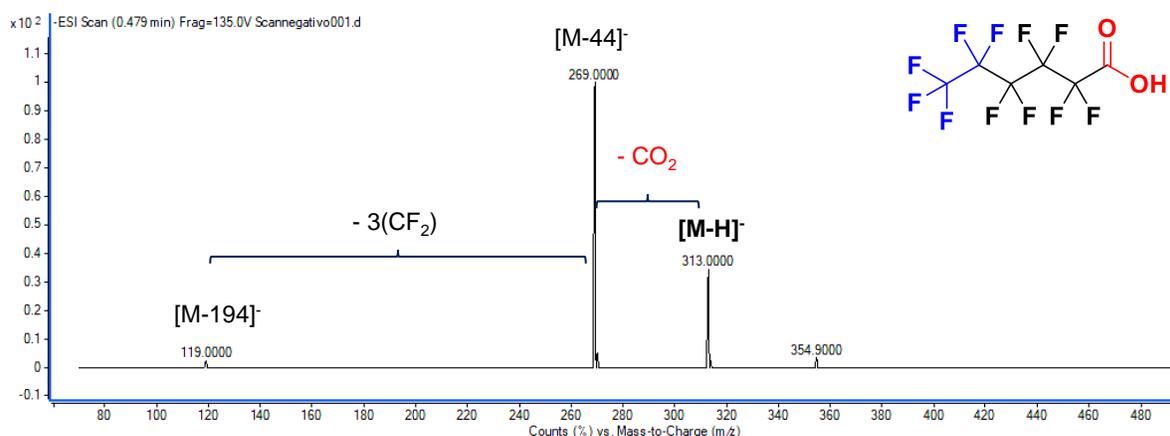


Figura 8. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluorohexanoico PFHxA. Elaboración propia

En la Figura 8 se presenta el espectro de masas del ácido carboxílico pfluorohexanoico (PFHxA). En él, se muestra el ion molecular  $[M-H]^-$  313.0 m/z, así como el pico base 269 m/z, correspondiente a la pérdida del ion carboxilato  $[M-44]^-$ . De igual manera, se observa el fragmento 119 m/z, representativo de la pérdida de tres carbonos difluorados  $[M-194]^-$ .

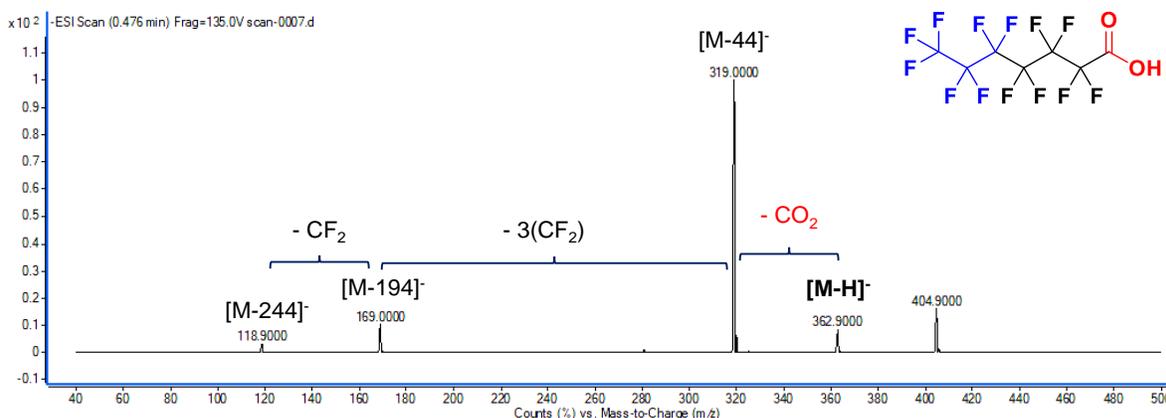


Figura 9. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluoroheptanoico PFHpA. Elaboración propia

La Figura 9 muestra el espectro de masa del ácido carboxílico perfluoroheptanoico (PFHpA). El espectro presenta al fragmento 362.9 m/z como el ion molecular  $[M-H]^-$ , el fragmento 319.0 m/z corresponde al pico base  $[M-44]^-$  y representa la pérdida del ion carboxilato. Entretanto, los fragmentos 169 y 118.9 m/z son representativos de la pérdida de tres y un carbono difluorado, para dar lugar a los iones  $[M-194]^-$  y  $[M-244]^-$ , respectivamente.

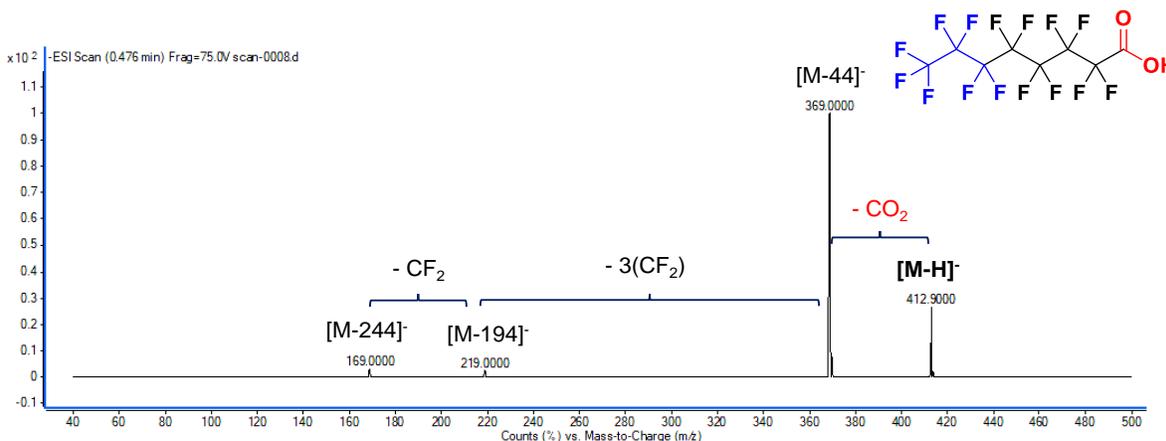


Figura 10. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluorooctanoico PFOA. Elaboración propia

La Figura 10 expone el espectro de masas del ácido carboxílico perfluorooctanoico (PFOA). El ion fragmento 412.9 m/z corresponde al ion molecular  $[M-H]^-$ . Además, se identificó el fragmento 369.0 m/z como el pico base, representando la pérdida del ion carboxilato  $[M-44]^-$ ; asimismo, se observan las pérdidas de grupos carbono difluorados correspondientes a las fragmentaciones  $[M-194]^-$  y  $[M-244]^-$ .

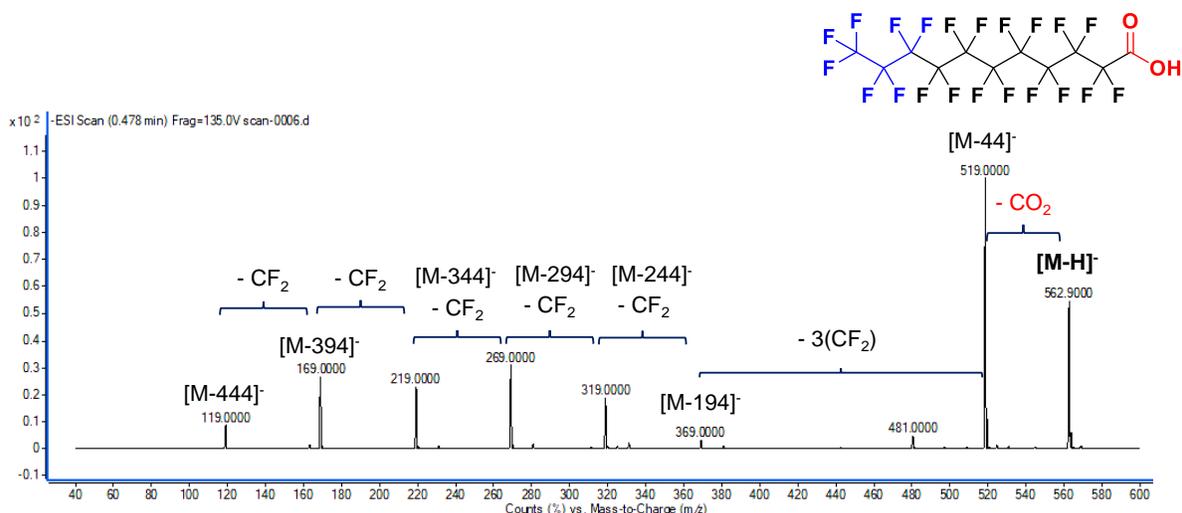


Figura 11. Espectro de masa correspondiente al ácido carboxílico perfluoroundecanoico PFUnA. Elaboración propia

La Figura 11 exhibe el patrón de fragmentación del ácido carboxílico perfluoroundecanoico (PFUnA). En el espectro se identificaron a los fragmentos 562.9 y 519.0 m/z como el ion molecular  $[M-H]^-$  como el pico base  $[M-44]^-$ , respectivamente. este último, representa la pérdida del ion carboxilato. Posteriormente, se identificaron seis pérdidas sucesivas de grupos carbono difluorados i.e., 481.0, 369.0, 319.0, 269.0, 219.0, 169.0 y 119.0 m/z correspondientes a los iones  $[M-194]^-$ ,  $[M-244]^-$ ,  $[M-294]^-$ ,  $[M-344]^-$ ,  $[M-394]^-$  y  $[M-444]^-$ , respectivamente.

Todos los analitos mostraron la fragmentación del ion carboxilato  $[M-44]^-$  como la ruptura de enlace preferencial durante la ionización molecular, esto se debe a que en este tipo de moléculas el enlace entre el carbono terminal de la cadena y el grupo carboxilato es el más débil dentro de la estructura y, por lo tanto, es el más lábil. En contraste, la fragmentación más estable (pico base) es la cadena alifática perfluoroalquilada. La elevada estabilidad de la cadena alifática se debe a la completa sustitución de átomos de hidrógeno (C-H) por átomos de flúor (C-F); esta sustitución incrementa entre 8-18 kcal mol<sup>-1</sup> la energía de enlace sobre un mismo carbono (Snitsiriwat et al., 2022).

De igual manera las fragmentaciones subsecuentes de todos los PFCAs objetivo se identificaron como las rupturas sucesivas de grupos carbono difluorados ( $-CF_2-$ ) donde, el número de fragmentaciones  $[CF_2]^-$  aumenta conforme incrementa la longitud de la cadena perfluoroalquilada, exhibiendo un patrón de fragmentación típico y común de una serie homóloga perteneciente a la familia de los ácidos carboxílicos perfluoroalquilados, donde los iones fragmentos repetibles son: 119.0, 169.0, 219.0 m/z.

La repetibilidad de las fragmentaciones ( $CO_2$ ) y ( $CF_2$ ) sugiere que las disociaciones moleculares de los cinco PFCAs objetivo proceden exclusivamente de la fragmentación de un ion precursor o ion parental, en este caso, el ion molecular  $[M-H]^-$ ; dando lugar a un patrón de fragmentación específico denominado ion

precursor/parental-ion producto. Esta secuencia de fragmentación se rectificó utilizando el modo de adquisición un barrido de ion-fragmento (*Product Ion*). Estos experimentos facultaron la identificación de las disociaciones moleculares más sensibles, es decir, aquellas que producen la mayor cantidad de unidades de área (señal analítica) en el espectro de masas.

## 7.2. IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE LAS REACCIONES DE FRAGMENTACIÓN SELECTIVAS ION PRECURSOR-ION PRODUCTO CUANTITATIVAS Y DE CONFIRMACIÓN. EXPERIMENTOS DE BARRIDO DE ION-FRAGMENTO, *PRODUCT ION*

En la Tabla 9 se muestran las reacciones de transición derivadas de las fragmentaciones ion precursor-ion producto que brindaron la mayor señal analítica; estas fragmentaciones fueron seleccionadas para cada PFCA evaluado. La transición asociada a la pérdida del ion carboxilato [M-44]<sup>-</sup> exhibió la mayor cantidad de unidades de área para todos los PFCAs (Figura Suplementaria 1). Debido a ello, esta reacción de fragmentación ion precursor-ion producto fue seleccionada para hacer un seguimiento cuantitativo.

Entretanto, las reacciones de transición ion precursor-ion producto derivadas de las disociaciones -CF<sub>2</sub>, mostraron una respuesta analítica variable dependiendo del PFCA evaluado (Figura Suplementaria 1). No obstante, las reacciones que mostraron la mayor señal analítica fueron seleccionadas como fragmentaciones de confirmación. En este sentido se utilizaron las fragmentaciones [M-194]<sup>-</sup> para el PFHxA y el PFHpA, correspondientes a los iones fragmento 119 m/z y 169 m/z, respectivamente. Los fragmentos [M-244]<sup>-</sup> y [M-394]<sup>-</sup> para el PFOA y el PFUnA, respectivamente. Estas últimas están correlacionadas al ion fragmento 169 m/z. Los iones fragmento escogidos en este estudio están en buena concordancia con otras metodologías que utilizan las mismas fragmentaciones por espectrometría de masas de triple cuadrupolo (K. Y. Kim et al., 2021; Washington et al., 2008; Wille et al., 2010).

Tabla 9. Reacciones de transición y fragmentaciones ion precursor-ion producto cuantitativo y de confirmación de los PFCAs objetivo

Analito	Ion Precursor (m/z)	Ion Producto (cuantitativo) (m/z)	Ion Producto (confirmación) (m/z)	Fragmentación
PFBA	212.9	168.9	---	[M-44] <sup>-</sup> cuantitativa
PFHxA	313.0	269.0	119.0	[M-44] <sup>-</sup> cuantitativa [M-194] <sup>-</sup> confirmación
PFHpA	362.9	319.0	169.0	[M-44] <sup>-</sup> cuantitativa [M-194] <sup>-</sup> confirmación
PFOA	412.9	369.0	169.0	[M-44] <sup>-</sup> cuantitativa [M-244] <sup>-</sup> confirmación
PFUnA	562.9	519.0	169.0	[M-44] <sup>-</sup> cuantitativa [M-394] <sup>-</sup> confirmación

El establecimiento de las reacciones de fragmentación posibilitó el desarrollo de una metodología analítica específica altamente selectiva y sensible, ya que: 1) redujo sustancialmente las coincidencias entre las señales observadas entre el analito y el ruido de fondo, 2) aumentó la relación señal ruido (SNR, por sus siglas en inglés) y 3) el registrar las áreas asociadas a dos transiciones independientes del mismo analito permitió identificar inequívocamente la presencia de los PFCAs objetivo a lo largo del análisis (Stashenko & Martínez, 2010).

### 7.3. OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS INSTRUMENTALES DEL ESPECTRÓMETRO DE MASAS. INCREMENTO DE LA SEÑAL ANALÍTICA EN LAS REACCIONES DE TRANSICIÓN.

En la Tabla 10 se resumen las magnitudes óptimas de los parámetros instrumentales evaluados que brindaron la mayor señal analítica, i.e., voltaje de fragmentación (V), energía de colisión (eV), adquisición de señal por segundo o Dwell ( $s^{-1}$ ) y voltaje de aceleración (V). Adicionalmente, las gráficas de optimización para cada parámetro se muestran en las Figuras Suplementarias 2-6.

Tabla 10. Parámetros instrumentales óptimos del espectrómetro de masas

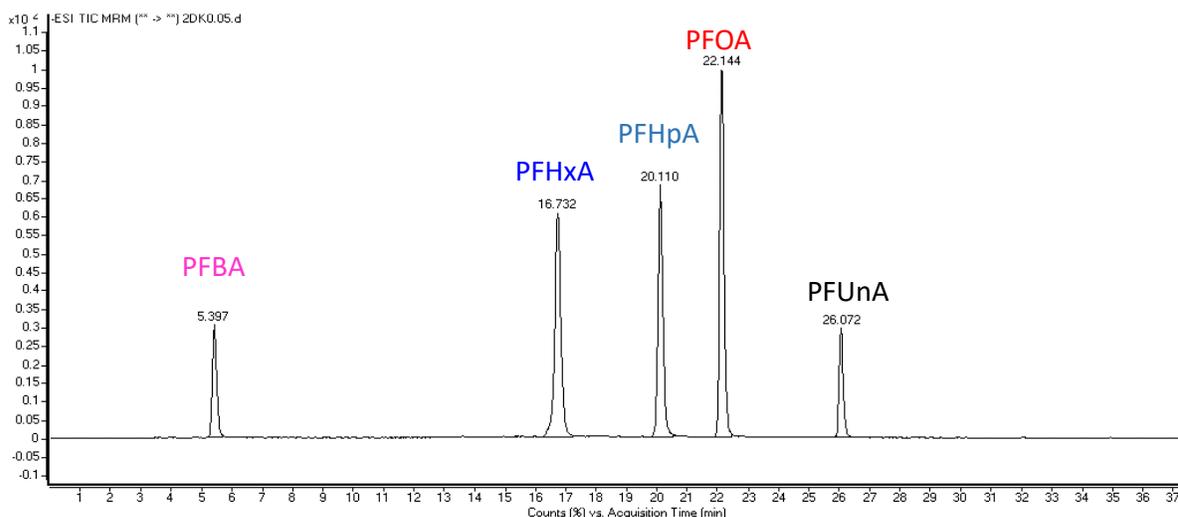
	<b>Transición del compuesto (m/z)</b>	<b>Voltaje de fragmentación (V)</b>	<b>Voltaje de aceleración (V)</b>	<b>Energía de colisión (eV)</b>	<b>Dwell (<math>m s^{-1}</math>)</b>
PFBA	212.9-168.9	75	4	3	100
PFHxA	313.0-269.0	65	7	3	
	313.0-119.0				
PFHpA	362.9-319.0	65	4	5	
	362.9-169.0				
PFOA	412.9-369.0	65	2	3	
	412.9-169.0				
PFUnA	562.9-519.0	70	7	7	
	562.9-169.0	65			

Los parámetros evaluados exhibieron tendencias similares en las dos reacciones de transición evaluadas para cada PFCA (Figuras Suplementarias 2-6). Los voltajes de fragmentación (65-70 V) y energías de colisión (3 eV) bajos produjo la mayor cantidad de área, debido a la ruptura preferencial de los enlaces moleculares más débiles, e.g., el enlace C-C del carboxilato. En contraste, la aplicación de un mayor voltaje de aceleración promovió el aumento en la señal analítica. Mientras que, no se observó un efecto sustancial en la adquisición de señal por segundo (Dwell).

### 7.4. CONDICIONES DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE PFCAS

La Figura 12 se muestra el cromatograma por monitoreo de reacciones múltiples del análisis de la disolución estándar de los PFCAs objetivo con una concentración de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ . En éste se aprecia que los picos cromatográficos están resueltos entre ellos y exhibe un patrón de separación cromatográfico representativo de una serie

homóloga, en el cual, los tiempos de retención aumentan conforme incrementa la longitud de la cadena perfluoroalquilada.



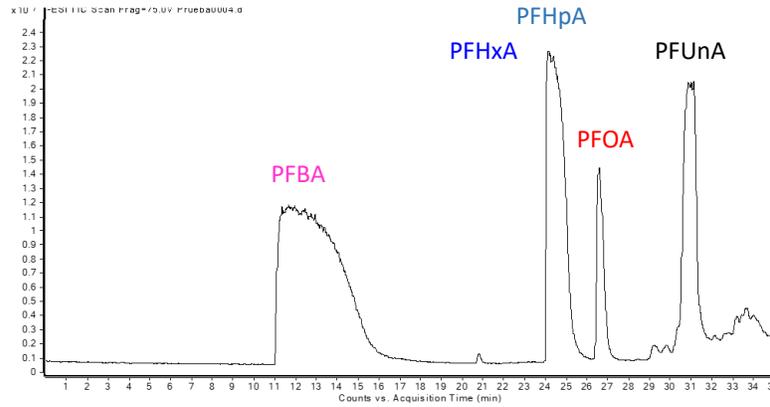
*Figura 12. Cromatograma por monitoreo de reacción múltiple del análisis de la disolución estándar de PFCAs (1 mg L<sup>-1</sup>). PFBA (tr=5.397 min), PFHxA (tr=16.732 min), PFHpA (tr=20.110 min), PFOA (tr=22.144 min) y PFUnA (tr=26.072 min) .  
Elaboración propia*

La resolución entre los picos cromatográficos se debió a dos factores: 1) a la aplicación de un gradiente compuesto por A) agua y B) metanol (MeOH) como fase móvil, donde, el %B aumentó desde el 40 % y hasta un 85% y 2) al uso de acetato de amonio (NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO) como un aditivo dentro de la fase móvil. El MeOH facilitó la movilidad de los PFCAs a través de la columna, mientras que, el acetato de amonio mejoró sustancialmente la simetría y la resolución cromatográfica, particularmente entre los compuestos PFHxA (tr=16.7 min) y PFHpA (tr= 20.1 min), al actuar como un agente enmascarante entre los residuos silanol de la columna y los analitos [Lin 1984] Figura 13.

Además se evaluaron tres concentraciones de NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO, a saber: 0.5, 1 y 5 mM. Como se puede observar en la Figura 14, la señal analítica de los cinco PFCAs incrementa cuando se agrega acetato de amonio en mayor concentración (5 mM) seguido por 1 mM y 0.5 mM. No obstante, la concentración de 5 mM de acetato de amonio aumentó sistemáticamente la presión del equipo a lo largo del análisis, debido a que la solubilidad del NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO conforme el gradiente de la fase móvil supera el 80 %V/V de MeOH. Esto ha sido señalado previamente por Schellinger & Carr, (2004); quienes reportan que la solubilidad del NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>COO es de 1 a 5 mM cuando el MeOH se utiliza en proporciones superiores al 85-90 %V/V durante un análisis, lo que puede provocar la precipitación del aditivo dentro del cromatógrafo. Además puede propiciar el incremento o la supresión de la señal analítica cuando se utiliza la ionización por electrospray en modo negativo (ESI-) (Y. Wang et al., 2018).

Entretanto, la concentración 1 mM de  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$  promovió la mayor señal analítica de los PFCAs sin provocar la precipitación del aditivo dentro del sistema. A causa de esto se eligió utilizar  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$  1 mM como aditivo en la fase móvil.

a)



b)

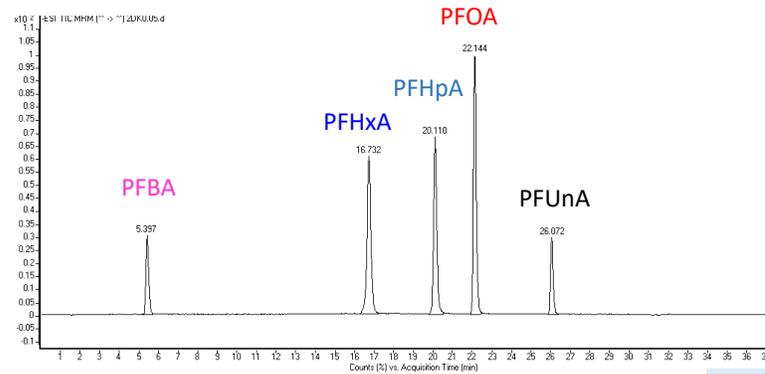


Figura 13. Efecto del acetato de amonio ( $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ ) sobre la separación cromatográfica de PFCAs. a) Cromatograma sin  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ , b) Cromatograma con  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$ . . Elaboración propia

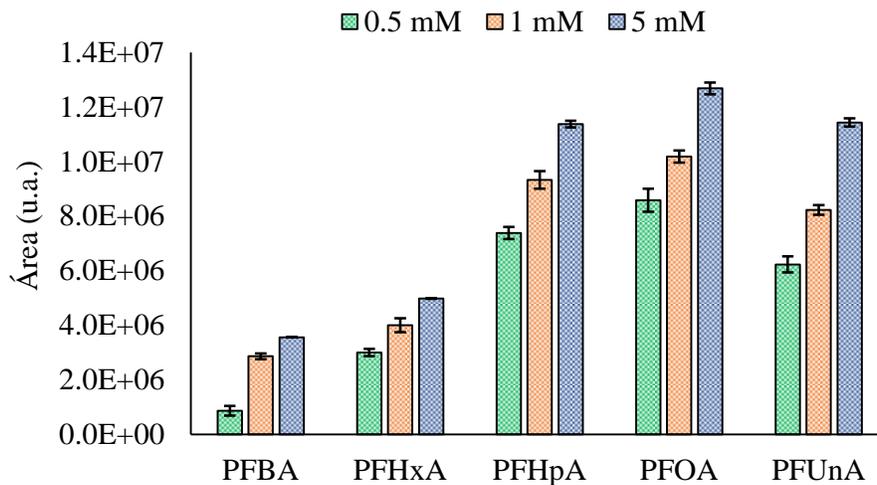


Figura 14. Efecto de la concentración de  $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$  sobre la señal analítica de los PFCAs. Elaboración propia

## 7.5. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN INSTRUMENTALES DEL SISTEMA HPLC-MS/MS DEPENDIENTES DE LA FASE MÓVIL CROMATOGRÁFICA

Una vez establecidas las condiciones cromatográficas se optimizaron los parámetros instrumentales de ionización del espectrómetro de masas dependientes de la fase móvil cromatográfica, a saber: temperatura (°C) y flujo (L min<sup>-1</sup>) del gas de secado (N<sub>2</sub>), presión del nebulizador (psi) y el voltaje capilar (V). De igual manera se determinó el volumen de inyección cromatográfico. Todo esto con el fin de identificar aquellos parámetros que produjeron un máximo en la respuesta analítica. Los valores óptimos se determinaron para cada reacción de fragmentación para cada uno de los PFCAs estudiados y son resumidos en la Tabla 11 y en las Figuras Suplementarias 7-15.

Tabla 11. Parámetros instrumentales del espectrómetro de masas dependientes de la fase móvil

Transición del compuesto (m/z)		Temperatura del gas de secado N <sub>2</sub> (°C)	Flujo del gas de secado N <sub>2</sub> (L min <sup>-1</sup> )	Presión del nebulizador (psi)	Voltaje capilar (V)	Volumen de Inyección (µL)
PFBA	212.9-168.9	250	11	20	1000	1000
PFHxA	313.0-269.0	250		20		
	313.0-119.0			15		
PFHpA	362.9-319.0	300		20		
	362.9-169.0			15		
PFOA	412.9-369.0	300		20		
	412.9-169.0	350		15		
PFUnA	562.9-519.0	350		20		
	562.9-169.0					

Todos los analitos exhibieron señales analíticas máximas en todas las reacciones fragmento observadas bajo las mismas condiciones de operación de flujo de gas de secado, el voltaje capilar y el volumen de inyección, con magnitudes de 11 L min<sup>-1</sup>, 1000 V y 10 µL, respectivamente. La temperatura óptima del gas de secado fue de 250 °C para los compuestos PFBA y PFHxA, 300 °C para el PFHpA y de 300 y 350 °C para el PFOA y PFUnA. La presión del nebulizador fue variable para todos lo PFCAs mostrando máximos de señal analítica entre 15-20 psi.

Entre todos los parámetros instrumentales optimizados, la temperatura del gas de secado fue el único que exhibió una tendencia incremental conforme aumenta la longitud de la cadena perfluoroalquilada de los PFCAs. Esto se debe a que la volatilidad de los PFCAs disminuye conforme incrementa la longitud de la cadena. En este sentido, los analitos más sensibles a la temperatura fueron los de cadena corta, a saber: PFBA y PFHxA (Figuras Suplementarias 7a y 8a) ya que la señal analítica de sus reacciones de fragmentación cuantitativas decremente de manera importante al utilizar temperaturas superiores a los 250 °C. En cambio, las fragmentos de seguimiento cuantitativo para los compuestos de mayor longitud i.e., PFHpA, PFOA y PFUnA (Figuras Suplementarias 10a, 12a y 14a) no muestran una reducción considerable de la señal analítica al emplear una temperatura de 250 °C. Con base en lo anterior y con el objetivo de incrementar la señal analítica de los analitos más sensibles (PFBA y PFHxA), se decidió utilizar la temperatura de 250 °C para la determinación simultánea de los cinco PFCAs objetivo.

Por su parte, la presión del nebulizador de 20 psi mantuvo los máximos de área en las reacciones de fragmentación cuantitativas para todos los analitos (Figuras Suplementarias 7e, 8e, 10e, 12e y 14e), cambiando únicamente en las reacciones de fragmentación de confirmación para los compuestos PFHxA, PFHpA y PFOA (Figuras Suplementarias 9e, 11e y 13e), en donde, la presión de 15 psi mostró la mayor señal analítica. Empero, dado que la mayor contribución de la señal está dada por la reacción de fragmentación cuantitativa, se decidió utilizar 20 psi como la presión del nebulizador constante a lo largo del análisis.

Finalmente en la Tabla 12 se resumen las condiciones de operación del sistema acoplado HPLC-MS/MS.

Tabla 12. Condiciones de operación del sistema HPLC-MS/MS desarrollado

<b>Condiciones cromatográficas (HPLC)</b>			
Volumen de inyección (µL)	20		
Columna guarda	Zorbax SB-C8		
Columna separación	Zorbax SB-C18		
Fase Móvil	<b>A)</b> H <sub>2</sub> O (NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> 1 mM) <b>B)</b> MeOH (NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> 1 mM)		
Flujo (mL min <sup>-1</sup> )	0.3		
Gradiente	<b>Tiempo (min)</b>	<b>%A</b>	<b>%B</b>
	0-5	60	40
	5-20	0	100
	20-25	0	100
	25-28	60	40
	28-30	60	40
<b>Condiciones espectrométricas (MS/MS)</b>			
Ionización por electrospray	Negativo (ESI -)		
Modo de adquisición	Monitoreo de Reacción Múltiple		
Temperatura del gas de secado N <sub>2</sub> (°C)	250		
Flujo del gas de secado N <sub>2</sub> (L min <sup>-1</sup> )	11		
Presión del nebulizador (psi)	20		
Voltaje capilar	1000		
Tiempo total de análisis (min)	30		

## 7.6. ANÁLISIS DE BLANCOS Y ESTRATEGIAS ANALÍTICAS PARA REDUCIR LA CONTRIBUCIÓN DE INTERFERENTES DE PFCAs CONTENIDOS EN MATERIALES E INSTRUMENTOS

Debido al extensivo uso de PFCAs en la elaboración de productos de plástico y PTFE en materiales utilizados para la determinación de PFCAs, fue imperativo determinar la contribución a la señal analítica de todos los materiales usados a lo largo del análisis, esto es, desde la etapa de toma de muestras hasta la determinación vía HPLC-MS/MS (Sección 6.6. del desarrollo experimental) (Nakayama et al., 2019). En las secciones 7.6.1 y 7.6.2 del presente apartado se mostrará la contribución de PFCAs de los materiales e instrumentos utilizados en todas las etapas del análisis.

### 7.6.1. ANÁLISIS DE BLANCOS Y REDUCCIÓN DE INTERFERENCIAS DEL CROMATÓGRAFO DE LÍQUIDOS

En la Tabla 13 se muestra la contribución a la señal analítica de los PFCAs inherentes a los materiales de PTFE que conforman a 1) los filtros de entrada de los disolventes, 2) filtro de la válvula de purga y 3) piezas internas del cromatógrafo de líquidos antes y después de remover los filtros de PTFE por unos de acero inoxidable y la válvula de purga por una columna de guarda (Figura Suplementaria 16a-b).

Tabla 13. Contribución analítica total de los interferentes para cada PFCa estudiado

PFCa identificado	Contribución a la señal analítica (área, u.a.)	
	Antes	Después
PFBA	N.D.	N.D.
PFHxA	411.0 ± 17.8	23.1 ± 8.8
PFHpA	209.3 ± 21.5	15.4 ± 7.0
PFOA	941.7 ± 39.7	22.2 ± 13.7
PFUnA	N.D.	N.D.

La contribución a la señal analítica de los materiales de PTFE del cromatógrafo antes de ser removidos es generada por los compuestos cuya longitud de cadena perfluoroalquilada es superior a siete carbonos. El PFOA (941.7 u.a.) es el compuesto que más contribuye a la señal analítica seguido por PFHxA (411.0 u.a.) y PFHpA (209.3 u.a.). Mientras que los compuestos PFBA y PFUnA no fueron determinados dentro del sistema. Posterior a la remoción de las piezas de PTFE, se observó un decremento de la señal analítica en los tres compuestos reduciendo la contribución de unidades de área.

Para confirmar que la reducción en las unidades de área fuera constante, se monitorearon las señales de los PFCAs dejando correr 30 secuencias cromatográficas por triplicado (n=90) empleando las condiciones cromatográficas de operación del sistema HPLC-MS/MS (Tabla 12, apartado 7.5) sin adicionar estándares analíticos de PFCAs. En la Figura 15 se presentan los resultados obtenidos para esta serie de análisis, donde se observaron las señales

correspondientes a los compuestos PFHxA, PFHpA y PFOA a lo largo de las 30 secuencias cromatográficas.

No obstante, es posible identificar un patrón de intensidad de la señal, i.e., durante las primeras cinco secuencias cromatográficas se reduce sustancialmente el área observada para los tres compuestos manteniendo una aparición mínima y constante entre las secuencias 6-11. A partir de la secuencia 12 y hasta la secuencia 20, las áreas asociadas a los tres compuestos aumentan paulatinamente, particularmente para PFHxA y PFOA. Posteriormente, en las secuencias 21-26 se observa nuevamente una disminución de la señal analítica para los tres compuestos y un nuevo aumento en la secuencia 27 y hasta la 30. Es necesario mencionar que este comportamiento de disminución y aumento de las señales analíticas de PFHxA, PFHpA y PFOA fue periódico, evidenciando seis secuencias de análisis con baja interferencia de señal y ocho secuencias con alta señal interferente.

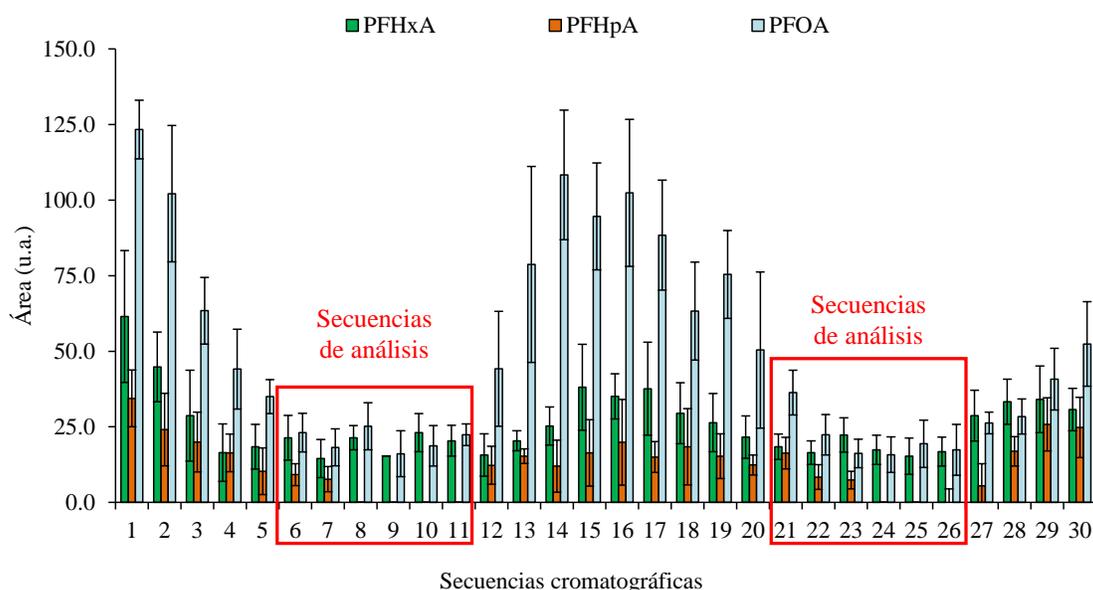


Figura 15. Secuencias cromatográficas de prueba para la identificación de PFCAs en el cromatógrafo. Elaboración propia

El decremento observado en las áreas de los tres compuestos durante las primeras secuencias cromatográficas 1-11 es atribuido al cambio de piezas de PTFE. Mientras que, el aumento en las áreas correspondientes a las secuencias 12-20 puede ser ocasionado por interferentes de los tres compuestos presentes como impurezas en las piezas de PTFE no removibles dentro del cromatógrafo. Mientras que, el decremento e incremento observados entre las secuencias 21-26 y 27-30 respectivamente, sugieren que las impurezas de PFCAs quedan retenidas en la columna de guarda (fase reversa) durante 6 análisis antes de ser eluidas y detectadas en niveles de área elevados.

Con base en este comportamiento y con el objetivo de tener la menor interferencia instrumental posible, se implementó una estrategia de análisis cromatográficos

compuesto por: 1) cuatro secuencias de lavados iniciales (2 h), 2) seis secuencias de análisis (3 h), 3) ocho secuencias de lavados (4 h) y 4) seis secuencias de análisis (3 h), hasta concluir el análisis total de las muestras en turno. Las secuencias de análisis se utilizaron para medir los blancos, los estándares y las muestras ambientales.

#### **7.6.2. ANÁLISIS DE BLANCOS Y REDUCCIÓN DE INTERFERENCIAS EN LOS MATERIALES UTILIZADOS DURANTE EL TRATAMIENTO DE MUESTRAS**

La contribución en unidades de área de los PFCAs objetivo inherentes a los materiales utilizados en la etapa de toma y preparación de muestra para la determinación de los compuestos objetivo es resumida en la Tabla 14.

En los materiales analizados se pudieron identificar tres de los cinco PFCAs bajo estudio i.e., PFBA, PFHxA y PFOA, mientras que PFHpA y PFUnA no fueron detectados. El PFOA fue el compuesto más encontrado en los materiales aportando una señal analítica promedio de 90 u.a. seguido por PFBA y PFHxA con 27 y 12 u.a. respectivamente. Asimismo, se identificó que los botes de polipropileno, los tubos para centrifugar, los cartuchos de extracción en fase sólida y las llaves del manifold contienen al menos uno de los compuestos bajo estudio.

A razón de ello y con el fin de reducir las contribuciones en unidades de área de los materiales, fue necesario lavar los materiales con 15 mL de MeOH (NH<sub>4</sub>OH 10%V/V) y 15 mL de una disolución de MeOH (MBTE 1%V/V) previo a su uso y cuantificar el contenido de estos PFCAs en blancos por cada uno de los materiales que será utilizado en el método.

Finalmente, se obtuvo un estimado de la contribución a la señal analítica para cada uno de los PFCAs en el estudio mediante la suma promedio de las áreas determinadas. Las magnitudes estimadas se utilizaron para hacer correcciones de blancos en el desarrollo y validación del método, así como en el análisis de las muestras ambientales, tal como se describió en las ecuaciones 5 y 6 del apartado 6.10.

Tabla 14. Contribución en la señal analítica (área) de los PFCAs objetivo inherentes en los materiales de toma, pretratamiento y tratamiento de muestra (n=60)

<b>Materiales</b>	<b>PFBA (C4)</b>	<b>PFHxA (C6)</b>	<b>PFHpA (C7)</b>	<b>PFOA (C8)</b>	<b>PFUnA (C11)</b>
<b>Toma de muestra</b>					
Botes de polipropileno (PP)	15 ± 7	N.D.	N.D.	17 ± 10	N.D.
<b>Pretratamiento</b>					
Tubos para centrifugar	N.D.	N.D.	N.D.	26 ± 10	N.D.
<b>Extracción en fase sólida (SPE)</b>					
Cartuchos de extracción	N.D.	N.D.	N.D.	10 ± 12.4	N.D.
Reservorios de cartuchos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Adaptadores de reservorios	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Llaves del manifold	12 ± 6.7	12 ± 9.1	N.D.	37 ± 9.7	N.D.
<b>Contribución total de área</b>					
Suma de áreas promedio de los materiales	27 u.a.	12 u.a.	N.D. u.a.	90 u.a.	N.D. u.a.
<b>Contribución total de área de los materiales y cromatógrafo</b>					
Suma de áreas promedio	27 u.a.	35.1 u.a.	15.4 u.a.	112.2 u.a.	N.D. u.a.

N.D. No Detectado

## 7.7. VALIDACIÓN INSTRUMENTAL DEL SISTEMA HPLC-MS/MS

La validación instrumental se hizo para los cinco compuestos objetivo con el fin de tomarla como base para desarrollar y optimizar las etapas de pretratamiento y tratamiento de muestra utilizados en el proceso de extracción en fase sólida. Los parámetros de desempeño evaluados fueron: linealidad, precisión, límite de detección y límite de cuantificación.

### 7.7.1. Intervalo Lineal

La linealidad del instrumento se estableció mediante una curva de calibración de estándar externo dentro del intervalo de concentraciones de 0.005-0.1 mg L<sup>-1</sup> por triplicado (n=3). Los coeficientes de correlación (r) fueron superiores a 0.99 para PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA dentro del intervalo de concentraciones comprendido entre 0.005-0.1 mg L<sup>-1</sup>. En el caso de PFBA se determinó una linealidad superior a 0.98 dentro del intervalo 0.01-1 mg L<sup>-1</sup>. (Tabla 15). Los valores del coeficiente de correlación > 0.99; Además la evaluación de los residuales de cada

compuesto mostró una distribución aleatoria dentro del intervalo de concentraciones, motivo por el cual se aceptó la linealidad instrumental.

### **7.7.2. Precisión**

La precisión se evaluó a tres niveles de concentración 0.04, 0.1 y 0.5 mg L<sup>-1</sup> (n=3) y se determinó mediante el cálculo del %RSD (apartado XXX). En todos los casos se observaron %RSD menores al 5 % (Tabla 15), siendo aceptables para un nivel de concentración de 0.04 mg L<sup>-1</sup>, de acuerdo con lo propuesto por (Peters et al., 2007; Taverniers et al., 2004).

### **7.7.3. Límites de detección y cuantificación**

En la Tabla 15 se aprecia que la concentración de 0.003 mg L<sup>-1</sup> produjo una relación señal-ruido (SNR) de 5.5, 5.6, 6.1 y 6.0 para los compuestos PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA, respectivamente. De manera análoga se identificó a la concentración de 0.005 mg L<sup>-1</sup> como el límite de cuantificación de los compuestos PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA al presentar SNRs de 9.9, 10.6, 10.3 y 10.7, respectivamente. Mientras que, para el PFBA, el límite de detección y cuantificación se observaron en las concentraciones 0.005 y 0.01 mg L<sup>-1</sup> al generar SNRs de 3.3 y 10.0, respectivamente. Las magnitudes de SNR establecidas para ambos límites están en buena concordancia con lo propuesto en la guía de validación analítica de la Eurachem (Eurolab España & P.P. Morillas y colaboradores, 2016).

Tabla 15. Parámetros de desempeño empleados para la validación instrumental del sistema HPLC-MS/MS en la determinación de PFCAs

Analito	Precisión (%RSD)			Linealidad mg L <sup>-1</sup>	r	SNR	LDD mg L <sup>-1</sup>	LDC mg L <sup>-1</sup>
	0.04 mg L <sup>-1</sup>	0.1 mg L <sup>-1</sup>	0.5 mg L <sup>-1</sup>					
PFBA	3.3	2.6	4.1	0.1-1.00	0.9891	5.1 <sub>LDD</sub> 10.0 <sub>LDC</sub>	0.005	0.1
PFHxA	2.7	2.2	3.8	0.03-1.00	0.9963	5.5 <sub>LDD</sub> 9.9 <sub>LDC</sub>	0.003	0.03
PFHpA	3.4	3.0	4.4		0.9971	5.6 <sub>LDD</sub> 10.6 <sub>LDC</sub>		
PFOA	4.1	2.2	2.5		0.9942	6.1 <sub>LDD</sub> 10.3 <sub>LDC</sub>		
PFUnA	1.9	0.8	1.6		0.9993	6.0 <sub>LDD</sub> 10.7 <sub>LDC</sub>		

%RSD= Desviación Estándar Relativa, r = Coeficiente de correlación, SNR = Relación Señal-Ruido, LDD = Límite de Detección, LDC = Límite de Cuantificación

## 7.8. PRETRATAMIENTO DE MUESTRA. EVALUACIÓN DE LA PÉRDIDA DE ANALITOS EN EL PROCESO DE CENTRIFUGACIÓN EN MATRICES ACUOSAS

Los porcentajes de recobro calculados para evaluar la pérdida de analitos relacionada al proceso de centrifugación del agua residual se muestran en la Tabla 16. Éstos (96.0-103.1 %) demuestran que el procedimiento de centrifugación no remueve a ninguno de los PFCAs por efecto de la adsorción de los analitos en el tubo de polipropileno.

Tabla 16. Porcentajes de recuperación de los PFCAs durante la centrifugación de agua residual cruda (n=3)

Centrifugado (10, 500 rpm)	% Recuperación				
	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
1	101.2	103.1	98.0	97.4	97.7
2	98.7	100.8	100.4	100.6	98.5
3	102.3	102.4	98.6	99.3	96.0

## 7.9. EXTRACCIÓN DE PFCAs DE MATRICES ACUOSAS. AGUA (GRADO HPLC), RESIDUAL CRUDA, RESIDUAL TRATADA, SUPERFICIAL Y SUBTERRÁNEA

### 7.9.1. Selección del cartucho en fase sólida (SPE)

En la Figura 16 se observan los porcentajes de recobro de los analitos bajo estudio después de ser percolados a través de dos cartuchos de extracción en fase sólida con diferente fase polimérica. En la Figura se demuestra que la capacidad de retención de los PFCAs brindada por ambos cartuchos evaluados fue diferente. Por un lado, al utilizar el cartucho genérico Oasis HLB (m-divinilbenceno-n-pirrolidona) los porcentajes de recobro de PFBA y PFHxA fueron menores al 40%, mientras que los compuestos PFHpA, PFOA y PFUnA presentaron porcentajes de entre el 96-103 %. Por otro lado, al usar el cartucho de intercambio aniónico débil OASIS WAX (m-divinilbenceno- n-pirrolidona funcionalizada con piperazina) los porcentajes de recobro estuvieron comprendidos entre 97.2-106.0 % para todos los compuestos.

Los compuestos de menor longitud de cadena PFBA (C4) y PFHxA (C6) no pudieron ser retenidos en el cartucho Oasis HLB. En contraste, fueron retenidos en su totalidad con el cartucho OASIS WAX, esto se debió a que, en los PFCAs de cadena corta el carácter hidrofílico provisto por el carboxilato es predominante sobre el hidrofóbico (provisto por la cadena perfluorada). En este sentido, el principal mecanismo de retención de estos compuestos está conducido por la interacción electrostática ( $50-200 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) entre la piperazina (catión) y el carboxilato (anión).

Por el contrario, los compuestos de mayor longitud de cadena PFHpA (C7), PFOA (C8) y PFUnA (C11) fueron retenidos en ambos tipos de cartuchos. Esta retención exhibe el predominio del carácter hidrofóbico provisto por la cadena perfluorada sobre el hidrofílico (carboxilato). De modo que, la retención de estos compuestos está conducida por interacciones del tipo Van der Waals ( $1-10 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) entre el

divinilbenceno y la cadena perfluorada. Debido a lo anterior se eligió al cartucho de intercambio aniónico débil OASIS WAX como el mejor material adsorbente para la extracción acuosa de los PFCAs.

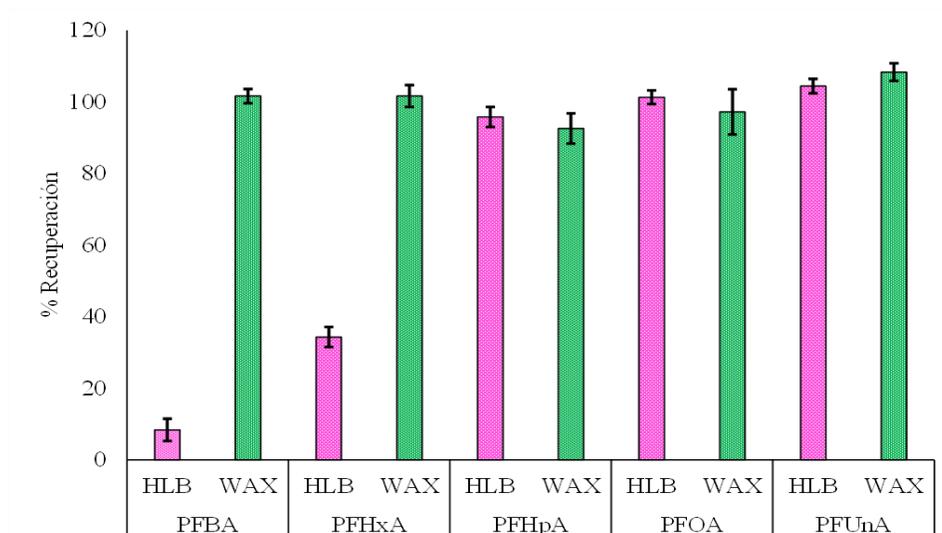
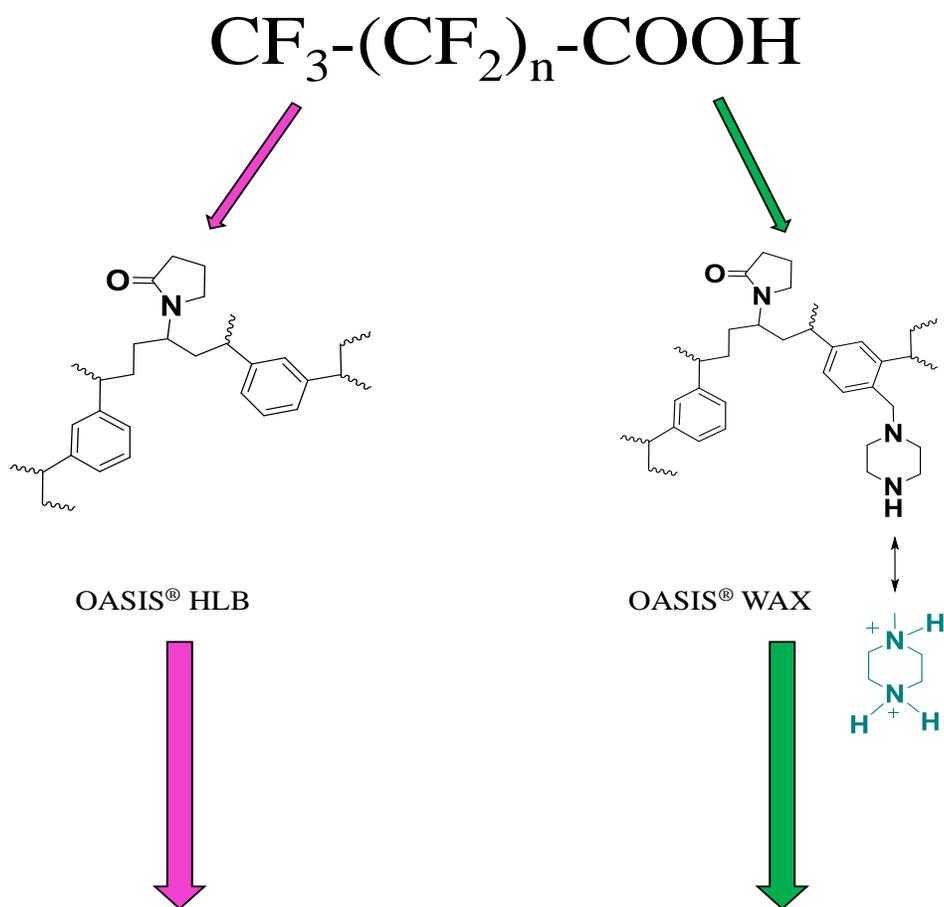


Figura 16. Porcentajes de recuperación promedio para los PFCAs estudiados después de aplicar la extracción en fase sólida. Elaboración propia

### **7.9.2. Optimización de las condiciones de extracción en fase sólida**

Las Figuras 17 y 18 resumen las condiciones de extracción en fase sólida óptimas utilizadas en la determinación de PFCAs, donde: En la Figura 17a-c se describen los disolventes y volúmenes tanto de lavado como de elución. La Figura 18a-c muestra los volúmenes de fuga, la velocidad de la carga de muestra y el flujo de nitrógeno durante la etapa de evaporación.

### **7.9.3. Selección del disolvente de lavado**

En la Figura 17a se muestra que los porcentajes de recobro obtenidos después de aplicar 5 mL de MeOH 30%V/V y una disolución de NaCH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub> (25 mM) son superiores al 90% para todos los analitos.

En el caso de los disolventes de lavado, es deseable que el lavado no eluya a los analitos durante su aplicación; ya que esto garantizará la expulsión de interferentes sin que el analito sea desorbido. Bajo este contexto, los elevados porcentajes de recobro indican que ninguno de los lavados aplicados promueve la desorción de los analitos del cartucho de extracción; ofreciendo la ventaja de aplicar lavados con un elevado porcentaje de disolvente orgánico y aditivos que faciliten la purificación de la muestra.

### **7.9.4. Selección del disolvente y volumen de elución**

La Figura 17b exhibe de forma comparativa los porcentajes de recobro entre el metanol (55-84 %recuperación) y el metanol con hidróxido de amonio (amoníaco) NH<sub>4</sub>OH=NH<sub>3</sub> 0.1 %V/V (67.2-101.1 %recuperación). Asimismo, se observó que al aplicar un 5 mL de eluyente el porcentaje que oscila entre el 70-100 %r, mientras que al eluir los analitos con 10 mL, el porcentaje es de 85-103 %r (Figura 17c).

En cuanto al disolvente de elución, es evidente que al utilizar hidróxido de amonio (amoníaco) (NH<sub>4</sub>OH=NH<sub>3</sub> 0.1 %V/V) como aditivo en metanol, se favorece la desorción de los analitos del cartucho, debido a que se propicia el intercambio aniónico entre los grupos carboxilato (R-COO<sup>-</sup>) de los PFCAs por el amoniaco (NH<sub>3</sub>) en los sitios activos del cartucho de extracción (Li & Sun, 2020).

### **7.9.5. Establecimiento del volumen de carga máximo (volumen de fuga)**

La Figura 18a muestra los diferentes volúmenes de carga de muestra utilizadas para establecer el volumen de fuga de los PFCAs. En todas las cargas examinadas se observaron porcentajes de recobro superiores al 90 % para todos los compuestos. Los elevados porcentajes de recuperación indican que ninguno de los analitos se percola a través del cartucho al cargar un volumen máximo de 500 mL de muestra, este hecho, favorece sustancialmente la extracción cuantitativa de PFCAs en matrices acuosas. A causa de ello, se eligió cargar un volumen de 500 mL de muestra, con el objetivo de incrementar la cuantitatividad del protocolo de extracción.

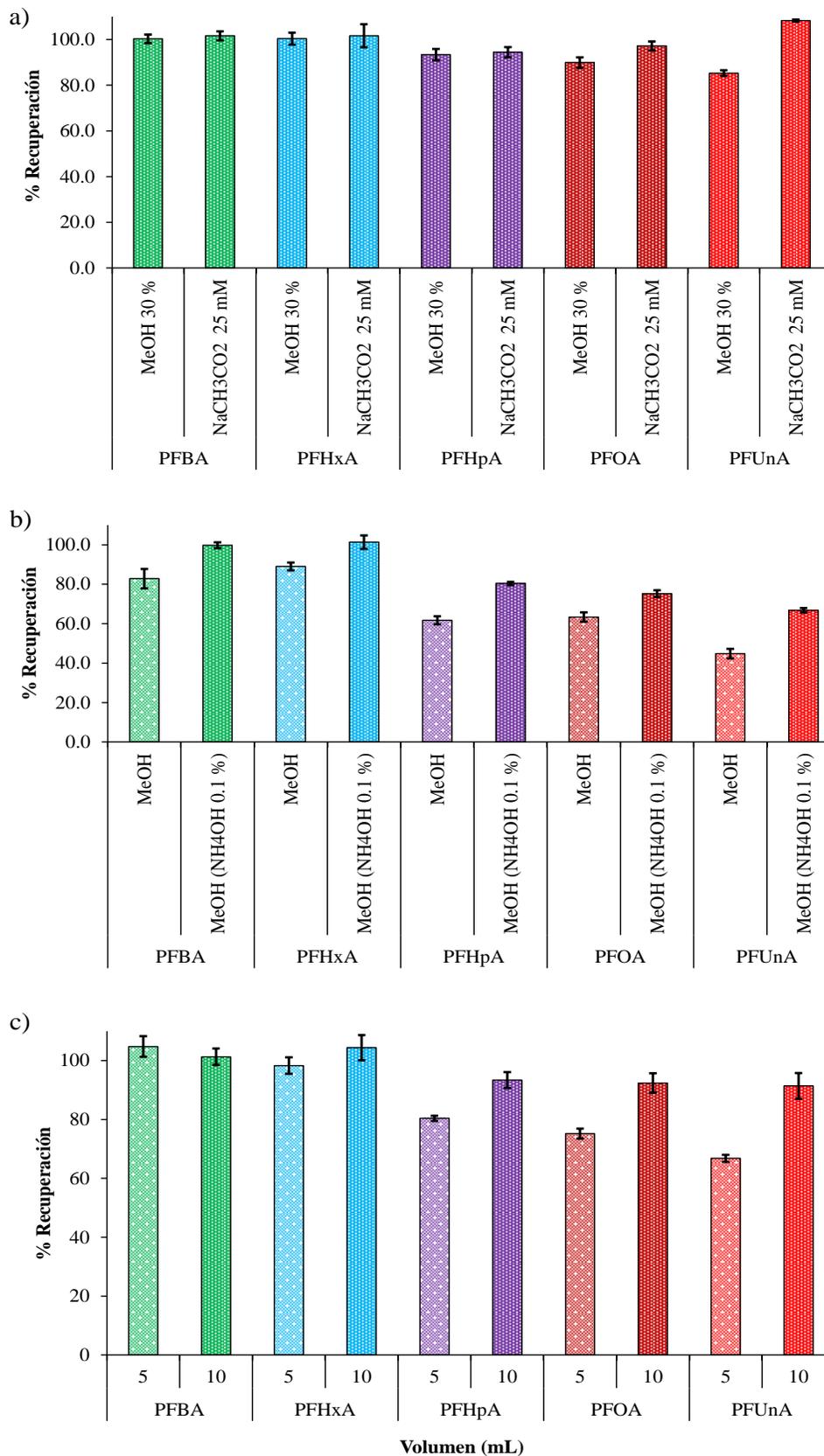
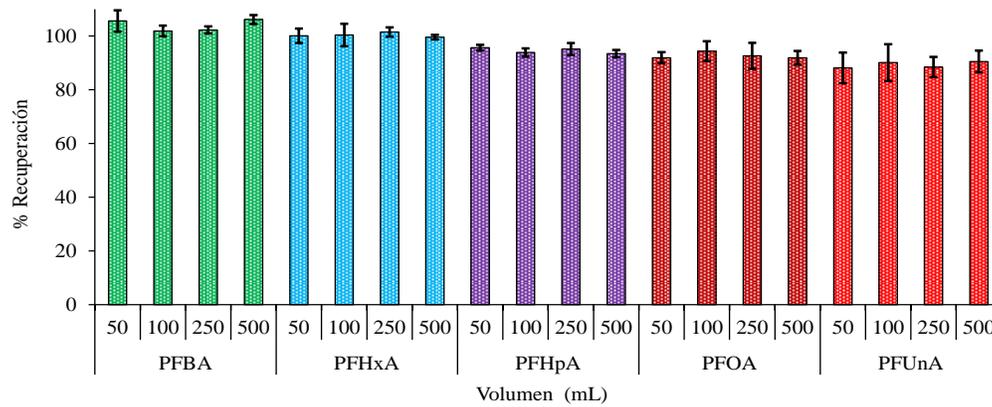
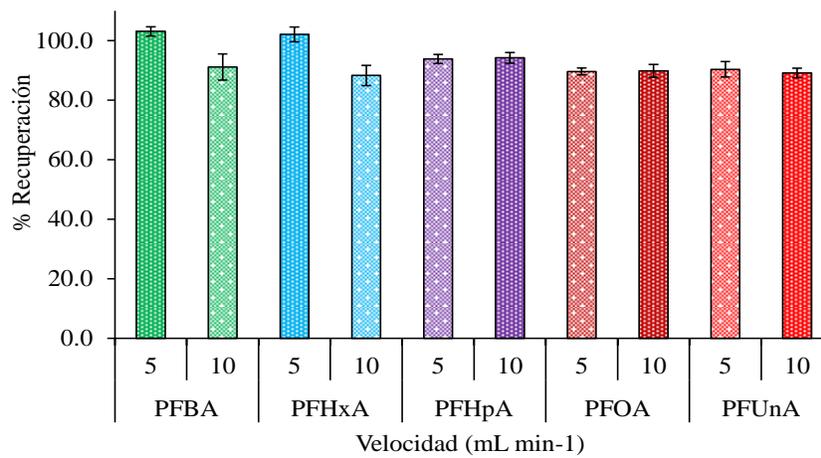


Figura 17. Condiciones evaluadas en el proceso de SPE. a) disolventes de lavado, b) disolventes de elución y c) volumen de elución. Elaboración propia

a)



b)



c)

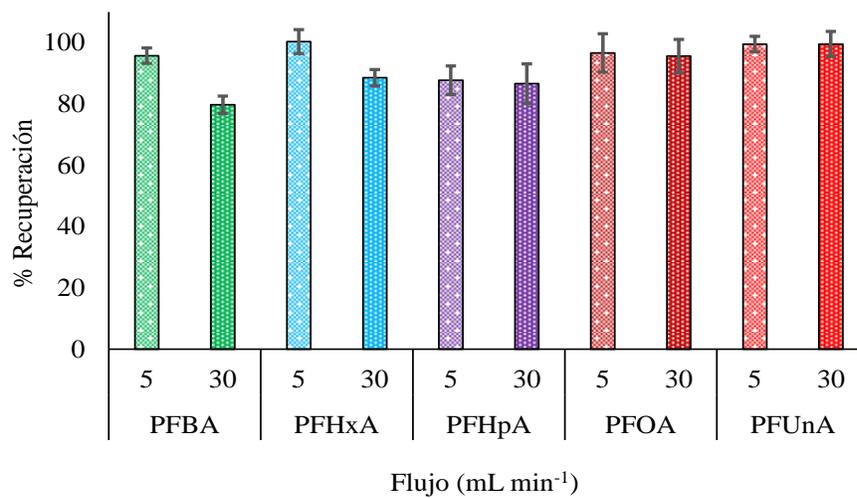


Figura 18. Condiciones evaluadas en el proceso de SPE. a) volumen de fuga, b) velocidad de carga de muestra y c) flujo de nitrógeno en la etapa de evaporación. Elaboración propia

### 7.9.6. Velocidad de la carga de la muestra

En la evaluación de la velocidad de carga (Figura 18b) se observó que al aplicar una velocidad de 5 mL min<sup>-1</sup> se obtuvieron porcentajes de recobro comprendidos entre 90-102 % para todos los compuestos, sin embargo, al incrementar la velocidad a 10 mL min<sup>-1</sup>, se observa un decremento en los porcentajes de los compuestos PFBA (85-90 %r) y PFHxA (82-88 %r), mientras que, los porcentajes para PFHpA, PFOA y PFUnA no presentaron ningún cambio, por lo tanto, se eligió 5 mL min<sup>-1</sup> como velocidad idónea para cargar las muestras.

### 7.9.7. Flujo de nitrógeno durante la etapa de evaporación

Con el objetivo de producir un método de extracción (SPE) capaz de analizar PFCAs en niveles de concentración alrededor de las décimas de ng L<sup>-1</sup>, se implementó una etapa de evaporación del disolvente de elución con un determinado flujo de nitrógeno (N<sub>2(g)</sub>), seguida por una reconstitución de las muestras con un volumen de 250 µL de fase móvil (MeOH con NH<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub> 1 mM). Para ello se evaluó la pérdida de analitos producida durante el proceso de evaporación al incidir dos flujos diferentes de N<sub>2(g)</sub> (5 y 30 mL min<sup>-1</sup>),

En la Figura 18c se observó que los porcentajes de recobro obtenidos para todos los PFCAs objetivo fueron superiores al 80 %r cuando se aplicó el flujo de 5 mL min<sup>-1</sup>. No obstante, al aumentar el flujo de evaporación a 30 mL min<sup>-1</sup>, las recuperaciones de los analitos con menor longitud de cadena (PFBA y PFHxA) disminuyeron a porcentajes comprendidos entre 73-84 %. Mientras que, no se observó un cambio de importancia en los porcentajes de recuperación de los compuestos PFHpA, PFOA y PFUnA.

Esta pérdida de concentración de los compuestos PFBA y PFHxA al aplicar un alto flujo de nitrógeno (30 mL min<sup>-1</sup>) está asociada con el incremento en la volatilidad que presentan los ácidos carboxílicos perfluorados de cadena corta (C≤6) en comparación con sus análogos de cadena larga. En este contexto, es imperativo usar el menor flujo posible (5 mL min<sup>-1</sup>) para obtener los porcentajes de recuperación más altos para todos los analitos bajo estudio. La Tabla 17 se resumen las condiciones de extracción en fase sólida óptimas para los cinco PFCAs bajo estudio.

Tabla 17. Condiciones óptimas del protocolo de extracción en fase sólida (SPE)

<b>Etapas del protocolo SPE</b>	<b>Condiciones óptimas</b>
Acondicionamiento	1) 5 mL NH <sub>4</sub> OH en MeOH (0.1 %V/V), 2) 5 mL MeOH (100 %V/V), 3) 5 mL de agua (Mili-Q)
Volumen de carga	500 mL de una disolución de estándares y/o muestras
Velocidad de carga	5 mL min <sup>-1</sup>
Lavado	1) 5 mL de NH <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> COO (0.1 %V/V, pH=9.2), 2) 5 mL de MeOH (30 %V/V)
Elución	6 mL de MeOH con NH <sub>4</sub> OH (0.1 %V/V)
Flujo de N <sub>2</sub> evaporación	5 mL min <sup>-1</sup>

## 7.10. VALIDACIÓN DEL MÉTODO SPE-HPLC-MS/MS/QQQ PARA LA DETERMINACIÓN DE PFCAs EN MATRICES ACUOSAS.

El método de extracción en fase sólida seguido por cromatografía de líquidos con detección por espectrometría de masas para la cuantificación de PFCAs se validó considerando los siguientes parámetros de desempeño: linealidad, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud y efecto matriz, para tres tipos de matriz, a saber: Agua residual cruda, agua residual tratada y agua de manantial.

### 7.10.1. Linealidad

Las curvas de calibración experimentales de los cinco PFCAs objetivo se muestran en la Figura 19, en ella, se observó que dentro del intervalo de concentración de 15-260 ng L<sup>-1</sup> la sensibilidad de los compuestos decrece de acuerdo con el siguiente orden: PFOA > -PFHpA > PFUnA > PFHxA > PFBA. Este orden de sensibilidad se mantuvo tanto para el agua residual cruda como para la tratada.

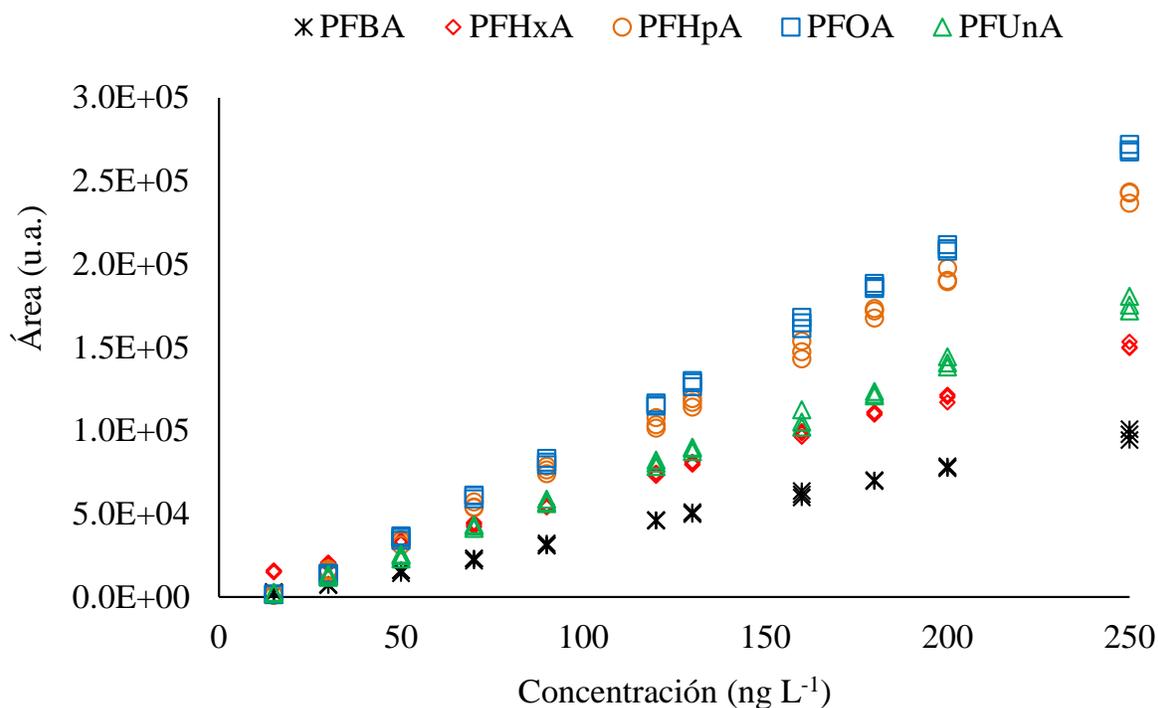


Figura 19. Curvas de calibración de los ácidos carboxílicos perfluorados. Elaboración propia

En la Tabla 18 se exhiben las pendientes, interceptos y coeficientes de correlación determinados para los PFCAs objetivo en los tres tipos de matrices evaluadas. Por un lado, no se observaron diferencias significativas en la prueba t-Student entre las pendientes de la recta calculadas para las tres matrices evaluadas, y en todas ellas el valor de la pendiente fue diferente de cero, demostrando así la sensibilidad del instrumento en función de la concentración.

Por otro lado, la prueba t-Student realizada sobre las ordenadas al origen entre matrices no evidenciaron una diferencia significativa. Además, las pruebas estudentizadas sobre las ordenadas de cada matriz mostraron que sus valores son estadísticamente diferentes de cero, por lo que fue necesario considerar el intercepto a lo largo de los cálculos de concentración (Anexo 2, Tabla suplementaria 2).

Los coeficientes de correlación de los cinco analitos fueron superiores a 0.997, sugiriendo una buena linealidad entre la concentración evaluada y la respuesta analítica (Tabla 18). Esta correlación lineal se corroboró mediante la construcción de gráficos de residuales (Figuras Suplementarias 17-20). En donde, se observó una distribución aleatoria de los residuales para cada uno de los analitos a lo largo del intervalo 15-260 ng L<sup>-1</sup> garantizando así la linealidad de los sistemas, de acuerdo con lo sugerido por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN INTERNA Y CONFIRMACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS, 2015).

### **7.10.2. Precisión**

La precisión para cada analito bajo estudio se evaluó a través del cálculo del porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) en tres niveles de concentración (15, 160 y 220 ng L<sup>-1</sup>) por heptuplicado; los resultados están resumidos en la Tabla 19. Los %RSD presentaron variaciones dependiendo de tres factores:

1) El analito. Los %RSD máximos para PFBA y PFHxA fueron 12.8 y 4.4%, respectivamente. Mientras que PFHpA, PFOA y PFOA mostraron %RSD máximos de 14.5, 14.2 y 14.5 %, respectivamente. Existe un decremento en la precisión conforme aumenta la longitud de la cadena alquílica, en donde el PFOA exhibió los mayores %RSD.

2) La matriz. La precisión del método fue notablemente menor en las aguas residuales crudas y tratadas donde los %RSD se mantuvieron entre (2.4-14.5 %) en comparación con el agua de manantial, donde se determinaron porcentajes de (1.2-8.8 %). Esta notable diferencia pudo deberse al hecho de que tanto las aguas residuales crudas como las tratadas contienen al analito de interés en las muestras utilizadas durante las fortificaciones, por lo que hacer correcciones de blancos de muestra es imperativo. Sin embargo, estas correcciones aumentarán la variabilidad de la medición.

3) El nivel de concentración. Las precisiones de todos los PFCAs fueron menores conforme disminuyen los niveles de concentración más bajos, e.g., los 15 ng L<sup>-1</sup> exhibieron %RSD comprendidos entre 4-14.5 %. El aumento en los %RSD en el nivel más bajo está relacionado con la resta de las unidades de área asociada al procedimiento de corrección de blancos. En este sentido, mientras menor sea la concentración estudiada mayor será el efecto de la corrección.

Los valores de desviación estándar relativa calculados para los cinco PFCAs estudiados, mostraron %RSD ≤ 21 %, por lo que son consideradas como aceptables para los niveles de concentración de ng L<sup>-1</sup> de acuerdo con lo postulado por (Peters et al., 2007; Taverniers et al., 2004).

Tabla 18. Parámetros de las ecuaciones de la recta en agua residual cruda, tratada y de manantial (n=3)

Compuesto	Agua residual cruda			Agua residual tratada			Agua de manantial		
	m	b	r	m	b	r	m	b	r
PFBA	413±27	-4706±717	0.997	415±42	-4897±841	0.997	416±18	-4841±633	0.999
PFHxA	586±270	3715±800	0.995	590±315	3532±935	0.996	588±257	3398±791	0.999
PFHpA	1033±366	-217±44	0.998	1030±206	-216±302	0.998	1029±145	-187±39	0.999
PFOA	11512±518.0	-1350±333	0.998	11157±647	-1065±413	0.998	1155±322	-864±208	0.999
PFUnA	744±63	-9964±824	0.997	743.2±71.0	-9903±931	0.998	747±58	-10231±981	0.999

m= pendiente de la recta, b= ordenada al origen y r= coeficiente de correlación de Pearson

Tabla 19. Porcentajes de desviación estándar relativa (%RSD) calculados para los PFCAs evaluados (n=7)

Compuesto	Agua residual cruda			Agua residual tratada			Agua de manantial		
	15 (ngL <sup>-1</sup> )	160 (ngL <sup>-1</sup> )	220 (ngL <sup>-1</sup> )	15 (ngL <sup>-1</sup> )	160 (ngL <sup>-1</sup> )	220 (ngL <sup>-1</sup> )	15 (ngL <sup>-1</sup> )	160 (ngL <sup>-1</sup> )	220 (ngL <sup>-1</sup> )
PFBA	9.6	7.8	4.1	12.8	9.4	4.9	3.1	3.1	2.7
PFHxA	4.3	2.5	2.8	4.7	2.8	2.8	3.9	1.8	2.4
PFHpA	14.5	4.8	3.3	10.6	3.9	3.1	3.5	1.2	2.5
PFOA	11.7	5.5	3.0	14.2	6.3	3.0	2.6	2.0	2.0
PFUnA	14.5	5.0	2.4	12.5	5.2	3.1	8.8	4.3	1.8

### **7.10.3. Límites de Detección (LD)**

El establecimiento de los límites de detección (LD) del método se hizo a través de la evaluación de dos criterios: 1) determinación de una relación señal-ruido superior o igual a un factor de tres ( $SNR \geq 3$ ) y 2) que las magnitudes de la desviación estándar relativa en condiciones de precisión intermedia fueran menores al diez por ciento ( $\%RSD_{int} \leq 10 \%$ ).

Los resultados de ambos parámetros evaluados en tres niveles de concentración (1, 3 y 5 ng L<sup>-1</sup>) son mostrados en la Tabla 20. En ella, se observa que para las aguas residuales crudas los compuestos PFBA y PFOA mostraron SNR (3.9 y 4.5) así como  $\%RSD_{int}$  (7.6 y 6.5), respectivamente; siendo valores aceptables bajo los criterios establecidos hasta los 5 ng L<sup>-1</sup>. En contraste, las SNR (2.9, 3.1 y 3) y  $\%RSD_{int}$  (11.7, 7.6 y 6.9) para PFHxA, PFHpA y PFOA, respectivamente; fueron aceptables para ambos criterios en el nivel de concentración de 3 ng L<sup>-1</sup>.

De forma similar, en el agua residual tratada los compuestos PFBA y PFOA presentaron SNR (3.6 y 5.2) y  $\%RSD_{int}$  (5.9 y 7.4), respectivamente, para un nivel de concentración de 5 ng L<sup>-1</sup>. Mientras que las SNR y  $\%RSD_{int}$  para PFHxA, PFHpA y PFOA fueron (3.1, 3.4 y 3.8) y (8.4, 9.4 y 10.1), respectivamente. En todos los casos mencionados las magnitudes para la relación señal-ruido y desviaciones estándar relativas fueron aceptables en ambos criterios para el nivel de concentración de 3 ng L<sup>-1</sup>. Es importante mencionar que no se observaron diferencias en las magnitudes de SNR y  $RSD_{int}$  determinadas entre las aguas residuales crudas y las tratadas.

Por su parte, en el agua de manantial las SNR y  $RSD_{int}$  determinadas para todos los analitos objetivo fueron aceptables para ambos criterios en el nivel de concentración de 3 ng L<sup>-1</sup>.

Con base en lo anterior se eligió la concentración de 3 ng L<sup>-1</sup> como LD para los compuestos PFBA y PFOA y 5 ng L<sup>-1</sup> para PFHxA, PFHpA y PFOA cuando se miden PFCAs en aguas residuales tanto crudas como tratadas. Entretanto, el LD establecido para aguas de manantial fue de 3 ng L<sup>-1</sup>.

### **7.10.4. Límites de cuantificación (LC)**

Con respecto a los límites de cuantificación (LC), se eligió como LC al último nivel de la curva de calibración que cumpliera dos criterios: 1) fuera lineal dentro de la curva de calibración con una distribución aleatoria de los residuales (Figuras Suplementarias 17-21) y 2) mostrara valores de RSD menores o iguales al quince por ciento  $\%RSD \leq 15$  (Tabla X).

Bajo este contexto y considerando los coeficientes de correlación superiores a 0.997 y la distribución aleatoria de los residuales para todos los analitos para la concentración 15 ng L<sup>-1</sup>; Además de  $\%RSD$  menores al 15 % para todos los PFCAs, como son: PFBA (3.1-12.8 %), PFHxA (3.9-4.7 %), PFHpA (3.5-14.5), PFOA (2.6-14.2 %) y PFOA (8.8-14.5 %), se eligió la concentración de 15 ng L<sup>-1</sup> como el límite de cuantificación del método para todas las matrices.

Tabla 20. Relación señal-ruido y precisión intermedia de los PFCAs objetivo a tres niveles de concentración (n=10)

<b>Agua Residual Cruda</b>										
<b>Nivel de fortificación (ng L<sup>-1</sup>)</b>	<b>PFBA</b>		<b>PFHxA</b>		<b>PFHpA</b>		<b>PFOA</b>		<b>PFUnA</b>	
	<b>SNR</b>	<b>RSDint</b>	<b>SNR</b>	<b>RSDint</b>	<b>SNR</b>	<b>RSDint</b>	<b>SNR</b>	<b>RSDint</b>	<b>SNR</b>	<b>RSDint</b>
1	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
3	N.D.		2.9	11.4	3.1	7.6	3	6.9	N.D.	
5	3.9	7.6	3.4	8.2	5.1	5.3	9.7	3.9	4.5	6.5
<b>Agua Residual Tratada</b>										
1	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
3	N.D.		3.1	8.4	3.4	9.4	3.8	10.1	N.D.	
5	3.6	5.9	3.8	6.2	5.7	6.4	10.4	5.3	5.2	7.4
<b>Agua de Manantial</b>										
1	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
3	3.4	10	3.9	7.3	3.1	6.6	4.9	9.2	5.7	7.7
5	7.2	7.5	6.9	5.4	7.1	3.1	17.8	3.6	8.8	4.1

N.D.= No Determinado, RSD<sub>int</sub>= Desviación Estándar Relativa (precisión intermedia)

Tabla 21. Porcentajes de recobro determinados para los cinco PFCAs evaluados en tres niveles de concentración (n=3)

Compuesto	Agua residual cruda			Agua residual tratada			Agua de manantial		
	15 (ngL <sup>-1</sup> )	120 (ngL <sup>-1</sup> )	250 (ngL <sup>-1</sup> )	15 (ngL <sup>-1</sup> )	120 (ngL <sup>-1</sup> )	250 (ngL <sup>-1</sup> )	15 (ngL <sup>-1</sup> )	120 (ngL <sup>-1</sup> )	250 (ngL <sup>-1</sup> )
PFBA	104-109	97-102	98-101	103-113	103-106	95-107	98-105	98-102	97-102
PFHxA	94-107	97-104	96-102	95-109	98-103	96-101	98-102	99-102	97-101
PFHpA	81-90	84-91	87-93	85-92	87-92	88-94	91-97	93-101	95-103
PFOA	94-107	95-104	97-102	95-110	94-107	96-102	94-104	97-102	98-104
PFUnA	100-109	95-103	98-106	97-112	98-104	97-108	98-106	97-103	99-104

### **7.10.5. Certeza**

La certeza del método se evaluó calculando el porcentaje de recobro para tres niveles de concentración 15, 120 y 250 ng L<sup>-1</sup> para los tres tipos de matrices. Los resultados se exhiben en la Tabla 21.

El PFBA mostró porcentajes de recobro de 95-113%, por su parte el PFHxA exhibió porcentajes comprendidos entre 94-109%. Los recobros calculados para PFHpA oscilaron entre 81-103%. Entretanto el PFOA presentó recobros de 94-110% y finalmente, el PFUnA exhibió porcentajes comprendidos entre 97-109%.

Todos los PFCAs bajo estudio mostraron una menor certeza conforme disminuye la concentración de los compuestos. Asimismo, la mayor variabilidad se observó para las aguas residuales. En donde, las aguas residuales tratadas promovieron una mayor variabilidad en la certeza, principalmente para los compuestos PFBA, PFHxA y PFOA. Por su parte, la certeza calculada para todos los analitos en el agua de manantial se encuentra alrededor del 100%.

La diferencia entre los porcentajes de recobro calculados entre las aguas residuales y las de manantial sugiere que, la presencia de un mayor número de componentes en las aguas residuales promueve efectos de incremento y decremento en la señal analítica de los PFCAs bajo estudio.

Sin embargo, los porcentajes de recobro del método para todas las matrices evaluadas son aceptables de acuerdo con los criterios establecidos por la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura y por lo establecido por Taverniers, 2004, para niveles de concentración de ng L<sup>-1</sup> (CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN INTERNA Y CONFIRMACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS, 2015; Taverniers et al., 2004).

### **7.10.6. Efecto matriz**

El efecto matriz se examinó mediante la comparación *vis a vis* de las curvas de recobro entre las aguas con y sin matriz (Figura 20) y aplicando pruebas de hipótesis para las pendientes obtenidas (Anexo 2, Tabla Suplementaria 1), ya que estas pendientes representan el recobro del método a lo largo del intervalo lineal evaluado. En las pruebas de hipótesis, la hipótesis nula H<sub>0</sub> establece la igualdad entre las pendientes, mientras que la hipótesis alterna H<sub>1</sub> establece la diferencia entre las pendientes.

La Figura 20a-e muestra las curvas de recobro para los cinco PFCAs bajo estudio dentro del intervalo de concentración 15-250 ng L<sup>-1</sup>, en ellas, no se observan desviaciones en la linealidad de las muestras correspondientes a las aguas residuales tanto crudas como tratadas en comparación con el agua libre de matriz (Mili-Q).

Las pendientes de las curvas de recobro exhibieron magnitudes comprendidas entre los 0.97-1.03 para las aguas residuales crudas y tratadas, mientras que las

pendientes de las curvas de agua Mili-Q fueron 0.99-1.01. La pruebas de significancia aceptaron la hipótesis nula ( $H_0$ ), la cual establece la igualdad entre las pendientes de las curvas de recobro, demostrando así que el efecto matriz no promueve cambios sensibles en la determinación dentro de los 15-260  $\text{ng L}^{-1}$ .

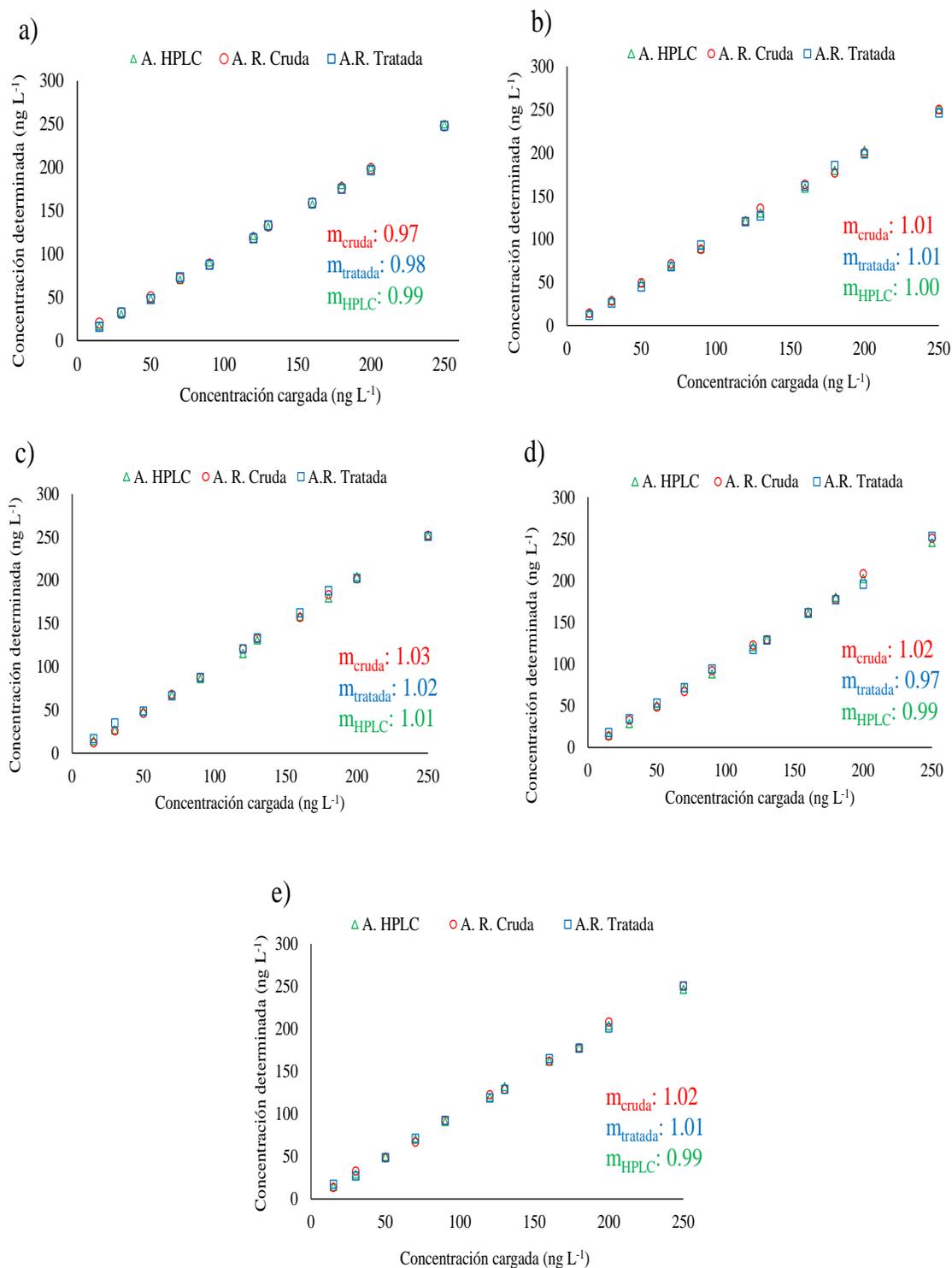


Figura 20. Comparación del efecto matriz a través de las curvas de recobro. a) PFBA, b) PFHxA, c) PFHpA, d) PFOA y e) PFUnA. Elaboración propia

La Figura 21 resume el procedimiento experimental implementado para la determinación de los cinco PFCAs objetivo en agua residual cruda, tratada y de manantial, desde la toma de muestra hasta la determinación vía HPLC-MS/MS/QqQ. Asimismo, la Tabla 22 conjunta los parámetros de desempeño evaluados durante la validación del método desarrollado.

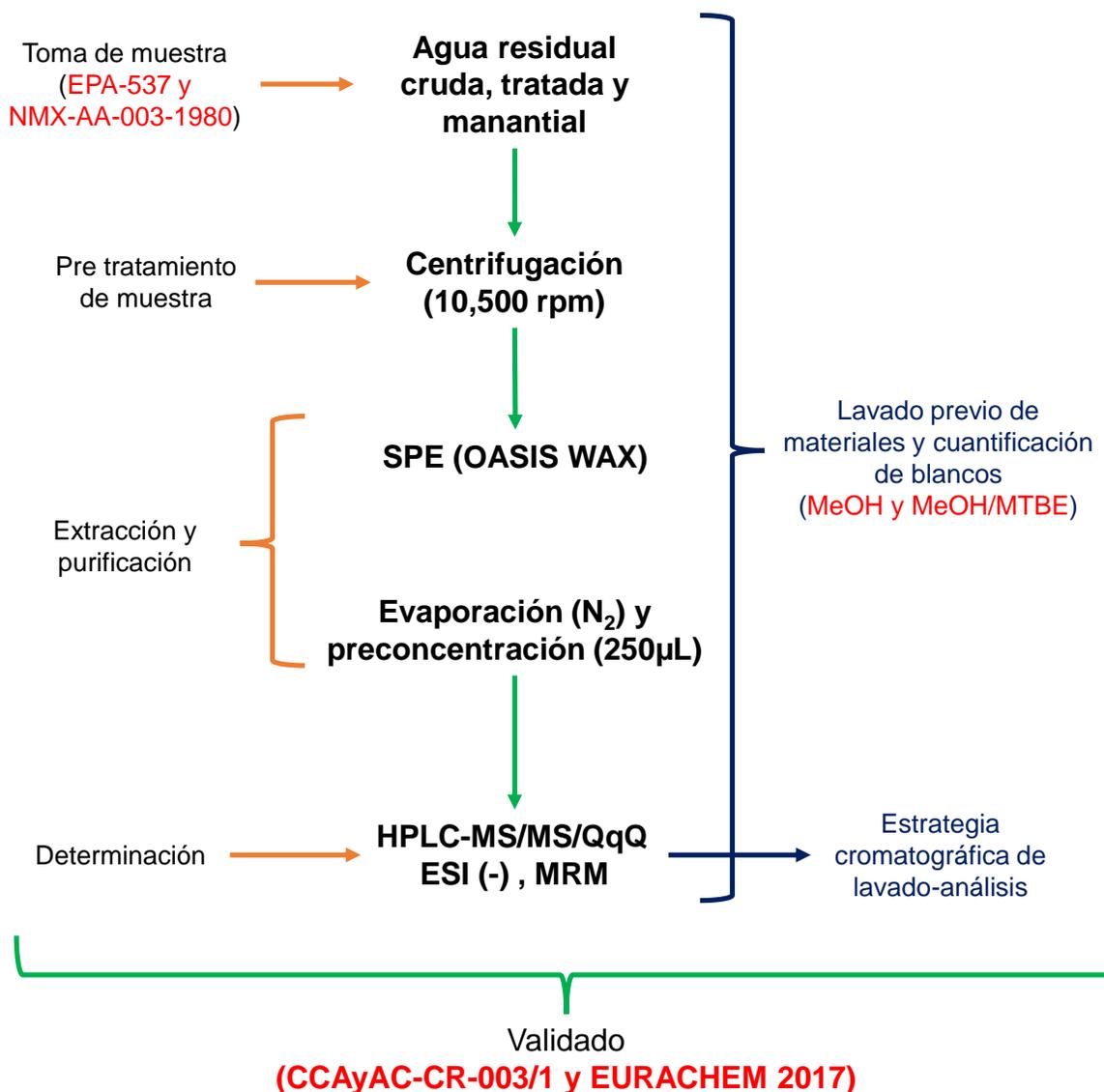


Figura 21. Procedimiento experimental para la determinación de PFCAs en muestras de agua. Elaboración propia

Tabla 22. Resumen de los parámetros de desempeño del método validado para la determinación PFCAs en agua

<b>Parámetro</b>	<b>n</b>	<b>PFBA</b>	<b>PFHxA</b>	<b>PFHpA</b>	<b>PFOA</b>	<b>PFUnA</b>
<b>Precisión (% RSD)</b>						
15 ng L <sup>-1</sup>	7	3.1-12.8	3.9-4.7	3.5-14.5	2.6-14.2	8.8-14.5
160 ng L <sup>-1</sup>	7	3.1-9.4	1.8-2.8	1.2-4.8	2.0-6.3	4.3-5.2
220 ng L <sup>-1</sup>	7	3.2-4.8	2.4-2.8	2.5-3.3	2.0-3	1.8-3.1
<b>Certeza (% Recobro)</b>						
	e					
15 ng L <sup>-1</sup>	3	106-134	98-105	63-81	100-124	93-115
120 ng L <sup>-1</sup>	3	92-99	97-104	83-95	90-102	99-102
250 ng L <sup>-1</sup>	3	93-102	98-101	90-97	96-101	99-104
<b>Linealidad</b>						
Intervalo lineal (ng L <sup>-1</sup> )	21	15-260	15-260	15-260	15-260	15-260
Pendiente		459.9±22.6	588.3±270	1031±216.6	1152.4±416	747.5±170
Ordenada		-4706±717	5649±800	-10514±2160	-11721±3460	7252±1530
Coefficiente de correlación (r)		0.998	0.995	0.995	0.999	0.997
<b>LD (ng L<sup>-1</sup>)</b>	10	4	3	3	6	4
<b>LC (ng L<sup>-1</sup>)</b>	10	15	15	15	15	15

%RSD= Desviación Estándar Relativa, LD= Límite de Detección, LC= Límite de Cuantificación

## 7.11. ANÁLISIS DE PFCAs EN LAS MUESTRAS DE AGUA

### 7.11.1. Determinación y distribución de los PFCAs objetivo en las aguas residuales de la Zona Metropolitana del Valle de México

El monitoreo de los cinco PFCAs bajo estudio (PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA) se realizó en las dos principales rutas de drenaje de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) 1) el túnel de drenaje profundo “Túnel Emisor Central” y 2) el canal a cielo abierto “Gran Canal de Desagüe” en la época de lluvias comprendida entre los meses de abril-octubre del 2019. Las concentraciones medias determinadas son mostradas en la Figura 22 y en el Anexo 3, Tabla Suplementaria 1.

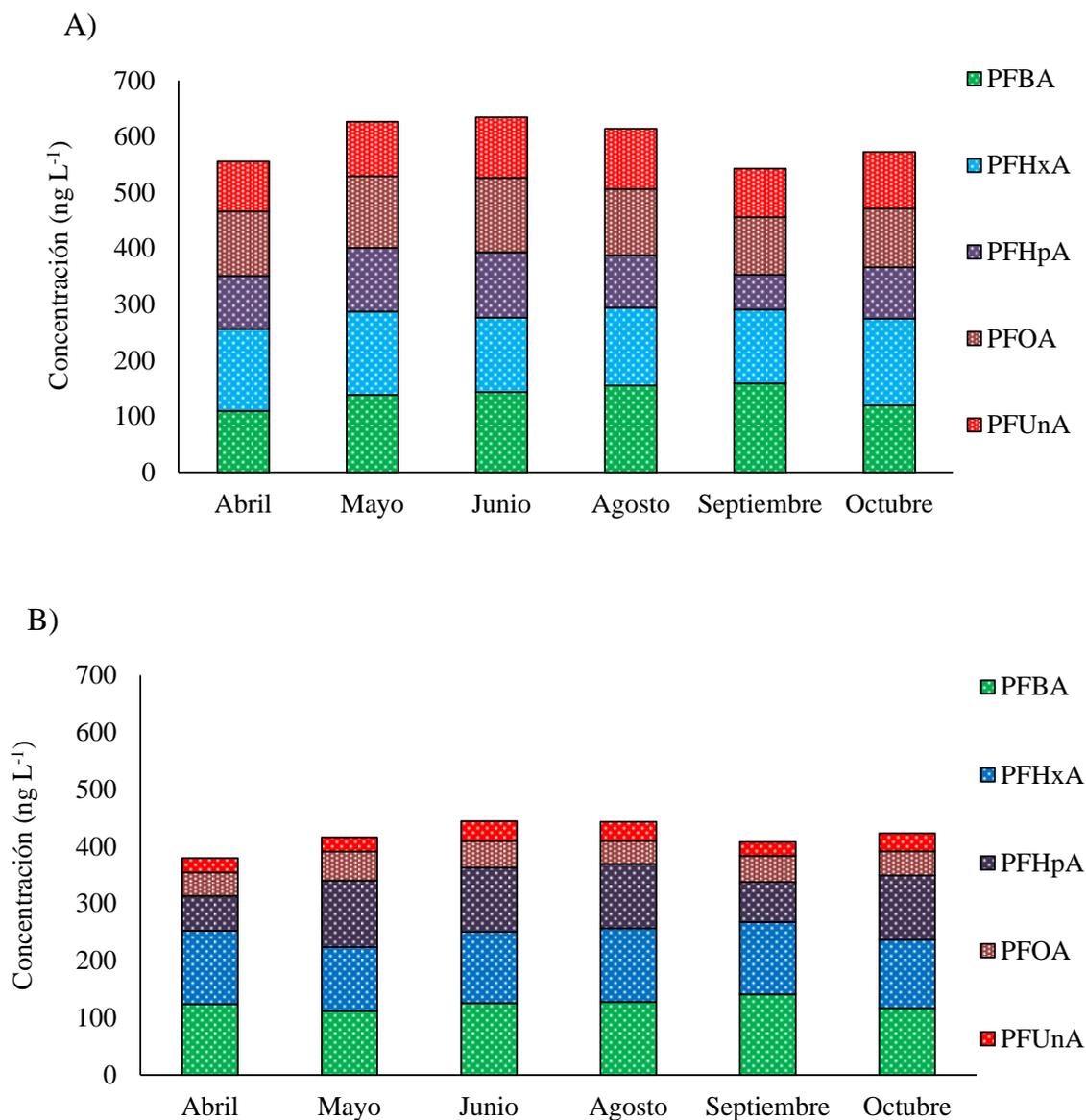
Las concentraciones de PFCAs determinadas en el drenaje proveniente del Túnel Emisor Central (Figura 22A) se observa que el valor medio de la sumatoria de las concentraciones de ácidos carboxílicos perfluorados ( $\Sigma$ PFCAs) está comprendida entre los 419.4 ng L<sup>-1</sup>. En contraste, el valor medio de la  $\Sigma$ PFCAs en el Túnel Emisor Central fue 591.1 ng L<sup>-1</sup>. La diferencia entre el valor medio del Gran Canal fue significativamente superior a la determinada en el Túnel Emisor Central (valor-p < 0.05, Tabla Suplementaria 2) y puede estar asociada a la disposición directa de aguas residuales con y sin tratamiento hacia el canal de cielo abierto, provista por un complejo industrial adyacente al Gran Canal.

Por su parte, los niveles de PFBA y PFHxA fueron los más altos y predominantes en ambas rutas de desagüe; mientras que las concentraciones de PFOA y PFUnA fueron 2.5 y 3.4 veces superiores en el agua del Gran Canal en comparación con el Túnel Emisor Central (valor-p < 0.05, Tabla Suplementaria X2). Los predominantes niveles de concentración de los PFCAs de cadena corta ( $C \leq 6$ ) podrían ser el resultado del cambio de tecnología en la síntesis de productos basados en PFCAs de cadena larga ( $C \geq 8$ ) por sus análogos de menor longitud que inició en la década de los años 1990 y se potenció después del año 2004 [Buck et al, 2011; Hamid et al, 2018]. No obstante, las altas concentraciones de PFOA y PFUnA encontradas en las muestras recolectadas en el Gran Canal podrían estar asociadas a la presencia del complejo industrial y sugieren que, a pesar de existir un cambio de tecnología, las industrias continúan utilizando a los PFCAs de cadena larga como base de sus procesos.

Finalmente, el PFHpA se encontró en mayor concentración en el Túnel Emisor Central en comparación con el Gran Canal (valor-p < 0.05, Tabla Suplementaria 2). Es importante mencionar que el patrón de concentraciones de los PFCAs se mantuvo constante a lo largo de la campaña de monitoreo durante la época de lluvias de la ZMVM.

En términos de orden de magnitud de las concentraciones de PFCAs encontradas en el drenaje de la ZMVM con respecto a lo encontrado en estudios previos en otros países, éstas fueron superiores a las reportadas en aguas municipales de Suecia (Eriksson et al., 2017), ciudades en vías de desarrollo en China [Zhang et al, 2013]

y en drenajes de zonas urbanas en Australia (Coggan et al., 2019) donde se reportan concentraciones promedio  $\Sigma$ PFCAs comprendidas entre 2.3-21 ng L<sup>-1</sup>.



*Figura 22. Concentraciones de PFCAs promedio determinadas en las aguas residuales de la Zona Metropolitana del Valle de México. A) Gran Canal de Desagüe, B) Túnel Emisor Central. Elaboración propia*

Las concentraciones de los PFCAs de cadena larga ( $C \geq 8$ ) observadas son comparables con las determinadas en regiones sobrepobladas y altamente contaminadas de China (Naile et al., 2010; Sun et al., 2012) y la República de Corea (K. Y. Kim et al., 2021), donde las concentraciones promedio  $\Sigma$ PFCAs oscilan entre de 14.2-400 ng L<sup>-1</sup>. En estos estudios, la mayor similitud en los niveles encontrados se observó en los compuestos PFOA y PFUnA, los cuales exhibieron concentraciones de 92-170 ng L<sup>-1</sup> y 10-143 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Si bien las concentraciones identificadas en el drenaje abierto y túnel profundo de la Zona Metropolitana del Valle de México fueron notablemente altas, estos niveles son superados por drenajes que reciben descargas directas de zonas industriales focalizadas en la síntesis de productos basados en compuestos poli y perfluoroalquilados. Un claro ejemplo de esto, son las aguas superficiales de drenajes localizados en un mega parque industrial de fluoroquímicos en China, donde, las concentraciones fueron entre 10 y 1000 veces mayores a las identificadas en el Valle de México (Z. Liu et al., 2016).

#### **7.11.2. Distribución de PFCAs en drenaje desde el Gran Canal de Desagüe hasta el canal de irrigación agrícola Tlamaco-Juandhó dentro del Valle del Mezquital, Hidalgo**

Las diferencias en los niveles de PFCAs encontrados entre el Gran Canal de Desagüe y el Túnel Emisor Central atribuidas a la presencia de un área altamente industrializada, donde las descargas de aguas residuales tanto crudas como tratadas convergen con el flujo del Canal; dieron pie a un seguimiento más profundo sobre los cambios de las concentraciones en el canal. Por tal motivo, se planteó un seguimiento de los PFCAs estudiados en un transecto de 10 km dividido en cuatro sitios de monitoreo (CAR1-4, Figura 1, Apartado XX) y un punto final 70 km aguas arriba en el canal de irrigación de agua Tlamaco-Juandhó dentro del Valle del Mezquital.

Las concentraciones de los PFCAs analizados son resumidos en la Figura 23 y los resultados numéricos completos son mostrados en el Anexo 3, Tabla Suplementaria 1. El primer punto del monitoreo (CAR1) muestra los niveles de concentración más elevados de todo el transecto para todos los PFCAs a lo largo de todo el estudio; en el cual, el PFBA, PFOA y PFUnA fueron los más abundantes exhibiendo concentraciones promedio de  $140.7 \pm 2.4$ ,  $133.7 \pm 0.7$  y  $127.4 \pm 1.7$  ng L<sup>-1</sup>, respectivamente. Seguidos por PFHxA y PFHpA los cuales tienen una menor contribución de  $105 \pm 0.6$  y  $66 \pm 1.7$  ng L<sup>-1</sup>.

Las elevadas concentraciones de PFCAs en el primer sitio de monitoreo pueden ser ocasionadas por dos razones : 1) el Gran Canal recibe las aguas residuales de aproximadamente 7.9 millones de habitantes y 2) aproximadamente el 40 % de estas descargas proceden de industrias, tales como: manufactura de compuestos retardantes de flama, tintes, plastificantes, recubrimiento de metales, espumas y producción de aparatos eléctricos y electrónicos, ya que, es bien sabido que los drenajes producidos a partir de dichos procesos contienen elevadas concentraciones de PFCAs y compuestos precursores poli y perfluorados [Kim et al, 2016; Prevedouros et al, 2006; Wang et al, 2014]. Los resultados observados acentúan la idea de que en el primer sitio de monitoreo del Gran Canal existe una disposición directa de aguas residuales provenientes de los procesos industriales que se realizan en los alrededores del sitio.

Partiendo del primer punto de monitoreo (CAR 1) y hasta el final del primer transecto de 10 km aguas arriba (CAR 4) se observaron cambios en la concentración de los cinco PFCAs estudiados. En una primera instancia, se observó un incremento en las

concentraciones de los compuestos de cadena corta ( $C \leq 7$ ) en contraste con sus análogos de cadena larga ( $C \geq 8$ ) (Figura X23). La concentración del PFBA aumentó en un 10%, el PFHxA incrementó su concentración apenas en un 5 %, mientras el PFHpA presentó el aumento de concentración más sensible con un 40 %. En el caso contrario, el decremento en los niveles de PFOA y PFUnA fueron del 3.5 y 9.5 %, respectivamente.

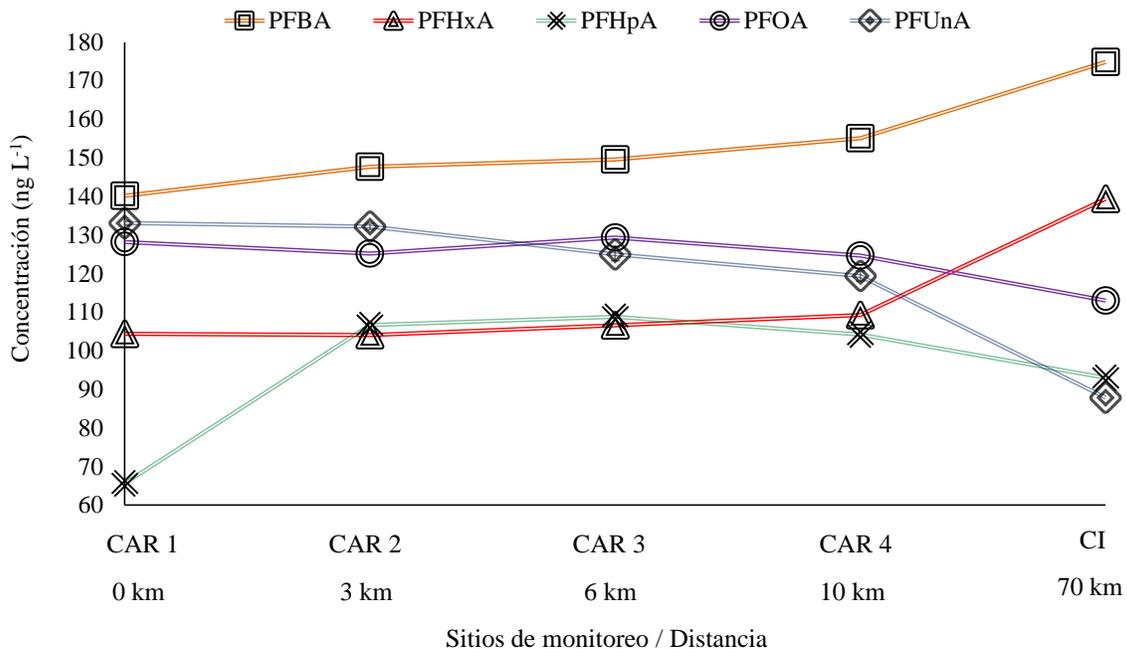


Figura 23. Concentraciones promedio de los cinco PFCAs estudiados en el transecto de 0 a 10 Km en el Gran Canal de Desagüe y el Canal de irrigación agrícola Tlamaco-Juandhó 70 km en el estado de Hidalgo. CAR= Canal de Agua Residual y CI= Canal de irrigación. Elaboración propia

La tendencia de aumento observada para los PFCAs de cadena corta sugiere que algunas industrias han optado utilizar este tipo de compuestos en la elaboración de sus productos en lugar de los compuestos de cadena larga, resultando en la dilución de PFOA y PFUnA. El incremento del 40 % en la concentración de PFHpA observado en los primeros 3 km (del punto CAR 1 al CAR 2) fue consistente durante todo el periodo de monitoreo, sugiriendo la existencia de una descarga de drenaje sumamente específica entre estos dos puntos.

Estos cambios pueden explicarse considerando que alrededor de ambos sitios se encuentran ubicadas dos importantes empresas de químicos fluorados y aproximadamente 40 industrias más que incluyen: Empaquetamiento de alimentos, productos de limpieza, textiles y del papel. Estas dos últimas han sido estudiadas previamente por otros grupos de investigación, quienes han reportado concentraciones promedio de PFHxA y PFHpA 180 y 55 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente [Clara et al, 2008; Kim et al, 2016; Phong Vo et al, 2020]. Otra posible fuente de PFHpA está asociada a la producción de politetrafluoroetileno (PTFE, Teflón) basados en PFOA y sus sales de amonio (APFO), proceso a través del cual se

generan compuestos de cadena corta como residuos (Newton et al., 2017; Shi et al., 2015)(Shi et al., 2015; Shigei et al., 2020).

Finalmente, se estudió la última parte del trayecto entre los 10 km (CAR 4) y el canal de distribución de agua residual agrícola Tlamaco-Juandhó (CI), 60 km al norte de la ZMVM dentro del Valle del Mezquital, Hidalgo. En este trayecto se mantuvo la tendencia incremental de los PFCAs de cadena corta y decreciente de los compuestos de cadena larga. Por un lado, el PFBA aumentó su nivel en un 11.3 %, mientras que el incremento del PFHxA fue del 11.3 %. En contraste, las concentraciones de PFHpA, PFOA y PFUnA decrecieron en un 14.3 %, 6.9 % y 26.6 %, respectivamente. Esto revela que los cinco PFCAs arriban al Valle del Mezquital en las aguas residuales desde la ZMVM a través del Gran Canal de Desagüe en donde los PFCAs de cadena corta predominan sobre los de cadena larga y la sumatoria de las concentraciones promedio  $\Sigma$ PFCAs es de 585 ng L<sup>-1</sup>.

## **7.12. EFECTO DEL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL EN LA CONCENTRACIÓN DE LOS PFCAs**

Con el objetivo de determinar el efecto que tienen los distintos tratamientos que tiene la Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) sobre las concentraciones de los PFCAs procedentes del Túnel Emisor Central. Para ello, se examinaron cuatro puntos de toma de muestra, que son: 1) el influente de la planta, 2) el efluente producido por el tratamiento primario, 3) el efluente correspondiente al tratamiento por lodos activados y 4) la mezcla de efluentes al final de la planta (Figura 5, apartado 6.2.2.). Los niveles de concentración de los cinco PFCAs objetivo son resumidos en la Figura 24 y las magnitudes numéricas son mostradas en el Anexo 3, Tabla Suplementaria 3.

Los cinco PFCAs se encontraron en el influente y los efluentes producidos en la planta de forma sistemática a lo largo de los seis meses de monitoreo. Al comparar el contenido de PFCAs entre el influente y efluente del tratamiento primario de la PTAR (Figura 24A) no se observaron diferencias significativas en la concentración de los compuestos (valor-p > 0.05, Anexo 3, Tabla Suplementaria 4), demostrando así que la aplicación de un tratamiento de coagulación-floculación, donde se utiliza Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> o FeCl<sub>3</sub> es ineficiente para remover a los PFCAs de las aguas residuales (Banks et al., 2020; Bao et al., 2014).

En contraste con el tratamiento primario, al comparar los niveles de PFCAs entre el influente y el efluente del tratamiento secundario (Figura 24A), si se observaron diferencias significativas en las concentraciones de los compuestos de forma individual y para la sumatoria de las concentraciones  $\Sigma$ PFCAs (valor-p < 0.05, Tabla Suplementaria 4). Las concentraciones de PFBA, PFHxA y PFOA en el efluente del tratamiento secundario fueron 11 %, 19.8 % y 61 % más elevadas en comparación con el influente de la PTAR. En contraste, las concentraciones de PFHpA y PFUnA disminuyeron 9.7 % y 33.1 %, respectivamente.

El aumento en las concentraciones de PFBA, PFHxA y PFOA derivado del tratamiento por lodos activados ha sido previamente reportado por diversas

investigaciones alrededor del mundo (Gallen et al., 2017; K. Y. Kim et al., 2021; Lin et al., 2010; Shigei et al., 2020; Zhang et al., 2013). Este patrón puede ser atribuido a dos razones que pueden actuar en conjunto o de forma independiente. La primera de ellas está asociada a la desorción de los PFCAs de los lodos secundarios; sin embargo, esto explicaría el incremento de PFBA y PFHxA, ya que la desorción de compuestos de mayor longitud de cadena, tal como PFOA ha sido reportada como mínima (Chiavola et al., 2020). La segunda razón es atribuida a la posible biodegradación de compuestos precursores de PFCAs como pueden ser: los alcoholes fluorotelomerados (FTOHs), fosfatos perfluoroalquilados (PAP), y muchos otros más. La biodegradación de estos precursores en los procesos de lodos activados promueve la generación de PFCAs de menor longitud de cadena como PFBA, PFHxA y de PFOA (Coggan et al., 2019; Dinglasan et al., 2004; Schultz, Higgins, et al., 2006; Taniyasu et al., 2008; Yan et al., 2015).

Sun et al, 2012 reportaron que la biodegradación del 8:2 FTOH y de compuestos de fosfato (PAP) resultan en la formación de PFOA. De forma similar, la biodegradación de compuestos 6:2 polifluorados, tales como: 6:2 diPAP, los 6:2 ácidos sulfónicos fluorotelomerados (6:2 FTSA) contribuyen sustancialmente al aumento en la concentración de PFHxA en los sistemas de tratamiento secundario (Eriksson et al., 2017; Lee et al., 2010).

Por lo que concierne al PFUnA, el decremento en su concentración después de aplicar el tratamiento de lodos activados podría deberse a la fuerte adsorción del compuesto en los lodos secundarios. Ya que se sabe con seguridad que el incremento en la longitud de la cadena perfluoroalquilada favorece que la distribución de las moléculas hacia los sólidos suspendidos en los sistemas de tratamiento (Chandramouli et al., 2015; Elmoznino et al., 2018; Lakshminarasimman et al., 2021).

La ineficiente remoción de los compuestos en el proceso de coagulación-floculación aunada con el aumento en los niveles de concentración en el tratamiento por lodos activados promovieron un aumento significativo en la  $\Sigma$ PFCAs en la mezcla de efluentes de la planta de tratamiento que son descargados en el Río Tula. En este sitio la  $\Sigma$ PFCAs fue de  $764 \pm 22.9 \text{ ng L}^{-1}$  que representa un aumento del 40 % entre la mezcla de efluentes y el influente de la PTAR (Figura 24B). En este orden de ideas, los niveles de PFBA, PFHxA y PFOA fueron 32.5 %, 40 % y 74 % superiores en la mezcla de efluentes, mientras que, PFHpA y PFUnA no exhibieron diferencias significativas entre la mezcla de efluentes en comparación con el influente (valor-p > 0.05).

Basado en los resultados obtenidos durante el monitoreo de la PTAR que evidencia la ineficacia de los tratamientos primario y secundario convencionales para remover a este tipo de compuestos, es posible considerar a la planta como una fuente de contaminación adicional de PFCAs de cadena corta ( $C \leq 6$ ) y PFOA hacia el ambiente rural, en donde el agua residual tratada es distribuida y reutilizada para irrigación agrícola.

La ineficiencia de los tratamientos convencionales y los incrementos en las concentraciones de PFCAs después de la aplicación de los tratamientos biológicos

ha sido señalada consistentemente en distintas investigaciones (Arvaniti & Stasinakis, 2015a; Coggan et al., 2019; J. Kim et al., 2022) Hecho que desencadenó el desarrollo, la aplicación y la evaluación de diferentes estrategias de tratamiento orientadas en remover y/o degradar a los PFCAs en medio acuoso, dentro de las estrategias aplicadas destacan: adsorción, procesos avanzados de filtración y mediante procesos de oxidación y reducción.

Las estrategias de remoción fundamentadas en los procesos de adsorción han evaluado a una gran cantidad de materiales adsorbentes, verbigracia: resinas de intercambio iónico, diferentes tipos de zeolitas, nanotubos de carbono (Du et al., 2015; Yao et al., 2014), polímeros orgánicos covalentes (Van den Bergh et al., 2020) y con carbón activado en polvo y granular. Estos últimos han sido los más utilizados al propiciar una remoción de PFCAs más rápida y eficiente. Actualmente, estos materiales han sido modificados mediante la adición de compositos magnéticos, tal como óxido ferroso férrico ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), óxido de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) y níquel (Ni) para facilitar el proceso de recuperación sin perder la eficiencia de remoción (Meng et al., 2019).

Entretanto, los procesos de filtración avanzada tales como: membranas de nanofiltración y ósmosis inversa han mostrado porcentajes de remoción comprendidos entre superiores al 90 % en agua residual y cercanos al 100 % en agua pura, particularmente para los compuestos perfluorados con mayor longitud de cadena alquílica (Appleman et al., 2013; Arvaniti & Stasinakis, 2015b).

Actualmente, se ha optado por combinar los métodos de filtración con los de adsorción con el objetivo de maximizar la remoción de PFCAs. Un claro ejemplo de esto es lo señalado por Franke et al, 2021, quienes lograron remover hasta el 98 % de los PFAs en una planta piloto de agua potable en Suecia a través del acoplamiento en continuo de membranas de nanofiltración seguido por carbono activado granular adaptadas con resinas de intercambio aniónico (Franke et al., 2021).

Por su parte, los procesos de oxidación avanzada (AOPs, por sus siglas en inglés) han sido utilizados cada vez con mayor frecuencia para degradar compuestos altamente estables en agua. En este sentido, los AOPs involucran la formación de especies químicas altamente oxidantes y reactivas (por ejemplo: peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radicales hidroxilo ( $\text{HO}\cdot$ ), persulfato ( $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ ), entre otras), activadas mediante radiación, calor o el uso de catalizadores y fotocatalizadores (Antoniou & Andersen, 2015). Bajo este contexto, múltiples fotocatalizadores (e.g.,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ga}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZnO}$ ) han sido utilizados para propiciar la decarboxilación ( $-\text{CO}_2\text{H}$ ) y la ruptura del enlace C-F (Do et al., 2020).

Es imperativo señalar que en la mayoría de los ensayos se evaluó la remoción y/o degradación de los dos compuestos perfluorados más investigados, a saber: ácido perfluorooctanoico (PFOA) y perfluorooctansulfónico (PFOS), siendo necesario realizar futuras investigaciones sobre otros compuestos poli y perfluorados. De igual manera, los experimentos de remoción y degradación se hicieron en condiciones de laboratorio controladas y con una matriz simple (agua pura), por lo que sería necesario evaluar las estrategias de tratamiento en aguas residuales tratadas y eventualmente crudas.

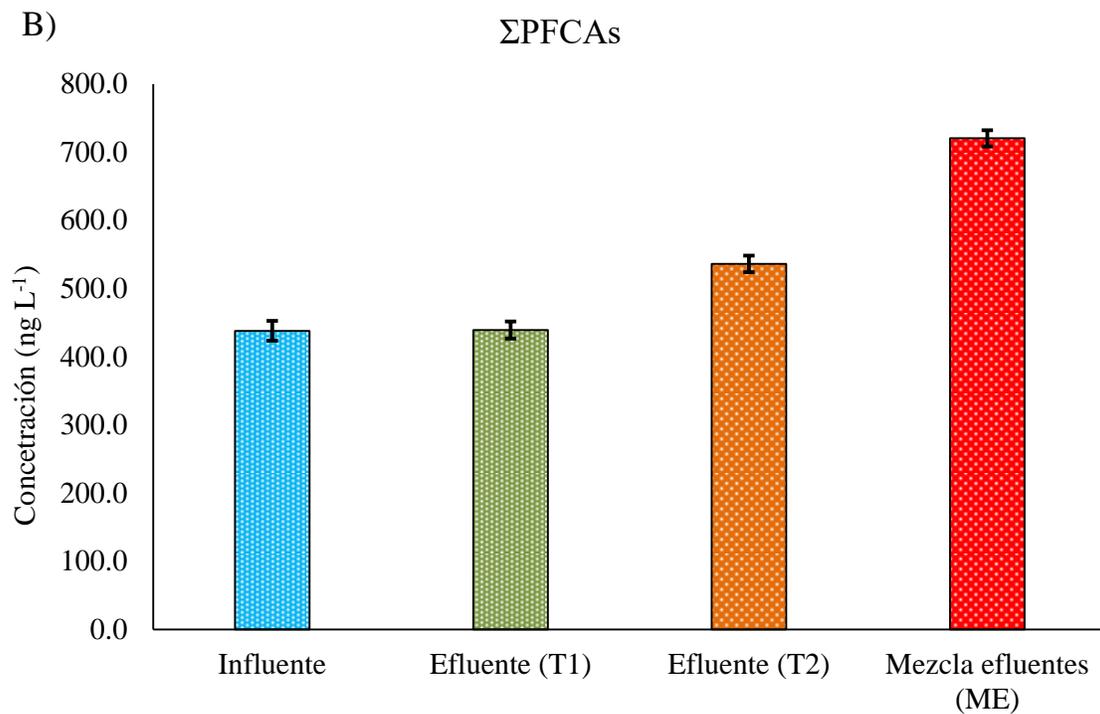
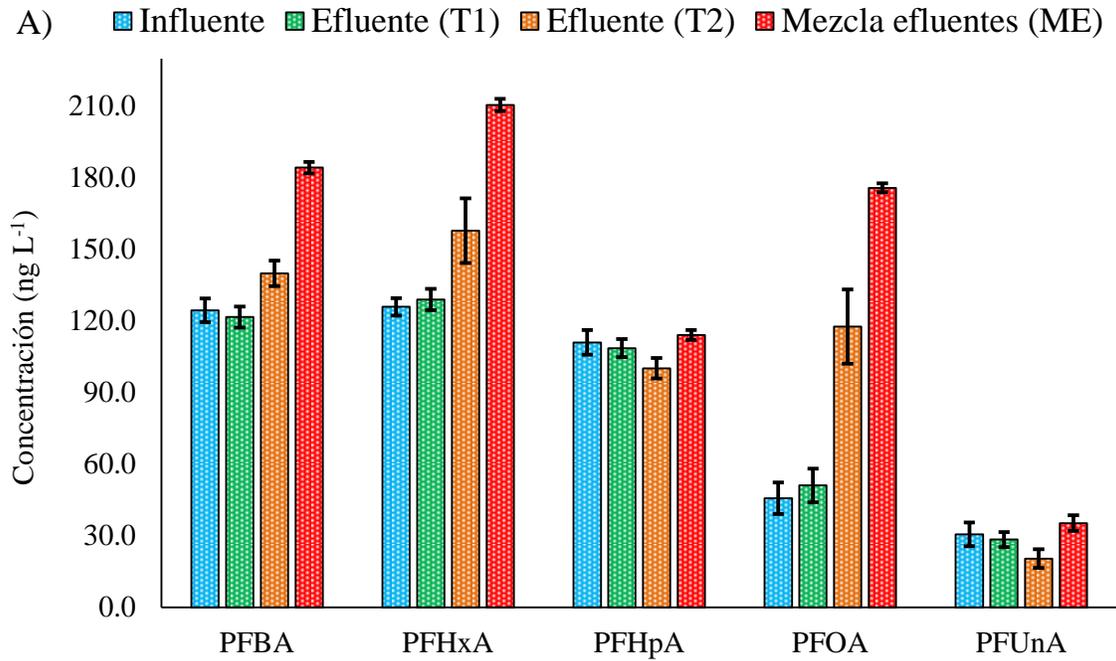


Figura 24. Concentraciones de PFCAs promedio en el influente y los efluentes de la Planta de Tratamiento de Agua Residual de Atotonilco. A) Concentraciones de los PFCAs determinadas de forma independiente, B) Concentraciones de  $\Sigma$ PFCAs. Elaboración propia

### **7.13. DESTINO AMBIENTAL DE LOS PFCAs EN UN PIEDEMONTTE REGADO CON AGUA RESIDUAL EN EL VALLE DEL MEZQUITAL**

Como ya se discutió en las secciones anteriores, los cinco PFCAs estudiados encuentran como destino final los campos de irrigación agrícolas en el Valle del Mezquital en concentraciones promedio comprendidas ( $\Sigma$ PFCAs) entre 585-764 ng L<sup>-1</sup> tanto en las aguas residuales crudas como las tratadas. Debido a ello, se decidió estudiar la movilidad de los compuestos a través del suelo mediante el monitoreo de un piedemonte regado con agua residual, con el objetivo de conocer si los compuestos llegan al agua subterránea (Figura 3).

En la Figura 25 y en el Anexo 3, Tabla Suplementaria 4, se resumen los niveles de concentración de PFCAs en los estudios de movilidad de PFCAs en el piedemonte. Los cinco compuestos se encontraron en el canal de distribución de agua residual agrícola Tlamaco-Juandhó sistemáticamente durante los 6 meses del monitoreo, en donde los compuestos PFBA y PFHxA fueron los más abundantes con concentraciones promedio de  $169 \pm 18.2$  ng L<sup>-1</sup> y  $142.6 \pm 9.1$  ngL<sup>-1</sup>, respectivamente. En oposición, los compuestos con una mayor longitud de cadena se encontraron en menores concentraciones, esto es: PFHpA  $95.3 \pm 19.6$  ng L<sup>-1</sup>, PFOA  $117.2 \pm 12.1$  ng L<sup>-1</sup> y PFUnA  $63.5 \pm 15.3$  ng L<sup>-1</sup>.

Al analizar el agua subterránea colectada en el piezómetro localizado en la zona media del piedemonte, correspondiente a los primeros 24 m de infiltración de las aguas de riego, se observó un decremento tanto en la concentración individual de los PFCAs como en la sumatoria total ( $\Sigma$ PFCAs). La mayor reducción se presentó en los compuestos de mayor longitud de cadena, en donde: el PFUnA quien fue removido en su totalidad (100%), seguido por PFOA y PFHpA con reducciones comprendidas entre 75% y 72.2 %, respectivamente. En contraste, los compuestos de cadena corta exhibieron un comportamiento variable, por un lado, el porcentaje de remoción del PFBA fue del 84 % mientras que el PFHxA exhibió un porcentaje de remoción del 64 %.

Continuando con el seguimiento de los contaminantes desde el agua subterránea hasta la zona de descarga, recolectada en el manantial Cerro Colorado, se observó una reducción adicional en los niveles de concentración de PFHxA, PFHpA y PFOA mostrando porcentajes de remoción totales desde el canal de irrigación hasta el manantial del 72.1 %, 86.8 % y 87.6 %, respectivamente. Entretanto, el PFBA mostró un comportamiento variable ya que en los meses de abril, junio y septiembre no se observó un cambio significativo en su concentración, mientras que los meses de mayo, agosto y octubre se observó un incremento promedio del 3.8 % en el agua de manantial con respecto al agua subterránea.

La movilidad de los PFCAs a través del suelo del Valle sugiere la existencia de dos efectos que actúan de forma sinérgica. Por un lado, el alto contenido de materia orgánica de los suelos de la zona estudiada, entre 9 y 12% de materia orgánica como resultado del uso agrícola continuo y el riego con agua residual (Sánchez González et al, 2017) promueve la remoción de los compuestos conducida principalmente por mecanismos de adsorción, los cuales dependen sustantivamente de las propiedades

hidrofílicas e hidrofóbicas de los PFCAs, las que a su vez, dependen fuertemente de la longitud de la cadena perfluorada. A razón de ello, mientras mayor sea la longitud de la cadena perfluorada, mayor será la adsorción de los PFCAs al suelo (Gellrich et al., 2012; Milinovic et al., 2015). Por el contrario, los compuestos de cadena corta tales como: PFBA y PFHxA serán transportados por el agua a través del suelo con mayor facilidad (McLachlan et al., 2019).

Los altos porcentajes de remoción de los PFCAs por los suelos son el resultado del efecto sinérgico entre el contenido de materia orgánica y las propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas de los PFCAs conferidas por la longitud de la cadena perfluorada.

Aunado con lo anterior, la elevada estabilidad de los compuestos provista por el enlace C-F y la continua aplicación de riego con agua residual (más de 90 años), sugieren que el sitio tiene un elevado potencial de acumulación de ácidos carboxílicos perfluorados.

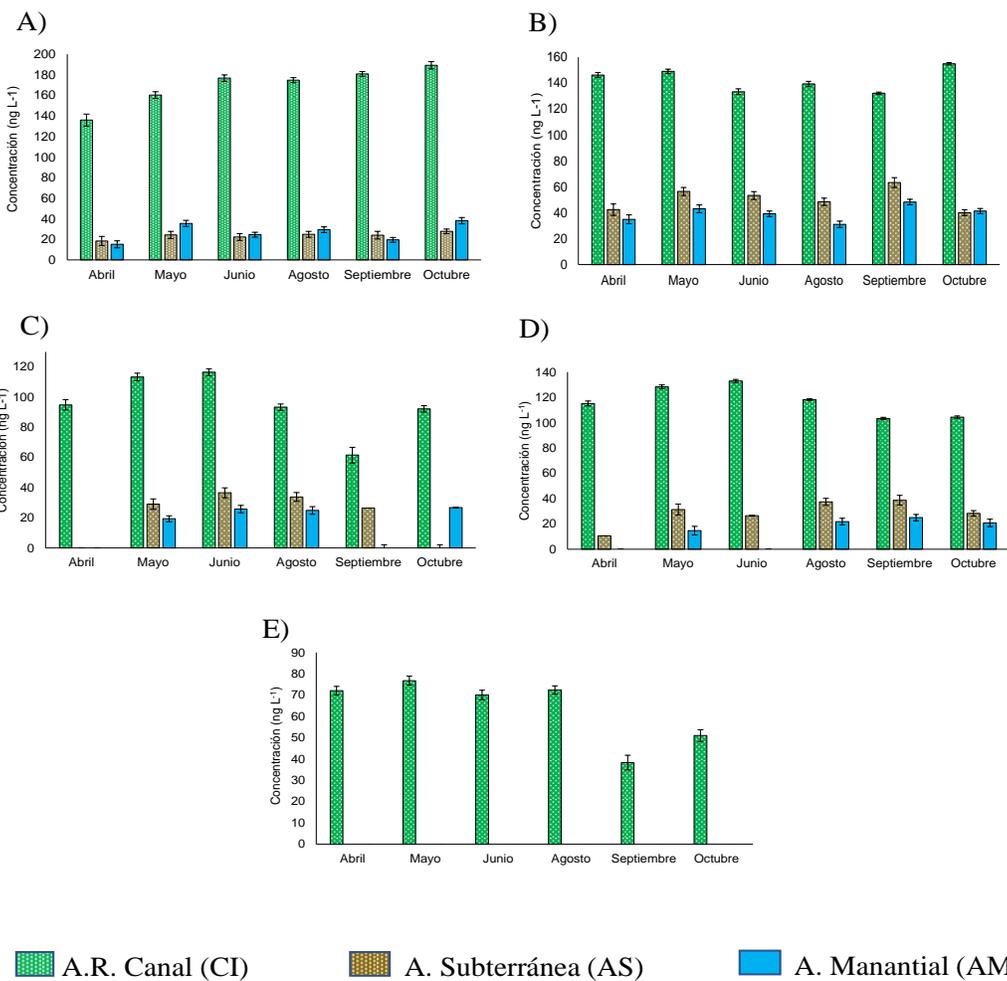
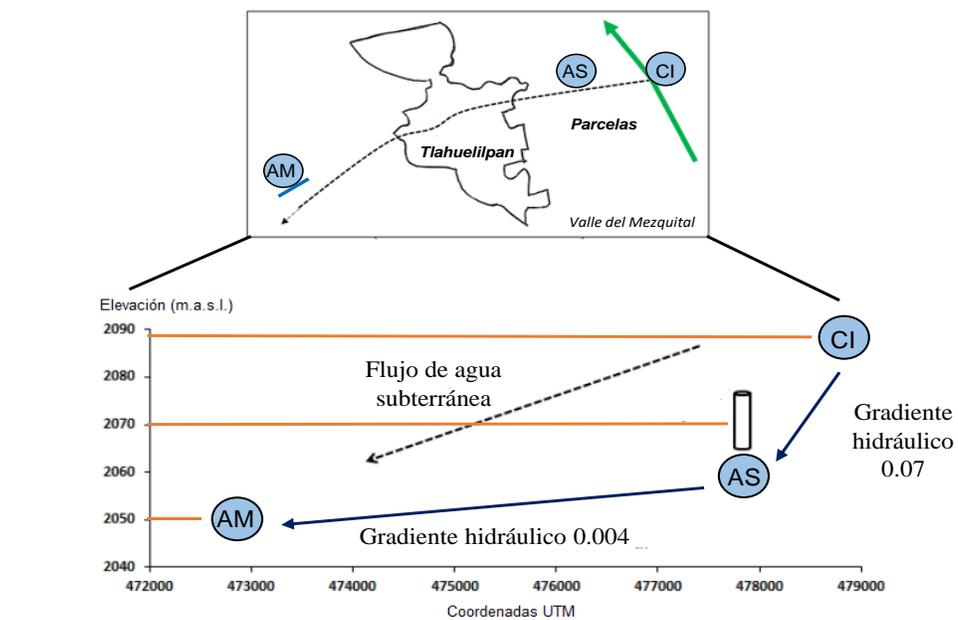


Figura 25. Concentración de PFCAs en el piedemonte. A) PFBA, B) PFHxA, C) PFHpA, D) PFOA y E) PFUnA. . Elaboración propia

## 8. CAPÍTULO 5. Conclusiones y perspectivas

### 8.1. CONCLUSIONES

Derivado de los resultados en este trabajo se obtuvieron las siguientes conclusiones.

- Se desarrolló y validó una metodología analítica para cinco PFCAs con diferente longitud de cadena perfluorada a nivel de trazas  $\text{ng L}^{-1}$  en agua residual cruda, tratada y de manantial, demostrando que el uso de la técnica de extracción en fase sólida mediante cartuchos de intercambio aniónico débil y la secuencia de lavados-análisis implementada durante el análisis cromatográfico con detección por espectrometría de masas, reduce sustantivamente las interferencias inherentes al método, aumenta la selectividad y permite que el método cumpla con las recomendaciones provistas por guías internacionales de validación al mostrar una buena linealidad, precisión y exactitud.
- Los cinco ácidos carboxílicos perfluoroalquilados, PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA y PFUnA fueron encontrados en el drenaje de la Zona Metropolitana del Valle de México de forma consistente en concentraciones comprendidas entre decenas y cientos de nanogramos por litro a lo largo del monitoreo.
- El patrón de concentraciones observado entre el Gran Canal de Desagüe y el Túnel Emisor Central demostraron que los compuestos PFBA, PFHxA y el PFHpA fueron los componentes predominantes en ambas rutas de drenaje sugiriendo que existe un cambio de tecnologías en el uso y producción de PFCAs de cadena corta. En contraste, el alto contenido de PFOA y PFUnA encontrado en las aguas residuales del Gran Canal demostró que las descargas industriales exhiben un elevado contenido de PFCAs de cadena larga.
- Los tratamientos primarios (coagulación-floculación) y secundarios (lodos activados) convencionales aplicados en el tratamiento de agua de la Planta de Tratamiento de Atotonilco actúan como una fuente adicional de contaminación de PFCAs de cadena corta y PFOA en el efluente de la planta.
- Los PFCAs generados en el Valle de México migran en concentraciones de cientos de nanogramos por litro hasta las zonas agrícolas del Valle del Mezquital.
- Los estudios de movilidad revelaron que el suelo agrícola del Valle del Mezquital es capaz de remover el 70 % los PFCAs de cadena corta e incluso el 100 % de los compuestos de cadena larga. Denotando así, que existe una potencial acumulación de estos compuestos en los suelos del Valle.
- Existe una dependencia entre la longitud de la cadena perfluoroalquilada y la movilidad de los compuestos a través del suelo, siendo los PFCAs de cadena corta los que presentan una mayor movilidad, debido a su carácter

predominantemente hidrofílico. En oposición, el predominio del carácter hidrofóbico de los PFCAs de cadena larga favorece su retención en el suelo del Valle.

## 8.2. PERSPECTIVAS

El establecimiento de la metodología analítica expuesta en este trabajo posibilitará el desarrollo de líneas de investigación tanto en la química analítica como en las ciencias ambientales, algunos ejemplos de las investigaciones que podrán implementarse son:

- El método SPE-HPLC-MS/MS puede ser extendido y validado para la determinar los demás compuestos pertenecientes a la familia de los ácidos carboxílicos perfluoroalquilados, así como para otros compuestos poli y perfluorados como son: ácidos perfluorosulfónicos (PFSA), alcoholes fluorotelomerados (FTOHs), entre otros. Además, este método se puede adaptar con facilidad a otras técnicas extractivas en fase sólida, tales como: extracciones líquido-sólido asistidas por ultrasonido (UAE) o por microondas (MAE), lo que posibilitaría la determinación de compuestos perfluorados en matrices sólidas de interés ambiental como los suelos, sedimentos e incluso organismos.
- Llevar a cabo monitoreos en campo enfocados en estudiar la movilidad de compuestos perfluorados en los campos agrícolas que reciben a las aguas residuales con fines de irrigación. Estos estudios permitirían obtener información de diferentes procesos, por ejemplo: de acumulación de PFCAs en los suelos bajo riego, asimilación de los compuestos por las plantas y los organismos, biodegradación de compuestos precursores, entre otros.
- Conducir experimentos de sorción estáticos y dinámicos, que faciliten la comprensión de los mecanismos de retención y movilidad de los PFCAs en suelos irrigados con agua residual. Asimismo, elucidar el efecto que tienen sobre la sorción el agua residual cruda y tratada, el contenido de iones mono y bivalentes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_3$ , etcétera), los cambios de pH en el agua, el contenido de la materia orgánica disuelta, entre muchos otros.
- Explorar la aplicabilidad y eficiencia de diferentes metodologías de tratamiento de aguas residuales focalizadas en la remoción y/o eliminación de compuestos perfluorados, como son los procesos de oxidación avanzada, la síntesis de membranas de nanofiltración, polímeros funcionalizados, entre otras.

## 9. REFERENCIAS

- Alzaga, R., & Bayona, J. M. (2004). Determination of perfluorocarboxylic acids in aqueous matrices by ion-pair solid-phase microextraction-in-port derivatization-gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1042(1–2), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.015>
- Antignac, J. P., Veyrand, B., Kadar, H., Marchand, P., Oleko, A., Bizec, B. Le, & Vandentorren, S. (2013). Occurrence of perfluorinated alkylated substances in breast milk of French women and relation with socio-demographical and clinical parameters: Results of the ELFE pilot study. *Chemosphere*, 91(6), 802–808. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.088>
- Antoniou, M. G., & Andersen, H. R. (2015). Comparison of UVC/S2O82- with UVC/H2O2 in terms of efficiency and cost for the removal of micropollutants from groundwater. *Chemosphere*, 119, S81–S88. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.029>
- Appleman, T. D., Dickenson, E. R. V., Bellona, C., & Higgins, C. P. (2013). Nanofiltration and granular activated carbon treatment of perfluoroalkyl acids. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 740–746. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.06.033>
- Armitage, J., Cousins, I. T., Buck, R. C., Prevedouros, K., Russell, M. H., Macleod, M., & Korzeniowski, S. H. (2006). Modeling global-scale fate and transport of perfluorooctanoate emitted from direct sources. *Environmental Science and Technology*, 40(22), 6969–6975. <https://doi.org/10.1021/es0614870>
- Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2015a). Review on the occurrence, fate and removal of perfluorinated compounds during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 524–525, 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.023>
- Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2015b). Science of the Total Environment Review on the occurrence, fate and removal of perfluorinated compounds during wastewater treatment. In *Science of the Total Environment (Vols. 524–525)*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.023>
- Banks, D., Jun, B. M., Heo, J., Her, N., Park, C. M., & Yoon, Y. (2020). Selected advanced water treatment technologies for perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances: A review. *Separation and Purification Technology*, 231(April 2019), 115929. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.115929>
- Bao, Y., Niu, J., Xu, Z., Gao, D., Shi, J., Sun, X., & Huang, Q. (2014). Removal of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) from water by coagulation: Mechanisms and influencing factors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 434, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.07.041>
- Becker, A. M., Gerstmann, S., & Frank, H. (2008). Perfluorooctane surfactants in waste waters, the major source of river pollution. *Chemosphere*, 72(1), 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.01.009>
- Bossi, R., Strand, J., Sortkjær, O., & Larsen, M. M. (2008). Perfluoroalkyl compounds in Danish wastewater treatment plants and aquatic environments. *Environment International*, 34(4), 443–450. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.10.002>
- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., Voogt, P. De,

- Jensen, A. A., Kannan, K., Mabury, S. A., & van Leeuwen, S. P. J. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513–541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>
- Campo, J., Pérez, F., Masiá, A., Picó, Y., Farré, M. la, & Barceló, D. (2015). Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Science of the Total Environment*, 503–504, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.094>
- Chamizo-Checa, S., Otazo-Sánchez, E., Gordillo-Martínez, A., Suárez-Sánchez, J., González-Ramírez, C., & Muñoz-Nava, H. (2020). Megacitywastewater poured into a nearby basin: Looking for sustainable scenarios in a case study. *Water (Switzerland)*, 12(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/w12030824>
- Chandramouli, B., Benskin, J. P., Hamilton, M. C., & Cosgrove, J. R. (2015). Sorption of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) on filter media: Implications for phase partitioning studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(1), 30–36. <https://doi.org/10.1002/etc.2751>
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., & Jiménez, B. (2011). The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environmental Pollution*, 159(5), 1354–1362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.01.008>
- Chen, H., Reinhard, M., Nguyen, T. V., You, L., He, Y., & Gin, K. Y. H. (2017). Characterization of occurrence, sources and sinks of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in a tropical urban catchment. *Environmental Pollution*, 227, 397–405. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.091>
- Chiavola, A., Di Marcantonio, C., Boni, M. R., Biagioli, S., Frugis, A., & Cecchini, G. (2020). Experimental investigation on the perfluorooctanoic and perfluorooctane sulfonic acids fate and behaviour in the activated sludge reactor. *Process Safety and Environmental Protection*, 134, 406–415. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.11.003>
- Clara, M., Scheffknecht, C., Scharf, S., Weiss, S., & Gans, O. (2008). Emissions of perfluorinated alkylated substances (PFAS) from point sources - Identification of relevant branches. *Water Science and Technology*, 58(1), 59–66. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.641>
- Coggan, T. L., Moodie, D., Kolobaric, A., Szabo, D., Shimeta, J., Crosbie, N. D., Lee, E., Fernandes, M., & Clarke, B. O. (2019). An investigation into per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in nineteen Australian wastewater treatment plants (WWTPs). *Heliyon*, 5(8), e02316. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02316>
- CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN INTERNA Y CONFIRMACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS, 46 (2015).
- D'Hollander, W., Roosens, L., Covaci, A., Cornelis, C., Reynders, H., Campenhout, K. Van, Voogt, P. de, & Bervoets, L. (2010). Brominated flame retardants and perfluorinated compounds in indoor dust from homes and offices in Flanders, Belgium. *Chemosphere*, 81(4), 478–487. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.043>
- Dannenberg J. J. (1998). *Book reviews Book reviews*. 123(39), 1009–1011.

- de Voogt, P., Berger, U., de Coen, W., de Wolf, W., Heimstad, E., McLachlan, M., van Leeuwen, S. P. J., & van Roon, A. (2006). *PERFORCE: PERFluorinated ORganic Compounds in the European Environment*. 508967, 1–132.
- Dinglasan, M. J. A., Ye, Y., Edwards, E. A., & Mabury, S. A. (2004). Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environmental Science and Technology*, 38(10), 2857–2864. <https://doi.org/10.1021/es0350177>
- Do, H. T., Phan Thi, L. A., Dao Nguyen, N. H., Huang, C. W., Le, Q. Van, & Nguyen, V. H. (2020). Tailoring photocatalysts and elucidating mechanisms of photocatalytic degradation of perfluorocarboxylic acids (PFCAs) in water: a comparative overview. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 95(10), 2569–2578. <https://doi.org/10.1002/jctb.6333>
- Du, Z., Deng, S., Chen, Y., Wang, B., Huang, J., Wang, Y., & Yu, G. (2015). Removal of perfluorinated carboxylates from washing wastewater of perfluorooctanesulfonyl fluoride using activated carbons and resins. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.037>
- Dufková, V., Čabala, R., Maradová, D., & Štícha, M. (2009). A fast derivatization procedure for gas chromatographic analysis of perfluorinated organic acids. *Journal of Chromatography A*, 1216(49), 8659–8664. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.10.042>
- Durán-Álvarez, J. C., Prado, B., Ferroud, A., Juayerk, N., & Jiménez-Cisneros, B. (2014). Sorption, desorption and displacement of ibuprofen, estrone, and 17 $\beta$  estradiol in wastewater irrigated and rainfed agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 473–474, 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.018>
- Elmoznino, J., Vlahos, P., & Whitney, M. (2018). Occurrence and partitioning behavior of perfluoroalkyl acids in wastewater effluent discharging into the Long Island Sound. *Environmental Pollution*, 243, 453–461. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.076>
- EPA. (2018). *EPA Method 537.1*. 1(2009), 1–50.
- Eriksson, U., Haglund, P., & Kärrman, A. (2017). Contribution of precursor compounds to the release of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) from waste water treatment plants (WWTPs). *Journal of Environmental Sciences (China)*, 61, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.05.004>
- EuroLab España, & P.P. Morillas y colaboradores. (2016). Guía Eurachem: La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos-Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. In *Eurachem* (1° ed., Vol. 56, Issue 06).
- Franke, V., Ullberg, M., McCleaf, P., Wålander, M., Köhler, S. J., & Ahrens, L. (2021). The Price of Really Clean Water: Combining Nanofiltration with Granular Activated Carbon and Anion Exchange Resins for the Removal of Per- And Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) in Drinking Water Production. *ACS ES&T Water*, 1(4), 782–795. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.0c00141>
- Gallen, C., Drage, D., Eaglesham, G., Grant, S., Bowman, M., & Mueller, J. F. (2017). Australia-wide assessment of perfluoroalkyl substances (PFASs) in landfill leachates. *Journal of Hazardous Materials*, 331, 132–141.

- <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.02.006>
- Gellrich, V., Stahl, T., & Knepper, T. P. (2012). Behavior of perfluorinated compounds in soils during leaching experiments. *Chemosphere*, 87(9), 1052–1056. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.011>
- Ghisi, R., Vamerali, T., & Manzetti, S. (2019). Accumulation of perfluorinated alkyl substances (PFAS) in agricultural plants: A review. *Environmental Research*, 169(June 2018), 326–341. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.023>
- Gibson, R., Durán-Álvarez, J. C., Estrada, K. L., Chávez, A., & Jiménez Cisneros, B. (2010). Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*, 81(11), 1437–1445. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.006>
- Gomis, M. I., Wang, Z., Scheringer, M., & Cousins, I. T. (2015). A modeling assessment of the physicochemical properties and environmental fate of emerging and novel per- and polyfluoroalkyl substances. *Science of the Total Environment*, 505, 981–991. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.062>
- Hamid, H., Li, L. Y., & Grace, J. R. (2018). Review of the fate and transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. *Environmental Pollution*, 235, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.030>
- He, W., Megharaj, M., & Naidu, R. (2016). Toxicity of perfluorooctanoic acid towards earthworm and enzymatic activities in soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(7). <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5416-y>
- Hernández-Martínez, J. L., Prado, B., Durán-Álvarez, J. C., Bischoff, W. A., & Siebe, C. (2014). Movement of Water and Solutes in a Wastewater Irrigated Piedmont. *Procedia Earth and Planetary Science*, 10, 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.proeps.2014.08.060>
- Jahnke, A., & Berger, U. (2009). Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices-How do current methods perform? *Journal of Chromatography A*, 1216(3), 410–421. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.098>
- Kim, J., Xin, X., Mamo, B. T., Hawkins, G. L., Li, K., Chen, Y., Huang, Q., & Huang, C. H. (2022). Occurrence and Fate of Ultrashort-Chain and Other Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Wastewater Treatment Plants. *ACS ES and T Water*, 2(8), 1380–1390. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.2c00135>
- Kim, K. Y., Ndabambi, M., Choi, S., & Oh, J. E. (2021). Legacy and novel perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in industrial wastewater and the receiving river water: Temporal changes in relative abundances of regulated compounds and alternatives. *Water Research*, 191, 116830. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116830>
- Lakshminarasimman, N., Gewurtz, S. B., Parker, W. J., & Smyth, S. A. (2021). Removal and formation of perfluoroalkyl substances in Canadian sludge treatment systems – A mass balance approach. *Science of the Total Environment*, 754, 142431. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142431>
- Lee, H., Deon, J., & Mabury, S. A. (2010). Biodegradation of polyfluoroalkyl phosphates as a source of perfluorinated acids to the environment. *Environmental Science and Technology*, 44(9), 3305–3310. <https://doi.org/10.1021/es9028183>
- Lesser-Carrillo, L. E., Lesser-Illades, J. M., Arellano-Islas, S., & González-

- Posadas, D. (2011). Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del valle del Mezquital, México Central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 28(3), 323–336.
- Li, Z., & Sun, H. (2020). Cost-effective detection of perfluoroalkyl carboxylic acids with gas chromatography: Optimization of derivatization approaches and method validation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010100>
- Lin, A. Y. C., Panchangam, S. C., & Ciou, P. Sen. (2010). High levels of perfluorochemicals in Taiwan's wastewater treatment plants and downstream rivers pose great risk to local aquatic ecosystems. *Chemosphere*, 80(10), 1167–1174. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.018>
- Liu, W. L., Hwang, B. H., Li, Z. G., Jen, J. F., & Lee, M. R. (2011). Headspace solid phase microextraction in-situ supercritical fluid extraction coupled to gas chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of perfluorocarboxylic acids in sediments. *Journal of Chromatography A*, 1218(43), 7857–7863. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.08.062>
- Liu, Z., Lu, Y., Wang, T., Wang, P., Li, Q., Johnson, A. C., Sarvajayakesavalu, S., & Sweetman, A. J. (2016). Risk assessment and source identification of perfluoroalkyl acids in surface and ground water: Spatial distribution around a mega-fluorochemical industrial park, China. *Environment International*, 91, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.02.020>
- Macdonald, R. W., Barrie, L. A., Bidleman, T. F., Diamond, M. L., Gregor, D. J., Semkin, R. G., Strachan, W. M. J., Li, Y. F., Wania, F., Alaee, M., Alexeeva, L. B., Backus, S. M., Bailey, R., Bewers, J. M., Gobeil, C., Halsall, C. J., Harner, T., Hoff, J. T., Jantunen, L. M. M., ... Yunker, M. B. (2000). Contaminants in the Canadian Arctic: 5 years of progress in understanding sources, occurrence and pathways. In *Science of the Total Environment* (Vol. 254, Issues 2–3). [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00434-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00434-4)
- McLachlan, M. S., Felizeter, S., Klein, M., Kotthoff, M., & De Voogt, P. (2019). Fate of a perfluoroalkyl acid mixture in an agricultural soil studied in lysimeters. *Chemosphere*, 223, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.012>
- Meng, P., Fang, X., Maimaiti, A., Yu, G., & Deng, S. (2019). Efficient removal of perfluorinated compounds from water using a regenerable magnetic activated carbon. *Chemosphere*, 224, 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.132>
- Milinic, J., Lacorte, S., Vidal, M., & Rigol, A. (2015). *Science of the Total Environment Sorption behaviour of perfluoroalkyl substances in soils*. 511, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.017>
- Murillo-Torres, R., Durán-Álvarez, J. C., Prado, B., & Jiménez-Cisneros, B. E. (2012). Sorption and mobility of two micropollutants in three agricultural soils: A comparative analysis of their behavior in batch and column experiments. *Geoderma*, 189–190, 462–468. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.05.019>
- Naile, J. E., Khim, J. S., Wang, T., Chen, C., Luo, W., Kwon, B. O., Park, J., Koh, C. H., Jones, P. D., Lu, Y., & Giesy, J. P. (2010). Perfluorinated compounds in water, sediment, soil and biota from estuarine and coastal areas of Korea. *Environmental Pollution*, 158(5), 1237–1244.

- <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.01.023>
- Nakayama, S. F., Yoshikane, M., Onoda, Y., Nishihama, Y., Iwai-Shimada, M., Takagi, M., Kobayashi, Y., & Isobe, T. (2019). Worldwide trends in tracing poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) in the environment. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *121*, 115410.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.011>
- Newton, S., McMahan, R., Stoeckel, J. A., Chislock, M., Lindstrom, A., & Strynar, M. (2017). Novel Polyfluorinated Compounds Identified Using High Resolution Mass Spectrometry Downstream of Manufacturing Facilities near Decatur, Alabama. *Environmental Science and Technology*, *51*(3), 1544–1552.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05330>
- Nguyen, M. A., Wiberg, K., Ribeli, E., Josefsson, S., Futter, M., Gustavsson, J., & Ahrens, L. (2017). Spatial distribution and source tracing of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in surface water in Northern Europe. *Environmental Pollution*, *220*, 1438–1446.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.089>
- NMX-AA-003. (1980). Aguas residuales- Muestreo. *Nmx-Aa-003-1980*, 9.
- OCDE. (2015). Valle de México, México. In *OECD Territorial Reviews: Valle de México, Mexico*. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264245174-en>
- Pan, Y., Cui, Q., Wang, J., Sheng, N., Jing, J., Yao, B., & Dai, J. (2019). Profiles of emerging and legacy per-/polyfluoroalkyl substances in matched serum and semen samples: New implications for human semen quality. *Environmental Health Perspectives*, *127*(12), 1–12. <https://doi.org/10.1289/EHP4431>
- Patel, K., Patel, J., Patel, M., Rajput, G., & Patel, H. (2010). Introduction to hyphenated techniques and their applications in pharmacy. *Pharmaceutical Methods*, *1*(1), 2. <https://doi.org/10.4103/2229-4708.72222>
- Peters, F. T., Drummer, O. H., & Musshoff, F. (2007). Validation of new methods. *Forensic Science International*, *165*(2–3), 216–224.  
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.021>
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., & Korzeniowski, S. H. (2006). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology*, *40*(1), 32–44. <https://doi.org/10.1021/es0512475>
- Rankin, K., Mabury, S. A., Jenkins, T. M., & Washington, J. W. (2016). A North American and global survey of perfluoroalkyl substances in surface soils: Distribution patterns and mode of occurrence. *Chemosphere*, *161*, 333–341.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.109>
- Rayne, S., & Forest, K. (2009). Perfluoroalkyl sulfonic and carboxylic acids: A critical review of physicochemical properties, levels and patterns in waters and wastewaters, and treatment methods. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, *44*(12), 1145–1199. <https://doi.org/10.1080/10934520903139811>
- Salazar-Ledesma, M., Prado, B., Zamora, O., & Siebe, C. (2018). Mobility of atrazine in soils of a wastewater irrigated maize field. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *255*(May 2017), 73–83.  
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.12.018>
- Schultz, M. M., Barofsky, D. F., & Field, J. A. (2006). Quantitative determination of fluorinated alkyl substances by large-volume-injection liquid chromatography tandem mass spectrometry - Characterization of municipal wastewaters.

- Environmental Science and Technology*, 40(1), 289–295.  
<https://doi.org/10.1021/es051381p>
- Schultz, M. M., Higgins, C. P., Huset, C. A., Luthy, R. G., Barofsky, D. F., & Field, J. A. (2006). Fluorochemical mass flows in a municipal wastewater treatment facility. *Environmental Science and Technology*, 40(23), 7350–7357.  
<https://doi.org/10.1021/es061025m>
- Schwanz, T. G., Llorca, M., Farré, M., & Barceló, D. (2016). Perfluoroalkyl substances assessment in drinking waters from Brazil, France and Spain. *Science of the Total Environment*, 539, 143–152.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.034>
- Shi, Y., Vestergren, R., Xu, L., Song, X., Niu, X., Zhang, C., & Cai, Y. (2015). Characterizing direct emissions of perfluoroalkyl substances from ongoing fluoropolymer production sources: A spatial trend study of Xiaoqing River, China. *Environmental Pollution*, 206, 104–112.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.06.035>
- Shigei, M., Ahren, L., Hazaymeh, A., & Dalahmeh, S. S. (2020). Per- and polyfluoroalkyl substances in water and soil in wastewater-irrigated farmland in Jordan. *Science of the Total Environment*, 716, 137057.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137057>
- Siebe, C., Chapela-Lara, M., Cayetano-Salazar, M., & Prado, B. (2016). Effects of more than 100 years of irrigation with Mexico City's wastewater in the Mezquital Valley (Mexico). *Safe Use of Wastewater in Agriculture: Good Practice Examples, September*, 121–137.
- Simons, J. H. (1949). Production of Fluorocarbons: I. The Generalized Procedure and its Use with Nitrogen Compounds. *Journal of The Electrochemical Society*, 95(2), 47.  
<https://iopscience.iop.org/article/10.1149/1.2776733%0Ahttps://iopscience.iop.org/article/10.1149/1.2776733/meta>
- Snitsiriwat, S., Hudzik, J. M., Chaisaward, K., Stoler, L. R., & Bozzelli, J. W. (2022). Thermodynamic Properties: Enthalpy, Entropy, Heat Capacity, and Bond Energies of Fluorinated Carboxylic Acids. *Journal of Physical Chemistry A*, 126(1), 3–15. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.1c05484>
- Souza, M. C. O., Saraiva, M. C. P., Honda, M., Barbieri, M. A., Bettiol, H., Barbosa, F., & Kannan, K. (2020). Exposure to per- and polyfluorinated alkyl substances in pregnant Brazilian women and its association with fetal growth. *Environmental Research*, 187(March), 109585.  
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109585>
- Stahl, T., Mattern, D., & Brunn, H. (2011). Toxicology of perfluorinated compounds. *Environmental Sciences Europe*, 23(1), 1–52. <https://doi.org/10.1186/2190-4715-23-38>
- Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2010). Separar, fragmentar e integrar: la rutina de un análisis por GC-MS. Patrones de fragmentación de moléculas orgánicas. *Scientia Chromatographica*, 2(2), 5–12.
- Sun, H., Zhang, X., Wang, L., Zhang, T., Li, F., He, N., & Alder, A. C. (2012). Perfluoroalkyl compounds in municipal WWTPs in Tianjin, China—concentrations, distribution and mass flow. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(5), 1405–1415. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0727-6>

- Taniyasu, S., Kannan, K., Man, K. S., Gulkowska, A., Sinclair, E., Okazawa, T., & Yamashita, N. (2005). Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *Journal of Chromatography A*, 1093(1–2), 89–97.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.053>
- Taniyasu, S., Kannan, K., Yeung, L. W. Y., Kwok, K. Y., Lam, P. K. S., & Yamashita, N. (2008). Analysis of trifluoroacetic acid and other short-chain perfluorinated acids (C2-C4) in precipitation by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Comparison to patterns of long-chain perfluorinated acids (C5-C18). *Analytica Chimica Acta*, 619(2), 221–230.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.064>
- Taverniers, I., De Loose, M., & Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 23(8), 535–552.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.04.001>
- Van den Bergh, M., Krajnc, A., Voorspoels, S., Tavares, S. R., Mullens, S., Beurroies, I., Maurin, G., Mali, G., & De Vos, D. E. (2020). Highly Selective Removal of Perfluorinated Contaminants by Adsorption on All-Silica Zeolite Beta. *Angewandte Chemie*, 132(33), 14190–14194.  
<https://doi.org/10.1002/ange.202002953>
- Vested, A., Ramlau-Hansen, C. H., Olsen, S. F., Bonde, J. P., Kristensen, S. L., Halldorsson, T. I., Becher, G., Haug, L. S., Ernst, E. H., & Toft, G. (2013). Associations of in Utero exposure to perfluorinated alkyl acids with human semen quality and reproductive hormones in adult men. *Environmental Health Perspectives*, 121(4), 453–458. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205118>
- Wang, Y., Yu, N., Zhu, X., Guo, H., Jiang, J., Wang, X., Shi, W., Wu, J., Yu, H., & Wei, S. (2018). Suspect and Nontarget Screening of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Wastewater from a Fluorochemical Manufacturing Park. *Environmental Science and Technology*, 52(19), 11007–11016.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03030>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., Buck, R. C., & Hungerbühler, K. (2014). Global emission inventories for C4-C14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, Part I: Production and emissions from quantifiable sources. *Environment International*, 70, 62–75.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.013>
- Wang, Z., Cousins, I. T., Scheringer, M., & Hungerbuehler, K. (2015). Hazard assessment of fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl acids (PFAAs) and their precursors: Status quo, ongoing challenges and possible solutions. *Environment International*, 75, 172–179.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.013>
- Wang, Z., Dewitt, J. C., Higgins, C. P., & Cousins, I. T. (2017). A Never-Ending Story of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs)? *Environmental Science and Technology*, 51(5), 2508–2518.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04806>
- Washington, J. W., Henderson, W. M., Ellington, J. J., Jenkins, T. M., & Evans, J. J. (2008). Analysis of perfluorinated carboxylic acids in soils II: Optimization of chromatography and extraction. *Journal of Chromatography A*.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.042>

- Wille, K., Vanden Bussche, J., Noppe, H., De Wulf, E., Van Caeter, P., Janssen, C. R., De Brabander, H. F., & Vanhaecke, L. (2010). A validated analytical method for the determination of perfluorinated compounds in surface-, sea- and sewagewater using liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(43), 6616–6622. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.03.054>
- Xiao, F., Simcik, M. F., Halbach, T. R., & Gulliver, J. S. (2015). Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in soils and groundwater of a U.S. metropolitan area: Migration and implications for human exposure. *Water Research*, 72, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.052>
- Yan, H., Cousins, I. T., Zhang, C., & Zhou, Q. (2015). Perfluoroalkyl acids in municipal landfill leachates from China: Occurrence, fate during leachate treatment and potential impact on groundwater. *Science of the Total Environment*, 524–525, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.111>
- Yao, Y., Volchek, K., Brown, C. E., Robinson, A., & Obal, T. (2014). Comparative study on adsorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) by different adsorbents in water. *Water Science and Technology*, 70(12), 1983–1991. <https://doi.org/10.2166/wst.2014.445>
- Zareitalabad, P., Siemens, J., Hamer, M., & Amelung, W. (2013). Chemosphere Perfluorooctanoic acid ( PFOA ) and perfluorooctanesulfonic acid ( PFOS ) in surface waters , sediments , soils and wastewater – A review on concentrations and distribution coefficients. *Chemosphere*, 91(6), 725–732. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.024>
- Zhang, W., Zhang, Y., Taniyasu, S., Yeung, L. W. Y., Lam, P. K. S., Wang, J., Li, X., Yamashita, N., & Dai, J. (2013). Distribution and fate of perfluoroalkyl substances in municipal wastewater treatment plants in economically developed areas of China. *Environmental Pollution*, 176, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.12.019>
- Zhou, Y., Wang, T., Jiang, Z., Kong, X., Li, Q., Sun, Y., Wang, P., & Liu, Z. (2017). Ecological effect and risk towards aquatic plants induced by perfluoroalkyl substances: Bridging natural to culturing flora. *Chemosphere*, 167, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.146>

## 10.ANEXO 1

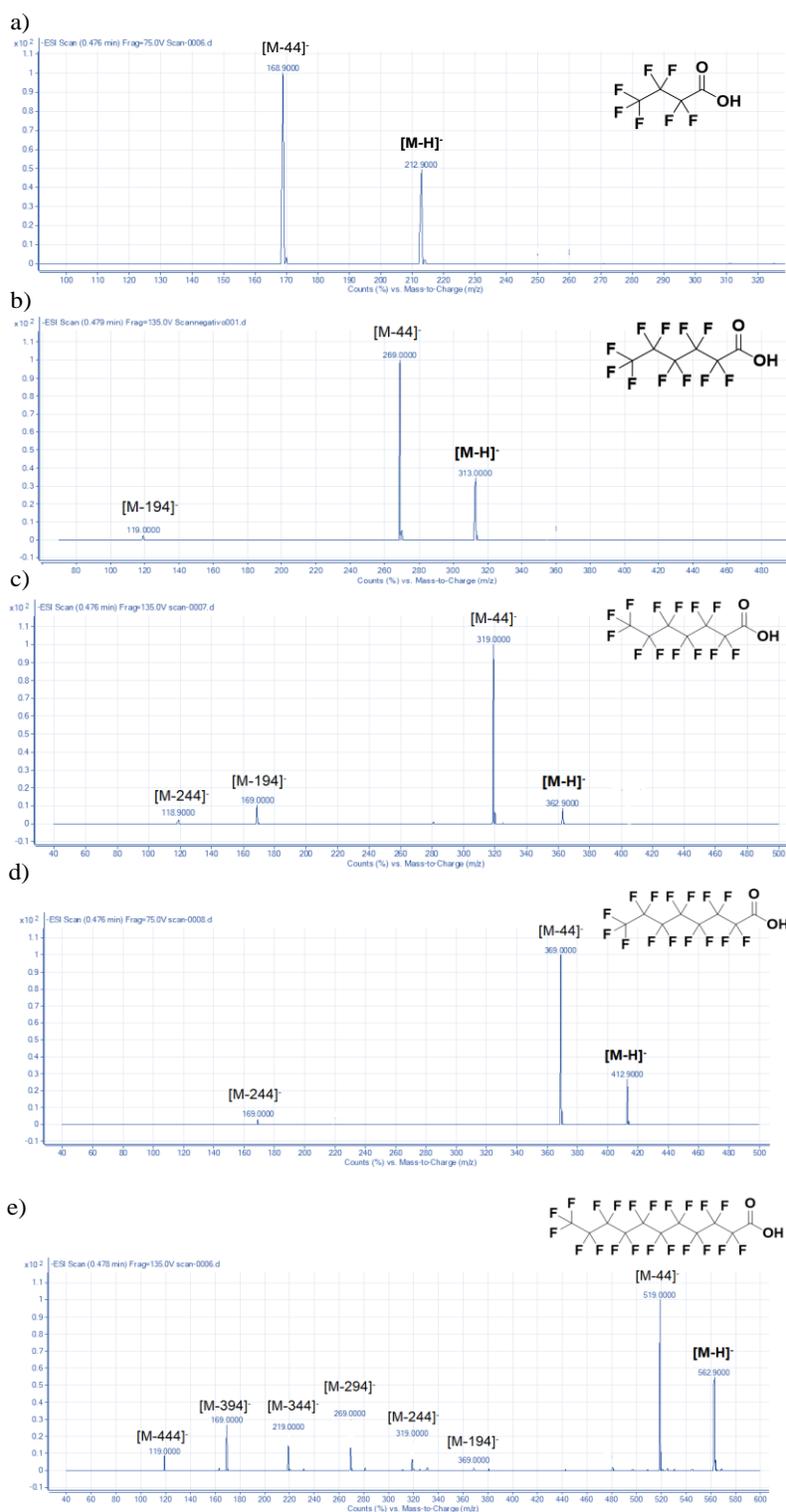


Figura Suplementaria 1. Espectros de masa de los PFCAs empleando el modo de adquisición de barrido de ion fragmento (*Product Ion*). a) PFBA, b) PFHxA, c) PFHpA, d) PFOA y e) PFUnA. Elaboración propia

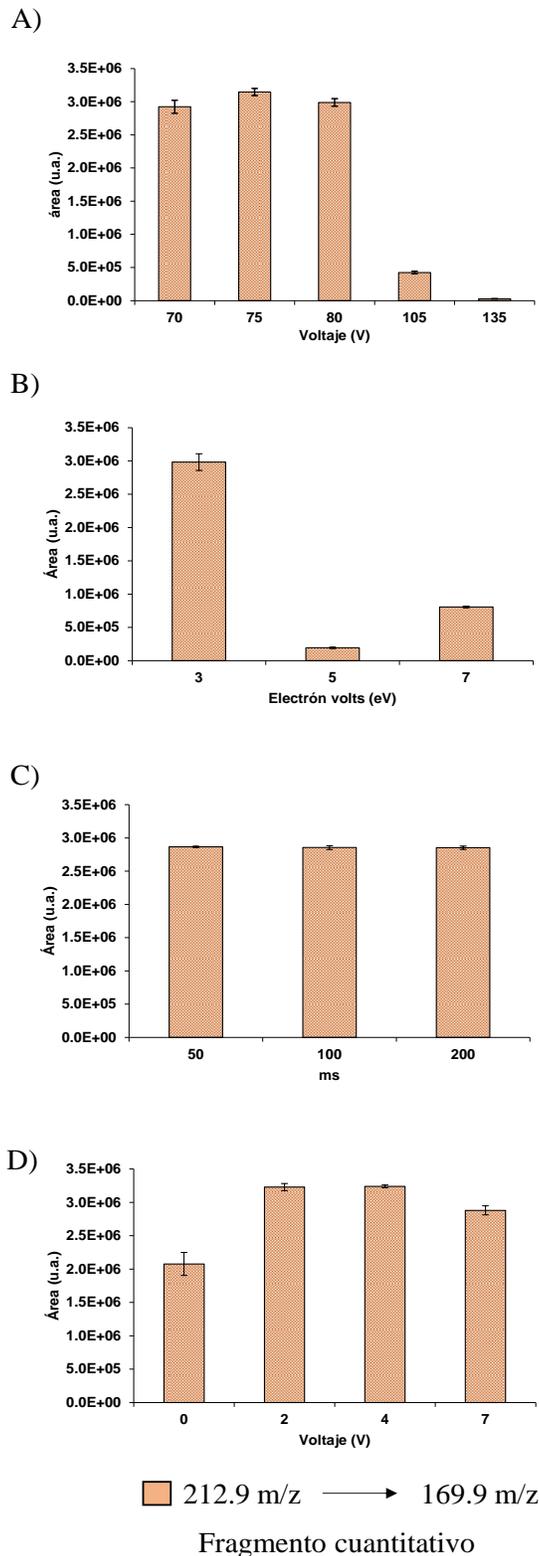
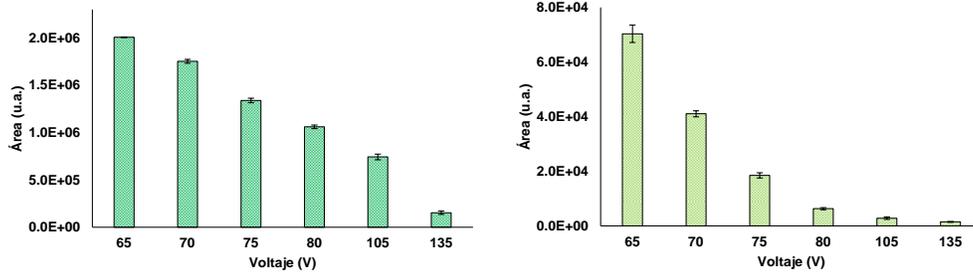
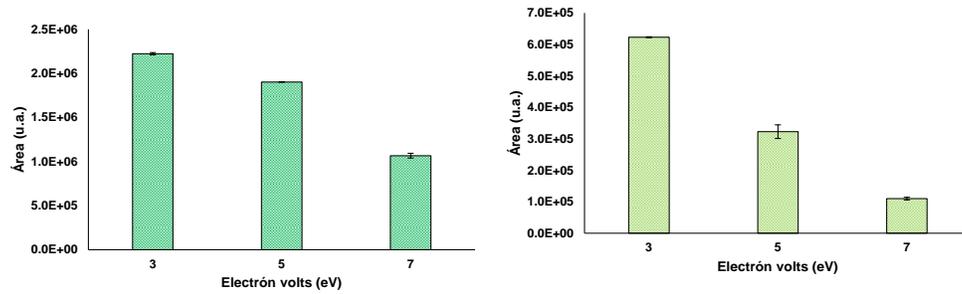


Figura Suplementaria 2. Gráficas de optimización del espectrómetro de masas para el PFBA. a) Voltaje de fragmentación, b) Energía de colisión, c) Dwell y d) Voltaje de aceleración. Elaboración propia

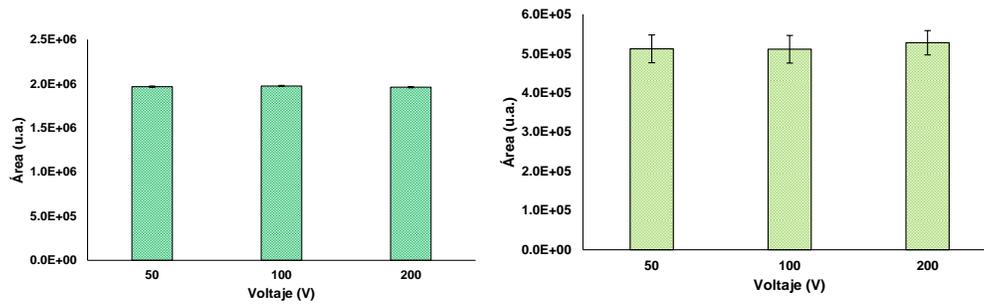
A)



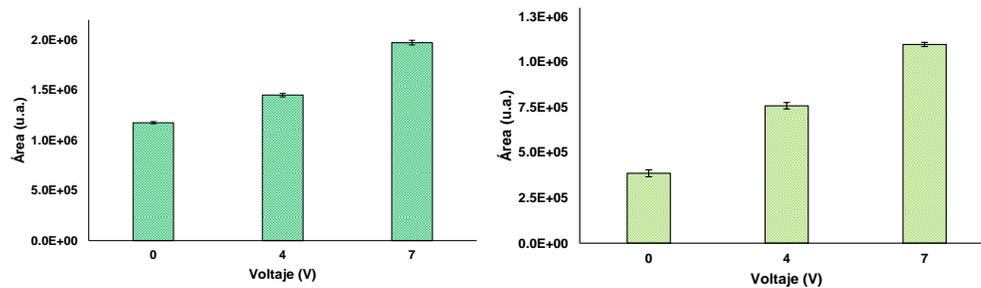
B)



C)



D)



■ 313 m/z → 269 m/z

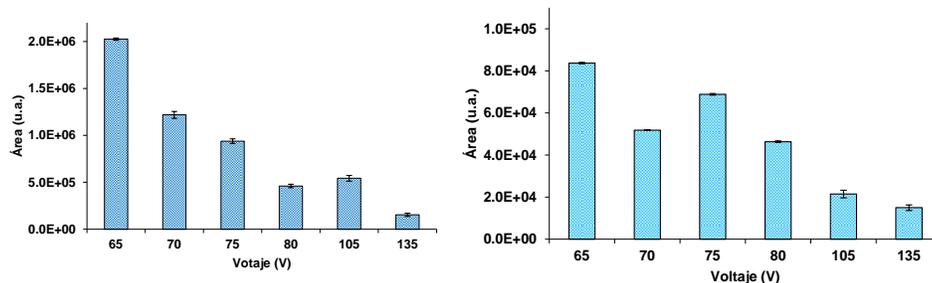
■ 313 m/z → 119 m/z

Fragmento cuantitativo

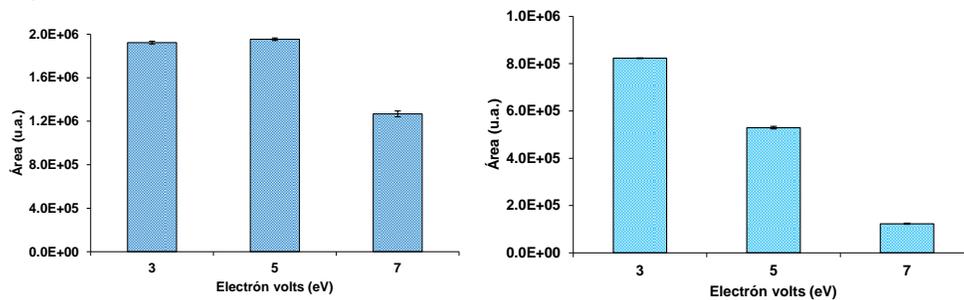
Fragmento confirmación

Figura Suplementaria 3. Gráficas de optimización del espectrómetro de masas para el PFHxA. a) Voltaje de fragmentación, b) Energía de colisión, c) Dwell y d) Voltaje de aceleración. Elaboración propia

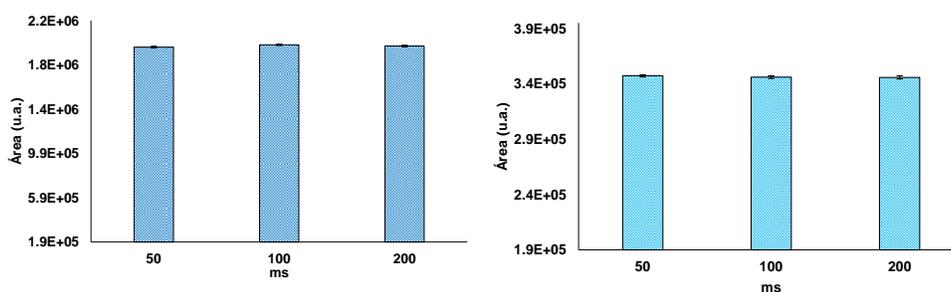
A)



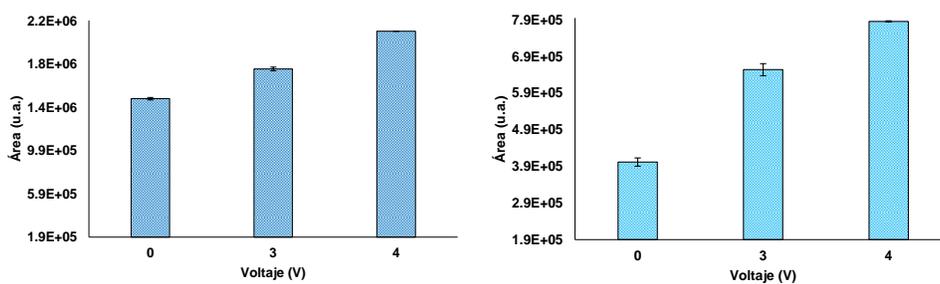
B)



C)



D)



■ 362.9 m/z → 319 m/z

Fragmento cuantitativo

■ 362.9 m/z → 169 m/z

Fragmento confirmación

Figura Suplementaria 4. Gráficas de optimización del espectrómetro de masas para el PFHpA. a) Voltaje de fragmentación, b) Energía de colisión, c) Dwell y d) Voltaje de aceleración. Elaboración propia

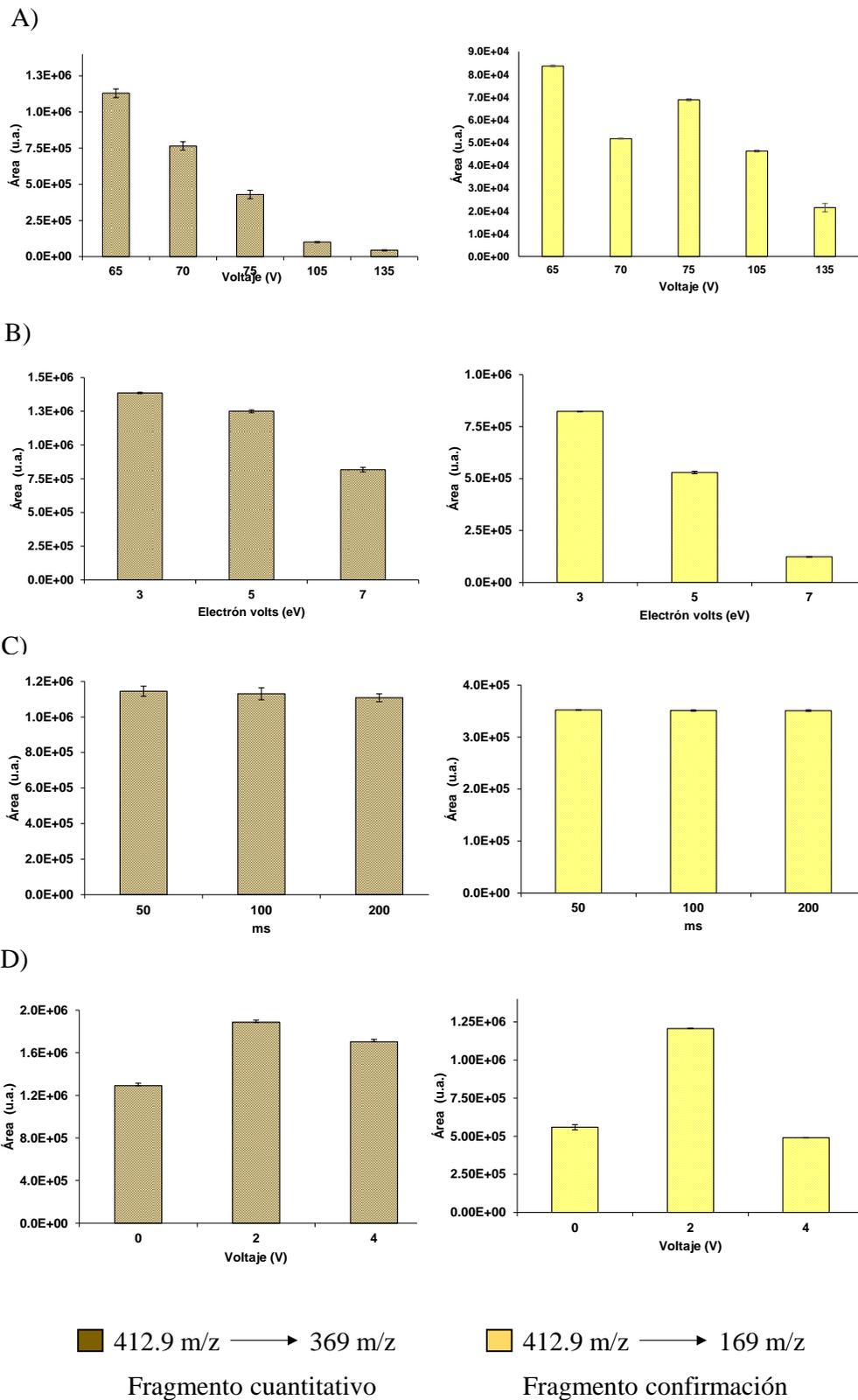


Figura Suplementaria 5. Gráficas de optimización del espectrómetro de masas para el PFOA. a) Voltaje de fragmentación, b) Energía de colisión, c) Dwell y d) Voltaje de aceleración. Elaboración propia

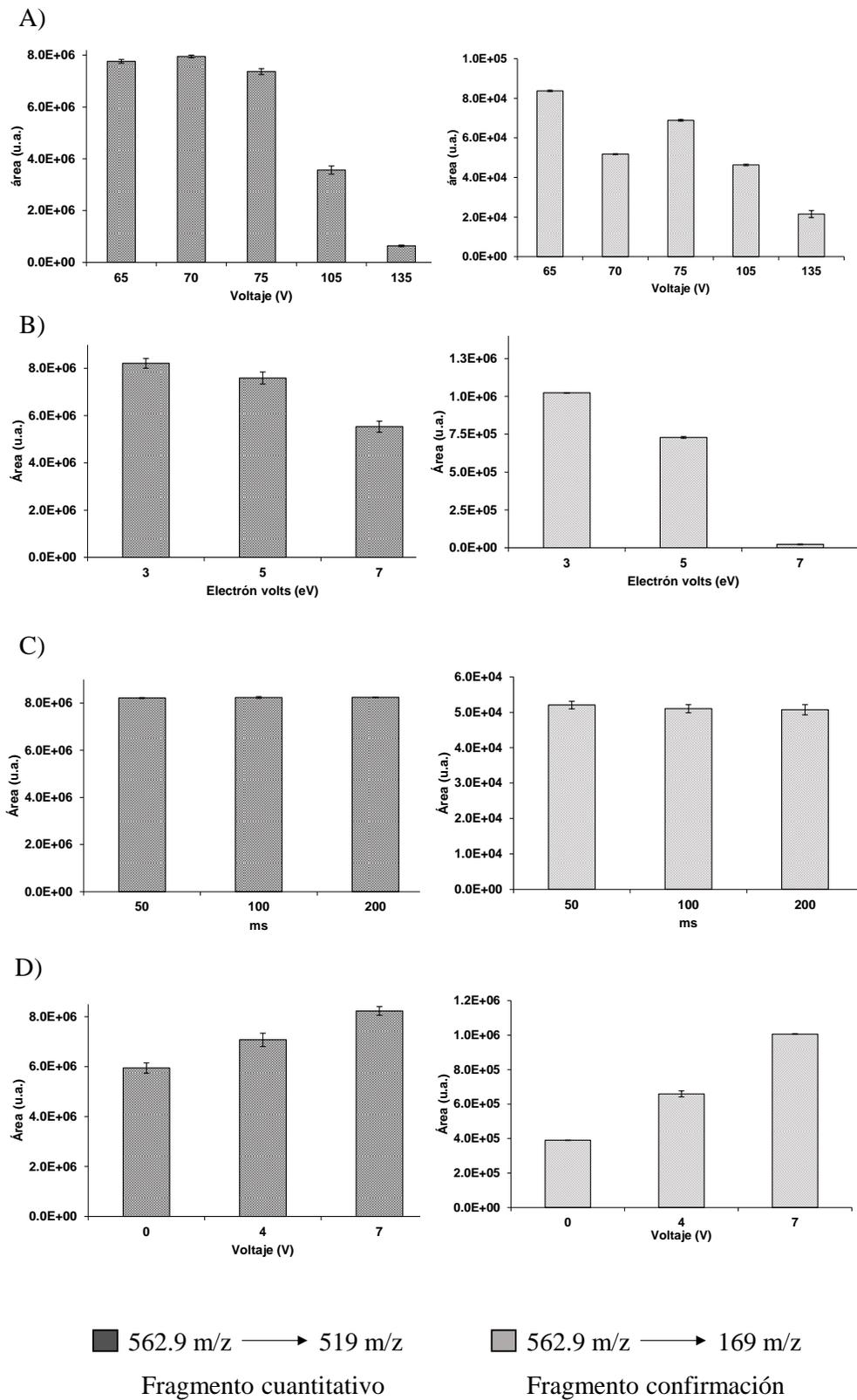
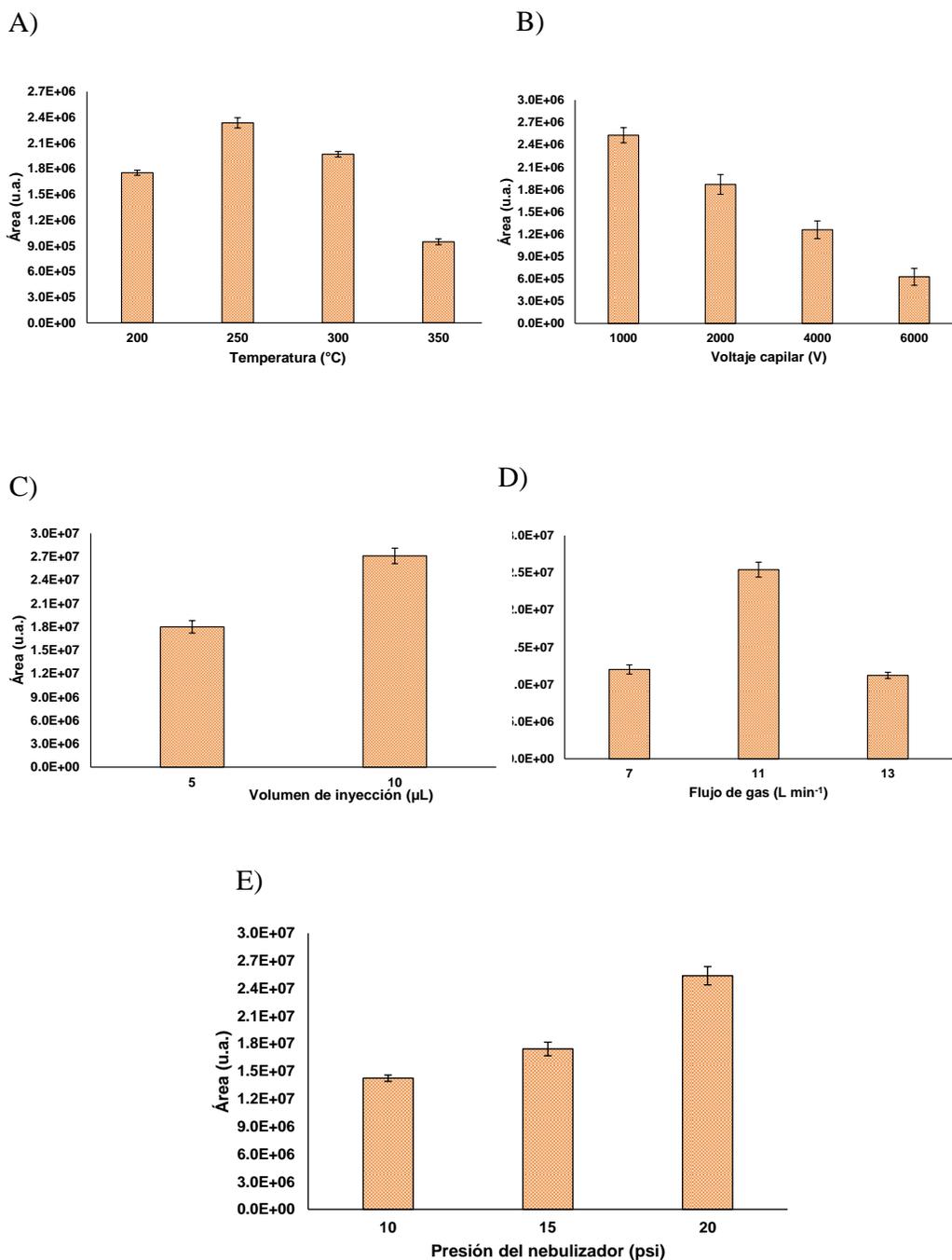


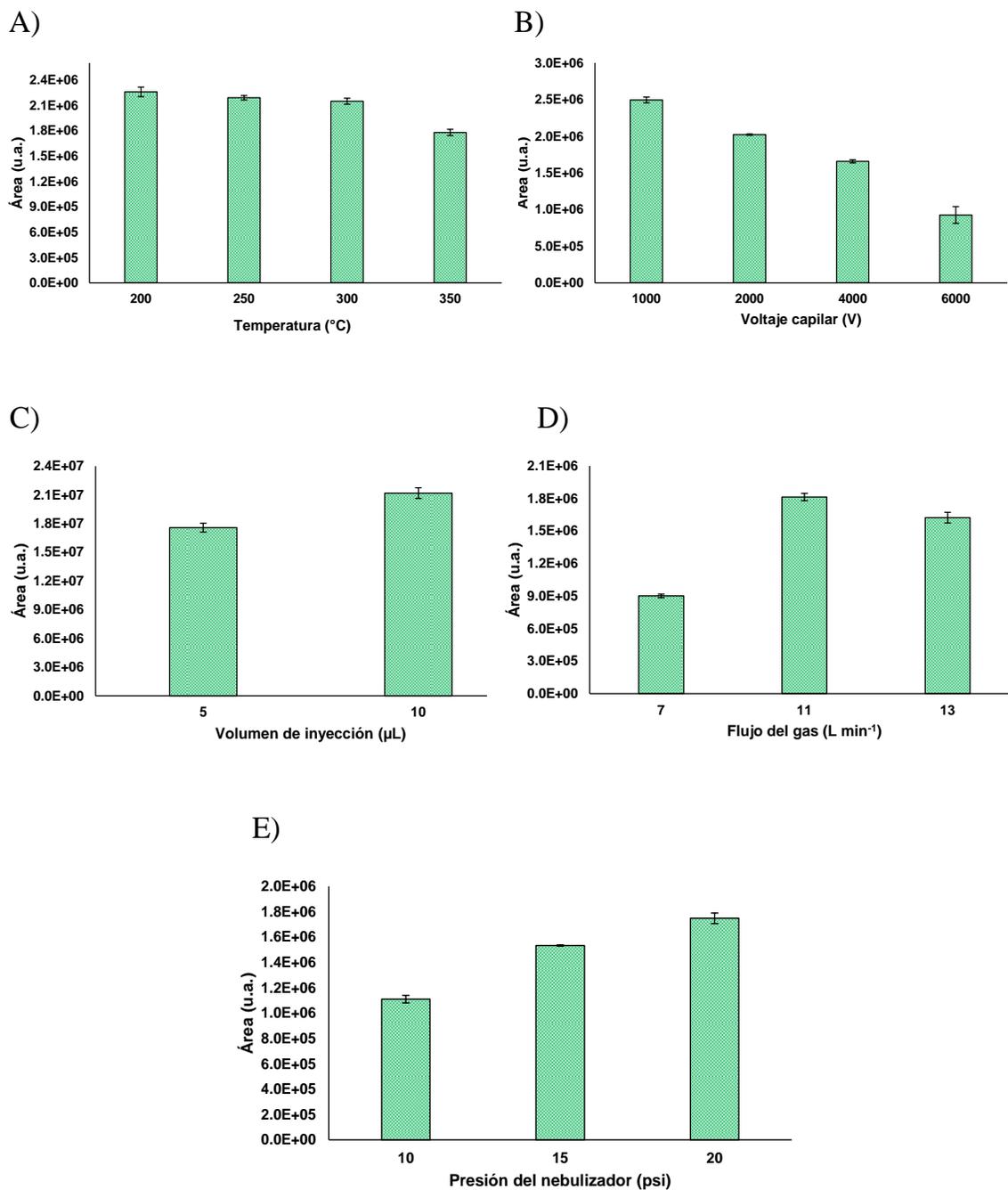
Figura Suplementaria 6. Gráficas de optimización del espectrómetro de masas para el PFUnA. a) Voltaje de fragmentación, b) Energía de colisión, c) Dwell y d) Voltaje de aceleración. Elaboración propia



■ 212.9 m/z → 169.9 m/z

Fragmento cuantitativo

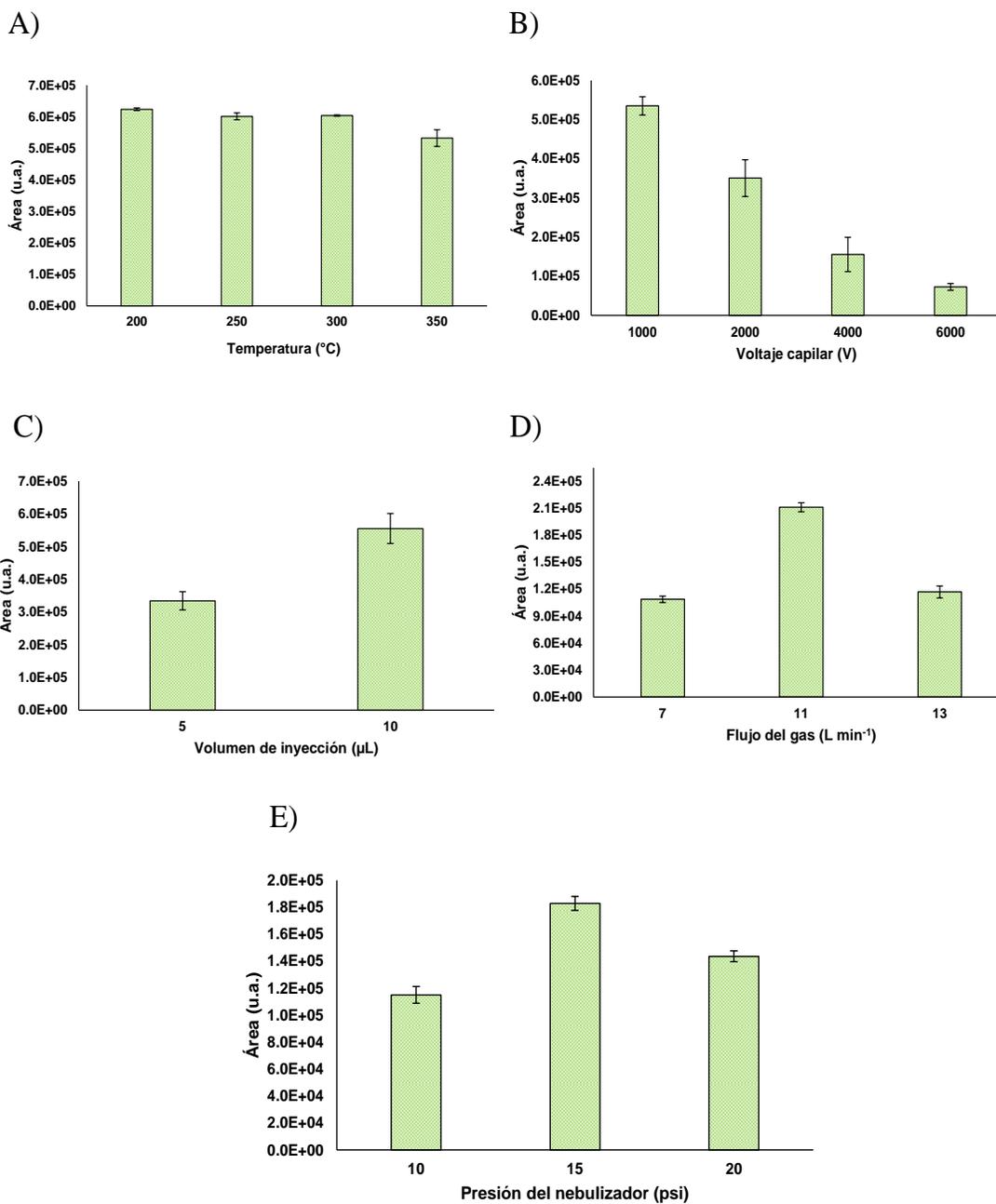
Figura Suplementaria 7. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFBA (reacción de fragmentación de 212.9 a 169.9 m/z). A) temperatura del gas de secado (°C), B) voltaje capilar (V), C) volumen de inyección (µL), D) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y E) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



■ 313 m/z → 269 m/z

Fragmento cuantitativo

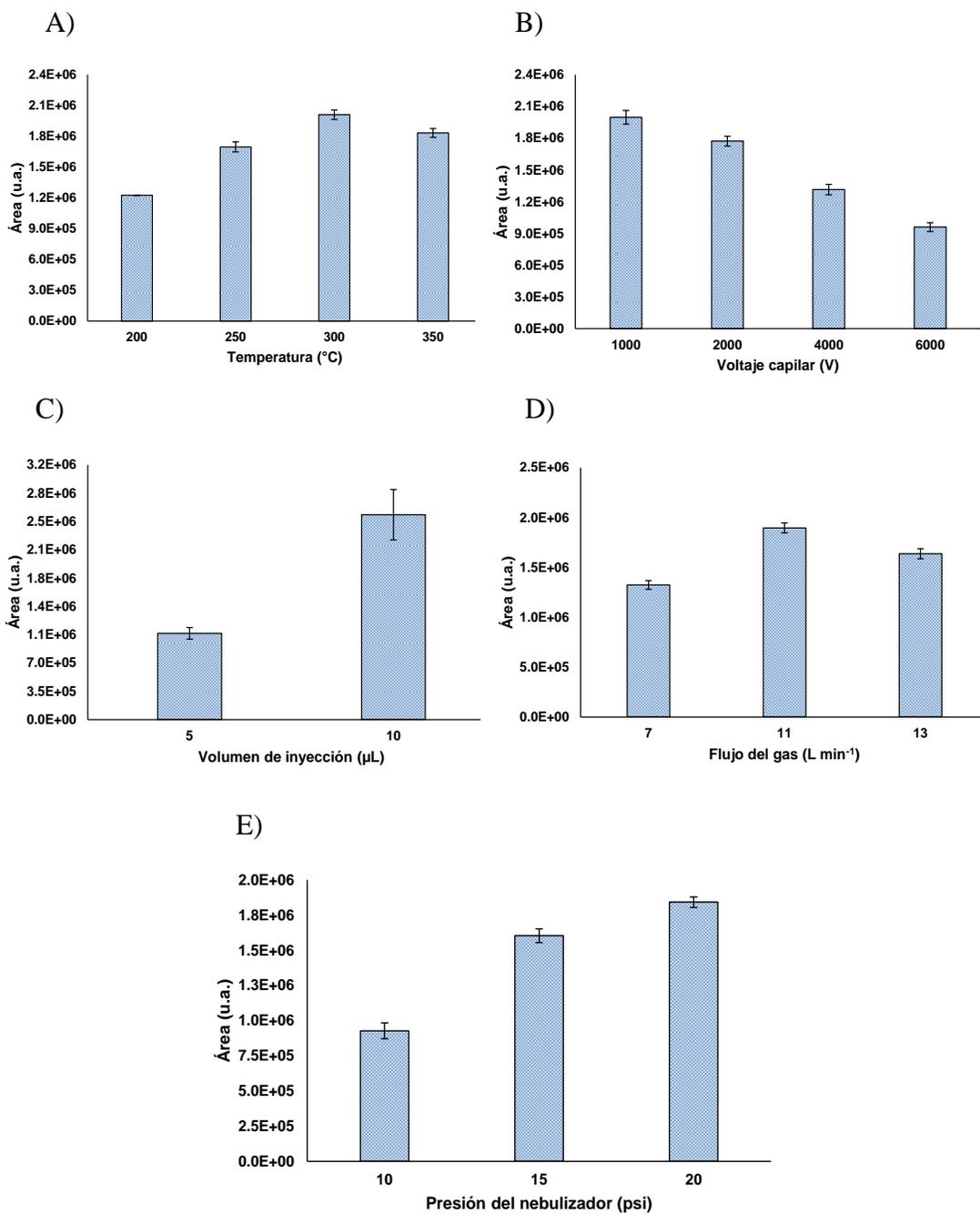
Figura Suplementaria 8. Optimización de las condiciones de operación instrumental dependientes de la fase móvil para el PFHxA (reacción de fragmentación de 313 a 269 m/z). A) temperatura del gas de secado (°C), B) voltaje capilar (V), C) volumen de inyección (µL), D) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y E) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



■ 313 m/z → 119 m/z

Fragmento confirmación

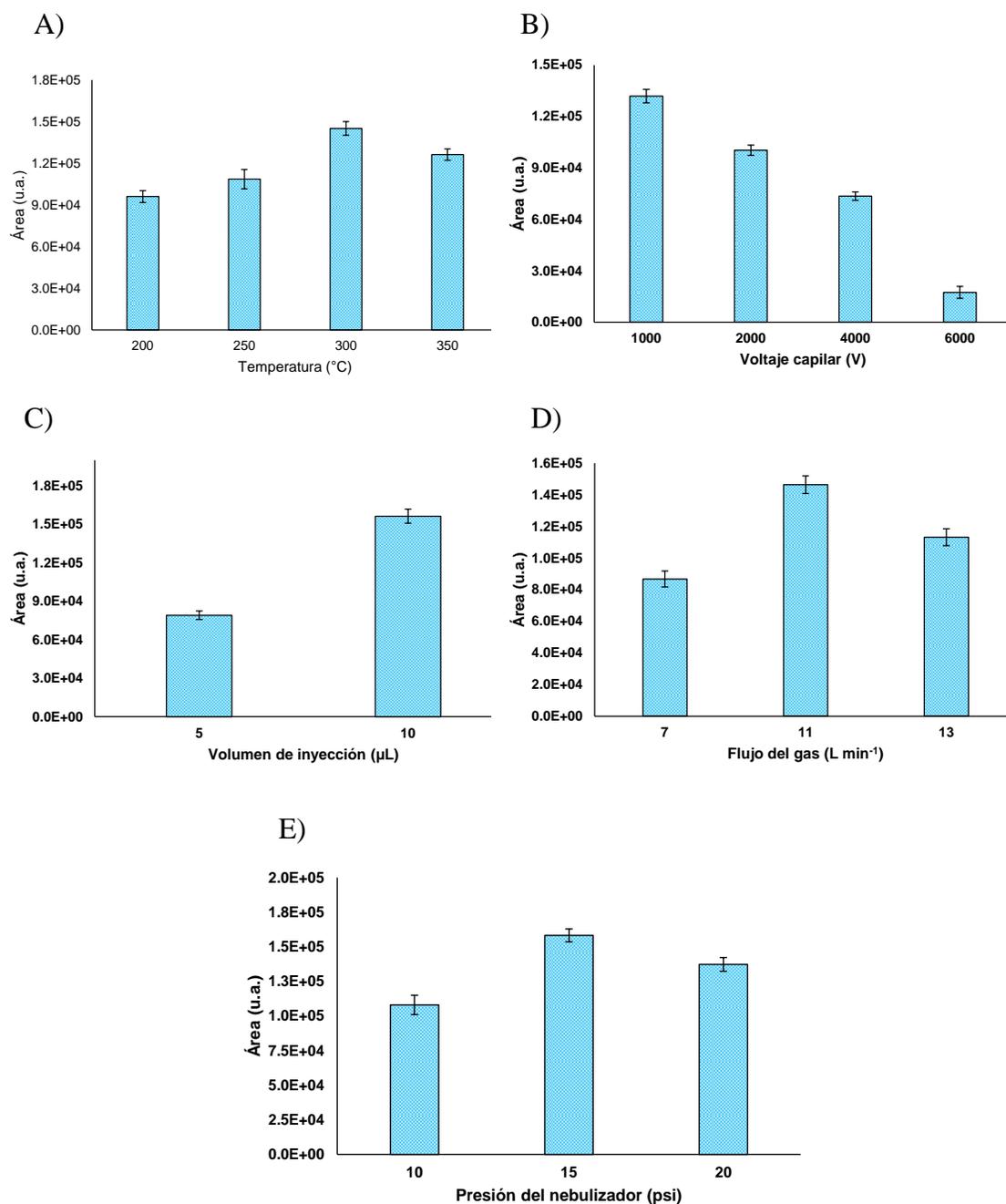
Figura Suplementaria 9. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFHxA (reacción de fragmentación de 313 a 119 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



■ 362.9 m/z → 319 m/z

Fragmento cuantitativo

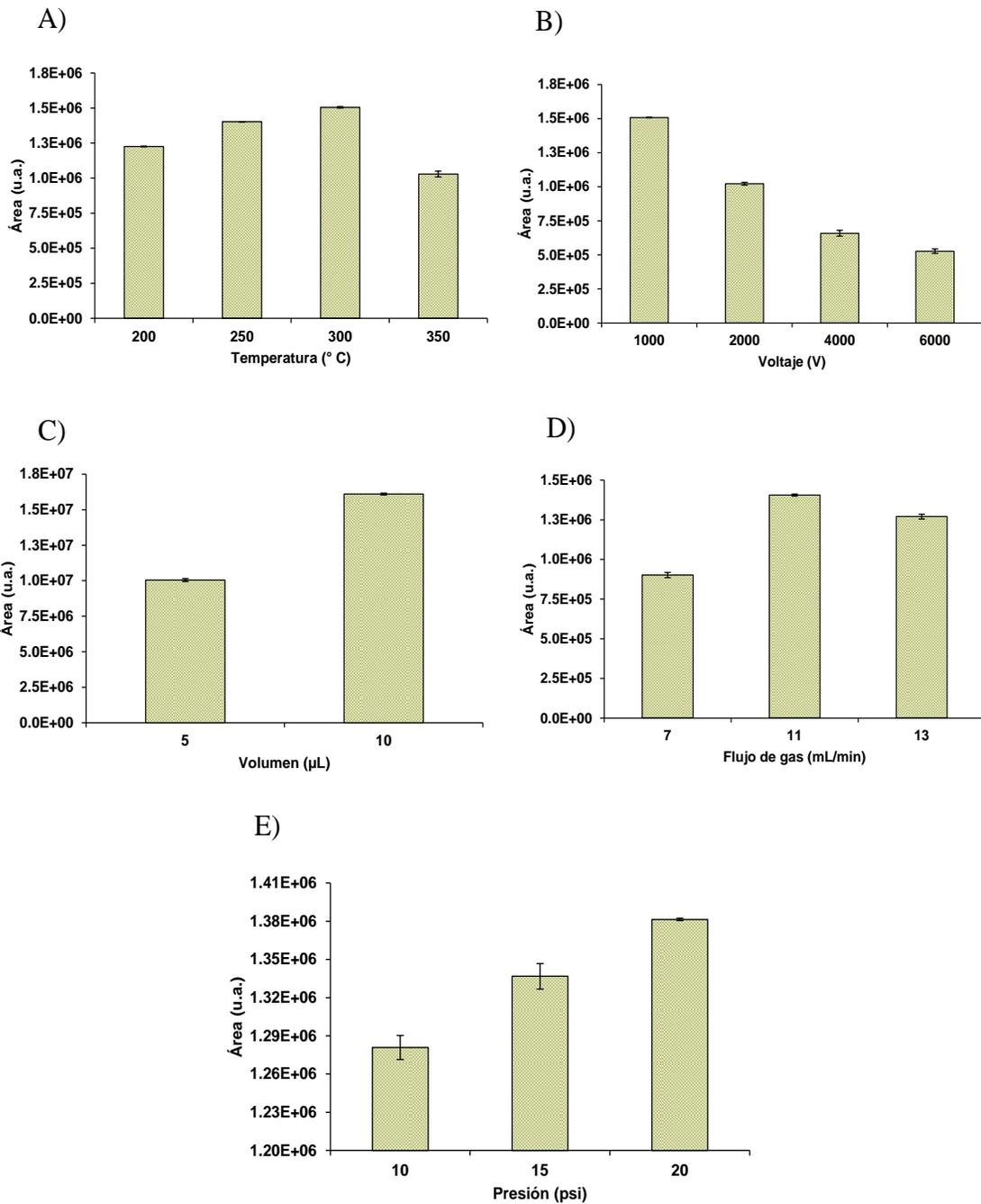
Figura Suplementaria 10. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFHpA (reacción de fragmentación de 362.9 a 319 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



■ 362.9 m/z → 169 m/z

Fragmento cuantitativo

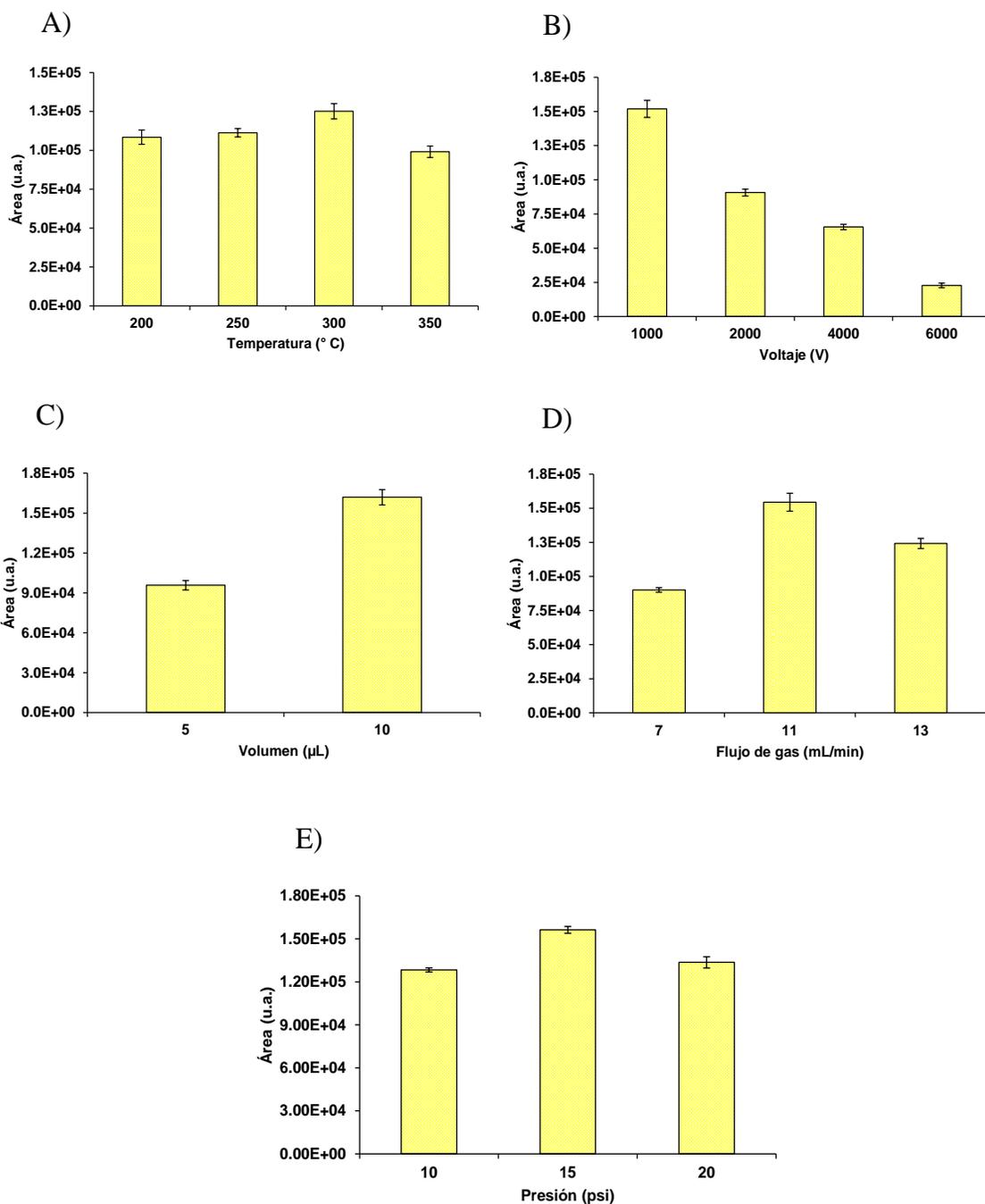
Figura Suplementaria 11. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFHpA (reacción de fragmentación de 362.9 a 169 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



■ 412.9 m/z → 369 m/z

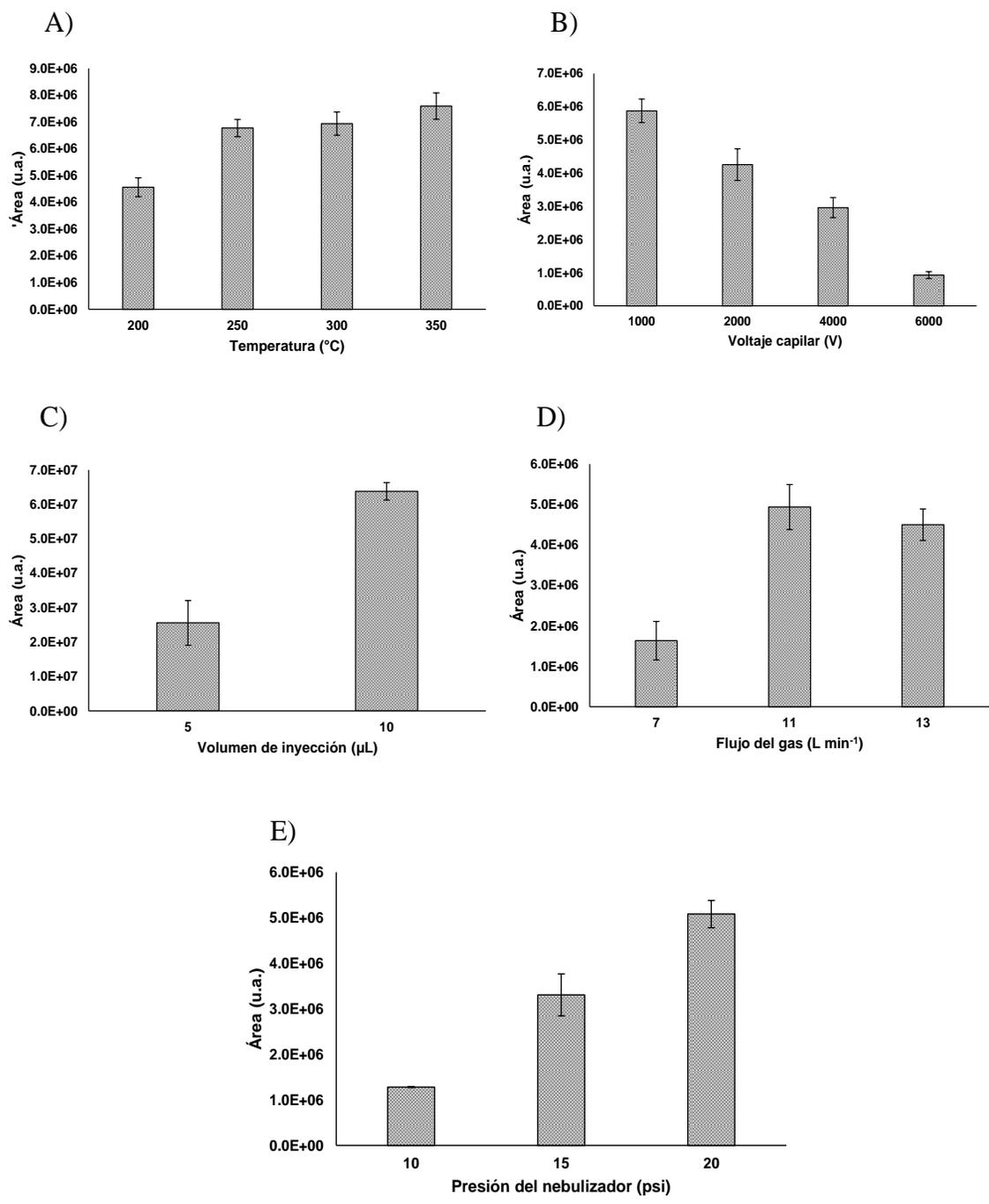
Fragmento cuantitativo

Figura Suplementaria 12. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFOA (reacción de fragmentación de 412.9 a 369 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



Fragmento confirmación

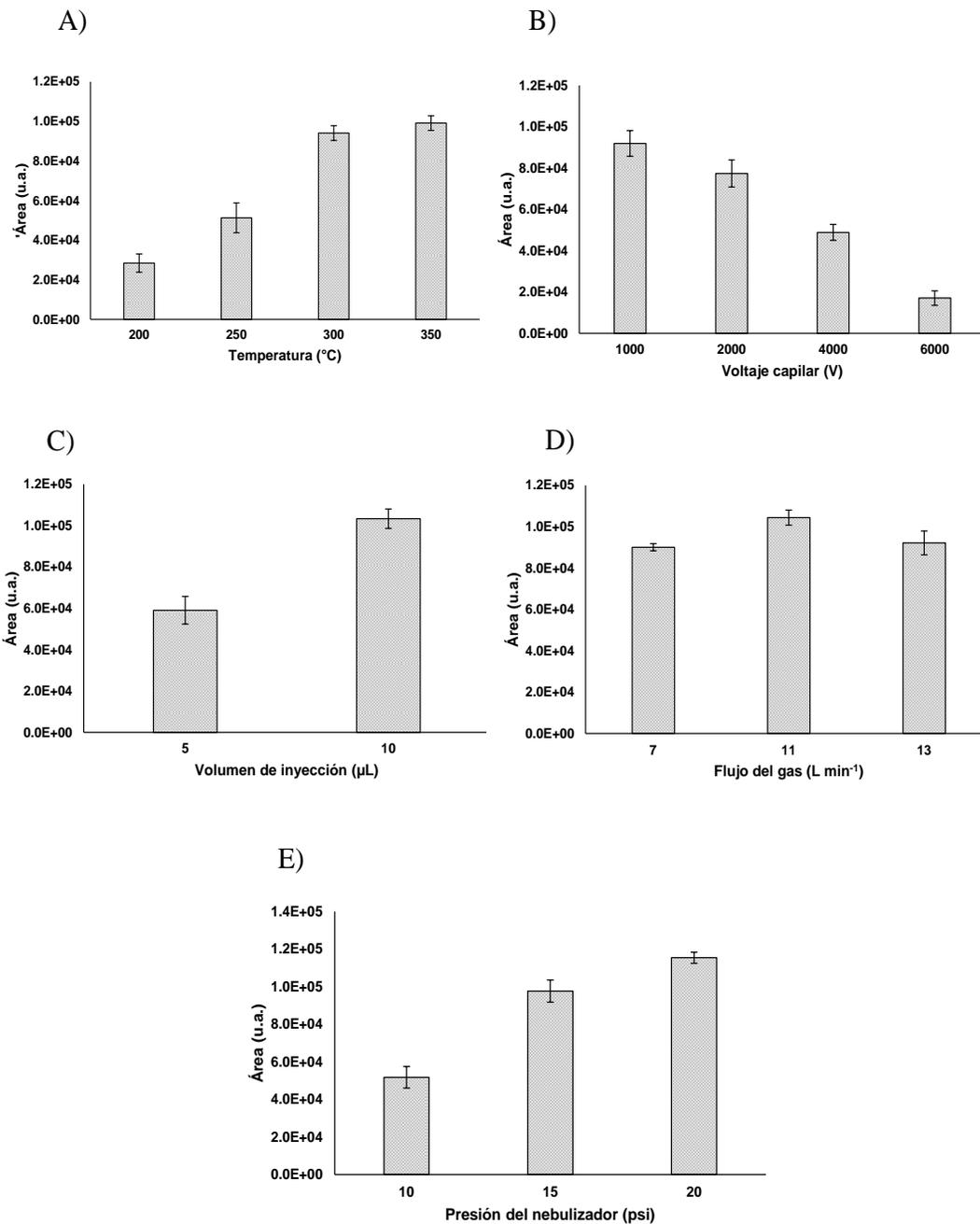
Figura Suplementaria 13. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFOA (reacción de fragmentación de 412.9 a 169 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia



■ 562.9 m/z → 519 m/z

Fragmento cuantitativo

Figura Suplementaria 14. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFUnA (reacción de fragmentación de 562.9 a 519 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia

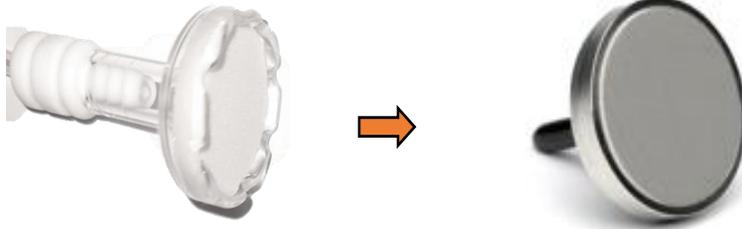


■ 562.9 m/z → 169 m/z

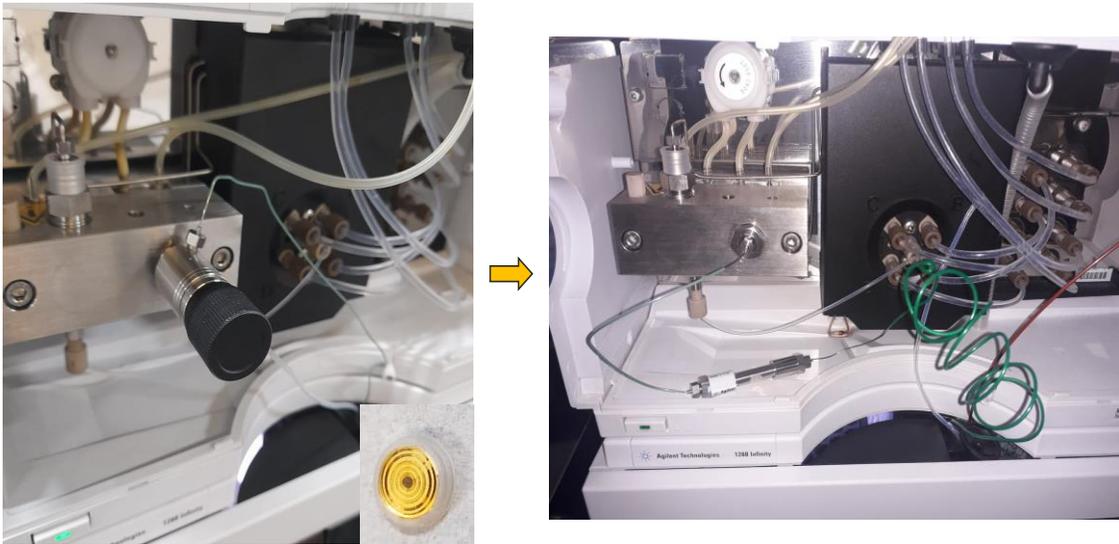
Fragmento confirmación

Figura Suplementaria 15. Optimización de las condiciones de operación instrumentales dependientes de la fase móvil para el PFOA (reacción de fragmentación de 412.9 a 169 m/z). a) temperatura del gas de secado (°C), b) voltaje capilar (V), c) volumen de inyección (µL), d) flujo del gas de secado (L min<sup>-1</sup>) y e) presión del nebulizador (psi). Elaboración propia

a)



b)



c)

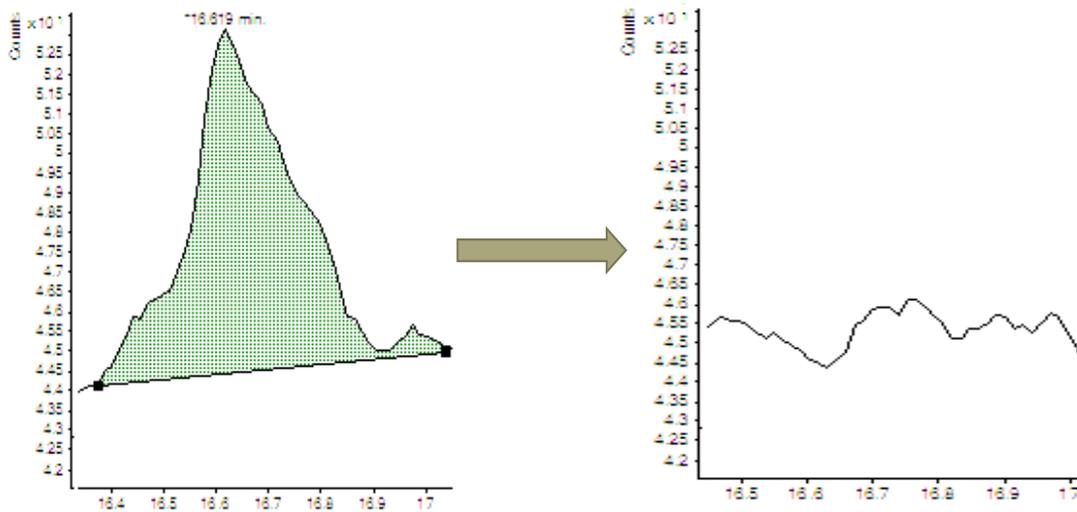


Figura Suplementaria 16. Reducción de interferentes del cromatógrafo de líquidos. a) Cambio de filtros de entrada de disolvente de Politetrafluoroetileno (PTFE) por acero inoxidable, b) Cambio de la válvula de purga por columna de guarda, c) Reducción de la señal del PFOA asociada al instrumento. Elaboración propia

## 11. ANEXO 2

### Curvas de calibración

#### Prueba t-Student sobre las pendientes de la curva de calibración

Se determinó que las pendientes de las rectas de las curvas de calibración fueron estadísticamente iguales a cero, por lo que se hace una prueba de t-Student, comparando la pendiente con una media de referencia, en este caso 0. El valor de t se obtiene a partir de la ecuación 1.

Donde  $\bar{X}$  es el valor de la pendiente,  $\mu = 0$ ,  $n =$  y  $S =$

$$H_0: \bar{X} = \mu \quad t_0 = \frac{(\bar{X} - \mu)\sqrt{n}}{S} \quad \text{Ecuación 1}$$

$$H_1: \bar{X} \neq \mu \quad \alpha = 0.05 \text{ al } 95 \% \text{ confianza,}$$

**Tabla Suplementaria 1. Pruebas de hipótesis sobre la pendiente**

PFCA	Matriz	b	t <sub>calculada</sub>	t <sub>crítica</sub>	Resultado
PFBA	Agua residual cruda	413	-201.3	2.04	rechazar
	Agua residual tratada	415	-171.3		
	Agua de manantial	416	-193.5		
PFHxA	Agua residual cruda	586	-132.1		
	Agua residual tratada	587	-133.0		
	Agua de manantial	588	-150.3		
PFHpA	Agua residual cruda	1032	-10.7		
	Agua residual tratada	1033	-10.6		
	Agua de manantial	1029	-10.8		
PFOA	Agua residual cruda	1151	-7.9		
	Agua residual tratada	1157	-7.8		
	Agua de manantial	1155	-7.8		
PFUnA	Agua residual cruda	744	-43.4		
	Agua residual tratada	743	-44.3		
	Agua de manantial	746	-44.3		

La diferencia entre las medias es estadísticamente significativa ( $t_0 \neq t_c$ ), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ .

## Prueba t-Student sobre las ordenadas de las curvas de calibración

Se determinó que las ordenadas de la rectas de las curvas de calibración fueron estadísticamente iguales a cero, por lo que se hace una prueba de t-Student, comparando la pendiente con una media de referencia, en este caso 0. El valor de t se obtiene a partir de la ecuación 2.

Donde  $\bar{X}$  es el valor de la ordenada,  $\mu = 0$ ,  $n =$  y  $S =$

$$H_0: \bar{X} = \mu \quad t_0 = \frac{(\bar{X} - \mu)\sqrt{n}}{S} \quad \text{Ecuación 2}$$

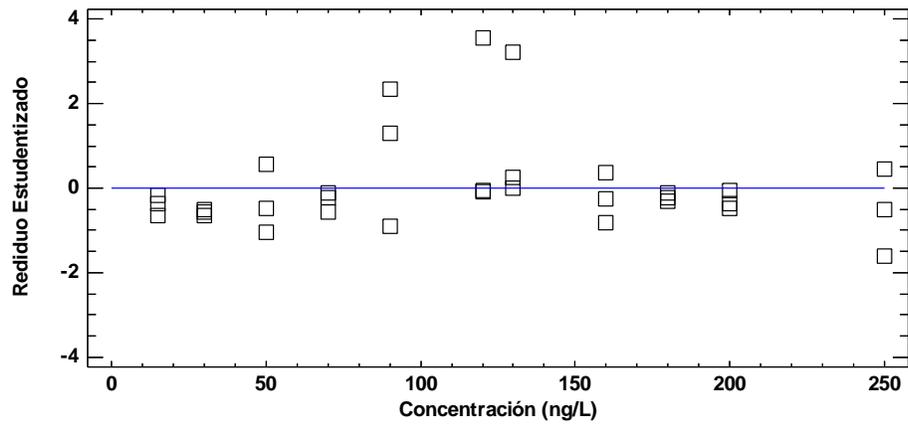
$$H_1: \bar{X} \neq \mu \quad \tau = , \alpha = 0.05 \text{ al } 95 \% \text{ confianza}$$

**Tabla Suplementaria 2. Pruebas de hipótesis sobre la ordenada al origen**

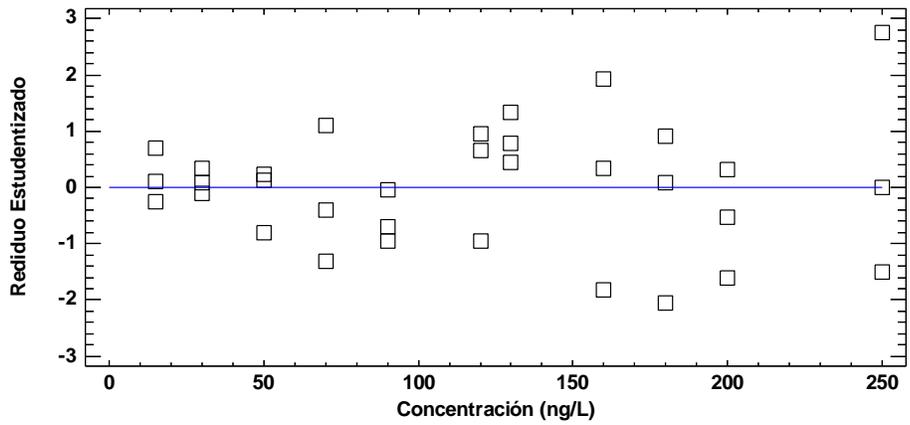
PFCA	Matriz	m	t <sub>calculada</sub>	t <sub>crítica</sub>	Resultado
PFBA	Agua residual cruda	-4633	216.2	2.04	rechazar
	Agua residual tratada	-4958	184.1		
	Agua de manantial	-4811	208.6		
PFHxA	Agua residual cruda	3715	198.8		
	Agua residual tratada	3532	200.2		
	Agua de manantial	3398	226.5		
PFHpA	Agua residual cruda	-16566	90.8		
	Agua residual tratada	-16302	86.4		
	Agua de manantial	-16490	91.8		
PFOA	Agua residual cruda	-20350	115.8		
	Agua residual tratada	-20605	72.9		
	Agua de manantial	-20845	66.4		
PFUnA	Agua residual cruda	-9963	124.8		
	Agua residual tratada	-9902	124.9		
	Agua de manantial	-10231	139.0		

La diferencia entre las medias es estadísticamente significativa y como  $t_0 \neq t_c$ , por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ .

a)



b)



c)

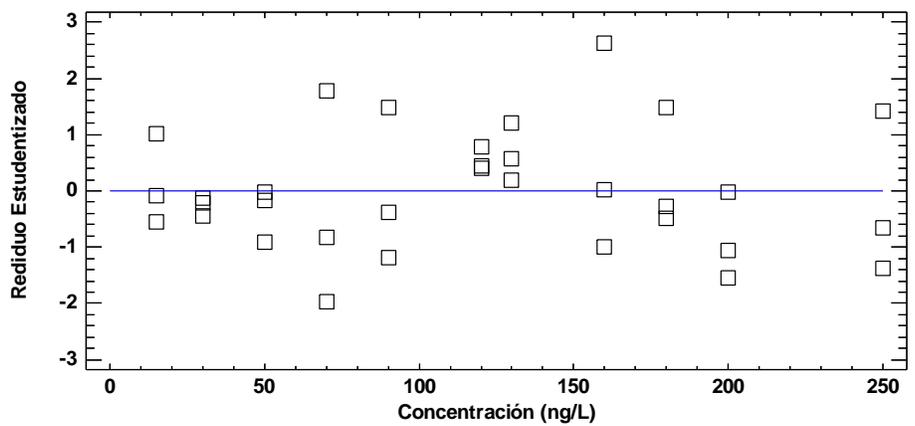
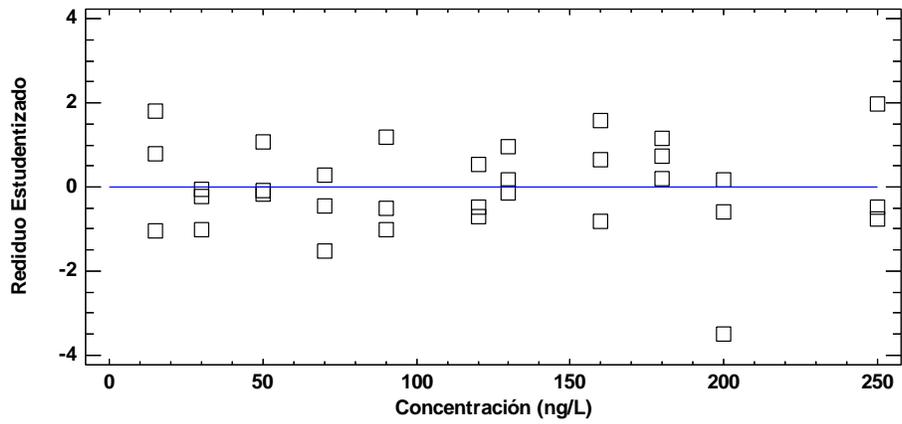
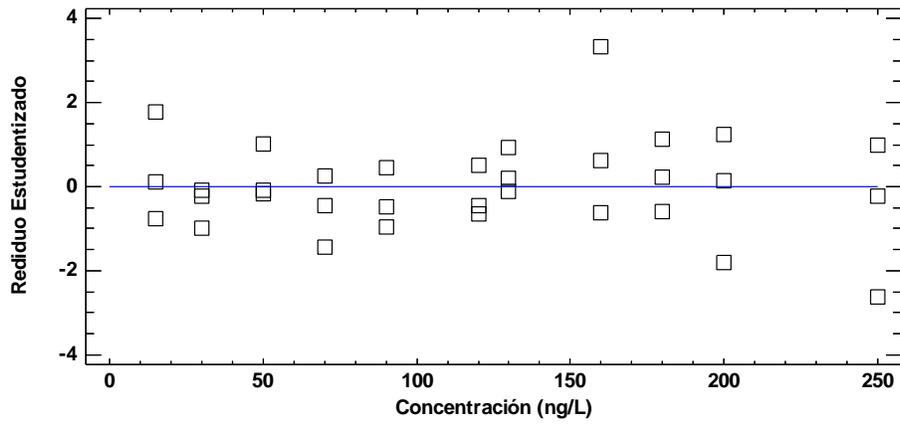


Figura Suplementaria 17. Gráficos de residuales del ácido perfluorobutanoico (PFBA). a) Agua residual cruda, b) Agua residual tratada y c) Agua de manantial.

a)



b)



c)

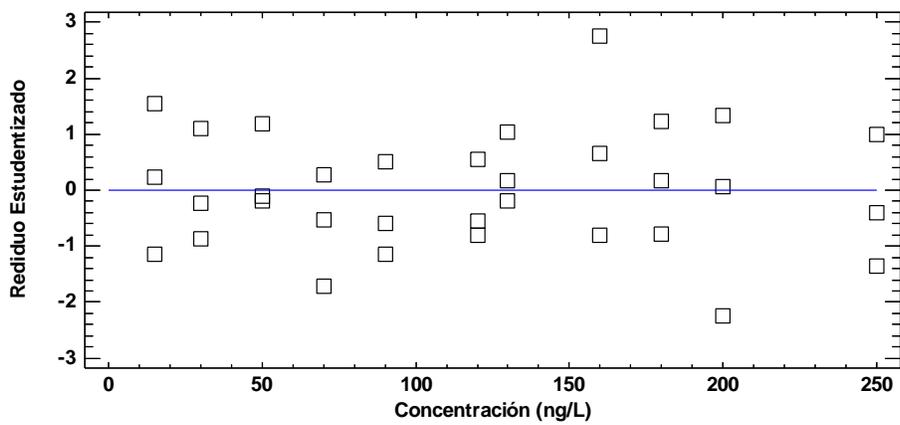
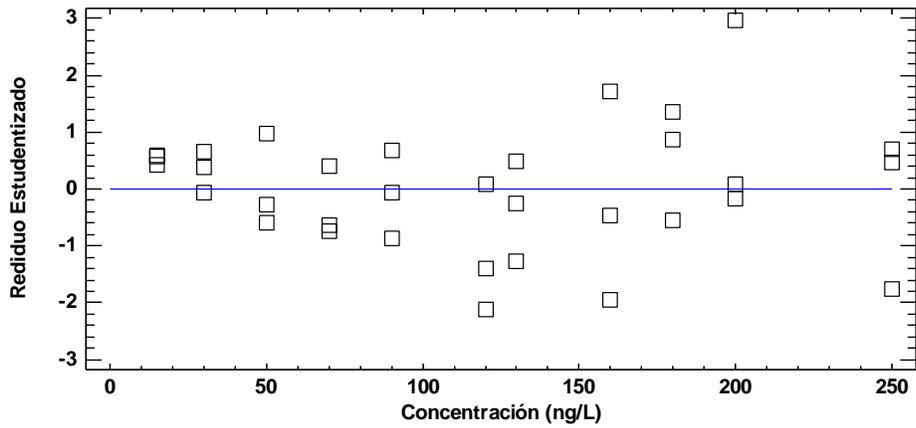
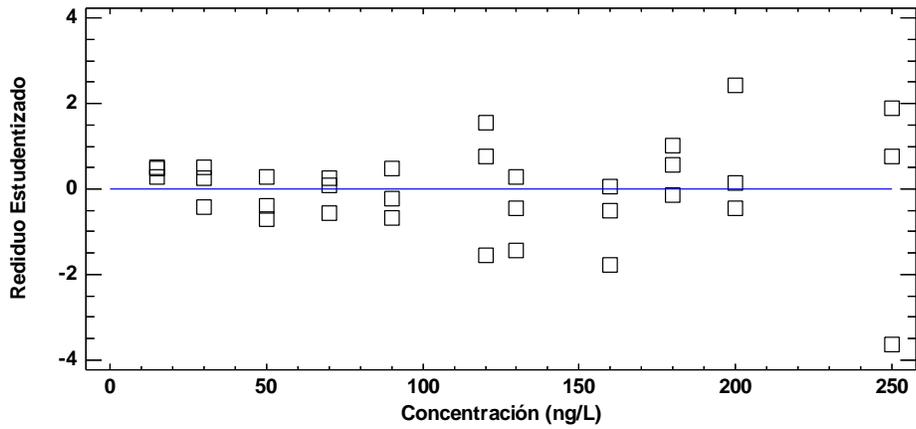


Figura Suplementaria 18. Gráficos de residuales del ácido perfluorohexanoico (PFHxA). a) Agua residual cruda, b) Agua residual tratada y c) Agua de manantial.

a)



b)



c)

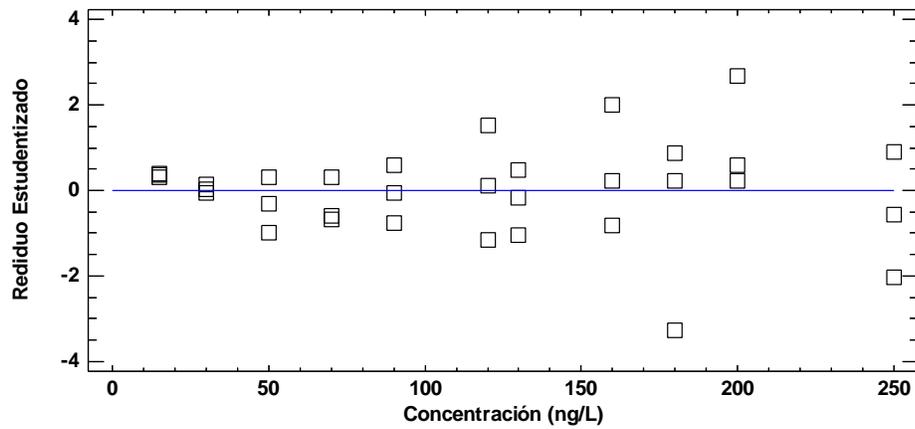
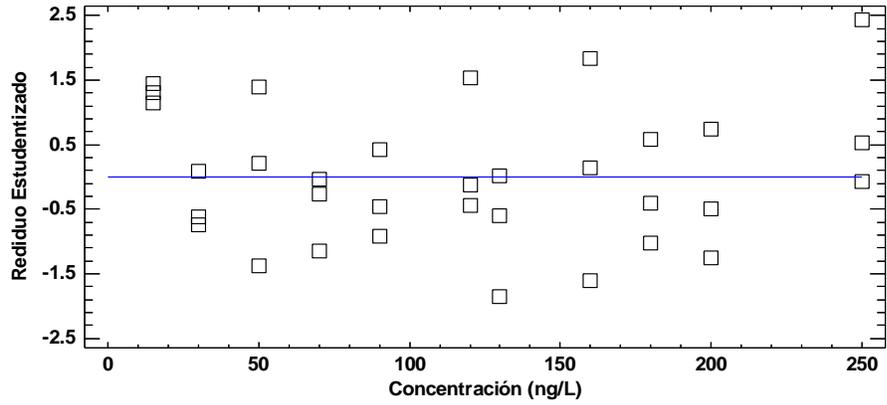
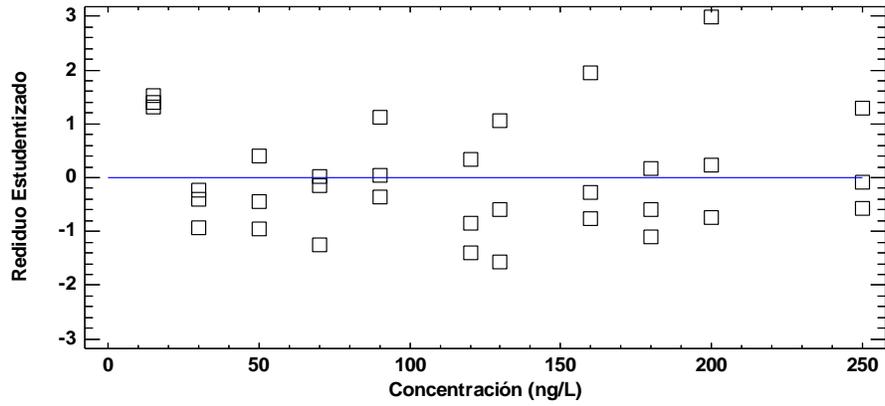


Figura Suplementaria 19. Gráficos de residuales del ácido perfluoroheptanoico (PFHpA). a) Agua residual cruda, b) Agua residual tratada y c) Agua de manantial.

a)



b)



c)

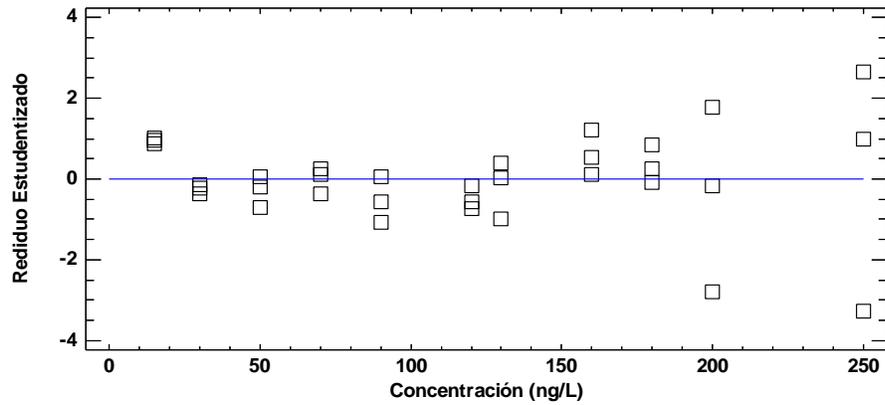
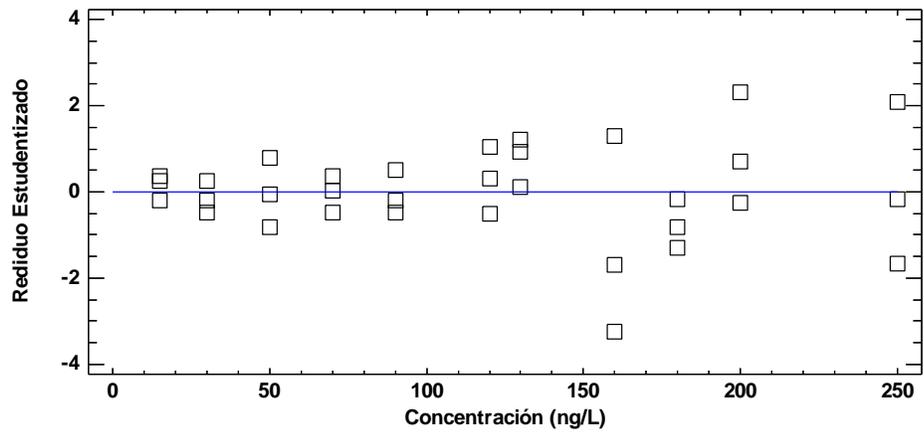
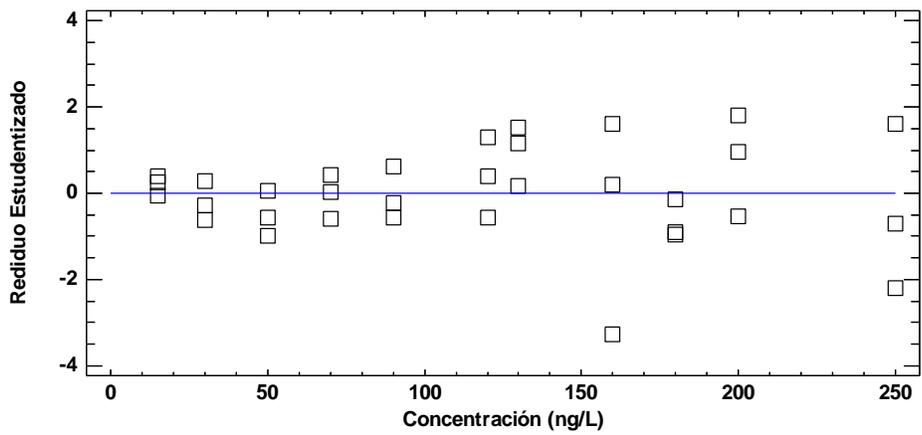


Figura Suplementaria 20. Gráficos de residuales del ácido perfluorooctanoico (PFOA). a) Agua residual cruda, b) Agua residual tratada y c) Agua de manantial.

a)



b)



c)

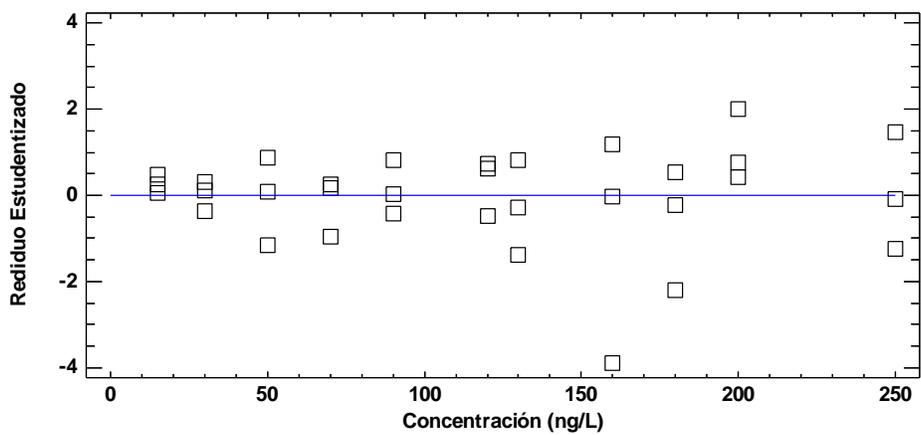


Figura Suplementaria 20. Gráficos de residuales del ácido perfluoroundecanoico (PFUnA). a) Agua residual cruda, b) Agua residual tratada y c) Agua de manantial.

## 12. ANEXO 3

Tabla Suplementaria 1. Concentraciones de PFCAs determinadas en la Zona Metropolitana del Valle de México (n=3)

Sitios de monitoreo	PFBA	PFHxA	PFHpA *(ng L <sup>-1</sup> )	PFOA	PFUnA
<b>Gran Canal</b>					
<b>CAR 1</b>					
Abril	93.1±2.1	111.2±1.4	62.9±1.9	114.3±0.8	51.1±0.8
Mayo	125.2±1.5	109.4±1.3	85.6±2.0	113.7±1.1	121.1±1.3
Junio	138.3±1.7	89.3±2.3	89.3±1.4	120.4±0.7	127.2±1.0
Agosto	140.2±0.9	104.4±0.8	65.6±1.3	128.2±0.9	133.1±0.8
Septiembre	152.3±0.8	89.9±2.5	63.9±1.1	113.2±1.3	63.5±0.9
Octubre	104.2±1.1	110.9±0.9	83.4±1.9	111.1±1.8	87.7±1.1
<b>CAR 2</b>					
Abril	98.2±1.8	113.3±0.9	66.0±0.5	111.2±2.0	49.5±0.5
Mayo	125.9±2.0	111.8±1.2	113.2±2.2	110.4±1.7	125.5±1.4
Junio	140.3±0.8	86.4±2.2	107.5±1.4	125.2±0.9	132.2±0.8
Agosto	147.7±0.9	104.1±1.7	66.2±0.9	125.2±0.7	132.2±0.9
Septiembre	155.0±0.6	92.5±2.6	65.8±0.5	115.9±1.0	61.5±0.8
Octubre	109.8±1.4	113.4±0.9	87.7±2.2	110.6±1.4	91.1±1.3
<b>CAR 3</b>					
Abril	100.3±1.4	115.7±0.8	65.5±1.0	115.4±1.8	48.6±0.6
Mayo	127.1±1.0	115.0±0.7	115.7±1.6	113.4±2.1	116.7±1.2
Junio	141.5±0.7	94.2±2.5	114.9±2.3	127.6±0.9	124.4±1.0
Agosto	149.6±0.9	106.6±1.5	68.8±1.3	119.4±1.6	125.0±1.4
Septiembre	158.3±0.5	105.2±1.6	67.4±0.9	116.1±1.8	59.3±0.9
Octubre	112.4±1.4	115.5±0.9	92.1±2.4	113.0±2.1	84.84±1.0
<b>CAR 4</b>					
Abril	109.8±0.9	116.4±0.9	116.4±0.8	113.2±2.3	39.4±2.3
Mayo	138.3±0.6	117.0±0.7	118.6±1.5	112.3±1.8	110.2±1.4
Junio	143.0±0.6	98.8±1.7	116.8±1.3	121.1±1.3	116.8±1.2
Agosto	155.1±0.7	109.3±1.1	106.7±2.1	124.7±1.4	119.4±0.9
Septiembre	158.8±0.9	110.2±0.9	89.3±2.3	115.5±1.9	51.7±0.9
Octubre	119.3±1.1	118.2±0.8	118.2±0.8	112.2±2.4	80.1±1.3
<b>Emisor Central</b>					
Abril	123.9±1.6	128.7±1.4	61.3±0.7	40.8±0.8	25.2±2.3
Mayo	111.7±1.8	109.4±2.1	116.3±1.3	81.4±1.3	24.8±2.5
Junio	125.9±1.2	124.7±1.1	113.0±1.8	46.1±0.6	35.2±1.8
Agosto	127.7±1.4	129.1±1.2	112.7±0.9	40.8±0.7	33.2±2.0
Septiembre	141.0±0.9	127.0±0.9	70.0±0.8	46.1±0.5	34.1±2.6
Octubre	116.7±2.1	127.5±1.1	113.0±1.8	42.6±1.1	31.2±1.9

Valor Medio ± Desviación Estándar

Tabla Suplementaria 2. Pruebas de hipótesis para determinar la diferencia en las concentraciones de PFCAs en las aguas residuales de Gran Canal de Desagüe y el Túnel emisor Central ( $\alpha=0.05$ , al 95 % de confianza,  $n=3$ ).

Parámetros estadísticos	$\Sigma$ PFCA		PFBA		PFHxA		PFHpA		PFOA		PFUnA	
	EC	GC	EC	GC	EC	GC	EC	GC	EC	GC	EC	GC
Curtosis estandarizada	0.13	- 1.23	0.41	- 0.69	0.57	- 0.83	- 0.78	0.65	0.07	- 0.83	- 1.25	- 0.95
Sesgo estandarizado	- 0.69	- 0.11	0.58	- 0.46	- 1.28	0.13	- 1.00	- 0.91	0.85	0.14	0.25	- 0.24
<i>F-Fisher</i> (valor-p)	0.39		0.27		0.50		1.62		0.17		0.28	
	0.32		0.17		0.47		0.61		0.08		0.19	
<i>t-Student</i> (valor-p))	-9.16		-1.44		-4.16		0.18		-13.9		-16.6	
	$3.5 \times 10^{-6}$		0.018		$1.9 \times 10^{-3}$		0.86		$7.4 \times 10^{-8}$		$1.3 \times 10^{-8}$	

$\Sigma$ PFCAs= a la sumatoria de las concentraciones de los PFCAs, EC= Emisor Central, GC= Gran Canal

Tabla Suplementaria 3. Concentraciones promedio de los PFCAs en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco (n=3)

Punto de muestra	PFBA	PFHxA	PFHpA (ng L <sup>-1</sup> )	PFOA	PFUnA
<b>Influyente PTAR (IN)</b>					
Abril	123.9 ± 3.1	128.7 ± 1.7	61.3 ± 0.8	41.8 ± 1.8	35.2 ± 2.4
Mayo	111.7 ± 2.6	109.4 ± 1.8	116.3 ± 1.8	55.4 ± 2.2	24.8 ± 2
Junio	125.9 ± 2.2	124.3 ± 2.9	113 ± 1.7	46.1 ± 1.7	35.2 ± 1.5
Agosto	127.9 ± 2.4	129.1 ± 1.5	112.7 ± 2.1	40.8 ± 1.9	33.2 ± 1.6
Septiembre	141 ± 1.5	127 ± 3.8	113 ± 1.9	46.8 ± 2.2	24.1 ± 2.5
Octubre	116.7 ± 2.9	127.5 ± 0.7	110.1 ± 2.2	44.6 ± 2.6	31.2 ± 1.7
<b>Efluente del tratamiento primario (T1)</b>					
Abril	120.4 ± 2.8	132.1 ± 3	108.4 ± 1.8	54.3 ± 3.1	31.1 ± 3.3
Mayo	117.5 ± 1.9	128.5 ± 2.8	106.8 ± 2.5	48.2 ± 2.4	29.6 ± 2.8
Junio	123.5 ± 2	129.9 ± 2.8	108.2 ± 2.7	52.4 ± 2.9	28.4 ± 3.9
Agosto	121.8 ± 2.4	127.7 ± 1.7	111.4 ± 0.8	51.3 ± 4.1	26.4 ± 2.6
Septiembre	124.4 ± 2.7	131.7 ± 2	109.8 ± 3.3	49.1 ± 2	25.5 ± 1.8
Octubre	122.4 ± 1.7	126.1 ± 2.5	107.3 ± 2.3	51.1 ± 2.7	27.7 ± 2.4
<b>Efluente del tratamiento secundario (T2)</b>					
Abril	136.1 ± 2.4	148.3 ± 2.1	54.9 ± 2.6	128.3 ± 1.4	< LOD
Mayo	124.9 ± 1.8	132.6 ± 2.6	100.4 ± 1.5	103.1 ± 1.4	17.5 ± 2.9
Junio	136.9 ± 2	135.4 ± 2.2	101.6 ± 1.2	73.1 ± 0.8	15.9 ± 2.3
Agosto	134.9 ± 2.5	140.1 ± 1.5	93.4 ± 2.2	112.1 ± 2	16.2 ± 2.8
Septiembre	148.3 ± 2	137.3 ± 2	108.9 ± 1.7	115.9 ± 0.8	< LOD
Octubre	129.3 ± 2.8	147.1 ± 2.1	102.2 ± 2.7	103.4 ± 2	16.3 ± 1.9
<b>Mezcla de efluentes (ME)</b>					
Abril	182.6 ± 1.6	215.6 ± 2.3	115.1 ± 2.7	173.6 ± 2.7	36.5 ± 3.7
Mayo	184.8 ± 1.2	205 ± 2.7	114.4 ± 2.3	176.9 ± 2.5	32.7 ± 3.2
Junio	183.7 ± 0.8	213.4 ± 2	114.2 ± 2.6	179.3 ± 1.9	33.9 ± 4
Agosto	186.6 ± 1.4	209.2 ± 2.3	117.6 ± 2	175.7 ± 2.1	35.7 ± 3
Septiembre	185.2 ± 2.5	209.5 ± 2.5	110.3 ± 2.7	175.2 ± 2.8	36.8 ± 2.7
Octubre	183.4 ± 3.1	211 ± 1.9	113.5 ± 2.8	174.7 ± 2.6	35.9 ± 3.3

Tabla Suplementaria 4. ANOVA multivariable para las concentraciones de PFCAs en el influente y los efluentes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco ( $\alpha=0.05$  al 95 % de confianza,  $n=3$ )

<b>Parámetros estadísticos</b>	<b>PFBA</b>	<b>PFHxA</b>	<b>PFHpA</b>	<b>PFOA</b>	<b>PFUnA</b>
Curtosis estandarizada	-0.51	-0.65	0.17	-1.18	-0.55
Sesgo estandarizado	1.37	1.21	-1.36	0.58	-0.71
<b>Coefficiente de variación (% CV)</b>	3.8	3.8	5.8	10.1	11.0
<b>ANOVA (multivariable)</b>					
radio-F	203.5	220.7	7.8	744.1	8.4
valor-P	0.0000	0.0000	0.0092	0.0000	0.0074
<b>Prueba de Levenet</b>					
Valor de prueba-F	0.27	0.01	0.27	0.19	0.16
valor-p	0.849	0.1	0.85	0.90	0.92

Tabla Suplementaria 4. Concentraciones promedio de los PFCAs en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Atotonilco (n=3)

Punto de muestra	PFBA	PFHxA	PFHpA (ng L <sup>-1</sup> )	PFOA	PFUnA
<b>Canal de Irrigación Tlamaco-Juandhó (CI)</b>					
Abril	136.1 ± 5.2	146.3 ± 1.5	94.9 ± 3.4	115.3 ± 1.9	72.1 ± 2.0
Mayo	160.4 ± 3.3	149.1 ± 2.1	113.4 ± 2.5	128.5 ± 1.5	76.8 ± 2.1
Junio	176.9 ± 3.1	133.4 ± 1.7	116.6 ± 2.3	133.1 ± 1.2	70.1 ± 2.2
Agosto	174.4 ± 2.5	139.4 ± 1.2	93.4 ± 2.1	118.3 ± 0.7	72.4 ± 2.0
Septiembre	180.9 ± 2.3	132.2 ± 0.9	61.6 ± 5.1	103.4 ± 2.1	38.3 ± 3.8
Octubre	189.3 ± 3.6	152.1 ± 0.9	92.2 ± 2.1	104.5 ± 1.8	51.0 ± 4.8
<b>Agua Subterránea (AS)</b>					
Abril	18.5 ± 3.4	42.4 ± 3.1	< LD	< LD	< LD
Mayo	24.4 ± 3.3	56.4 ± 3.9	19.4 ± 3.5	31.4 ± 3.9	< LD
Junio	22.3 ± 2.4	53.3 ± 2.6	25.8 ± 3.3	26.6 ± 3.6	< LD
Agosto	25.0 ± 3.7	48.5 ± 2.8	24.9 ± 2.9	37.5 ± 2.6	< LD
Septiembre	24.1 ± 2.3	63.3 ± 2.4	< LD	38.8 ± 2.5	< LD
Octubre	27.8 ± 3.1	40.1 ± 3.3	26.8 ± 2.2	28.4 ± 2.9	< LD
<b>Agua de Manantial, Cerro Colorado (AM)</b>					
Abril	15.2 ± 4.4	34.9 ± 4.4	< LD	< LD	< LD
Mayo	35.6 ± 3.5	43.0 ± 3.1	19.4 ± 3.5	14.7 ± 4.4	< LD
Junio	24.6 ± 3.6	39.2 ± 3.0	25.8 ± 3.3	< LD	< LD
Agosto	29.4 ± 2.9	31.1 ± 2.8	24.9 ± 2.9	21.9 ± 2.8	< LD
Septiembre	19.6 ± 3.8	48.2 ± 3.8	< LD	25.0 ± 3.8	< LD
Octubre	38.2 ± 2.2	41.3 ± 2.2	26.8 ± 2.2	20.9 ± 2.2	< LD

Dónde: < LD= Debajo del límite de Detección



# Occurrence of perfluorinated carboxylic acids in Mexico City's wastewater: A monitoring study in the sewerage and a mega wastewater treatment plant



Mario Rodríguez-Varela <sup>a</sup>, Juan C. Durán-Álvarez <sup>b</sup>, Blanca Jiménez-Cisneros <sup>c</sup>, Olivia Zamora <sup>d</sup>, Blanca Prado <sup>d,\*</sup>

<sup>a</sup> Posgrado en Ciencias Químicas, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México 04510, Mexico

<sup>b</sup> Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior S/N, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México 04510, Mexico

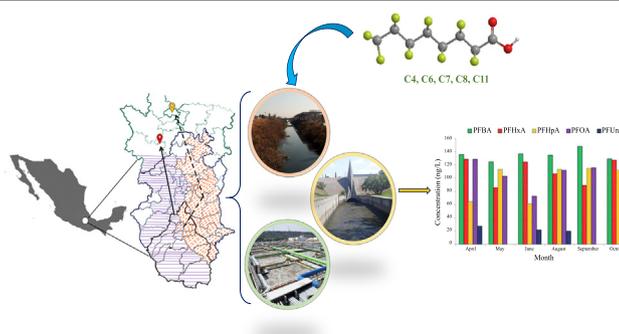
<sup>c</sup> Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México 04510, Mexico

<sup>d</sup> Instituto de Geología y LANGEM, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Av. Universidad 3000, Coyoacán, Ciudad de México 04510, Mexico

## HIGHLIGHTS

- Five PFCA detected in Mexico City's wastewater over a seven-month monitoring study.
- Concentrations of short-chain PFCA were higher than those of long-chain compounds.
- Primary and secondary treatment systems are unable to remove even PFCA.
- The content of the even PFCA were higher at the effluent of biological treatment.
- Reuse of wastewater in agricultural irrigation spread PFCA in croplands.

## GRAPHICAL ABSTRACT



## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 14 October 2020

Received in revised form 6 January 2021

Accepted 7 January 2021

Available online 9 February 2021

Editor: Yolanda Picó

### Keywords:

Liquid chromatography

Mass spectrometry

PFCA

Sewerage

Water reuse

## ABSTRACT

An analytical method based on liquid chromatography coupled to mass spectrometry was validated to quantify five perfluorinated carboxylic acids (PFCA) namely, perfluorobutanoic acid (PFBA), perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), perfluorooctanoic acid (PFOA), and perfluoroundecanoic acid (PFUnA), in wastewater produced in a megacity. Sampling was performed on a monthly basis, obtaining samples from the underground sewerage system and the main open-air canal transporting wastewater out the city. Steady levels of the sum of the target PFCA ( $\Sigma$ PFCA) were determined on both sites through the study:  $419.4 \pm 24.3 \text{ ng L}^{-1}$  in undergrounded sewage and  $591.1 \pm 39 \text{ ng L}^{-1}$  in the open-air canal. Short-chain PFCA (PFBA, PFHxA, and PFHpA) were abundant, while concentrations of PFOA and PFUnA remained lower in both sampling sites. The open-air canal was transected in four sampling points, which were sampled throughout the monitoring campaign, finding that furtive discharges of municipal and industrial wastewater increased the levels of short-chain PFCA, while those of PFOA and PFUnA were depleted. Relevant concentrations of PFBA ( $176.9 \pm 3.3 \text{ ng L}^{-1}$ ), PFHxA ( $133.4 \pm 2.5 \text{ ng L}^{-1}$ ), PFHpA ( $116.6 \pm 3.9 \text{ ng L}^{-1}$ ), PFOA ( $133.1 \pm 3.5 \text{ ng L}^{-1}$ ), and PFUnA ( $23.5 \pm 6.5 \text{ ng L}^{-1}$ ) were found 60 km downstream, where the wastewater transported by the open-air canal is used in irrigation. A fraction of sewage is treated in a conventional wastewater treatment plant. The concentration of short-chain PFCA increased in effluent, adding extra loads of PFBA, PFHxA, and PFHpA to the environment.

© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

\* Corresponding author.

E-mail address: [bprado@geologia.unam.mx](mailto:bprado@geologia.unam.mx) (B. Prado).

## 1. Introduction

Perfluorinated carboxylic acids (PFCA) belong to a wide family of poly- and perfluorinated alkyl substances (PFAS) which have been used for more than six decades in plastics, textiles, paintings, surfactants and many others (KEMI, 2015). Residues of PFAS are mostly disposed through industrial and domestic wastewaters, although air deposition and leachates from landfills can also be considered as sources (Becker et al., 2008; CEC, 2017; Clara et al., 2008; Houtz et al., 2016; Wang et al., 2021).

Due to the perfluorination of the alkyl chain, the PFAS have surfactant properties along with significant stability (Buck et al., 2011; CEC, 2017; Kannan et al., 2001; Krafft and Riess, 2015). The strength of the C—F bond ( $513 \pm 10 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) makes PFAS refractory to most of the biotic and abiotic degradation processes occurring in wastewater depuration systems. Therefore, conventional wastewater treatment plants (WWTP) are unable to remove these substances, releasing effluents with similar and sometimes higher loadings of PFCA. The latter can be caused by detachment from sludge or through the biodegradation of PFAS precursors (CEC, 2017; Frömel and Knepper, 2010; Scheringer et al., 2014; Xu et al., 2020). Under this scenario, effluents act as a source of PFAS as they are discharged.

Once in the environment, the mobility of PFAS through the water cycle and soil varies as a function of their physical and chemical properties, like volatility, hydrophobicity,  $pK_a$ , and more importantly, the length of the alkyl chain (Liu et al., 2017, 2016; Nguyen et al., 2016; Scheringer et al., 2014). As the length of the perfluorinated alkyl chain increases the molecules are less volatile, more hydrophobic, and thus their environmental mobility is restricted, building up in soil, sediments, and suspended solids (Chen et al., 2019; Scheringer et al., 2014). The highly volatile and hydrophilic short-chain PFAS ( $C \leq 8$ ) can travel long distances attached to dust particles or infiltrate through the soil, reaching aquifers (Chen et al., 2019, 2017; Liu et al., 2018; Nguyen et al., 2016; Scheringer et al., 2014; Wang et al., 2021).

Through chemical interactions between fluorine and different biomolecules (lipids and proteins), PFAS can bioaccumulate and spread out in the trophic web, regardless the length of the alkyl chain (Ghisi et al., 2019; Liu et al., 2017; Scheringer et al., 2014). This has led to the occurrence of a plethora of PFAS in human blood, urine, semen, and breast milk (Antignac et al., 2013; Liu et al., 2009; Pan et al., 2019; Wang et al., 2018), which has occurred either in hardly industrialized zones, rural areas, or remote sites, such as the Arctic and Antarctic ecosystems (Bossi et al., 2015; Cai et al., 2012; Chen et al., 2017; Lescord et al., 2015; Pickard et al., 2020; Verreault et al., 2007).

Chronical exposure to long-chain PFAS is related to endocrine disruption and teratogenic effects in wildlife and humans (Souza et al., 2020; Vested et al., 2013). Consequently, the U.S. EPA issued a drinking water health advisory, establishing maximum permissible levels of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) at  $70 \text{ ng L}^{-1}$  (Pontius, 2019). Long-chain PFAS have been banned in Europe and North America, switching to the use of short- and ultra-short-chain PFAS (Garg et al., 2020; Pickard et al., 2020; Scheringer et al., 2014), bringing changes in the composition of PFAS in wastewater, with lower levels of long-chain PFAS and growing concentrations of short-chain PFAS (CEC, 2017; Glynn et al., 2012; Houtz et al., 2016; Scheringer et al., 2014; Wang et al., 2016). This can pose environmental risks, considering the high mobility of short-chain PFAS through water, soil, and air.

Making an inventory of PFAS in wastewater streams may be a starting point to tackle this environmental and health issue. In China, several short- and long-chain PFAS have been found in wastewater from heavily industrialized zones (Liu et al., 2016; Zhang et al., 2013), while PFCA are consistently found in municipal and industrial wastewaters in other Asian countries (Kunacheva et al., 2011). In Australia, actions have been taken to estimate the loadings of PFCA released by WWTP effluents (Gallen et al., 2018). Several Pan-European monitoring campaigns are focused on

the presence of PFAS in food, watercourses, and soil (D'Hollander et al., 2015; Herzke et al., 2013; Heydebreck et al., 2015). In African and Latin American countries, there is a general lack of information on the occurrence of PFAS, raising concern since the reutilization of wastewater is a regular practice in these regions (Kurian et al., 2013). In Africa, some scattered attempts determined that PFAS are discharged into natural wetlands and croplands via wastewater (Dalalmehe et al., 2018). Other studies reported the occurrence of these pollutants in drinking water (Kaboré et al., 2018). In the case of Latin America, monitoring studies of PFAS are concentrated in Brazil, Chile, and Mexico (CEC, 2017; Kaboré et al., 2018; Schwanz et al., 2016; Souza et al., 2020). The objectives of this study were i) to validate an analytical technique based on liquid chromatography coupled to electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) to quantify perfluorobutanoic acid (PFBA), perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), perfluorooctanoic acid (PFOA), and perfluoroundecanoic acid (PFUnA) in wastewater; ii) to monitor the concentration of the target compounds in Mexico City's sewage over a period of seven months; and, iii) to explore the environmental fate of the target PFCA in the Atotonilco WWTP, the largest treatment facility in Latin America.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Chemicals and reagents

Standards of PFBA ( $\geq 98\%$  purity), PFHxA ( $\geq 98\%$  purity), PFHpA (99% purity), PFOA (98% purity) and PFUnA (95% purity) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). The Oasis WAX® solid phase extraction cartridges (6 cc and 200 mg) were provided by Waters (Milford, MA, USA). Water and methanol used as mobile phase in chromatographic analysis along with ammonium acetate were HPLC grade and provided by Sigma-Aldrich.

### 2.2. Description of the study area

The Metropolitan Zone of Mexico City is the biggest urbanization in Latin America, and generates an ominous flow of wastewater, with a mean of  $1663 \text{ Mm}^3$  per year (Chamizo-Checa et al., 2020), which is comprised by municipal/industrial wastewater mixed with storm water (Chávez et al., 2011). The wastewater is collected by a complex sewerage system that distributes the whole flow in one subterranean tunnel (Central Emitter, carrying  $1255.8 \text{ Mm}^3 \text{ yr}^{-1}$ , average) and one open-air canal (Gran Canal, transporting  $407.2 \text{ Mm}^3 \text{ yr}^{-1}$ ) (Fig. 1). Wastewater is exported 80 km North to the Mezquital Valley for agricultural irrigation (Chamizo-Checa et al., 2020). There, it is distributed through the irrigation area by a complex network of unlined canals. (Chávez et al., 2012). In order to reduce the health risks associated to the reutilization of raw wastewater, the Atotonilco WWTP was built in 2015. This plant aims to treat 60% of the Central Emitter outflow (approximately  $30 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ ), removing solids and pathogens, while most of organic matter is kept in the effluent for agricultural purposes. Initially, the overflow (untreated wastewater) is disposed of in a local river (Tula River), while the influent of the WWTP is divided into two streams. The stream A is passed through a primary treatment system (coagulation-flocculation-sedimentation), followed by chlorination. The stream B is biologically treated using a conventional activated sludge system, then the effluent is disinfected. Both effluents are disposed of in the Tula River, mixing with the overflow. The mixture of effluents and untreated wastewater is conducted to the irrigation area (Fig. 2). On the other hand, the wastewater flowing through Gran Canal remains untreated and it is directly reutilized in croplands.

### 2.3. Sample collection

The monitoring of PFCA in Mexico City's wastewater was carried out from April to October 2019. Grab samples were obtained monthly from

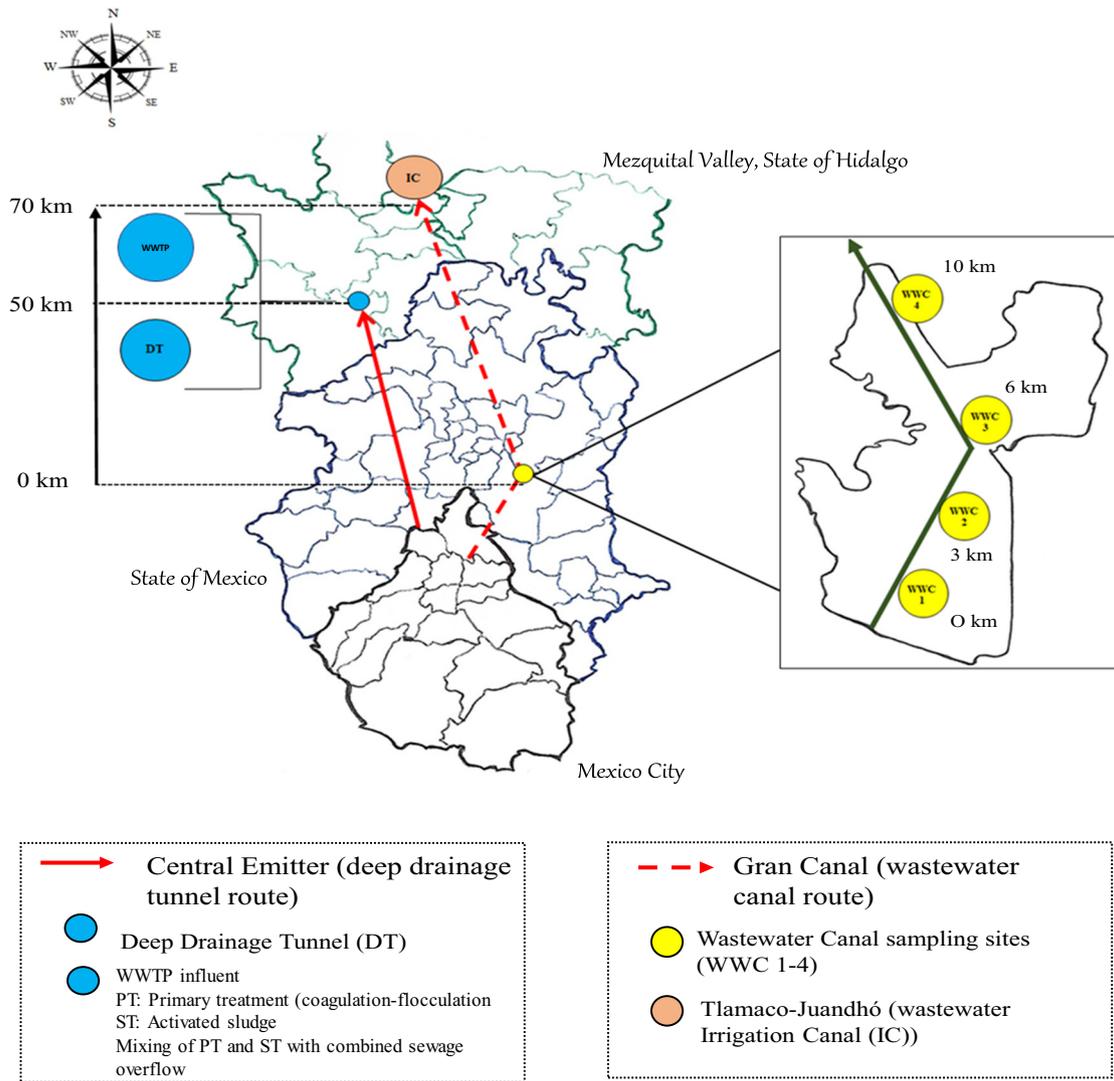


Fig. 1. The routes to take sewage out the Metropolitan Zone of Mexico City and sampling points in Central Emitter, Gran Canal and Irrigation Canal in Mezquital Valley.

the outfall of the deep sewerage tunnel (Central Emitter, Fig. 1), and along 10 km of the Gran Canal route, which was transected into four sampling points (WWC 1-4). In the WWTP, grab samples of the influent, the two effluents (primary and secondary), and the mixture of the effluents with the combined sewage overflow (CSO) were also withdrawn on a monthly basis (sampling points of the WWTP are marked

in Fig. 2). In Mezquital Valley, raw wastewater samples were withdrawn each month from one of the main irrigation canals (IC) fed by the Gran Canal.

All the samples were taken following the U.S. EPA method 537 (Shoemaker and Tettenhorst, 2020). Briefly, a homemade polypropylene bailer was thoroughly rinsed with the wastewater at each sampling

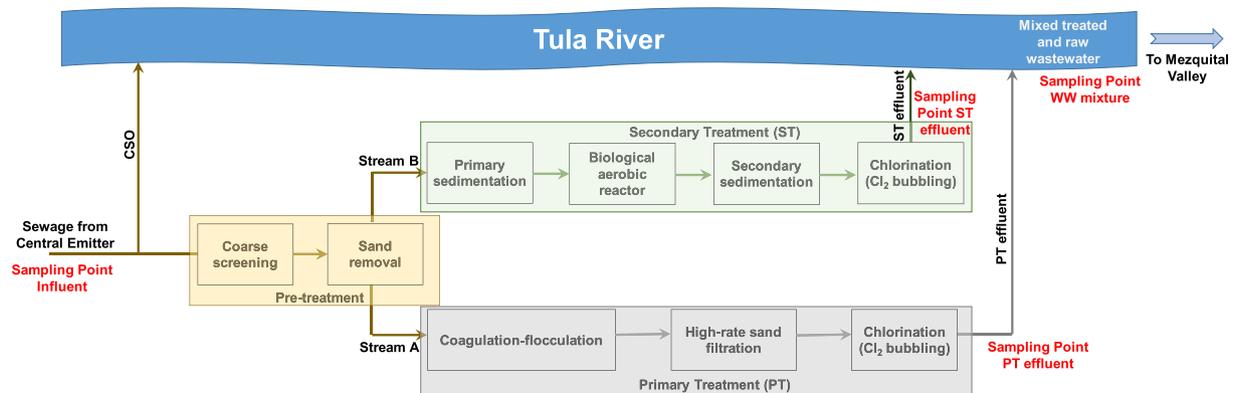


Fig. 2. Scheme of the Atotonilco WWTP and location of each sampling point. CSO: combined sewage overflow.

point; then, the sample was withdrawn and transferred to one-liter polypropylene bottles. The bottles were previously washed with 0.1% ammonium hydroxide in methanol, followed by Milli-Q water (Merck, 15 MΩ cm at 25 °C), then rinsed ten times with the wastewater prior to receive the sample. Field blanks, consisting of Milli-Q water, were used at each sampling point in all the monitoring events. The samples and blanks were transported to the laboratory in coolers and stored at 4 °C until the analysis was completed. The content of the target PFCA in blanks is reported in Table S1.

#### 2.4. Analysis of the target PFCA in wastewater samples

As a first step, the suspended solids were removed from wastewater samples through a 24 h sedimentation process followed by a double filtration step, using 0.45 μm and 0.22 μm nylon membranes. The filters were pre-treated via immersion in the wastewater samples for 24 h at room temperature; then, the saturated membranes were put in the filtration device and 250 mL aliquots were filtered.

The extraction, purification, and pre-concentration of the analytes were performed through offline solid phase extraction (SPE), using a modified version of the procedures reported elsewhere (Boone et al., 2014; Taniyasu et al., 2005). The Oasis WAX® cartridges were conditioned by the addition of 5 mL of ammonium hydroxide in methanol (0.1% v/v), followed by 5 mL of methanol and 5 mL of Milli-Q water. After the cartridge preparation, the filtered samples were passed through using a flow rate of approximately 5 mL min<sup>-1</sup>. The clean-up step was carried out by applying 5 mL of 0.1% ammonium acetate in water (pH = 9.2), followed by 5 mL of a 95:5 water:methanol mixture. The target PFCA were eluted with 6 mL of ammonium hydroxide in methanol (0.1% v/v); no vacuum was applied. Eluates were then evaporated under a gentle stream (5 mL min<sup>-1</sup>) of ultrapure N<sub>2</sub>. Lastly, the samples were reconstituted with 250 μL of the chromatographic mobile phase and transferred into inserts within chromatography vials.

The separation of the analytes was carried out using a HPLC device (1620-Infinity series, Agilent Technologies) coupled to an ESI and a triple quadrupole MS apparatus (6420, Agilent Technologies). In order to reduce the background contamination in the chromatographic analysis, the PTFE solvent inlet filters and the purge valve in the HPLC device were removed, and stainless steel filters along with a Zorbax SB-C8 pre-guard column (2.1 × 30 mm, and 1.8 μm of particle size) were adapted (Jahnke and Berger, 2009). A 10 μL aliquot was injected, and the analyte separation was achieved using a Zorbax SB-C18 column (150 mm × 3 mm, and 3.5 μm of particle size). The composition of the mobile phase was 1 mM ammonium acetate in water (A) and 1 mM ammonium acetate in methanol (B), at a constant flow rate of 0.3 mL min<sup>-1</sup>. Gradient was used in separation, starting with 40% of B for 5 min; then, the fraction of B was slowly increased to 100% in 20 min, and remained constant for 5 min. The initial composition of the mobile phase was recovered in 3 min and remained for 5 min.

Electrospray ionization was conducted in the negative mode, using N<sub>2</sub> as drying gas at 300 °C and a constant flow rate of 11 L min<sup>-1</sup>. The capillary voltage was set at 1000 V. The quantification of the target PFCA was carried out in the multiple reaction monitoring mode (MRM). The fragmentation voltage and collision energy for each precursor-product ion are shown in Table 1.

**Table 1**  
Ion fragments used for the MRM mode detection and optimized MS conditions.

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Confirmation ion (m/z)	Fragmentation voltage (V)	Collision energy (eV)	Acceleration cell voltage (V)	Dwell (ms)
PFBA	212.9	168.9	–	70		4	
PFHxA	313	269	119	60		7	
PFHpA	362.9	319	169	65	3	4	50
PFOA	412.9	369	169	65		2	
PFUnA	562.9	519	169	70		7	

#### 2.5. Statistical analysis

The statistical analysis of the results was performed using the Statgraphics Centurion XVI.I software (Statgraphics Inc.). The *F*-test and *t*-test were performed to assess the homoscedasticity and the significant differences in the mean concentrations of the analytes for different samples. The Levene's test, the multiple range test (Turkey post hoc), and the multivariate Analysis of Variance (ANOVA) were used to determine significant differences in the homoscedasticity and the concentration levels of each analyte in different monitoring sites, including the WWTP influent and effluent samples.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Validation of the analytical method

The chromatographic peaks corresponding to the five analytes were well resolved, displaying retention times of 10.1, 16.8, 19.5, 22.3, and 26.5 min for PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA, and PFUnA, respectively. Fig. S1 shows a typical chromatogram and the mass spectra of the target PFCA. Matrix-matched calibration curves were obtained for each analyte, resulting in a working range from 15 to 260 ng L<sup>-1</sup> (Fig. S2). The values of the coefficient of determination were above 0.995 for all the analytes, demonstrating the linearity of the calibration curves. It is important to note in Table 2 that intercept values (*b*) in calibration curves are not negligible, which is attributable to the ubiquitous occurrence of PFCA in the materials and reagents used in sample preparation. Therefore, the value of the parameter *b* was systematically considered to calculate the concentration of the analytes in each sample. The precision was determined as the relative standard deviation (RSD) at three spiking levels (30, 160, and 220 ng L<sup>-1</sup>) for each analyte, involving seven replicates. As can be seen in Table 2, the lowest precision was obtained for the lowest spiking level. A clear decline in precision was observed as the length of the alkyl chain increased, displaying the highest RSD values for PFUnA. Accuracy was evaluated through recovery tests in wastewater samples, using three concentration levels for each compound (15, 120, and 250 ng L<sup>-1</sup>). All the measurements were carried out by triplicate, using a blank (sample not spiked) per level. Recovery was acceptable in accordance to international standards (Magnusson and Örnemark, 2014), displaying values in a range from 81.3% to 108.8% (Table 2).

The limit of detection was considered as the lower concentration level at which the analytical signal can differentiate from the background noise with an acceptable precision. This statement implies two conditions: 1) the signal is at least 3 times higher than the background noise (signal to noise ratio ≥ 3); and, 2) the relative standard deviation of the area associated to this concentration level (calculated under intermediate precision conditions) is below or equal to 10%. To determine the signal to noise ratio at any concentration level, it was mandatory to perform blank corrections of the analytical signal, in accordance to Eq. (1).

$$[\text{Fortified}_A] = [\text{Total}_A] - [\text{Blanks}_A] \quad (1)$$

where [Fortified<sub>A</sub>] is the area of the analyte associated to the spiked concentration level; [Total<sub>A</sub>] is the total peak area, obtained by the sum of

**Table 2**  
Validation of the analytical method used for the determination of target PFCA in wastewater samples.

Parameter	n	PFBA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFUnA
Precision (% RSD)						
30 ng L <sup>-1</sup>	7	3.1–12.8	3.9–4.7	3.5–14.5	2.6–14.2	8.8–14.5
160 ng L <sup>-1</sup>	7	3.1–9.4	1.8–2.8	1.2–4.8	2.0–6.3	4.3–5.2
220 ng L <sup>-1</sup>	7	3.2–4.8	2.4–2.8	2.5–3.3	2.0–3	1.8–3.1
Accuracy (mean recovery, %)						
15 ng L <sup>-1</sup>	3	104	98.2	81.3	106.7	108.8
120 ng L <sup>-1</sup>	3	97.8	100.5	95.3	97.2	101.7
250 ng L <sup>-1</sup>	3	98.8	100.1	96.1	101	106.5
Linearity						
Linear working range (ng L <sup>-1</sup> )	21	15–260	15–260	15–260	15–260	15–260
<sup>a</sup> Slope		459.9 ± 22.6	588.3 ± 270	1031 ± 216.6	1152.4 ± 416	747.5 ± 170
<sup>a</sup> Intercept		-4706 ± 717	5649 ± 800	-10,514 ± 2160	-11,721 ± 3460	7252 ± 1530
Correlation coefficient (r)		0.998	0.995	0.995	0.999	0.997
LOD (ng L <sup>-1</sup> )	10	5	5	3	3	5
LOQ (ng L <sup>-1</sup> )	10	15	15	15	15	15

<sup>a</sup> Mean ± standard deviation.

the analyte signals appearing in the sample blank and the spiked sample; and, [Blank<sub>A</sub>] is the area of the analyte signal obtained in the sample blank. The signal-to-noise ratio (SNR) was calculated through Eq. (2).

$$SNR = \frac{[Fortified_A]}{[N_A]} \quad (2)$$

where [N<sub>A</sub>] is the area of the noise obtained in the analysis of the blank. The relative standard deviation determined under intermediate precision conditions (RSD<sub>inter</sub>) was calculated according to Eq. (3).

$$RSD_{inter} = \left( \frac{S_i}{\bar{X}} \right) * 100 \quad (3)$$

where S<sub>i</sub> is the standard deviation calculated according to the EURACHEM Annex C (Magnusson and Örnemark, 2014), and X is the mean value of the analyte signal at a given spiking level.

To calculate the LOD, both the SNR and the intermediate precision (RSD<sub>inter</sub>) were determined for each analyte, using three spiking levels (1, 3, and 5 ng L<sup>-1</sup>), by triplicate, under repeatability conditions in seven different days (Table S2).

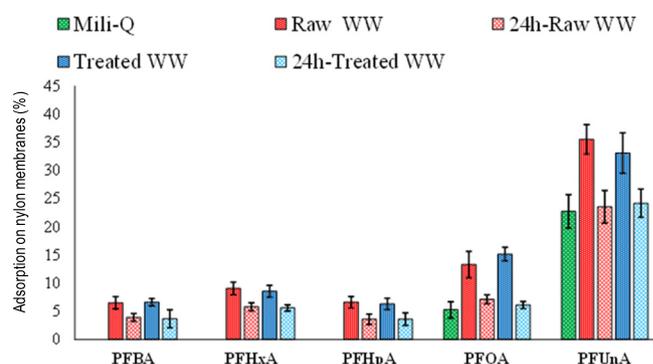
The limit of quantification (LOQ) was set as the lowest concentration level at which any analyte can be quantified with an acceptable precision (RSD < 10%) and accuracy (recovery from 60 to 120%). In order to obtain greater certainty in the measurements, the last point of the calibration curve was set as the LOQ, since it met the acceptable precision and accuracy conditions (Peters et al., 2007).

Matrix effect was assessed by comparing matrix-matched recovery curves vis-à-vis blank recovery curves, the former using raw and treated wastewater as matrix, while Milli-Q water was used for the latter. Negligible matrix effect was observed for the five analytes in the two types of wastewater (*p*-value > 0.05, at 95% of confidence). As shown in Fig. S3 and Table S3, the matrix effect increased with the lowering of the fortification level, reaching its highest point when spiking was near the LOQ.

### 3.1.1. Addressing the potential losses of analytes in the sample preparation step

Due to their high hydrophobicity, long-chain PFCA can be absorbed on suspended solids. Pre-treatment of wastewater samples aimed to remove suspended solids through sedimentation followed by filtration, in order to measure the PFCA concentration solely in the liquid phase. Even when most of suspended solids are removed from wastewater via filtration, the retention of PFCA in filters has been previously reported (Chandramouli et al., 2015). As mentioned at the beginning of Section 2.4, the nylon membranes were pre-treated by immersion in wastewater samples as an attempt to limit the loss of the analytes. To

assess the efficiency of this method, 250 mL independent samples of either Milli-Q water, raw or treated wastewater were spiked with the mixture of the analytes (100 ng L<sup>-1</sup>, each one) and passed through the double filtration step; comparison was done between prepared and non-prepared membranes. All the filtered samples followed the SPE and evaporation stages established above, and analysis was carried out using the validated HPLC-ESI-MS/MS method. The loss of analyte in the filtration step was observed for the target PFCA for both treated and untreated wastewater (Fig. 3). In the case of PFBA, PFHxA and PFHpA, retention in the membrane seemed to be matrix dependent, as no loss of the analytes occurred in experiments using Milli-Q water. The results suggest that short-chain PFCA interacted with some matrix components (probably colloids, more likely dissolved organic matter), boosting their retention with the nylon membranes. For PFOA and PFUnA, retention in filters occurred despite the matrix composition. Such behavior is attributable to the high hydrophobicity of the organic molecules, which favors their migration from water to the filter. Previous studies have reported high losses of long-chain PFCA when wastewater is filtered using PTFE membranes (95% of the total mass of PFUnA retained by the membrane), while lower losses have been observed in glass and polyether sulfone filters (below 10% of the total mass) (Chandramouli et al., 2015). In this study, the retention of PFUnA by the untreated nylon membranes was 30–35%, and the loss of analyte was reduced to 25% when pre-treated filters were used. Pre-treatment of nylon membranes efficiently reduced the loss of analytes in the filtration step, especially for PFOA and PFUnA. No difference in the retention of PFCA was observed when raw and treated wastewater were compared (Fig. 3), suggesting that suspended solids have little to no influence in the loss of analyte in the filtration step.



**Fig. 3.** Retention of the target PFCA in nylon membranes during the filtration step using Milli-Q water, raw and treated wastewater. Comparison in the loss of analyte was carried out using pre-treated and non-treated nylon membranes. Pre-treatment consisted of immersion of the filters in wastewater samples for 24 h.

Given the high volatility of the short-chain PFCA (Wang et al., 2021), the potential loss of analyte in the evaporation step was studied by treating wastewater samples, spiked with the mixture of the analytes ( $100 \text{ ng L}^{-1}$ , each one), as described in Section 2.4 and using two different flows of ultra-high purity  $\text{N}_2$  ( $5$  and  $30 \text{ mL min}^{-1}$ ) in the evaporation step. High recoveries were obtained when gentle evaporation ( $5 \text{ mL min}^{-1}$ ) was carried out, resulting in recoveries of 95.7% for PFBA, 100.3% for PFHxA, 87.7% for PFHpA, 96.6% for PFOA, and 99.5% for PFUnA. On the other hand, the recovery of PFBA significantly dropped (78.7%) when higher  $\text{N}_2$  flow rate was used in the evaporation step, whereas a lower decrement was observed for PFHxA (93.2%). Recovery rates were maintained for long-chain PFCA even when high  $\text{N}_2$  flow rates were used in the evaporation step (Table S4), which was attributed to the low volatility of these molecules.

The losses of analyte occurring during the filtration and evaporation steps were accounted in the calculation of the target PFCA concentration in wastewater samples.

### 3.2. Occurrence and distribution of the target PFCA in Mexico City's sewage

The mean concentrations of the target PFCA found in Mexico City's wastewater throughout the monitoring campaign are shown in Fig. 4. For the Central Emitter (tunneled sewerage), the sum of the concentrations of the perfluorinated carboxylic acids ( $\Sigma\text{PFCA}$ ) was significantly lower than that observed in wastewater from the first sampling point (WWC1) in the Gran Canal ( $419.4 \text{ ng L}^{-1}$  and  $591.1 \text{ ng L}^{-1}$ , respectively,  $p$ -value  $< 0.05$ ). PFBA and PFHxA presented the highest levels in both sites, whereas the concentrations of PFOA and PFUnA were significantly lower in the Central Emitter ( $p$ -value  $< 0.05$ , see Tables S5 and S6). The

levels of the former resulted 2.5 times higher in Gran Canal, while the concentrations of PFUnA in wastewater from Gran Canal were 3.4 times higher than those found in Central Emitter. Lastly, the concentration of PFHpA was lower in the Gran Canal compared to Central Emitter ( $97.7 \text{ ng L}^{-1}$  vis-à-vis  $75.1 \text{ ng L}^{-1}$ ). The aforementioned behavior was consistent throughout the monitoring campaign, which occurred during the rainy season in Mexico City.

The concentrations of the target PFCA found herein resulted quite higher than those observed in municipal wastewater from Swedish urbanizations, with levels ranging from  $19$  to  $23 \text{ ng L}^{-1}$  (Eriksson et al., 2017). Moreover, the loadings of PFCA reported in urban wastewater from Australia (Coggan et al., 2019; Nguyen et al., 2019), Jordan (Shigei et al., 2020) and economically developed cities in China (Zhang et al., 2013) resulted lower than those found in Mexico City's wastewater. The concentration of long-chain perfluoroalkyl substances ( $C \geq 8$ ) was significantly lower than those of PFBA and PFHxA, evidencing the phasing out of PFOA and PFUnA that started in the 1990 decade (Buck et al., 2011; Hamid et al., 2018). Still, the concentrations of PFOA and PFUnA in Mexico City's sewage were remarkably higher than those reported in wastewater samples from the EU (Eriksson et al., 2017), the United States (Appleman et al., 2014; Houtz et al., 2016) and South Asian countries (Seo et al., 2019), which fell within the range of  $0.2$  to  $70 \text{ ng L}^{-1}$  (Phong Vo et al., 2020). The levels of long-chain PFCA observed in this study were comparable with that found in wastewater from overpopulated and heavily polluted regions in China (Chen et al., 2018; Sun et al., 2012), Korea (Kim et al., 2016), Thailand (Kunacheva et al., 2011) and Taiwan (Lin et al., 2010), where levels ranging from  $92$  to  $170 \text{ ng L}^{-1}$  have been reported for PFOA, and from  $10$  to  $143 \text{ ng L}^{-1}$  for PFUnA. Undoubtedly, the concentrations of PFCA in

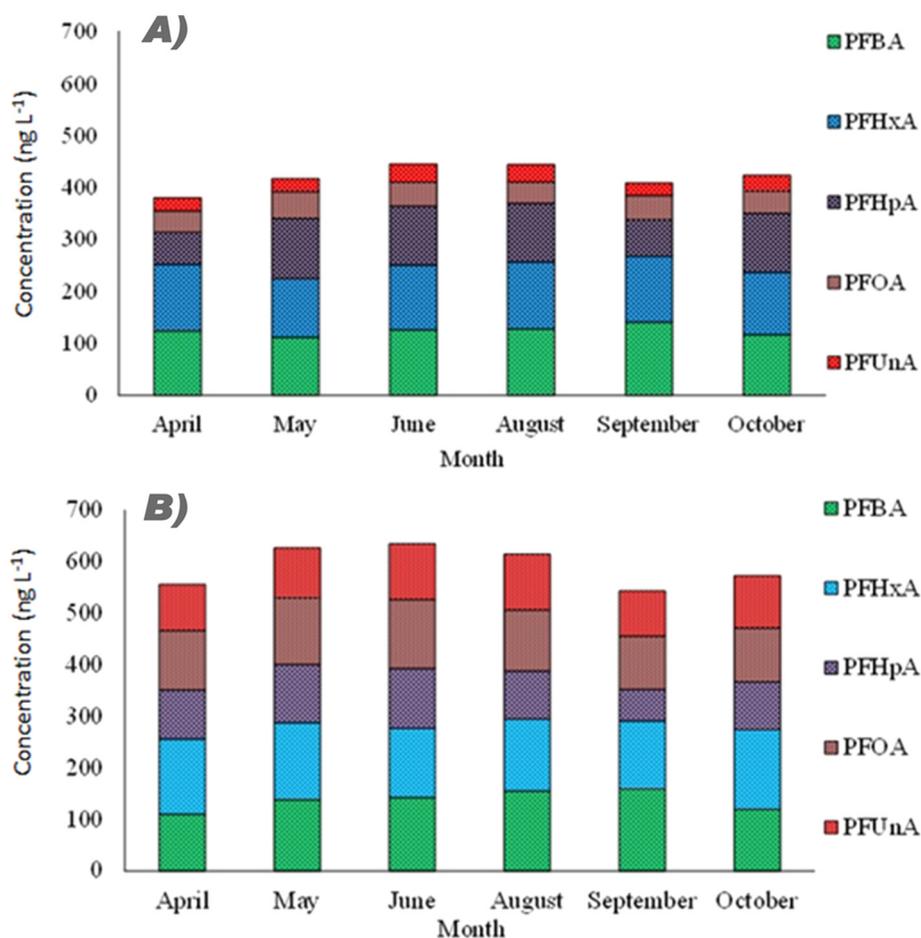


Fig. 4. Mean concentrations of the target PFCA in Mexico City's sewage a) Central Emitter, and b) Gran Canal. The bars represent the average of the concentrations obtained throughout the monitoring study.

Mexico City's sewage are noticeably high, and these levels can only be surpassed (10 to 1000 fold) by those found in surface water directly receiving sewage discharges from the mega-fluorochemical industrial park in China (Liu et al., 2016; Wang et al., 2016), in the surroundings of the biggest fluorochemical manufacture facilities in Europe (Dauchy et al., 2017) or in leachates from landfills (Yin et al., 2017).

### 3.3. Distribution of PFCA in wastewater from Gran Canal and irrigation water

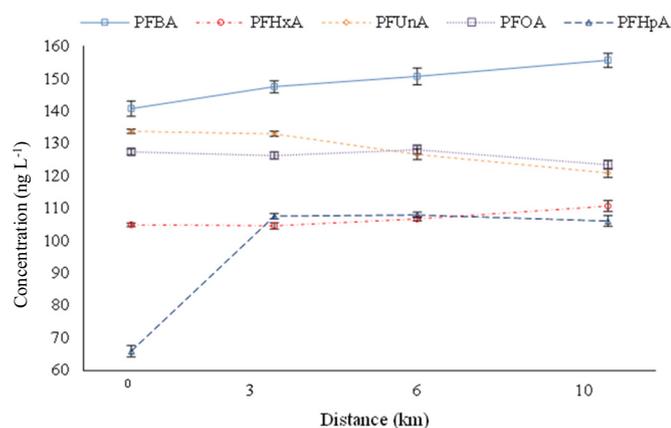
The variation in the mean concentration of target PFCA along the first 10 km of the Gran Canal (WWC1–WWC4) was determined on a monthly basis (see Table S5). This section of the canal was selected for monitoring because of its location immersed in an urban and highly industrialized area of Mexico City, where raw and treated wastewater streams are directly disposed into the waterway. The concentration of the  $\Sigma$ PFCA was  $591.1 \pm 3.7 \text{ ng L}^{-1}$  at the first sampling point WWC1, which was consistent throughout the monitoring study. PFBA, PFOA, and PFUnA were the most abundant compounds at this sampling point ( $140.7 \pm 2.4$ ,  $133.7 \pm 0.7$ , and  $127.4 \pm 0.9 \text{ ng L}^{-1}$ , respectively), and a lower contribution of PFHxA and PFHpA was observed ( $105 \pm 0.6$  and  $66 \pm 1.7 \text{ ng L}^{-1}$ ). Unlike the undergrounded sewage in Central Emitter, the Gran Canal receives untreated sewage from 7.9 million inhabitants, with around 40% of the discharges corresponding to industries manufacturing flame retardants, dyes, plastic additives, metal coating, foams and electric devices. It is known that wastewater produced in such processes contains high concentrations of PFCA and their precursors (Kim et al., 2016; Prevedouros et al., 2006; Wang et al., 2014). Factories discharging wastewater in the Gran Canal are diverse in size and some discharges are not regulated, hindering any effort to calculate the mass flow either of the  $\Sigma$ PFCA or the contribution of the single compounds. The best approach achieved in this study was to determine the changes in the concentration of the target PFCA in the transected section, assuming that any increase in the loading of the pollutants was caused by the contributions of sewage discharges, some of them furtive. From the first monitoring point in the Gran Canal to the end of the transected section (10 km downstream), variations in the concentrations of the target PFCA were observed with a steady increase for the short-chain compounds and the opposite for the long-chain PFCA. The concentration of PFBA rose almost 10% from WWC1 to WWC4, while the increment for PFHxA was only 5%, and for PFHpA the concentration increased nearly 40%. On the contrary, the levels of PFOA and PFUnA decreased downstream in a proportion of 3.5 and 9.5%, respectively (Fig. 5). The upward trend in the concentration of short-chain PFCA reveals the contributions of industrial sewage, with a decreasing use of long-chain PFCA, resulting in the dilution of PFOA

and PFUnA. The sudden leap of the PFHpA concentration in the first transect (from WWC1 to WWC2) was consistently observed all over the monitoring campaign (from April to October 2019) and suggests a very specific type of wastewater being discharged in the surroundings of the sampling points. Local records indicate discharges of two important fluorochemical industries along with other 40 industries, including paper, textiles, food packaging and cleaning products. PFHxA and PFHpA have been found in WWTP effluents from paper and textile industries at concentration levels of 180 and  $55 \text{ ng L}^{-1}$ , respectively (Clara et al., 2008; Kim et al., 2016; Phong Vo et al., 2020); therefore, this kind of wastewater would increase the levels of PFHxA in a higher proportion than those of PFHpA. Another source of PFHpA might be the production of PFOA-based Teflon and its ammonium salts (APFO), which results in short-chain PFCA as residues of the synthesis process (Liu et al., 2016; Newton et al., 2017; Shi et al., 2015). Further studies in this zone must expand the list of the target PFCA, including related species, like fluorotelomer compounds and perfluorosulfonic substances.

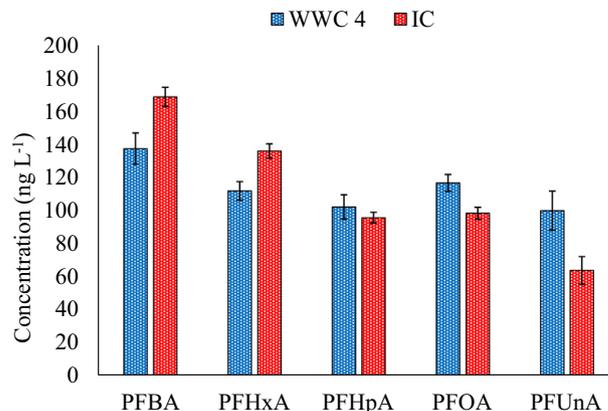
Sixty kilometers downstream, the Gran Canal becomes the Tlamaco-Juandhó irrigation canal (IC), providing with wastewater to croplands in Mezquital Valley. Throughout its path, the main waterway receives several discharges of municipal and industrial wastewater, producing variations in the PFCA concentrations (Tables S7 and S8). The concentration of PFBA rose 11.3%, while for PFHxA the increment was 19.7%. In contrast, the concentrations of PFHpA, PFOA and PFUnA decreased 14.3%, 6.9%, and 26.6%, respectively (Fig. 6). Irrigation of croplands using mid-treated wastewater or effluents of WWTP is an extended practice in drylands in Latin America, the MENA region and sub-Saharan Africa (Kurian et al., 2013; Szabo et al., 2018). Concentrations of the  $\Sigma$ PFCA reported in wastewater irrigation systems in Uganda and Jordan ( $<30 \text{ ng L}^{-1}$ ) are substantially lower to those reported herein (Dalahmeh et al., 2018; Shigei et al., 2020). To the best of the authors' knowledge, this is the first study reporting the concentration of perfluorinated substances in raw wastewater used for agricultural irrigation.

### 3.4. Environmental consequence of the target PFCA in the Latin American largest WWTP

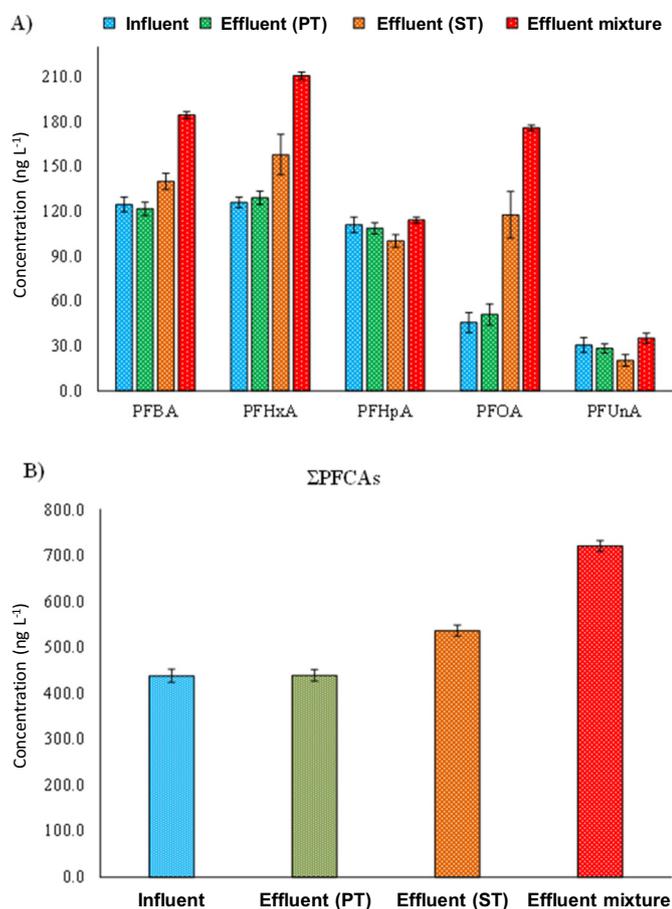
The five PFCA were detected in the influent (sewage from Central Emitter) and effluents of the WWTP each month during the monitoring campaign (Fig. 7 and Table S5). No significant differences in the concentration of the compounds were observed when the influent and the effluent of the primary treatment (PT) were compared ( $p$ -value  $> 0.05$ , Tables S9 and S10), demonstrating the ineffectiveness of the



**Fig. 5.** Mean concentrations of the target PFCA in wastewater along the transected section within the first 10 km of the Gran Canal. Results correspond to the average concentrations obtained throughout the monitoring study.



**Fig. 6.** Concentration variability of the target PFCA in the last sampling point of the Gran Canal (WWC4) and 60 km downstream, in the Irrigation Canal (IC), Mezquital Valley. The bars represent the average concentration throughout the monitoring study (7 months).



**Fig. 7.** Mean concentrations of the target PFCA in WWTP influent, primary effluent (PT), secondary effluent (ST) and the mixture comprised by the two effluents and the CSO, a) concentrations of the single PFCA, and b) concentrations of the  $\Sigma$ PFCA. The bars correspond to the average concentration of each PFCA throughout the monitoring study.

coagulation-flocculation process, using either alum  $-\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3-$  or ferric chloride, to remove perfluorinated compounds (Banks et al., 2020; Bao et al., 2014). When concentrations of PFCA were determined in the effluent of the secondary treatment, significant changes in the levels of the single compounds and the  $\Sigma$ PFCA were observed ( $p$ -value < 0.05). The concentrations of PFBA, PFHxA, and PFOA in the effluent were 11%, 19.8%, and 61% greater than those determined in the influent. In contrast, the concentrations of PFHpA and PFUnA dropped 9.7%, and 33.1%, respectively, in the effluent ( $p$ -value < 0.05).

The enrichment of PFCA in secondary effluents has been widely reported in wastewater treatment facilities around the world (Gallen et al., 2018; Kim et al., 2016; Lin et al., 2010; Shigei et al., 2020; Zhang et al., 2013). This pattern could be attributed to two processes, acting alone or jointly. On one hand, PFCA can be detached from secondary sludge; although desorption of long-chain molecules, like PFOA, has been reported as negligible (Chiavola et al., 2020). On the other hand, the aerobic biodegradation of PFCA precursors, like fluorotelomer alcohols (FTOH), perfluoroalkyl phosphate (PAP) esters and other unknown polyfluorinated precursors, occurring in the activated sludge process results in the generation of stable short-chain alkyl perfluorinated compounds and PFOA (Coggan et al., 2019; Dinglasan et al., 2004; Schultz et al., 2006; Taniyasu et al., 2005; Yan et al., 2015; Zhang et al., 2013). For example, the aerobic biodegradation of 8:2 FTOH and PAP compounds results in the formation of PFOA (Sun et al., 2012). Similarly, the biodegradation of 6:2 polyfluorinated compounds greatly contributes to the generation of PFHxA in secondary treatment systems (Lee et al., 2010). Previous works have tracked the formation of PFHxA through the aerobic biodegradation of 6:2 diPAP, 6:2 fluorotelomer

sulfonic acid (FTSA) and other unknown 6:2 polyfluorinated precursors in activated sludge (Eriksson et al., 2017).

The concentration of PFOA displayed a slight increment in the effluent of the primary treatment (PT), while a clear upward trend was observed in the secondary effluent (ST in Fig. 7). This can be attributed to the reaction of zwitterionic polyfluoroalkyl amide and polyfluoroalkyl sulfonamide compounds with chlorine in the disinfection step (Xiao et al., 2018). This process is probably occurring to other even short-chain PFCA.

Regarding PFUnA, its depletion in effluents can be explained by the adsorption on secondary sludge. It is widely known that the enlargement of the alkyl chain promotes the partition of the molecules onto the suspended solids in wastewater treatment systems (Chandramouli et al., 2015; Elmoznino et al., 2018; Lakshminarasimman et al., 2020; Stahl et al., 2018). In fact, previous studies have estimated the organic-carbon partition coefficient ( $k_{oc}$ ) of PFUnA to secondary sludge and suspended particles as 4.7 and 5.3, respectively (Arvaniti et al., 2014; Elmoznino et al., 2018). In other works, the complete removal of PFUnA from the aqueous phase via the adsorption on suspended solids has been observed, resulting in enriched secondary sludge, with concentrations oscillating from 0.5 to 7.2 ng g<sup>-1</sup> (Na et al., 2020; Schultz et al., 2006; Zhang et al., 2013). The augmentation of some PFCA in the secondary effluent, along with the inefficient removal in the primary treatment, promoted a significant increase in the  $\Sigma$ PFCA concentration in the mixture comprised by the WWTP effluents and the CSO occurring in the Tula River (see Fig. 2). The concentration of PFCA at this sampling point was as high as  $764 \pm 22.9$  ng L<sup>-1</sup> (Fig. 7b). This is 32.5, 40, and 74% higher than those found in influent for PFBA, PFHxA, and PFOA, respectively. Inversely, no significant difference was observed in the concentrations of PFHpA and PFUnA when the influent, the effluents and the mixture (effluents + CSO) were compared ( $p$ -value > 0.05), evidencing that primary and secondary treatment systems are futile to remove these pollutants. Based on the monitoring results, WWTP can be considered as an additional source of short-chain PFCA to the rural environment, where wastewater is reutilized for agricultural irrigation, posing risks on crop consumers (Hu et al., 2016; Liu et al., 2016; Schultz et al., 2006).

#### 4. Conclusions

Five perfluoroalkyl carboxylic acids, PFBA, PFHxA, PFHpA, PFOA and PFUnA, were persistently found in Mexico City's wastewater throughout the rainy season (April to October) in 2019, at concentration levels of tens to hundred nanograms per liter. The concentration pattern was consistent over the time in the two main wastewater outfalls of Mexico City, the tunneled Central Emitter and the open-air canal Gran Canal, even when the latter receives municipal and industrial wastewater discharges along its way. Mexico City is partially complying the phasing out of the long-chain perfluorinated organic substances since PFBA, PFHxA and PFHpA are the most abundant components in the  $\Sigma$ PFCA, while concentrations of PFOA and PFUnA remain low in wastewater.

Conventional wastewater treatment systems are unable to remove the target PFCA through the coagulation-flocculation-filtration process, while activated sludge act as a source of short-chain PFCA in the effluent. It is highly possible that disinfection contributes to the enrichment of PFCA in the WWTP effluent. Perfluorinated alkyl substances migrate from urban to rural zones through the reuse of Mexico City's wastewater (treated and untreated) in agricultural irrigation in Mezquital Valley, posing risks on the farmers, the crop consumers and most likely the groundwater. It is necessary that further monitoring studies widen the list of the target perfluoroalkyl substances, including perfluoroalkyl sulfates, fluorotelomers alcohols, among others. Also, the environmental fate of perfluorinated alkyl substances and related molecules must be studied in the Mezquital Valley wastewater irrigation system, integrating wastewater, soil, plants, consumers and groundwater, in order to estimate the environmental and health risks associated to such substances.

## CRediT authorship contribution statement

**Mario Rodríguez-Varela:** Methodology, Writing - Original draft preparation. **Juan C. Durán-Álvarez:** Investigation, Writing - Original draft preparation and Editing. **Blanca Jiménez-Cisneros:** Conceptualization, Writing. **Olivia Zamora:** Methodology, Data curation. **Blanca Prado:** Conceptualization, Writing - Original draft preparation, Supervision.

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## Acknowledgements

The authors would like to thank for the financial support provided by Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA-UNAM) and SEP-CONACYT-AUIES-ECOS-NORD Francia through projects PAPIIT IV100218, PAPIIT IV200321 and FONCICYT 296672, respectively. M Sc. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela (CVU 662871) gratefully acknowledges CONACYT for his PhD Scholarship.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145060>.

## References

- Antignac, J.P., Veyrand, B., Kadar, H., Marchand, P., Oleko, A., Bizec, B. Le, Vandentorren, S., 2013. Occurrence of perfluorinated alkylated substances in breast milk of French women and relation with socio-demographical and clinical parameters: results of the ELFE pilot study. *Chemosphere* 91, 802–808. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.088>.
- Appelman, T.D., Higgins, C.P., Quiñones, O., Vanderford, B.J., Kolstad, C., Zeigler-Holady, J.C., Dickenson, E.R.V., 2014. Treatment of poly- and perfluoroalkyl substances in U.S. full-scale water treatment systems. *Water Res.* 51, 246–255. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.067>.
- Arvaniti, O.S., Andersen, H.R., Thomaidis, N.S., Stasinakis, A.S., 2014. Sorption of perfluorinated compounds onto different types of sewage sludge and assessment of its importance during wastewater treatment. *Chemosphere* 111, 405–411. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.087>.
- Banks, D., Jun, B., Heo, J., Her, N., Min Park, C., 2020. Selected advanced water treatment technologies for perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances: a review. *Sep. Purif. Technol.* 231, 115929. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.115929>.
- Bao, Y., Niu, J., Xu, Z., Gao, D., Shi, J., Sun, X., Huang, Q., 2014. Removal of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) from water by coagulation: mechanisms and influencing factors. *J. Colloid Interface Sci.* 434, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.07.041>.
- Becker, A.M., Gerstmann, S., Frank, H., 2008. Perfluorooctane surfactants in waste waters, the major source of river pollution. *Chemosphere* 72, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.01.009>.
- Boone, J.S., Guan, B., Vigo, C., Boone, T., Byrne, C., Ferrario, J., 2014. A method for the analysis of perfluorinated compounds in environmental and drinking waters and the determination of their lowest concentration minimal reporting levels. *J. Chromatogr. A* 1345, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.001>.
- Bossi, R., Dam, M., Rigé, F.F., 2015. Perfluorinated alkyl substances (PFAS) in terrestrial environments in Greenland and Faroe Islands. *Chemosphere* 129, 164–169. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.044>.
- Buck, R.C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J.M., Cousins, I.T., Voogt, P. De, Jensen, A.A., Kannan, K., Mabury, S.A., van Leeuwen, S.P.J., 2011. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 513–541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>.
- Cai, M., Yang, H., Xie, Z., Zhao, Z., Wang, F., Lu, Z., Sturm, R., Ebinghaus, R., 2012. Per- and polyfluoroalkyl substances in snow, lake, surface runoff water and coastal seawater in Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *J. Hazard. Mater.* 209–210, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.01.030>.
- CEC, 2017. Furthering the understanding of the migration of chemicals from consumer products. A study of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Clothing, Apparel, and Children's Items.
- Chamizo-Checa, S., Otazo-Sánchez, E., Gordillo-Martínez, A., Suárez-Sánchez, J., González-Ramírez, C., Muñoz-Nava, H., 2020. Megacity wastewater poured into a nearby basin: looking for sustainable scenarios in a case study. *Water (Switzerland)* 12, 1–20. <https://doi.org/10.3390/w12030824>.
- Chandramouli, B., Benskin, J.P., Hamilton, M.C., Cosgrove, J.R., 2015. Sorption of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) on filter media: implications for phase partitioning studies. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 30–36. <https://doi.org/10.1002/etc.2751>.
- Chávez, A., Maya, C., Gibson, R., Jiménez, B., 2011. The removal of microorganisms and organic micropollutants from wastewater during infiltration to aquifers after irrigation of farmland in the Tula Valley, Mexico. *Environ. Pollut.* 159, 1354–1362. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.01.008>.
- Chávez, A., Rodas, K., Prado, B., Thompson, R., Jiménez, B., 2012. An evaluation of the effects of changing wastewater irrigation regime for the production of alfalfa (*Medicago sativa*). *Agric. Water Manag.* 113, 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.06.021>.
- Chen, H., Reinhard, M., Nguyen, T.V., You, L., He, Y., Gin, K.Y.H., 2017. Characterization of occurrence, sources and sinks of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in a tropical urban catchment. *Environ. Pollut.* 227, 397–405. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.091>.
- Chen, S., Zhou, Y., Meng, J., Wang, T., 2018. Seasonal and annual variations in removal efficiency of perfluoroalkyl substances by different wastewater treatment processes. *Environ. Pollut.* 242, 2059–2067. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.078>.
- Chen, H., Reinhard, M., Yin, T., Nguyen, T.V., Tran, N.H., Yew-Hoong Gin, K., 2019. Multi-compartment distribution of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in an urban catchment system. *Water Res.* 154, 227–237. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.02.009>.
- Chiavola, A., Di Marcantonio, C., Boni, M.R., Biagioli, S., Frugis, A., Cecchini, G., 2020. Experimental investigation on the perfluorooctanoic and perfluorooctane sulfonic acids fate and behaviour in the activated sludge reactor. *Process. Saf. Environ. Prot.* 134, 406–415. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.11.003>.
- Clara, M., Scheffknecht, C., Scharf, S., Weiss, S., Gans, O., 2008. Emissions of perfluorinated alkylated substances (PFAS) from point sources - identification of relevant branches. *Water Sci. Technol.* 58, 59–66. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.641>.
- Coggan, T.L., Moodie, D., Kolobaric, A., Szabo, D., Shimeta, J., Crosbie, N.D., Lee, E., Fernandes, M., Clarke, B.O., 2019. An investigation into per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in nineteen Australian wastewater treatment plants (WWTPs). *Heliyon* 5, e02316. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02316>.
- Dalahmeh, S., Tirgani, S., Komakech, A.J., Niwagaba, C.B., Ahrens, L., 2018. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in water, soil and plants in wetlands and agricultural areas in Kampala, Uganda. *Sci. Total Environ.* 631–632, 660–667. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.024>.
- Dauchy, X., Boiteux, V., Bach, C., Colin, A., Hemard, J., Rosin, C., Munoz, J.F., 2017. Mass flows and fate of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in the wastewater treatment plant of a fluorocarbon manufacturing facility. *Sci. Total Environ.* 576, 549–558. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.130>.
- D'Hollander, W., Herzke, D., Huber, S., Hajslova, J., Pulkrabova, J., Brambilla, G., De Filippis, S.P., Bervoets, L., de Voogt, P., 2015. Occurrence of perfluorinated alkylated substances in cereals, salt, sweets and fruit items collected in four European countries. *Chemosphere* 129, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.011>.
- Dinglasan, M.J.A., Ye, Y., Edwards, E.A., Mabury, S.A., 2004. Fluorotelomer alcohol biodegradation yields poly- and perfluorinated acids. *Environ. Sci. Technol.* 38, 2857–2864. <https://doi.org/10.1021/es0350177>.
- Elmoznino, J., Vlahos, P., Whitney, M., 2018. Occurrence and partitioning behavior of perfluoroalkyl acids in wastewater effluent discharging into the Long Island Sound. *Environ. Pollut.* 243, 453–461. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.076>.
- Eriksson, U., Haglund, P., Kärman, A., 2017. Contribution of precursor compounds to the release of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) from waste water treatment plants (WWTPs). *J. Environ. Sci.* 61, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.05.004>.
- Frömel, T., Knepper, T.P., 2010. Biodegradation of fluorinated alkyl substances. In: De Voogt, P. (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology (Continuation of Residue Reviews)*. Springer, New York, pp. 161–177. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6880-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6880-7_3).
- Gallen, C., Eaglesham, G., Drage, D., Nguyen, T.H., Mueller, J.F., 2018. A mass estimate of perfluoroalkyl substance (PFAS) release from Australian wastewater treatment plants. *Chemosphere* 208, 975–983. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.024>.
- Garg, S., Kumar, P., Mishra, V., Guijt, R., Singh, P., Dum, L.F., Shyam, R., 2020. A review on the sources, occurrence and health risks of per-/poly-fluoroalkyl substances (PFAS) arising from the manufacture and disposal of electric and electronic products. *J. Water Process Eng.* 38, 101683. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101683>.
- Ghisi, R., Vamerali, T., Manzetti, S., 2019. Accumulation of perfluorinated alkyl substances (PFAS) in agricultural plants: a review. *Environ. Res.* 169, 326–341. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.023>.
- Glynn, A., Berger, U., Bignert, A., Ullah, S., Aune, M., Lignell, S., Darnerud, P.O., 2012. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in Sweden: serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996–2010. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9071–9079. <https://doi.org/10.1021/es301168c>.
- Hamid, H., Li, L.Y., Grace, J.R., 2018. Review of the fate and transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. *Environ. Pollut.* 235, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.030>.
- Herzke, D., Huber, S., Bervoets, L., D'Hollander, W., Hajslova, J., Pulkrabova, J., Brambilla, G., De Filippis, S.P., Klenow, S., Heinemeyer, G., de Voogt, P., 2013. Perfluorinated alkylated substances in vegetables collected in four European countries; occurrence and human exposure estimations. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 7930–7939. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1777-8>.
- Heydebreck, F., Tang, J., Xie, Z., Ebinghaus, R., 2015. Alternative and legacy perfluoroalkyl substances: differences between European and Chinese river/estuary systems. *Environ. Sci. Technol.* 49, 8386–8395. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01648>.
- Houtz, E.F., Sutton, R., Park, J.S., Sedlak, M., 2016. Poly- and perfluoroalkyl substances in wastewater: significance of unknown precursors, manufacturing shifts, and

- likely AFFF impacts. *Water Res.* 95, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.055>.
- Hu, X.C., Andrews, D.Q., Lindstrom, A.B., Bruton, T.A., Schaidler, L.A., Grandjean, P., Lohmann, R., Carignan, C.C., Blum, A., Balan, S.A., Higgins, C.P., Sunderland, E.M., 2016. Detection of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in U.S. drinking water linked to industrial sites, military fire training areas, and wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 3, 344–350. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.6b00260>.
- Jahnke, A., Berger, U., 2009. Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices—how do current methods perform? *J. Chromatogr. A* 1216, 410–421. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.08.098>.
- Kaboré, H.A., Vo Duy, S., Munoz, G., Méité, L., Desrosiers, M., Liu, J., Sory, T.K., Sauvé, S., 2018. Worldwide drinking water occurrence and levels of newly-identified perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances. *Sci. Total Environ.* 616–617, 1089–1100. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.210>.
- Kannan, K., Hansen, S., Franson, C., Bowerman, W., Hansen, K., Jones, P., Giesy, J., 2001. Perfluorochemical surfactants in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3065–3070. <https://doi.org/10.1021/es022253t>.
- KEMI, 2015. *Occurrence and Use of Highly Fluorinated Substances and Alternatives (Report from a government assignment)*.
- Kim, H., Seok, H., Kwon, H., Choi, S., Seok, K., Eun, J., 2016. A national discharge load of perfluoroalkyl acids derived from industrial wastewater treatment plants in Korea. *Sci. Total Environ.* 563–564, 530–537. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.077>.
- Krafft, M.P., Riess, J.G., 2015. Selected physicochemical aspects of poly- and perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability—part one. *Chemosphere* 129, 4–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.039>.
- Kunacheva, C., Tanaka, S., Fujii, S., Boontanon, S.K., Musirat, C., Wongwattana, T., Shivakoti, B.R., 2011. Mass flows of perfluorinated compounds (PFCs) in central wastewater treatment plants of industrial zones in Thailand. *Chemosphere* 83, 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.02.059>.
- Kurian, M., Ratna Reddy, V., Dietz, T., Brđjanovic, D., 2013. Wastewater re-use for peri-urban agriculture: a viable option for adaptive water management? *Sustain. Sci.* 8, 47–59. <https://doi.org/10.1007/s11625-012-0178-0>.
- Lakshminarasimman, N., Gewurtz, S.B., Parker, W.J., Smyth, S.A., 2020. Removal and formation of perfluoroalkyl substances in Canadian sludge treatment systems – a mass balance approach. *Sci. Total Environ.* 754, 142431. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142431>.
- Lee, H., Deon, J., Mabury, S.A., 2010. Biodegradation of polyfluoroalkyl phosphates as a source of perfluorinated acids to the environment. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3305–3310. <https://doi.org/10.1021/es9028183>.
- Lescord, G.L., Kidd, K.A., De Silva, A.O., Williamson, M., Spencer, C., Wang, X., Muir, D.C.G., 2015. Perfluorinated and polyfluorinated compounds in lake food webs from the Canadian High Arctic. *Environ. Sci. Technol.* 49, 2694–2702. <https://doi.org/10.1021/es5048649>.
- Lin, A.Y., Panchangam, S.C., Ciou, P., 2010. High levels of perfluorochemicals in Taiwan's wastewater treatment plants and downstream rivers pose great risk to local aquatic ecosystems. *Chemosphere* 80, 1167–1174. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.018>.
- Liu, J., Li, J., Luan, Y., Zhao, Y., Wu, Y., 2009. Geographical distribution of perfluorinated compounds in human blood from Liaoning province, China. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4044–4048. <https://doi.org/10.1021/es9002229>.
- Liu, Z., Lu, Y., Wang, T., Wang, P., Li, Q., Johnson, A.C., Sarvajayakesavalu, S., Sweetman, A.J., 2016. Risk assessment and source identification of perfluoroalkyl acids in surface and ground water: spatial distribution around a mega-fluorochemical industrial park, China. *Environ. Int.* 91, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.02.020>.
- Liu, Z., Lu, Y., Shi, Y., Wang, P., Jones, K., Sweetman, A.J., Johnson, A.C., Zhang, M., Zhou, Y., Lu, X., Su, C., Sarvajayakesavalu, S., Khan, K., 2017. Crop bioaccumulation and human exposure of perfluoroalkyl acids through multi-media transport from a mega fluorochemical industrial park, China. *Environ. Int.* 106, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.05.014>.
- Liu, Y., Ma, L., Yang, Q., Li, G., Zhang, F., 2018. Occurrence and spatial distribution of perfluorinated compounds in groundwater receiving reclaimed water through river bank infiltration. *Chemosphere* 211, 1203–1211. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.028>.
- Magnusson, B., Örnemark, U., 2014. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Second ed.
- Na, S., Hai, R., Wang, X., Li, N., Chen, D., 2020. Concentrations and seasonal variations of perfluorinated compounds in sludge from three wastewater treatment plants in China. *Anal. Lett.* 53, 2400–2412. <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1744161>.
- Newton, S., McMahon, R., Stoeckel, J.A., Chislock, M., Lindstrom, A., Strynar, M., 2017. Novel polyfluorinated compounds identified using high resolution mass spectrometry downstream of manufacturing facilities near Decatur, Alabama. *Environ. Sci. Technol.* 51, 1544–1552. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05330>.
- Nguyen, T.V., Reinhard, M., Chen, H., Gin, K.Y.H., 2016. Fate and transport of perfluoro- and polyfluoroalkyl substances including perfluorooctane sulfonamides in a managed urban water body. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 10382–10392. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6788-9>.
- Nguyen, H.T., Kaserzon, S.L., Thai, P.K., Vijayasathary, S., Bräunig, J., Crosbie, N.D., Bignert, A., Mueller, J.F., 2019. Temporal trends of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the influent of two of the largest wastewater treatment plants in Australia. *Emerg. Contam.* 5, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2019.05.006>.
- Pan, Y., Cui, Q., Wang, J., Sheng, N., Jing, J., Yao, B., Dai, J., 2019. Profiles of emerging and legacy per-/polyfluoroalkyl substances in matched serum and semen samples: new implications for human semen quality. *Environ. Health Perspect.* 127, 1–12. <https://doi.org/10.1289/EHP4431>.
- Peters, F.T., Drummer, O.H., Musshoff, F., 2007. Validation of new methods. *Forensic Sci. Int.* 165, 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2006.05.021>.
- Phong Vo, H.N., Ngo, H.H., Guo, W., Hong Nguyen, T.M., Li, J., Liang, H., Deng, L., Chen, Z., Hang Nguyen, T.A., 2020. Poly-and perfluoroalkyl substances in water and wastewater: a comprehensive review from sources to remediation. *J. Water Process Eng.* 36, 101393. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101393>.
- Pickard, H.M., Crisciello, A.S., Persaud, D., Spencer, C., Muir, D.C.G., Lehnher, I., Sharp, M.J., De Silva, A.O., Young, C.J., 2020. Ice core record of persistent short-chain fluorinated alkyl acids: evidence of the impact from global environmental regulations. *Geophys. Res. Lett.* 47, 1–11. <https://doi.org/10.1029/2020GL087535>.
- Pontius, F., 2019. Regulation of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) in drinking water: a comprehensive review. *Water (Switzerland)* 11. <https://doi.org/10.3390/w11102003>.
- Prevedouros, K., Cousins, I.T., Buck, R.C., Korzeniowski, S.H., 2006. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ. Sci. Technol.* 40, 32–44. <https://doi.org/10.1021/es0512475>.
- Scheringer, M., Trier, X., Cousins, I.T., de Voogt, P., Fletcher, T., Wang, Z., Webster, T.F., 2014. Helsingør statement on poly- and perfluorinated alkyl substances (PFASs). *Chemosphere* 114, 337–339. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.044>.
- Schultz, M.M., Higgins, C.P., Huset, C.A., Luthy, R.G., Barofsky, D.F., Field, J.A., 2006. Fluorochemical mass flows in a municipal wastewater treatment facility. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7350–7357. <https://doi.org/10.1021/es061025m>.
- Schwanz, T.G., Llorca, M., Farré, M., Barceló, D., 2016. Perfluoroalkyl substances assessment in drinking waters from Brazil, France and Spain. *Sci. Total Environ.* 539, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.034>.
- Seo, S.H., Son, M.H., Shin, E.S., Choi, S.D., Chang, Y.S., 2019. Matrix-specific distribution and compositional profiles of perfluoroalkyl substances (PFASs) in multimedia environments. *J. Hazard. Mater.* 364, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.012>.
- Shi, Y., Vestergren, R., Xu, L., Song, X., Niu, X., Zhang, C., Cai, Y., 2015. Characterizing direct emissions of perfluoroalkyl substances from ongoing fluoropolymer production sources: a spatial trend study of Xiaqing River, China. *Environ. Pollut.* 206, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.06.035>.
- Shigei, M., Ahren, L., Hazaymeh, A., Dalahmeh, S.S., 2020. Per- and polyfluoroalkyl substances in water and soil in wastewater-irrigated farmland in Jordan. *Sci. Total Environ.* 716, 137057. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137057>.
- Shoemaker, J., Tetttenhorst, D., 2020. *Method 537.1 Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS)* (Washington, DC).
- Souza, M.C.O., Saraiva, M.C.P., Honda, M., Barbieri, M.A., Bettiol, H., Barbosa, F., Kannan, K., 2020. Exposure to per- and polyfluorinated alkyl substances in pregnant Brazilian women and its association with fetal growth. *Environ. Res.* 187, 109585. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109585>.
- Stahl, T., Gassmann, M., Falk, S., Brunn, H., 2018. Concentrations and distribution patterns of perfluoroalkyl acids in sewage sludge and in biowaste in Hesse, Germany. *J. Agric. Food Chem.* 66, 10147–10153. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03063>.
- Sun, H., Zhang, X., Wang, L., Zhang, T., Li, F., He, N., Alder, A.C., 2012. Perfluoroalkyl compounds in municipal WWTPs in Tianjin, China—concentrations, distribution and mass flow. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 1405–1415. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0727-6>.
- Szabo, D., Coggan, T.L., Robson, T.C., Currell, M., Clarke, B.O., 2018. Investigating recycled water use as a diffuse source of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) to groundwater in Melbourne, Australia. *Sci. Total Environ.* 644, 1409–1417. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.048>.
- Taniyasu, S., Kannan, K., Man, K.S., Gulkowska, A., Sinclair, E., Okazawa, T., Yamashita, N., 2005. Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *J. Chromatogr. A* 1093, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.053>.
- Verreault, J., Berger, U., Gabrielsen, G.W., 2007. Trends of perfluorinated alkyl substances in herring gull eggs from two coastal colonies in northern Norway: 1983–2003. *Environ. Sci. Technol.* 41, 6671–6677. <https://doi.org/10.1021/es070723j>.
- Vested, A., Ramlau-Hansen, C.H., Olsen, S.F., Bonde, J.P., Kristensen, S.L., Halldorsson, T.I., Becher, G., Haug, L.S., Ernst, E.H., Toft, G., 2013. Associations of in utero exposure to perfluorinated alkyl acids with human semen quality and reproductive hormones in adult men. *Environ. Health Perspect.* 121, 453–458. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205118>.
- Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Buck, R.C., Hungerbühler, K., 2014. Global emission inventories for C4–C14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, part I: production and emissions from quantifiable sources. *Environ. Int.* 70, 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.013>.
- Wang, P., Lu, Y., Wang, T., Zhu, Z., Li, Q., Meng, J., Su, H., Johnson, A.C., Sweetman, A.J., 2016. Coupled production and emission of short chain perfluoroalkyl acids from a fast developing fluorochemical industry: evidence from yearly and seasonal monitoring in Daling River Basin, China. *Environ. Pollut.* 218, 1234–1244. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.079>.
- Wang, Y., Zhong, Y., Li, J., Zhang, J., Lyu, B., Zhao, Y., Wu, Y., 2018. Occurrence of perfluoroalkyl substances in matched human serum, urine, hair and nail. *J. Environ. Sci. (China)* 67, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.08.017>.
- Wang, P., Zhang, M., Li, Q., Lu, Y., 2021. Atmospheric diffusion of perfluoroalkyl acids emitted from fluorochemical industry and its associated health risks. *Environ. Int.* 146, 106247. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106247>.
- Xiao, F., Hanson, R.A., Golovko, S.A., Golovko, M.Y., Arnold, W.A., 2018. PFOA and PFOS are generated from zwitterionic and cationic precursor compounds during water

- disinfection with chlorine or ozone. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 5, 382–388. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.8b00266>.
- Xu, F., Chen, D., Liu, X., Guan, Q., Tan, H., Zhou, D., Shi, Y., Liu, J., Hu, Y., 2020. Emerging and legacy per- and polyfluoroalkyl substances in house dust from South China: contamination status and human exposure assessment. *Environ. Res.* 192, 110243. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110243>.
- Yan, H., Cousins, I.T., Zhang, C., Zhou, Q., 2015. Perfluoroalkyl acids in municipal landfill leachates from China: occurrence, fate during leachate treatment and potential impact on groundwater. *Sci. Total Environ.* 524–525, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.111>.
- Yin, T., Chen, H., Reinhard, M., Yi, X., He, Y., Gin, K.Y.H., 2017. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances removal in a full-scale tropical constructed wetland system treating landfill leachate. *Water Res.* 125, 418–426. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.071>.
- Zhang, W., Zhang, Y., Taniyasu, S., Yeung, L.W.Y., Lam, P.K.S., Wang, J., Li, X., Yamashita, N., Dai, J., 2013. Distribution and fate of perfluoroalkyl substances in municipal wastewater treatment plants in economically developed areas of China. *Environ. Pollut.* 176, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.12.019>.