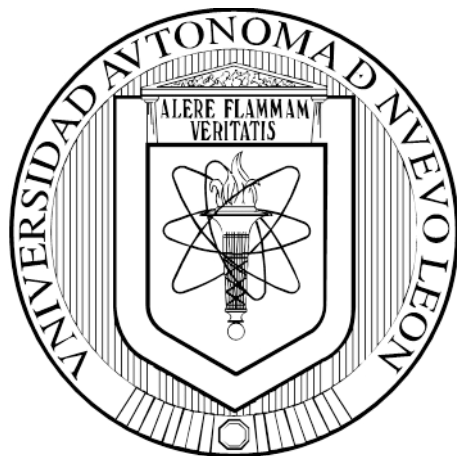


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**EVALUACIÓN DEL BIS(TRIFLUOROMETILSULFONIL)IMIDA DE
TRIETILSULFONIO COMO RECUBRIMIENTO DE FIBRAS DE
MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA EXTRACCIÓN DE
CONTAMINANTES EMERGENTES**

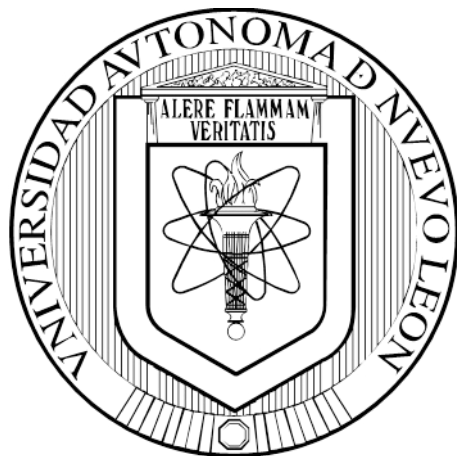
POR

Q.C.B. ROBERTO ANTONIO ORTIZ TREVIÑO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN
EN QUÍMICA BIOMÉDICA**

OCTUBRE, 2018

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA**



**EVALUACIÓN DEL BIS(TRIFLUOROMETILSULFONIL)IMIDA DE
TRIEETILSULFONIO COMO RECUBRIMIENTO DE FIBRAS DE
MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA EXTRACCIÓN DE
CONTAMINANTES EMERGENTES**

POR

Q.C.B. ROBERTO ANTONIO ORTIZ TREVIÑO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN
EN QUÍMICA BIOMÉDICA**

OCTUBRE, 2018

**EVALUACIÓN DEL BIS(TRIFLUOROMETILSULFONIL)IMIDA DE
TRJETILSULFONIO COMO RECUBRIMIENTO DE FIBRAS DE
MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA EXTRACCIÓN DE
CONTAMINANTES EMERGENTES**

Aprobación de la Tesis:



Dra. C. Marsela Garza Tapia
Director de Tesis



Dra. C. Rocío Castro Ríos
Codirector de Tesis



Dr. C. Abelardo Chávez Montes
Miembro de Tesis



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

“Aquel que se atreve a desperdiciar una hora de tiempo, no ha descubierto el valor de la vida”.

Charles Darwin

DEDICATORIA

A mi familia y amigos.

Por estar siempre conmigo y levantar mis ánimos cuando más lo requería.

AGRADECIMIENTOS

**EVALUACIÓN DEL BIS(TRIFLUOROMETILSULFONIL)IMIDA DE
TRIEILSULFONIO COMO RECUBRIMIENTO DE FIBRAS DE
MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA EXTRACCIÓN DE
CONTAMINANTES EMERGENTES**

Presentado por:

Q. C. B. Roberto Antonio Ortiz Treviño

Este trabajo se realizó en los Laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina y estuvo bajo la dirección de la Dra. Marsela Garza Tapia, la codirección de la Dra. Rocío Castro Ríos y como parte de la comisión de tesis el Dr. Abelardo Chávez Montes.

DIRECTORA



Dra. C. Marsela Garza Tapia

Resumen

Q.C.B. Roberto Antonio Ortiz Treviño

Fecha de graduación: Octubre 2018

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina.

Título de Estudio: EVALUACIÓN DEL BIS(TRIFLUOROMETILSULFONIL)IMIDA DE TRIETILSULFONIO COMO RECUBRIMIENTO DE FIBRAS DE MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA PARA LA EXTRACCIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES.

Número de páginas:

Candidato para el grado de Maestro en Ciencias con Orientación en Química Biomédica.

Área de estudio: Química Biomédica

Propósito y Método de estudio:

La Microextracción en Fase Sólida (SPME) ha sido ampliamente utilizada debido a los bajos volúmenes de muestra y de disolventes que emplea, sin embargo, los recubrimientos comerciales presentan algunos inconvenientes como dificultad para extraer compuestos altamente hidrofílicos y deterioro al ser expuestos a matrices acuosas en procesos por inmersión directa. Debido a esto nuevos recubrimientos han sido desarrollados, entre los cuales destacan los fabricados en base a líquidos iónicos (IL's), sus propiedades fisicoquímicas y su capacidad como solventes de extracción para diferentes tipos de compuestos han permitido considerarlos como posibles recubrimientos para fibras de SPME, para ser utilizadas por inmersión directa en matrices acuosas.

En este trabajo se presenta el desarrollo de una fibra de SPME empleando una mezcla conformada por el bis(trifluorometilsulfonil)imida de trietilsulfonio (Set3-NTf₂) y un adhesivo, dicha mezcla fue empleada como recubrimiento sobre un soporte metálico. La fibra desarrollada fue probada en la extracción de 8 contaminantes emergentes: metformina, cafeína, benzofenona-4, metilparabeno, propilparabeno, naproxeno, diclofenaco y benzofenona – 3.

Contribuciones y Conclusiones:

Se desarrolló una fibra de SPME recubierta por la mezcla de silicón líquido (Pelikan) y Set3-NTf₂; dicha fibra fue capaz de extraer 5 de los 8 contaminantes emergentes empleados como analitos modelo (metilparabeno, propilparabeno, naproxeno, diclofenaco y benzofenona-3), los cuales son los compuestos más hidrofóbicos de la mezcla de EC's analizada y fue demostrado que la fibra desarrollada con la mezcla pegamento/líquido iónico presenta una mayor eficiencia de extracción en comparación a las fibras recubiertas únicamente con pegamento.

ÍNDICE

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Técnicas de Preparación de Muestra	1
1.2 Microextracción en Fase Sólida	2
1.2.1 Proceso de SPME.....	3
1.2.2 Recubrimientos de SPME.....	6
1.3 Líquidos Iónicos	8
1.3.1 Bis(trifluorometilsulfonil)imida de Trietilsulfonio.....	10
1.3.2 Líquidos Iónicos como Recubrimientos de SPME.....	11
1.4 Contaminantes Emergentes	14
1.4.1 Regulación de los Contaminantes Emergentes.....	15
1.4.2 Métodos para el Análisis de los EC's	16
1.5 Analitos Modelo	24
CAPITULO 2. JUSTIFICACIÓN	26
CAPITULO 3. OBJETIVO GENERAL	28
CAPITULO 4. OBJETIVOS ESPECIFICOS	29
CAPITULO 5. MATERIAL Y MÉTODOS	30
5.1 Reactivos.....	30
5.1.1 Estándares de Contaminantes Emergentes	30
5.1.2 Líquido Iónico.....	31
5.1.3 Reactivos Generales.....	31
5.1.4 Pegamentos Empleados	32
5.2 Material de Laboratorio	33
5.3 Equipos	35
5.4 Metodología.....	36
5.4.1 Validación de un Método de Cromatografía de Líquidos para la Cuantificación de los Analitos Modelo	36
5.4.1.1 Linealidad.....	37
5.4.1.2 Exactitud.....	38
5.4.1.3 Precisión	38
5.4.1.4 Límites de Detección y Cuantificación	39
5.4.2 Desarrollo del Proceso de Fabricación de una Fibra de SPME Empleando el Set3-NTf ₂	39
5.4.2.1 Tratamiento del Soporte	39
5.4.2.2 Evaluación de la Solubilidad de la Mezcla de IL/Pegamento	40
5.4.2.3 Recubrimiento de los Alambres Tratados	41
5.4.2.4 Evaluación de la Miscibilidad del IL con Diclorometano (DCM)	42
5.4.2.5 Recubrimiento del Alambre Tratado con la Mezcla de IL/Pegamento/DCM.....	42
5.4.2.6 Evaluación del Proceso de Fabricación.....	43
5.4.2.6.1 Selección de la Longitud de Onda de Máxima Absorción del Set3-NTf ₂	43
5.4.2.6.2 Evaluación de la Resistencia del Recubrimiento	44

5.4.3 Evaluación del Desempeño de la Fibra Desarrollada	45
5.4.3.1 Determinación de la capacidad extractante de las fibras desarrollada	45
5.4.3.2 Evaluación de la Eficiencia de la Extracción	47
CAPITULO 6. RESULTADOS	48
6.1 Validación de un Método de Cromatografía de Líquidos para la Cuantificación de los Analitos Modelo	48
6.2 Desarrollo del Proceso de Fabricación de una Fibra de SPME Empleando el Set3-NTf ₂	50
6.2.1 Evaluación de la Solubilidad de la Mezcla de IL / Pegamento.....	50
6.2.2 Recubrimiento del Alambre Tratado con Set3-NTf ₂	52
6.2.3 Recubrimiento con la Mezcla de IL / Pegamento / DCM.....	56
6.2.4 Evaluación del Proceso de Fabricación	58
6.2.4.1 Selección de la Longitud de Onda de Máxima Absorción del Set3-NTf ₂	58
6.2.4.2 Evaluación de la Resistencia del Recubrimiento por Cromatografía de Líquidos.....	59
6.2.4.3 Evaluación de la Resistencia del Recubrimiento por Espectrometría de Masas.....	63
6.3 Evaluación del Desempeño de la Fibra Desarrollada.....	66
6.3.1 Determinación de la capacidad extractante de las fibras desarrollada	66
6.3.2 Evaluación de la Eficiencia de la Extracción.....	70
CAPITULO 7. DISCUSIÓN	73
7.1 Validación de un Método de Cromatografía de Líquidos para la Cuantificación de los Analitos Modelo	73
7.2 Desarrollo del Proceso de Fabricación de una Fibra de SPME Empleando el Set3-NTf ₂	75
7.2.1 Recubrimiento del Alambre Tratado con Set3-NTf ₂	75
7.3 Evaluación del Proceso de Fabricación.....	77
7.3.1 Selección de la Longitud de Onda de Máxima Absorción.....	77
7.3.2 Evaluación de la Resistencia del Recubrimiento por Cromatografía de Líquidos	78
7.3.3 Evaluación de la Resistencia del Recubrimiento por Espectrometría de Masas	79
7.4 Evaluación de la Capacidad Extractante de las Fibras Desarrolladas	80
7.4.1 Determinación de la Capacidad Extractante de las Fibras Desarrolladas.....	80
7.4.2 Evaluación de la Eficiencia de la Extracción.....	83
CAPITULO 8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	85
8.1 Conclusiones.....	85
8.2 Perspectivas	86
CAPITULO 9. BIBLIOGRAFIA.....	87

LISTA DE TABLAS

Tabla	Nombre	Página
1	Guía de Selección de una Fibra para SPME, Supelco	7
2	IL's como Recubrimientos de SPME	13
3	Aplicaciones de la SPME en la Extracción de EC's	17
4	EC's Incluidos en este Estudio	24
5	Condiciones de Análisis por HPLC	36
6	Pegamentos Evaluados	40
7	Mezclas Evaluadas con la Adición de DCM	43
8	Resultados de la Validación del Método de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución para la Cuantificación de los Analitos Modelo	45
9	Método Cromatográfico para la Determinación de IL	49
10	Solubilidad de la Mezcla IL/ Pegamento	51
11	Solubilidad de la Mezcla IL/ Pegamento/ Solvente	52
12	Eficiencia de la Extracción con las Fibras Blanco	71
13	Eficiencia de la Extracción con las Fibras de IL	72

LISTA DE FIGURAS

Figura	Nombre	Página
1	Dispositivo de SPME	3
2. A	Extracción por Inmersión directa	5
2. B	Headspace	5
3. A	Desorción con Solventes (en Línea y Fuera de Línea)	6
3. B	Desorción por Temperatura	6
4	Cationes y Aniones más Frecuentes de los IL's	9
5	Cromatograma de la Mezcla de Mayor Concentración de los Contaminantes Emergentes en la Curva de Calibración	50
6	Recubrimientos de Fibras con la Mezcla de 300 μ L IL + 0.200 g Pegamento	54
7	Recubrimientos de Fibras con la Mezcla de 100 μ L IL + 0.200 g Pegamento	55
8	Recubrimientos Realizados con las Mezclas de IL / Pegamento / DCM	57
9	Espectro de Absorción del Set3-NTf ₂	58
10	Cromatograma de la Solución de Set3-NTf ₂	59
11	Inmersiones en Agua y Agua: Metanol (70: 30)	60
12	Cromatograma del Set3-NTf ₂ en Solución Amortiguadora de pH 3	61
13	Inmersiones en Solución Amortiguadora de pH 3	61
14	Cromatograma del Set3-NTf ₂ en Solución Amortiguadora de pH 9	62
15	Inmersión en Solución Amortiguadora de pH 9	63
16	Espectros de Masas de la Solución de Set3-NTf ₂	64
17	Espectros de Masas de las Soluciones de Inmersión en Agua para las Mezclas con el Pegamento UHU	65
18	Espectros de Masas de las Soluciones de Inmersión en Agua para las Mezclas con el Pegamento Pelikan	65
19	Cromatograma de la Mezcla de los Analitos Modelo a 2 μ g / mL	66
20	Extracciones Realizadas con las Fibras de Pegamento Pelikan vs las Fibras Recubiertas por la Mezcla de Set3-NTf ₂ – DCM – Pelikan	68
21	Comparación entre las Extracciones Realizadas con las Proporciones Evaluadas	69

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
% DER	Porcentaje de desviación estándar relativa
°C	Grados centígrados
μL	Microlitros
BF ₄ ⁻	Tetrafluoroborato
CAR /PDMS	Carboxen /Polidimetilsiloxano
CG-MS	Cromatografía de Gases acoplado a Masas
cm	Centímetro
CW /DVB	Carbowax / Divinilbenceno
CW /TPR	Carbowax / Resina templada
CW	Carbowax
DVB /CAR /PDMS	Divinilbenceno / Carboxen / Polidimetilsiloxano
EC's	Contaminantes emergentes
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
FE	Factor de enriquecimiento
FR	Factor de respuesta
g	Gramos
HPLC-MS/MS	Cromatografía de Líquidos de Alta resolución acoplada a masas en tándem
ID	Inmersión directa
IL	Líquido iónico

LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
Log P	Coefficiente de Partición octanol-agua
m	Pendiente de la curva de calibración
m/z	Masa / Carga
mL	Mililitros
mM	Milimolar
N	Normalidad
nm	Nanómetro
NTf ₂ ⁻	Bis (trifluorometilsulfonil) imida
PA	Poliacrilato
PDMS /DVB	Polidimetilsiloxano / Divinilbenceno
PDMS	Polidimetilsiloxano
PF ₆ ⁻	Hexafluorofosfato
pKa	Constante de acidez
PPCP	Productos farmacéuticos y de cuidado personal
r ²	Coefficiente de determinación
Ref.	Referencia
rpm	Revoluciones por minuto
Set3-NTf ₂	Bis(trifluorometilsulfonil)imida de Trietilsulfonio
SPME – HS	Microextracción en Fase Sólida por Headspace
SPME – ID	Microextracción en Fase Sólida por Inmersión Directa
SPME	Microextracción en Fase Sólida

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Técnicas de Preparación de Muestra.

Los procesos analíticos en muestras complejas conllevan un gran número de pasos, incluyendo el muestreo, tratamiento de la muestra, separación, identificación, cuantificación y procesamiento de datos. Sin embargo, para este tipo de muestras, el pretratamiento es muy importante, debido a que tiene como principales objetivos la preconcentración de los analitos y la eliminación de interferencias existentes en la matriz de la muestra (1,2). Debido a esto, las técnicas de preparación de muestra poseen un papel importante en los procesos analíticos; dentro de las cuales podemos encontrar técnicas exhaustivas y no exhaustivas, las primeras son capaces de extraer completamente los

analitos de la muestra, sin embargo, consumen más recursos; mientras que, las no exhaustivas extraen solo una fracción de los analitos de la muestra (1). Dentro de estas últimas se encuentran las técnicas de preparación de muestra miniaturizadas, las cuales tienden a ser simples y económicas debido a los bajos volúmenes de solvente y muestra que utilizan en comparación a las técnicas clásicas de preparación de muestra como la extracción en fase sólida y la extracción líquido-líquido (3-15).

Las técnicas de microextracción pueden realizarse en fase líquida o en fase sólida, algunas de las técnicas de microextracción en fase líquida más empleadas son: la microextracción en gota (3,4), microextracción con fibra hueca (5,6) y la microextracción líquido-líquido dispersiva (7,8). Mientras que en el caso de la microextracción en fase sólida (SPME por sus siglas en inglés), podemos encontrar a la microextracción de película delgada (9,10), microextracción por adsorción de disco rotatorio (11,12), microextracción por absorción de barra de agitación (12,13), SPME dispersiva y la SPME en fibra (14,15), siendo esta última la más diversificada (11) y en la cual se centra este trabajo.

1.2 Microextracción en Fase Sólida (SPME)

La SPME es una técnica de preparación de muestra no exhaustiva desarrollada a principios de los años 90's por Janusz Pawliszyn y colaboradores; dicha técnica se basa en el equilibrio de partición de los analitos entre la matriz de la muestra y la fase extractante de la fibra (2). La SPME puede ser utilizada para extraer compuestos de

matrices gaseosas, líquidas y sólidas (16–18). Los dispositivos de SPME están conformados por la fibra, las cuales pueden ser de sílice o de acero inoxidable, ambas recubiertas por una fase extractante responsable de la recuperación de los analitos (2) y el sujetador (holder) el cual controla la exposición de la fibra, además de proteger a la misma (19). En la Figura 1, se ilustra el dispositivo utilizado en la SPME.

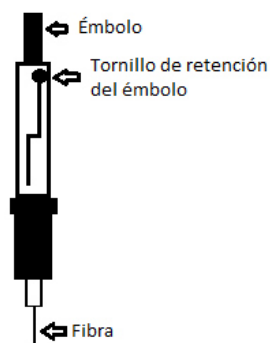


Figura 1. Dispositivo de SPME

Entre las principales ventajas de esta técnica se encuentran el ser una técnica prácticamente libre del uso de solventes (4,16), su rapidez y bajo costo, sin embargo, las fibras de SPME comerciales presentan inconvenientes tales como: fragilidad de la fibra y un escaso número de recubrimientos existentes en el mercado (1,20).

1.2.1 Proceso de SPME.

La SPME se lleva a cabo básicamente en dos etapas: la extracción y la desorción (16–18).

La extracción es el proceso en el cual se genera la partición de los analitos entre la matriz de la muestra y el revestimiento de la fibra; esta es iniciada cuando la fibra es puesta en contacto con los analitos (21) y puede ser llevada a cabo de dos modos distintos, de acuerdo a las características físico-química de los analitos y el estado físico de la muestra; dichas modalidades son: *Inmersión directa (SPME-ID)* y *Headspace (SPME-HS)* (17,18).

En la modalidad de *SPME-ID*, la fibra es expuesta directamente a la matriz de la muestra y es empleada para la extracción de compuestos volátiles y no volátiles en matrices líquidas y gaseosas (17,18). En la Figura 2. A, se muestra un esquema de la forma en que es llevada a cabo la *SPME-ID*.

En cambio en la *SPME-HS*, la fibra es expuesta al espacio aéreo generado entre la muestra y la parte superior del sistema cerrado que la contenga. Dicha modalidad es utilizada para la extracción de analitos volátiles y semi-volátiles presentes en matrices sólidas y líquidas (17,18). En la Figura 2. B, se muestra como el dispositivo de *SPME* expone la fibra al espacio aéreo, una vez transcurrida la extracción, esta se retrae para ser resguardada.

Diferentes parámetros tales como: el tiempo de extracción (13), agitación (14), adición de sales, pH (1,18) y la temperatura (14), pueden tener un efecto significativo en el proceso de extracción por lo que deben ser evaluados para garantizar la mayor eficiencia de la misma.

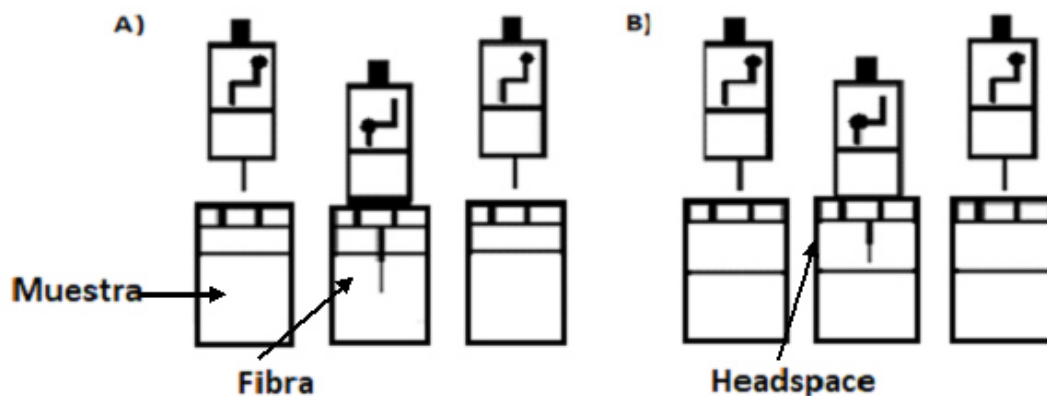


Figura 2. A) Extracción por Inmersión directa (SPME-ID), B) Headspace (SPME-HS).

Por otra parte, **la desorción** es el proceso en el que los analitos recuperados por la fibra son removidos de la misma para su posterior análisis y puede ser llevado a cabo mediante el uso de disolventes o temperatura (17,18).

En la desorción con solventes, pequeñas cantidades de disolvente son utilizados para recuperar a los analitos ab/adsorbidos en la fase extractante; esta a su vez puede ser llevada a cabo de dos formas distintas: la *desorción en línea*, la cual se realiza directamente en el puerto de inyección de un cromatógrafo de líquidos y la *desorción fuera de línea*, en la que la fibra es introducida en el disolvente o mezcla de disolventes previo a su análisis. En la Figura 3. A, se muestra un esquema de los dos tipos de desorción con solventes (17,18).

Por otra parte, la desorción con temperatura es utilizada para recuperar a los analitos volátiles o semivolátiles que fueron extraídos por la fibra (17,18), la cual se lleva a cabo

por exposición de la misma en el inyector del cromatógrafo de gases como se muestra en la Figura 3. B.

Al igual que en la extracción, existen diferentes parámetros que afectan la eficiencia del proceso de desorción, entre los que destacan: el tiempo de desorción (15), temperatura (25), naturaleza y volumen de los disolventes (26), y la agitación (17,18).

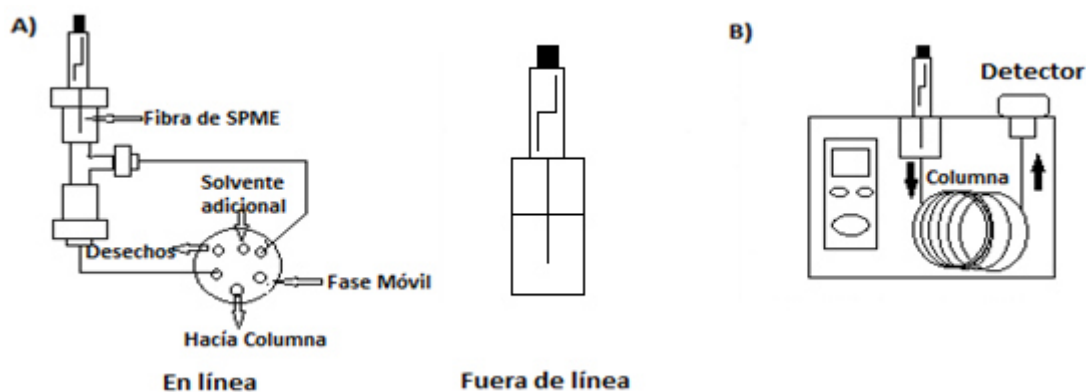


Figura 3. Tipos de Desorción: A) Desorción con Solventes B) Desorción con Temperatura.

1.2.2 Recubrimientos de SPME

Para desarrollar un método de SPME es necesario seleccionar el recubrimiento de la fibra, para esto se debe tomar en cuenta el peso molecular y la polaridad de los analitos, así como también la matriz en la que se encuentra (2); una vez seleccionada la fibra y la

forma en que se llevará a cabo la extracción y desorción, es necesario optimizar las condiciones que garanticen la mayor eficiencia del proceso (2). En la Tabla 1, se presentan los recubrimientos disponibles comercialmente, así como los tipos de analitos que pueden ser extraídos con dichos recubrimientos.

TABLA 1

Guía de Selección para las Fibras de SPME, Supelco (27).

Tipo de Analito	Fibra recomendada
Gases y compuestos de bajo peso molecular	Carboxen/Polidimetilsiloxano
Volátiles	Polidimetilsiloxano
Volátiles, aminas y compuestos nitro-aromáticos	Polidimetilsiloxano/divinilbenceno
Polares semi-volátiles	Poliacrilato
Compuestos no polares de alto peso molecular	Polidimetilsiloxano
No polares semi-volátiles	Polidimetilsiloxano
Alcoholes y compuestos polares	Carbowax
Análisis de compuestos traza	Divinilbenceno/Carboxen en polidimetilsiloxano
Aminas y compuestos polares	Polidimetilsiloxano y divinilbenceno
Compuestos no polares	Octadecilsilano

Los recubrimientos comerciales, además de los inconvenientes antes mencionados, presentan dificultad para extraer analitos altamente hidrofílicos (28) y deterioro del recubrimiento al ser expuestos a matrices acuosas por ID (29,30). Dichas desventajas han llevado a los investigadores a desarrollar nuevos recubrimientos, los cuales se centran en mejorar la estabilidad y selectividad de los mismos (31). Materiales como polímeros molecularmente impresos, nanotubos, polímeros conductivos, grafeno, sílice modificada

(2) y líquidos iónicos (17,18), han sido empleados para generar estos nuevos recubrimientos; el presente trabajo se centra en el uso de líquidos iónicos para el recubrimiento de fibras para SPME-ID.

1.3 Líquidos Iónicos

Los líquidos iónicos (IL's por sus siglas en inglés), son sales líquidas a temperaturas por debajo de 100°C y los cuales están compuestos por un catión orgánico y un anión el cual puede ser orgánico o inorgánico (34). Estas sales presentan propiedades tales como: bajas presiones de vapor, no son inflamables, elevada estabilidad química y térmica y poseen la capacidad de solvatar compuestos de un amplio rango de polaridades (34).

Debido a las propiedades antes mencionadas y al hecho de que pueden ser reutilizados, los IL's han sido denominados "solventes verdes", por lo que son considerados como una alternativa frente a los solventes orgánico-volátiles (35,36); sin embargo, los IL's presentan algunas desventajas como: toxicidades poco conocidas y que no son biodegradables (37).

Existen reportes que indican que los cationes que forman los IL's son los responsables de sus bajos puntos de fusión, además la naturaleza del grupo alquilo de estos, tiene un impacto significativo sobre las propiedades físicas de los IL's como la viscosidad,

densidad y presión de vapor (34). Los cationes más comunes son los basados en imidazolio, piridinio, amonio cuaternario y fosfonio (38).

Por otra parte, la naturaleza de los aniones es considerada la responsable de propiedades físicas como la miscibilidad en los solventes convencionales e higroscopicidad (39). Además, la tensión superficial de los IL's decrece con la reducción del tamaño del anión (40). Los aniones más comunes son: hexafluorofosfato ($[PF_6^-]$), tetrafluoroborato ($[BF_4^-]$) y bis(trifluorometilsulfonyl)imida ($[NTf_2^-]$). Algunos de los cationes y aniones más frecuentes en los IL's se presentan en la Figura 4.

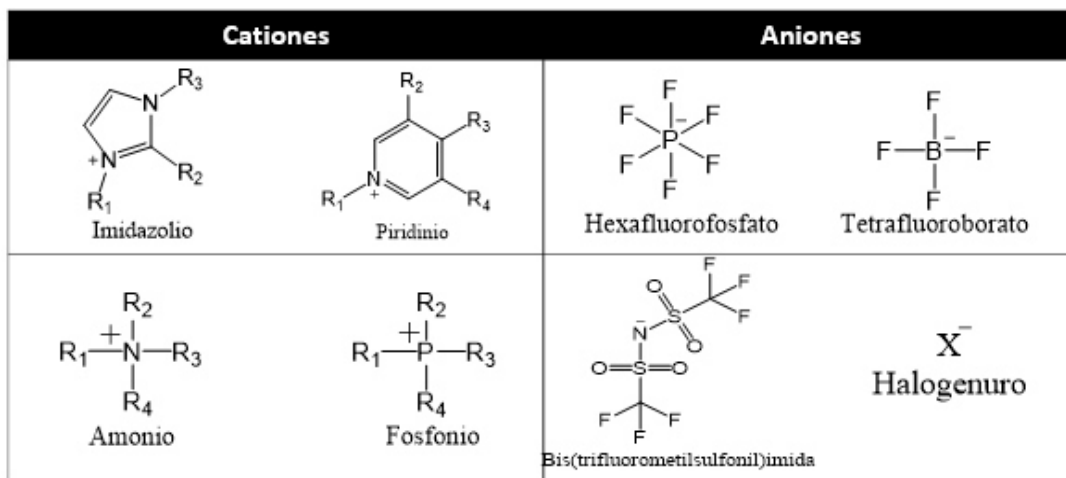


Figura 4. Cationes y Aniones más Frecuentes de los IL's.

La variabilidad de los cationes y aniones de los IL's les permite adaptar sus propiedades físico-químicas además de mejorar la selectividad de los IL's hacia el o los analitos cuando son empleados en procesos de separación (31,32,34). Debido a la amplia variedad de combinaciones posibles entre cationes y aniones, los IL's se han denominado como “solventes de diseño” (31,32,34).

En general, algunas de las aplicaciones en las que han sido utilizados los IL's son, síntesis orgánica, como solventes de extracción (41), síntesis de nanomateriales (42), disolución de polisacáridos (36), antimicrobianos (33) y como recubrimientos de fibras de SPME (33–35). Esto último, debido a que las propiedades físico-químicas como la viscosidad elevada, baja presión de vapor, estabilidad química y térmica, y una miscibilidad variable; permiten generar recubrimientos resistentes y selectivos hacia los analitos (26,43).

1.3.1 Bis (Trifluorometilsulfonil)imida de Trietilsulfonio (Set3-NTf₂).

Los IL's conformados por el anión NTf₂⁻ han ganado importancia en diversas aplicaciones tales como: separaciones (41,45,46) y aplicaciones electroquímicas (47), ya que estos presentan alta estabilidad térmica, alta conductividad iónica y eléctrica, viscosidad elevada y características hidrofóbicas (41,45,46), además, dicho anión ha demostrado ser mejor que el PF₆⁻ en separaciones de iones metálicos tales como el estroncio, debido a que los complejos de solvatación del ion estroncio se estabilizan cuando son solvatados por especies de aniones grandes tales como el NTf₂⁻ (48). Por otra parte, los IL's conformados por el catión Set₃⁺ presentan mayor estabilidad química y electroquímica que los formados por cationes de amonio (38).

El Set3-NTf₂, al estar compuesto por el anión orgánico bis(trifluorometilsulfonil)imida y por el catión trietilsulfonio, posee una viscosidad elevada (49), además de contar con características hidrofóbicas e iónicas a la vez (41). Dicho IL ha sido empleado para mejorar la conductividad de las pilas de litio (47), además de su uso como solvente de extracción de compuestos hidrofílicos en extracciones en fase líquida (41) y como solvente en la captura de CO₂ (50).

Debido a las características anteriormente mencionadas, es posible considerar al Set3-NTf₂ como una buena alternativa para el recubrimiento de fibras de SPME para inmersión directa en matrices acuosas. Cabe mencionar que hasta el momento no se ha encontrado algún reporte en el que el Set3-NTf₂ haya sido empleado como recubrimiento para fibras de SPME, el cual debido a sus características es objeto de estudio en este trabajo como un posible recubrimiento para una fibra de SPME.

1.3.2 Líquidos Iónicos como Recubrimientos de SPME.

Los IL's han sido empleados como recubrimientos de SPME, ya que al ser considerados solventes de diseño, es posible generar recubrimientos para la extracción de los compuestos de interés y con ello mejorar la selectividad y sensibilidad de la extracción (43). Sin embargo, muy pocos IL's han sido empleados como recubrimientos de fibras de SPME y los pocos que se han utilizado se centran en la extracción de compuesto

hidrofóbicos y procesos de SPME-HS (49, 50). En la Tabla 2, se enlistan diferentes aplicaciones en las que se han empleado los líquidos iónicos como recubrimientos de fibras para SPME.

TABLA 2

IL's como Recubrimientos en SPME.

IL	Matriz	Matriz y Analitos	Soporte	Modalidad de SPME	Ref.
*Hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazolio Hexafluorofosfato de 1-etil-3-metilimidazolio Hexafluorofosfato de 1-buti-3-metilimidazolio Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazolio	Agua	Trifenil fosfato, tri-n-butil fosfato, tri(2-cloroetil) fosfato, tripropil fosfato	Alambre de acero inoxidable	Headspace	(51)
Hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazolio	Agua de río	Alquifenol	Alambre de acero inoxidable	Inmersión directa	(26)
Hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazolio	Pintura	Benceno, tolueno, etilbenceno y xileno	Alambre de acero inoxidable y fibras de sílice fundida	Headspace	(44)
Bis (trifluorometano)sulfonilimida de 1-etoxietil-3-metilimidazolio	Orina humana	Metanfetaminas y anfetaminas	Fibras de sílice fundida	Headspace	(43)
Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazolio	Agua	Anilina, N, N-dimetilanilina, 2-cloronilina y 3-cloroanilina	Fibras de sílice fundida	Headspace	(25)

*Líquido iónico seleccionado

Ref.: Referencias

1.4 Contaminantes Emergentes

Los contaminantes emergentes (EC por sus siglas en inglés) son productos químicos o biológicos que no son comúnmente monitoreados en el medio ambiente, los cuales representan una amenaza tanto para la salud, como para el medio ambiente (52,53). Los EC's abarcan una amplia gama de productos químicos, tales como productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP's por sus siglas en inglés), plastificantes, hormonas, retardadores de llama, siloxanos, parafinas cloradas, nanomateriales, radionucleótidos (53,54).

Los EC's son usados ampliamente alrededor del mundo y cada vez su detección en el medio ambiente ha sido más frecuente, ya que ingresan continuamente a este (53,55) debido al uso diversificado de estos compuestos (54) y al hecho de que los tratamientos convencionales de las aguas residuales y de las aguas recicladas sólo es parcialmente eficaz en la eliminación o degradación de los mismos, por lo que al descargar estas aguas tratadas, estos regresan y contaminan indiscriminadamente ríos, lugares recreativos (balnearios y albercas), tierras de cultivo y mares (52).

Algunos reportes han indicado que los contaminantes emergentes presentan diversos efectos tóxicos sobre la salud humana y animal, destacando los efectos neuroendocrinos (54), mutagénicos (56), problemas de reproducción (53,55,57) y resistencia antimicrobiana (58).

Sin embargo, el análisis de EC's se dificulta debido a las concentraciones extremadamente bajas ($\mu\text{g/L}$, ng/L) en las que se encuentran, además del rango amplio de polaridades que presentan los compuestos que integran a los EC's y la complejidad de las matrices en que pueden ser encontrados, tales como: aguas residuales, alimentos, tierras de cultivo, sedimentos, etc. (32,59).

1.4.1 Regulación de los Contaminantes Emergentes.

En nuestro país existen diversas normas que regulan los niveles permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales (60) y agua para uso y consumo humano (61,62). Asimismo, existe una norma que establece una lista de sustancias para ser reportadas en el registro de emisiones y transferencia de contaminantes (63). Sin embargo, no existe una norma o legislación que regule la presencia de EC's en el medio ambiente, agua potable y residual.

En los últimos años, grupos internacionales de investigación, así como instituciones gubernamentales, han dirigido sus esfuerzos para evaluar la calidad ambiental de las descargas de aguas residuales y los posibles efectos sobre los ecosistemas receptores (64). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), publicó la Cuarta Lista de Candidatos a Contaminantes en la cual se incluyen a algunos EC's; destacando los productos farmacéuticos y detergentes. Sin embargo, cabe aclarar que los compuestos dentro de esta lista aún no se encuentran sujetos a ninguna regulación (65–67).

1.4.2 Métodos para el Análisis de los EC's

A lo largo del tiempo distintas metodologías han sido empleadas para el análisis de diferentes grupos de compuestos pertenecientes a los EC's. Debido a que dichos compuestos se encuentran en concentraciones bajas en distintas matrices, es necesario el uso de técnicas de preparación de muestra para la recuperación del o los analitos. Las técnicas mayormente utilizadas son, la extracción en fase sólida (68,69) y la extracción líquido-líquido (70), sin embargo, como se mencionó anteriormente estas metodologías requieren grandes volúmenes de muestra y de disolventes (2); por lo que buscando reducir el tiempo de preparación y el uso de disolventes, algunas técnicas de microextracción como la microextracción líquido-líquido dispersiva (54) y la SPME han sido utilizadas para la extracción de dichos contaminantes emergentes (71-73).

La SPME ha demostrado ser eficaz para extraer y concentrar a los EC's sin la necesidad de requerir grandes volúmenes de muestra y disolventes a comparación de las técnicas de preparación convencionales (71-73). Algunos de los reportes en los que han sido analizados los EC's mediante el uso de SPME se encuentran enlistados en la Tabla 3.

TABLA 3

Aplicaciones de la SPME en la Extracción de EC's.

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Tejido de peces y agua	Atrazina, bisfenol-A, carbamazepina, diclofenaco, fluxetine, genfibrozil, ibuprofeno, naproxeno	Inmersión directa	*PDMS	HPLC-MS/MS	(28)
Suelo	2-clorofenol, 4-clorofenol, 4-cloro-3-metilfenol, 2,4-diclorofenol, 2,3,5-triclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 2,3,4,6-tetraclorofenol, pentaclorofenol	Inmersión directa	*PA	GC-MS	(30)
Agua	Celestolido, fantolido, traseolido, galaxolido, tonalido, octilsalicilato, Octocrileno, 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona y 3-(4-metilbenzilideno) camfor	Inmersión directa	*PDMS	GC-MS	(59)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Agua	Bisfenol A 4-n-nonilfenol 4-tert-octilfenol	Inmersión directa	*CW /TPR -PA -PDMS -CW /DVB	HPLC/ Fluorescencia	(71)
Sedimentos de Río	Ibuprofeno, 2-bencil-4-clorofenol, naproxeno, triclosan, ketoprofeno, diclofenaco, bisfenol A y estrona	Inmersión directa (con posterior derivatización)	*PA	CG-MS	(72)
Agua Residual	Fragancias de almizcle (galaxolido, tonalida, cashmeran, celestolida)	Headspace	*PDMS /DVB	CG-MS	(73)
Agua Residual	Fluoxetina, diazepam, carbamazepina, paroxetina, sertralina	Inmersión directa	*C18 -PDMS	HPLC-MS/MS	(74)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Agua	Etilhexil salicilato, bencil salicilato, homosalato, isoamilmetoxicinamato, Benzofenona-3, 4-metilbencilidenocamfor, mentil antranilato, etocrileno, etilhexil dimetil PABA, 2-etilhexil metoxicinamato, Octocrileno, butil metoxidibenzoil metano, drometrizol trisiloxano, dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato	Headspace	*PA -PDMS /DVB -DVB /CAR /PDMS	GC-MS/MS	(75)
Biosólidos	Triclosan, 2,4-diclorofenol, 2,3,4-triclorofenol, bisfenol A, estrona, 17-β-estradiol, 17-α- etinilestradiol, androsterona, 5-α-androstan-17-β-ol-3-ona y 19-noretindrona	Inmersión directa	-PA	GC-MS	(76)
Agua	Metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, 2,4,6-triclorofenol y triclosan	Headspace	-PA -PDMS -CAR /PDMS -PDMS /DVB *DVB /CAR /PDMS	GC-MS/MS	(77)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Alimentos acuosos	Bisfenol A, bisfenol A diglicidil éter (BADGE), bisfenol F diglicidil éter, bisfenol A bis(3-cloro-2-hidroxipropil) éter (BADGE-2HCl) y sus productos de degradación.	Inmersión directa	-PDMS -PA -PDMS /DVB *CW	HPLC/Fluorescencia	(78)
Aguas residuales	Plastificante N-butilbencenosulfonamida y el producto farmacéutico ibuprofeno	Inmersión directa	*PA	CG-MS	(79)
Agua	Ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, ácido tolfenámico y diclofenaco	Inmersión directa	-PDMS *PA -PDMS /DVB -CAR /PDMS -CW /DVB	CG-MS	(80)
Agua	Triclosan, 2,4-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 3-clorofenol, bisfenol A, ácido mefenámico, gemfibrosil	Inmersión directa	-PA -PDMS -PDMS /DVB *CW /TPR	HPLC/Arreglo de diodos	(81)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Aguas residuales	Naproxeno, diclofenaco sódico, clorhidrato de fluxetina, bromhidrato de citalopram, hidrocloreuro de venlafaxina, hidrocloreuro de imipramina, hidrocloreuro de amitriptilina, trimetoprim, benzafibrato, sal de tartrato de metoprololm lorazepam, diazepam, carbamazepina, torasemida y risperidona	Inmersión directa	-PA -PDMS /DVB *CW /TPR	HPLC-MS	(82)
Agua residual	Alergenos de fragancias (limoneno, linalool, β -citronelol, citral A, citral B, geraniol, trans-cinnamaldehido, hidroxicitronelal, cinamil alcohol, eugenol, coumarin, lilial, liral, bezilbenzoato, galazolido, tonalido, benzilsalicilato y bencilcinamato	Headspace	*PDMS /DVB -DVB /CAR /PDMS	GC-MS	(83)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Agua	Retardadores de llama fenólicos (2-bromofenol (2-BP), 2-bromo-4-metilfenol (2-B-A-MP), 4-bromo-3-metilfenol (4-B-3-MP), 2,4-dibromofenol (2,4-DBP), 2,4,6-tribromofenol (TBP), pentabromofenol (PBP), 3,5,3',5'-tetrabromobisfenol A (TBBPA), 2,6-dibromofenol (2,6-DBP), 3,5,3',5'-tetraclorobisfenol A (TCBPA))	Headspace	-PA -PDMS -CW /DVB *CAR /PDMS -PDMS /DVB	GC-MS	(84)
Agua	Estrona (E1), β -estradiol (E2), 17 α -etinilestradiol (EE), mestranol (MEE), metandrostenolona (MA), 4-androstenediona (ADD), mesterolona (MST), metandriol (MTH), mestanalona (MSL), metilparabeno (MP), cafeína (CAF), etiocholan-3- α -ol-17-ona (EC), adrostenodiol-3-acetato (5-ADD).	Headspace	-PDMS *PDMS /DVB	GC-MS	(85)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Agua de baño de bebés	Pineno, limoneno, linalol, citronellol, citral, geraniol, hidroxicitronellal, eugenol, coumarin, isoeugenol, lilial, farnesol, HCA, bencilbenzoato, bencilsalicilato	Headspace	-PA -PDMS *PDMS /DVB -CAR /PDMS -DVB /CAR /PDMS	GC-MS	(86)
Agua	Ibuprofeno, ácido flufenamico, naproxeno, ácido mefenamico, ácido tolfenamico y ácido meclofenamico	Headspace	*PDMS -PA	GC-MS	(87)
Agua	Hidroxitolueno butilado, galaxolido, aldrin, Benzofenona-3, triclosan, pireno, β-estradiol, beisfenol A, Cloroxilenol, ibuprofeno, Benzofenona, clorofeno, heptacloro, almizcle cetona, naproxeno, ketoprofeno, dietilstilbestrol, estona, benzopireno	Inmersión directa	*PA	GC-MS	(88)

*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

TABLA 3 (Continúa)

Matriz	Analitos	Modalidad de extracción	Recubrimiento de la Fibra	Técnica de Análisis	Ref.
Agua de baño y albercas	2-hidroxi-4-metoxibenzofenona y octildimetil-p-ácido aminobenzoico	Inmersión directa/Headspace	*PA *PDMS -CW /DVB -PDMS /DVB	GC-MS	(89)
Agua residual	Sulfacetamida, sulfadiazina, sulfaguanidina, sulfamerazina, sulfametoxazol, sulfapiridina, sulfasalazina, sulfadimetoxina, sulfametazina y sulfatiazol	Inmersión directa	-PDMS -CW /DVB *CW /TPR -PA -PDMS /DVB	HPLC-MS	(90)

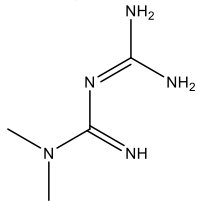
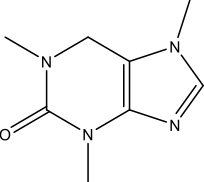
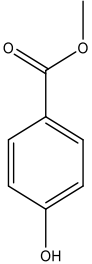
*Recubrimiento seleccionado

Ref.: Referencia

1.5 Analitos Modelo

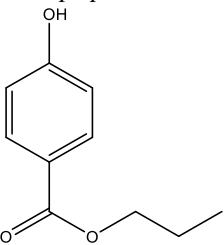
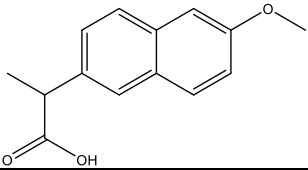
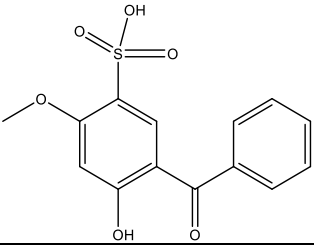
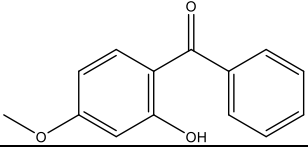
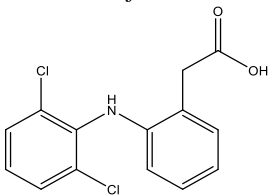
En el presente trabajo los EC's empleados como analitos modelos pertenecen al grupo de los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCP's) y fueron seleccionados para representar al amplio grupo de los EC's, ya que están conformados por compuestos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos. Los compuestos seleccionados se encuentran enlistados en la Tabla 4.

TABLA 4
Analitos Modelo.

Nombre y Estructura	Usos	pKa	Log P	Ref.
<p><i>Metformina</i></p> 	Agente hipoglucémico usado en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II.	12.4	-1.43	(91)
<p><i>Cafeína</i></p> 	Metilxantina estimulante del sistema nervioso central.	14.0	-0.07	(92)
<p><i>Metilparabeno</i></p> 	Agente antimicrobiano, conservador y saborizante.	8.4	1.96	(92)

Ref.: Referencia.

TABLA 4 (Continúa)

Nombre y Estructura	Usos	pKa	Log P	Ref.
<p><i>Propilparabeno</i></p> 	<p>Agente antimicrobiano, conservador y saborizante.</p>	<p>8.5</p>	<p>3.04</p>	<p>(92)</p>
<p><i>Naproxeno</i></p> 	<p>Agente antiinflamatorio con propiedades analgésicas y antipiréticas.</p>	<p>4.15</p>	<p>3.18</p>	<p>(92)</p>
<p><i>Benzofenona 4</i></p> 	<p>Filtro solar</p>	<p>6.3</p>	<p>0.89</p>	<p>(93,94)</p>
<p><i>Benzofenona 3</i></p> 	<p>Agente de protección solar, absorbe los rayos UV-A y UV-B</p>	<p>7.56</p>	<p>3.79</p>	<p>(95)</p>
<p><i>Diclofenaco</i></p> 	<p>Agente antiinflamatorio no esteroideo con acciones antipiréticas y analgésicas.</p>	<p>4.16</p>	<p>4.51</p>	<p>(96)</p>

Ref.: Referencia.

CAPÍTULO 2

JUSTIFICACIÓN

La SPME es una técnica de preparación de muestra rápida y simple, capaz de extraer y concentrar distintos tipos de analitos. Sin embargo, una de sus desventajas es el limitado número de recubrimientos disponibles comercialmente, los cuales en su mayoría presentan dificultad para extraer compuestos hidrofílicos y deterioro al ser expuestos a matrices acuosas por ID.

Debido a sus características fisicoquímicas los IL's han sido útiles como solventes de extracción y se han empleado exitosamente como recubrimientos para SPME; no obstante, las aplicaciones desarrolladas hasta el momento se centran principalmente en compuestos hidrofóbicos y procesos de SPME-HS.

Tomando en cuenta su hidrofobicidad, elevada viscosidad y capacidad extractante para compuestos hidrofílicos, es posible considerar al Set3-NTf₂ como una alternativa en el recubrimiento de fibras para SPME-ID en matrices acuosas.

CAPÍTULO 3

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una fibra de SPME a base de Set3-NTf₂ para la extracción de EC's.

CAPÍTULO 4

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Validar un método de cromatografía de líquidos para la cuantificación de los analitos modelo.
2. Establecer el proceso para la fabricación de una fibra de SPME empleando el Set3-NTf₂.
3. Evaluar el desempeño de la fibra desarrollada.

CAPÍTULO 5

MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Reactivos

5.1.1 Estándares de Contaminantes Emergentes

Benzofenona-3 (2-hidroxi-4-metoxibenzofenona), Sigma Aldrich, 98%

Benzofenona-4 (ácido 5-benzoil-4-hidroxi-2-metoxi-bencensulfónico), Sigma Aldrich ≥
97 %

Cafeína (1,3, 7-trimetilxantina), Sigma Aldrich, Reagent Plus

Diclofenaco (ácido 2-[(2,6-diclorofenil) amino] bencenacético), Sigma Aldrich, 95 %

Metformina (hidrocloruro de 1,1-dimetilbiguanida), Sigma Aldrich, 97%

Metilparabeno (metil-4-hidroxibenzoato), Sigma Aldrich, ≥ 99 %

Naproxeno (ácido (S)-2-metoxi-2-naftil) propanoico), Sigma Aldrich, USP

Propilparabeno (propil-4-hidroxibenzoato), Sigma Aldrich, $\geq 99\%$

5.1.2 Líquido Iónico

Bis(trifluorometilsulfonil)imida de Trietilsulfonio, Sigma-Aldrich, 99 %

5.1.3 Reactivos Generales

Ácido Clorhídrico 12 N, Jalmek, 99.5 %

Ácido Fórmico, Merck, 98 - 100%

Agua Bidestilada, Laboratorios Monterrey

Agua Destilada, Laboratorios Monterrey

Hidróxido de Amonio, Sigma-Aldrich, 28 - 30%

Metanol, J. T. Baker, grado HPLC

Diclorometano, Tedia Company, 99.9 %

Tolueno, Sigma-Aldrich, $\geq 99.5\%$

Hexano, Mallinckrodt Chemicals, 95 %

5.1.4 Pegamentos Empleados

Total Tech, Ceys ®

Sista Silicón F101, Henkel ®

Datey, cemento amarillo, FlowGuard Gold ®

Silicón Líquido, Pelikan ®

Pegamento Universal, UHU ®

Goma, Stafford ®

5.2 Material de Laboratorio

Alambres, American Ortho Tech, # 12

Barras magnéticas 15 x 4.5 mm

Bulbo de tres vías

Bulbos para Pipeta Pasteur

Cristalizador 125 x 65, Pyrex

Discovery HS F5 (2.1 x 150 mm, 5 μm ; Agilent)

Eclipse XDB - C18 (2.1 X 100 mm, 3.5 μm ; Agilent)

Espátulas acanaladas

Filtros de membrana hidrofílicos de nylon, 0.45 μm x 47 mm

Frascos reservorios para la fase móvil de 500 mL con tapa rosca, Schott Duran

Insertos planos de 250 μL

Insertos planos de 500 μL

Matraces de aforación de 10 mL, Pyrex

Matraz de aforación de 100 mL, Pyrex

Matraz de aforación de 25 mL, Pyrex

Matraz de aforación de 500 mL, Pyrex

Microjeringas de 500 μL , Hamilton

Pinzas de tres dedos

Pipeta automática de 100 – 1000 μL , Eppendorf

Pipeta automática de 20 – 200 μL , Eppendorf

Pipeta lineal de 1 mL, Brand

Pipeta volumétrica de 3 mL, Pyrex

Pipeta volumétrica de 5 mL, Pyrex

Pipetas Pasteur

Reservorio para Fase Móvil 500 mL, VWR

Sistema de Filtración al vacío de Millipore.

Soporte Universal

Termómetros -20 a 110 °C, Brannan

Vasos de Precipitado de 100 mL

Viales ámbar 15 mL con tapa de rosca, Supelco

Viales ámbar 40 mL con tapa de rosca, Supelco

Viales de 1 mL con tapas instaladas, premontado para sistemas de disolución, VWR

Viales para Headspace de 10 mL con tapa de rosca, Grace

5.3 Equipos

Balanza Analítica, Pioneer, OHAUS

Balanza Semianalítica, AND GX-200

Baño de Ultrasonido, Brasonic 3510, Branson

Baño Recirculador, HAAKE B3

Bomba de Vacío, Modelo SA55NXGTE-4870, Fisher Scientific

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución, modelo 2695, equipado con desgasificador en línea, bomba cuaternaria, inyector automático, controlador de temperatura de la columna y detector de arreglo de diodos, Waters

Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución, Serie 1100, equipado con desgasificador en línea, bomba cuaternaria, inyector automático, controlador de temperatura de columna y detector UV de longitud de onda variable, Hewlett Packard

Espectrofotómetro UV DU 7500, Beckman

Espectrómetro de masas LCQ Fleet, equipado con fuente de ionización de electrospray y analizador de trampa de iones, Thermo Scientific

Estufa, Shel Lab

Placa de Calentamiento y agitación magnética, Thermo Scientific

Placa de Calentamiento y agitación magnética, VWR

Potenciómetro SensION pH, Hach

Purificador de agua, Pure Lab UHQII, Elga, Veolia

Vórtex Thermolyne Tipo 37600, Barnstead International

5.4 Metodología

5.4.1 Validación de un Método de Cromatografía de Líquidos para la Cuantificación de los Analitos Modelo.

La validación del método de cromatografía de líquidos se realizó utilizando las condiciones desarrolladas previamente por nuestro grupo de trabajo y las cuales se mencionan en la Tabla 5.

TABLA 5

Condiciones de Análisis por HPLC.

Equipo	Cromatógrafo HP 1100		
Columna	Discovery HS F5 (2.1 x 150 mm, 3 µm; Supelco)		
Fase Móvil	Fase A: Solución amortiguadora ácido fórmico-formiato de amonio (40 mM, pH 4)		
	Fase B: Metanol		
Gradiente	Flujo: 0.2 mL/min		
	T (min)	% Metanol	
	15	5	
	5	85	
	5	5	
	15	5	
Temperatura de columna	45 °C		
Volumen de inyección	3 µL		
Longitud de onda	233 nm	270 nm	
	Metformina	Cafeína Metilparabeno Propilparabeno Benzofenona-3 Diclofenaco	Benzofenona-4 Naproxeno Diclofenaco

Los parámetros evaluados fueron linealidad, exactitud, precisión y los límites de detección y de cuantificación. Para la validación del método se prepararon soluciones concentradas de cada estándar a 1000 $\mu\text{g/mL}$ en metanol. Las soluciones de trabajo se prepararon a partir de las soluciones concentradas, encontrándose las soluciones de trabajo en los rangos de concentración de 1 – 25, 1 – 30 y 5 – 80 $\mu\text{g/mL}$ todas disueltas en agua-metanol (70:30).

Los compuestos evaluados en el rango de 1 – 25 $\mu\text{g/mL}$ fueron la benzofenona-4 y el metilparabeno; en el rango de 1 – 30 $\mu\text{g/mL}$ se emplearon el naproxeno y diclofenaco, por último, los compuestos evaluados en el rango de 5 – 80 $\mu\text{g/mL}$ fueron la metformina, cafeína, propilparabeno y la benzofenona – 3.

5.4.1.1 Linealidad.

Se construyó una curva de calibración por estándar externo, utilizando 5 niveles de concentración por triplicado. Se realizó un análisis de regresión empleando las áreas obtenidas de los cromatogramas y de esta manera obtener la ecuación de la recta de la curva de calibración. Además, se calcularon los factores de respuesta (FR) empleando la ecuación 1 y se calculó el porcentaje de desviación estándar relativa (%DER) de los mismos utilizando la ecuación 2. Por último, se evaluaron los coeficientes de correlación y determinación.

$$\text{Ecuación 1} \quad FR = \frac{\text{Área de la señal}}{\text{Concentración del estándar}}$$

$$\text{Ecuación 2} \quad \% DER = \frac{s}{\text{media}} * 100$$

Donde s es la desviación estándar.

5.4.1.2 Exactitud.

La exactitud se evaluó a través de un análisis de correlación entre la concentración calculada de los estándares de calibración versus la concentración real de los mismos. La concentración calculada se obtuvo a partir de la ecuación de la recta de la curva de calibración. A partir del análisis de correlación se evaluaron los valores de la pendiente de la recta, los coeficientes de correlación y de determinación (97).

5.4.1.3 Precisión.

Para evaluar la precisión se empleó el porcentaje de desviación estándar relativa (% DER) de la respuesta de cada nivel de concentración; la **Ecuación 2** fue empleada para calcular el mismo. Como criterio de aceptación, se tomaron valores < 15 % del % DER de acuerdo con la guía de validación de COFEPRIS (98).

5.4.1.4 Límites de detección (LD) y cuantificación (LC).

Los límites de detección y de cuantificación del método se determinaron considerando una relación señal/ruido de 3 y de 10 veces, respectivamente.

5.4.2 Desarrollo del proceso de fabricación de una fibra de SPME empleando el Set3-NTf₂.

5.4.2.1 Tratamiento del Soporte.

Se utilizaron alambres de acero inoxidable de 0.012 pulgadas de diámetro y 36 cm de largo como soporte para la elaboración de las fibras de SPME, dichos alambres fueron cortados en segmentos de 7 cm.

Los alambres de acero cortados se sometieron al tratamiento evaluado previamente por nuestro grupo de trabajo. Para esto se utilizó una solución de ácido clorhídrico 5 N, en la cual se sumergieron 3 cm de los alambres durante 1 hora a 50 °C, posteriormente fueron retirados de la solución ácida para ser sumergidos en agua destilada y puestos en baño de ultrasonido durante 15 min.

5.4.2.2 Evaluación de la Solubilidad de la Mezcla de IL/Pegamento.

La solubilidad de la mezcla del Set3-NTf₂ con los distintos pegamentos utilizados se realizó en viales transparentes de 1 mL. Los pegamentos utilizados se encuentran enlistados en la Tabla 6. Para realizar dichas mezclas primeramente se pesaron 0.200 g de pegamento en balanza semi-analítica para posteriormente añadir 200 µL del Set3-NTf₂, una vez realizado todo lo anterior, las mezclas fueron agitadas en vórtex durante 1 minuto, posteriormente se observó la solubilidad entre los componentes de las mezclas.

TABLA 6

Pegamentos Evaluados.

Pegamentos
Silicón líquido (Pelikan)
Masilla hibrida monocomponente (Ceys)
Silicón (Sista)
Cemento amarillo (Oatey)
Resina sintética (UHU)
Goma (Stanford)

Los pegamentos que resultaron ser solubles con el IL se evaluaron utilizando distintas proporciones de IL; por lo que 100 y 300 µL de IL con 0.200 g de pegamento fueron probados de la misma forma en que se mencionó anteriormente.

Previamente en nuestro laboratorio, se estudió la solubilidad de estos pegamentos en diferentes disolventes, por lo que a los pegamentos que no fueron solubles con el IL se les adicionó 200 μ L del disolvente en los que el pegamento es soluble.

5.4.2.3 Recubrimiento del Alambre Tratado.

Para realizar el recubrimiento de los alambres desgastados, dichos alambres se sumergieron 2.5 cm en la mezcla de IL / Pegamento, empleando los siguientes ciclos de inmersión / tiempo: 1 inmersión / 1 minuto, 3 inmersiones / 1 minuto y 3 inmersiones / 30 segundos.

Los recubrimientos se realizaron con las mezclas que contenían 300 μ L IL + 0.200 g Pegamento, y 100 μ L IL + 0.200 g Pegamento. Una vez recubiertas las fibras, se sometieron a dos ciclos de secado; en el primer ciclo las fibras se secaron verticalmente a temperatura ambiente durante 1 hora y posteriormente se colocaron en la estufa a 40 °C durante media hora.

5.4.2.4 Miscibilidad del IL con Diclorometano (DCM).

La evaluación de la miscibilidad del IL con el DCM se realizó en insertos de 250 μL ; para esto se emplearon 180 μL de IL + 20 μL de DCM, posteriormente la mezcla del IL / DCM se sometió a agitación en vórtex durante 1 minuto, para finalmente poder apreciar la miscibilidad entre los componentes de la mezcla.

5.4.2.5 Recubrimiento del Alambre Tratado con la Mezcla de IL/Pegamento/DCM.

Una vez establecida la miscibilidad entre el IL y el DCM, se realizaron mezclas de IL / Pegamento / DCM en las proporciones mostradas en la Tabla 8, dichas mezclas se homogenizaron y se utilizaron para recubrir los alambres tratados. Los recubrimientos se realizaron utilizando el ciclo de inmersión/tiempo de 3 inmersiones / 30 segundos.

TABLA 7

Mezclas Evaluadas con la Adición de DCM.

Proporciones	Mezcla con adición de DCM
100 μ L de IL + 0.200 g de Pegamento	250 μ L de IL + 250 μ L de DCM + 0.500 g de Pegamento
200 μ L IL + 0.200 g Pegamento	300 μ L de IL +300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento
300 μ L de IL + 0.200 g de Pegamento	450 μ L de IL + 300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento

5.4.2.6 Evaluación del Proceso de Fabricación.

5.4.2.6.1 Selección de la Longitud de Onda de Máxima Absorción del Set3-NTf₂.

Para determinar la longitud de onda de máxima absorción del Set3-NTf₂, se preparó una solución al 12.5 % v/v del Set3-NTf₂ en metanol-agua (60:40); para realizar dichas soluciones se emplearon viales de 2 mL a los que les fue adicionado 250 μ L de IL para posteriormente adicionar metanol: agua (60:40) hasta llevar a un volumen de 2 mL. A la solución del Set3-NTf₂ se le realizó un barrido en el espectrofotómetro Beckman, registrándose las absorciones obtenidas para cada longitud de onda; la longitud de onda

seleccionada fue aquella que presentó una mayor absorción en el espectro de absorción de la solución.

5.4.2.6.2 Evaluación de la Resistencia del Recubrimiento.

Para llevar a cabo la evaluación de la resistencia del recubrimiento se emplearon 4 fibras de las cuales dos fueron sometidas a 3 inmersiones durante 30 minutos a temperatura ambiente, cada una de estas inmersiones fueron realizadas en soluciones independientes del solvente estudiado, mientras que las otras 2 fibras fueron sometidas al mismo número de extracción y durante el mismo tiempo, solo que en este caso todas las inmersiones fueron realizadas en la misma solución.

Dichas inmersiones se llevaron a cabo en insertos de 500 μL en los que se colocaron 400 μL de agua o mezcla de agua: metanol en las siguientes proporciones: (95:5), (90:10), (85:15) y (80:20). Además, se realizaron inmersiones en soluciones buffer de pH 3 y pH 9. Las soluciones resultantes de cada experimento fueron inyectadas en el cromatógrafo de líquidos para observar si había o no presencia de IL en ellas. En la Tabla 9 se muestra el método cromatográfico empleado para la determinación del Set3-NTf₂.

Tabla 8

Método Cromatográfico para la Determinación de IL.

Equipo	Cromatógrafo HP 1100	
Columna	Eclipse XDB5 C18	
Fase Móvil	Fase A: Solución amortiguadora ácido fórmico-formiato de amonio (40 mM, pH 4)	
	Fase B: Metanol	
Gradiente	Flujo: 0.2 mL/min	
	T (minutos)	% Metanol
	0	50
	10	50
	15	100
	20	100
	25	50
	30	50
Temperatura de columna	40 °C	
Volumen de inyección	30 µL	
Longitud de onda	215 nm	

5.4.3 Evaluación del desempeño de la fibra desarrollada.**5.4.3.1 Determinación de la capacidad extractante de las fibras desarrollada.**

Para llevar a cabo la extracción con las fibras desarrolladas, se preparó una mezcla de los estándares de los analitos modelo a 500 µg / mL de cada uno de ellos en metanol, a partir de la cual se realizó la solución de trabajo de 2 µg / mL en agua mili-Q. Para la

extracción se emplearon viales de 10 mL en los que se colocaron 8 mL de la solución de trabajo antes mencionada; el tiempo de extracción fue de 30 minutos y se llevó a cabo con agitación constante a 800 rpm.

Una vez hecha la extracción se procedió a realizar la desorción, esta se llevó a cabo en insertos de 250 μ L, empleando como solvente 250 μ L de una mezcla agua: metanol (80:20) durante un tiempo de 30 min, posteriormente las soluciones de desorción se llevaron a una proporción de metanol: agua (60:40).

Las soluciones resultantes de cada experimento se inyectaron por duplicado en el cromatógrafo de líquidos y los parámetros de selección que se evaluaron fueron el número de analitos extraídos, la respuesta y el % DER. Además, a partir de los datos obtenidos se realizó una prueba ANOVA la cual nos permitió observar si existía diferencia significativa entre las extracciones realizadas con las fibras blanco y las fibras desarrolladas con la mezcla pegamento/IL.

5.4.3.2 Evaluación de la eficiencia de la extracción.

Para comprobar la eficiencia de la extracción se emplearon 3 lotes de fibras compuestas de 3 fibras cada uno de ellos. Los parámetros que se determinaron para establecer la eficiencia de la extracción fueron el % DER y el Factor de enriquecimiento.

El factor de enriquecimiento (FE) se calculó utilizando la Ecuación 3, en donde C_{pext} corresponde a la concentración del analito obtenida posterior a la extracción y C_0 a la concentración inicial del analito.

Ecuación 3 $FE = \frac{C_{pext}}{C_0}$ (26,99)

CAPÍTULO 6

RESULTADOS

6.1 Validación de un método de cromatografía de líquidos para la cuantificación de los analitos modelo.

El método cromatográfico fue validado tomando en cuenta los criterios de aceptación mencionados en la guía de validación de COFEPRIS “Criterios para la validación de métodos fisicoquímicos”(98) y en “Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica” (97). En la Tabla 10 se resumen los resultados de la validación para cada uno de los analitos modelo.

Por otra parte, en la Figura 5 se logra apreciar el cromatograma correspondiente a la mezcla de los contaminantes emergentes en el nivel más alto de la curva de calibración.

TABLA 9

Resultados de la Validación del Método de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución para la Cuantificación de los Analitos Modelo.

Compuestos	Parámetros				
	Linealidad	Precisión	Exactitud	Límite de Detección (µg/mL)	Límite de Cuantificación (µg/mL)
Metformina	$r^2 = 0.998$	1.185 – 5.941	$m = 0.999$ $r^2 = 0.998$	0.150	0.498
Cafeína	$r^2 = 0.999$	0.729 – 7.341	$m = 1.000$ $r^2 = 0.999$	0.161	0.536
Benzofenona – 4	$r^2 = 0.991$	1.922 – 4.937	$m = 1.000$ $r^2 = 0.991$	0.196	0.652
Metilparabeno	$r^2 = 0.995$	0.175 – 6.512	$m = 0.999$ $r^2 = 0.996$	0.134	0.448
Propilparabeno	$r^2 = 0.998$	0.671 – 7.717	$m = 1.000$ $r^2 = 0.998$	0.137	0.457
Naproxeno	$r^2 = 0.995$	1.036 – 6.015	$m = 0.999$ $r^2 = 0.996$	0.250	0.833
Diclofenaco	$r^2 = 0.996$	1.871 – 7.691	$m = 0.999$ $r^2 = 0.996$	0.164	0.545
Benzofenona - 3	$r^2 = 0.998$	0.836 – 6.776	$m = 0.999$ $r^2 = 0.999$	0.439	1.462

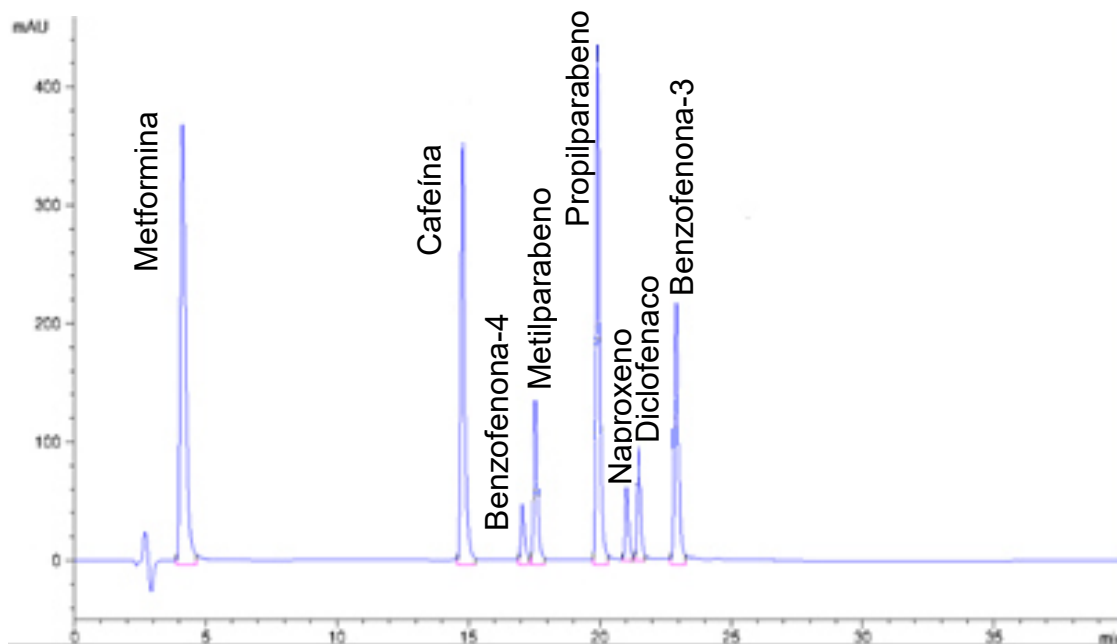


Figura 5. Cromatograma obtenido de la mezcla de mayor concentración de los analitos modelo en agua. Metformina, cafeína, propilparabeno y benzofenona-3 (80 $\mu\text{g/mL}$); benzofenona - 4 y metilparabeno (25 $\mu\text{g/mL}$) y por último el naproxeno y diclofenaco (30 $\mu\text{g/mL}$). Las condiciones de análisis son las descritas en la Tabla 5.

6.2 Desarrollo del proceso de fabricación de una fibra de SPME empleando el Set3-NTf₂.

6.2.1 Evaluación de la solubilidad de la mezcla de IL/Pegamento.

Los resultados obtenidos de la evaluación de la solubilidad de los pegamentos con el Set3-NTf₂ se pueden observar en la Tabla 11; los pegamentos seleccionados fueron aquellos que resultaron ser solubles con el IL.

TABLA 10

Solubilidad de la mezcla IL/ Pegamento.

Pegamento	Solubilidad
Silicón líquido (Pelikan)	Soluble
Masilla hibrida monocomponente (Cey's)	Insoluble
Silicón (Sista)	Insoluble
Cemento amarillo (Oatey)	Insoluble*
Resina sintética (UHU)	Soluble
Goma (Stafford)	Insoluble

*Formación de precipitado

Dentro de los pegamentos evaluados los pegamentos Sista y Datey fueron descartados debido a que el pegamento Sista era insoluble con todos los disolventes probados por nuestro grupo de trabajo, así como con el Set3-NTf₂; el pegamento Oatey fue descartado debido a que precipitaba en presencia del IL.

A los pegamentos Cey's y Stafford que resultaron insolubles con el Set3-NTf₂, se les adicionaron 200 µL de diferentes disolventes en los que habían resultado ser solubles, los resultados de solubilidad al adicionar los disolventes a la mezcla del IL/pegamento se muestran en la Tabla 12.

TABLA 11

Solubilidad de la mezcla IL/ Pegamento/ Solvente.

Pegamento	Disolvente Utilizado	Solubilidad
Masilla hibrida monocomponente (Ceys)	Acetona	Insoluble
Goma (Stafford)	Acetona	Insoluble
	Diclorometano	Insoluble
	Tolueno	Insoluble
	Hexano	Insoluble

Finalmente, tomando en cuenta los resultados de solubilidad de los pegamentos con el Set3-NTf₂, así como la adición de disolvente, los pegamentos seleccionados para realizar los recubrimientos de los alambres tratados fueron el silicón líquido Pelikan y la resina sintética UHU.

6.2.2 Recubrimiento del alambre tratado con Set3-NTf₂.

Los alambres tratados se recubrieron evaluando dos proporciones de IL en la mezcla, las mezclas probadas fueron las siguientes: 300 μ L IL + 0.200 g Pegamento y 100 μ L IL + 0.200 g Pegamento; para realizar dichos recubrimientos se emplearon los ciclos de inmersión de 1 inmersión / 1 minuto, 3 inmersiones / 1 minuto y 3 inmersiones / 30 segundo. En la Figura 6 se pueden observar imágenes de las fibras recubiertas con la

proporción de 300 μ L IL + 0.200 g Pegamento con los distintos ciclos de inmersión, en las que se puede contemplar como para con los 3 ciclos de inmersión probados se obtuvieron recubrimientos que presentaban gotas a lo largo de la fibra, sin embargo, en el ciclo de inmersión de 3 inmersiones / 30 segundos se lograron apreciar recubrimientos con gotas más pequeñas en comparación con los otros dos ciclos de inmersión.

Además, en dicha figura se puede observar como todos los recubrimientos presentaron pequeñas gotas a lo largo de la fibra. Sin embargo, los recubrimientos realizados con el ciclo de inmersión de 3 inmersiones / 30 segundos mostraron las gotas más pequeñas en la fibra, por lo que se seleccionó dicho ciclo de inmersión para ser utilizado en los posteriores experimentos.

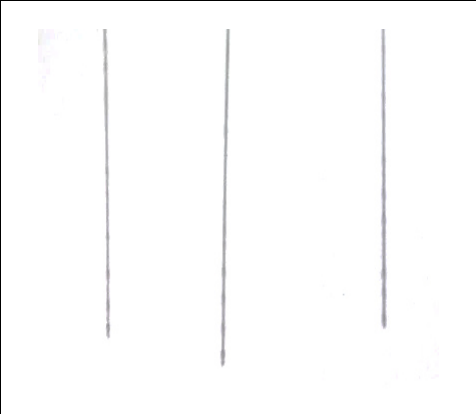
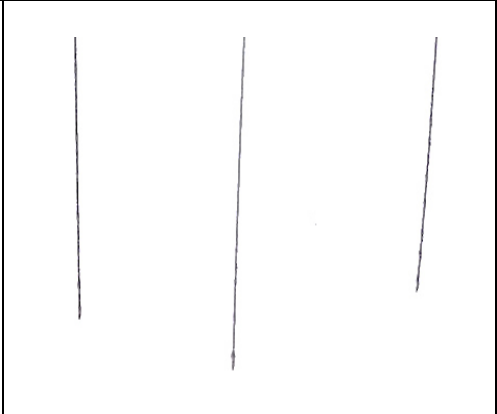
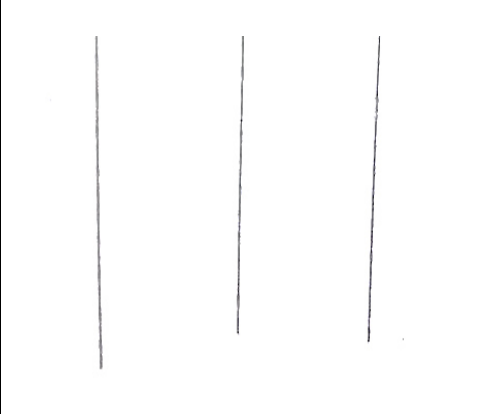

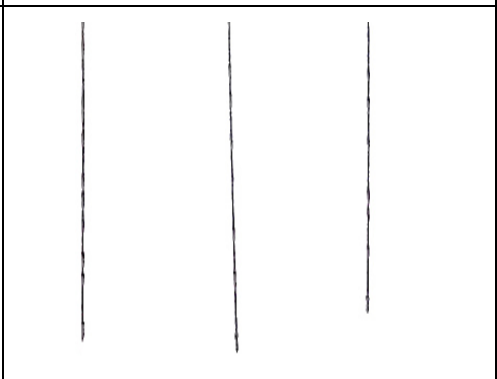
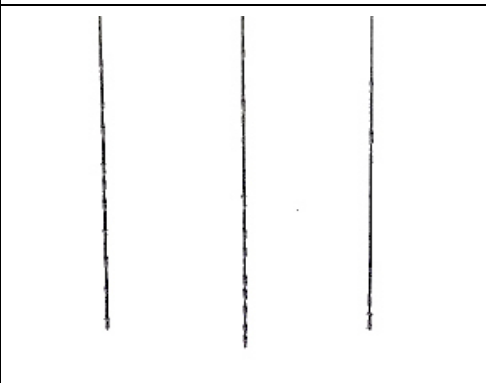
Fibra Recubierta	Ciclo de inmersión		
	1 inmersión / 1 minuto	3 inmersiones / 1 minuto	3 inmersiones / 30 segundos
Pelikan			
UHU			

Figura 6. Recubrimientos de fibras con la mezcla de 300 μ L IL + 0.200 g Pegamento.

En Figura 7 se muestran las imágenes correspondientes a los recubrimientos realizados con la proporción de 100 μ L IL + 0.200 g Pegamento con el ciclo de inmersión de 3 inmersiones / 30 segundos, en los que se logra apreciar como los recubrimientos realizados con el pegamento Pelikan muestran zonas con mayor recubrimiento a lo largo de la fibra; por otra parte, en el caso de los recubrimientos realizados con el pegamento UHU se pudieron observar pequeñas gotas en el extremo inferior de la fibra.

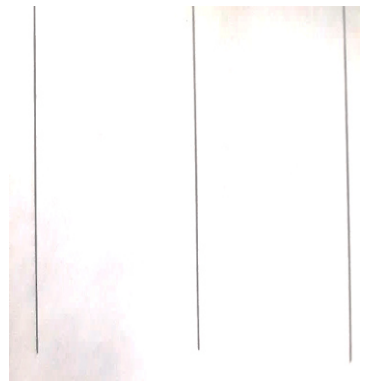
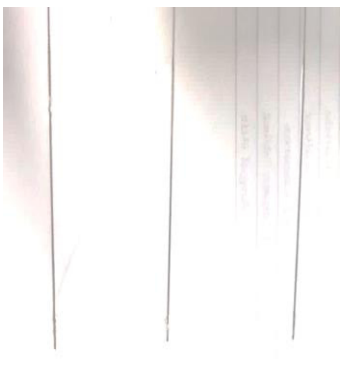
Ciclo	Fibras recubiertas	
	Pelikan	UHU
3 inmersiones / 30 segundos		

Figura 7. Recubrimientos de fibras con la mezcla de 100 μ L IL + 0.200 g Pegamento.

Debido a los resultados obtenidos, se decidió adicionar diclorometano a la mezcla, ya que dicho disolvente podía solubilizar a los pegamentos UHU y Pelikan. Previo a la realización de las mezclas de IL / Pegamento / Diclorometano (DCM), se evaluó la miscibilidad entre el IL y el DCM. La prueba de miscibilidad descrita en el apartado 5.4.2.4 demostró la existencia de miscibilidad entre el Set3-NTf₂ y el diclorometano.

6.2.3 Recubrimiento con la mezcla de IL / Pegamento / DCM.

Se evaluaron tres proporciones distintas de la mezcla de IL/ Pegamento/ DCM, dichas proporciones fueron las siguientes: 250 μ L de IL + 250 μ L de DCM + 0.500 g de Pegamento, 300 μ L de IL +300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento y 450 μ L de IL + 300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento. En la Figura 8 se presentan las imágenes de los recubrimientos de los alambres tratados con las distintas proporciones antes mencionadas empleando el ciclo de inmersión de 3 inmersiones/ 30 segundos.

La proporción de 250 μ L de IL + 250 μ L de DCM + 0.500 g de Pegamento mostró solamente recubrimiento uniforme en la mezcla con el UHU. Por otra parte, se trabajó con las proporciones de 300 μ L de IL +300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento y 450 μ L de IL + 300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento, las cuales mostraron recubrimientos uniformes con las mezclas tanto de Pelikan como de UHU.


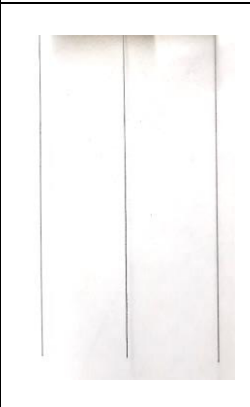
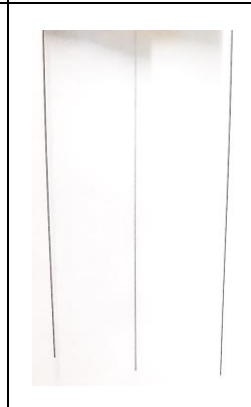


Ciclo	Proporciones					
	250 μ L de IL + 250 μ L de DCM + 0.500 g de Pegamento		300 μ L de IL + 300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento		450 μ L de IL + 300 μ L de DCM + 0.300 g de Pegamento	
3 inmersiones / 30 segundos	Pelikan	UHU	Pelikan	UHU	Pelikan	UHU
						

Figura 8. Recubrimientos realizados con las mezclas de IL / Pegamento / DCM.

6.2.4 Evaluación del proceso de fabricación.

6.2.4.1 Selección de la longitud de onda de máxima absorción del Set3-NTf₂.

En la Figura 9 se muestra el espectro de absorción del Set3-NTf₂, a partir del cual se seleccionó como longitud de máxima absorción la de 215 nm.

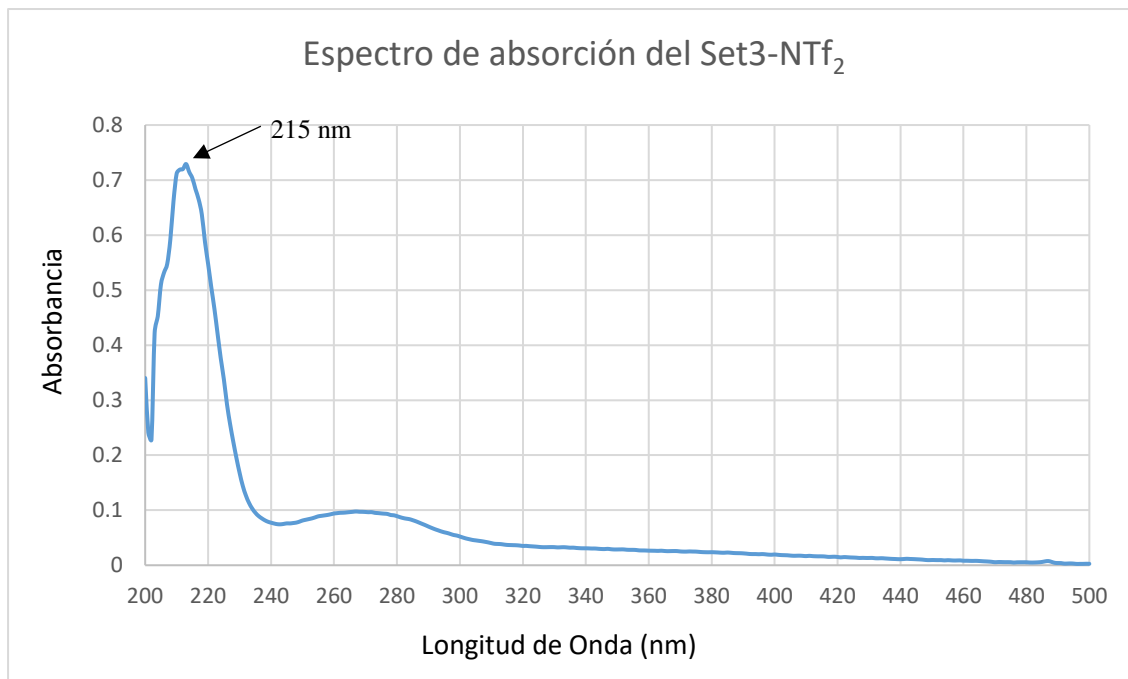


Figura 9. Espectro de absorción del Set3-NTf₂ (Solución al 12.5 % v/v del Set3-NTf₂ en metanol-agua (60:40), Espectrofotómetro UV DU 7500, Beckman).

6.2.4.2 Evaluación de la resistencia del recubrimiento por cromatografía de líquidos.

Previamente a la inyección de las soluciones de inmersión en el cromatógrafo de líquidos, se inyectó la solución del Set3-NTf₂ en el cromatógrafo HP. En la Figura 10 se puede observar el cromatograma obtenido para la solución del Set3-NTf₂.

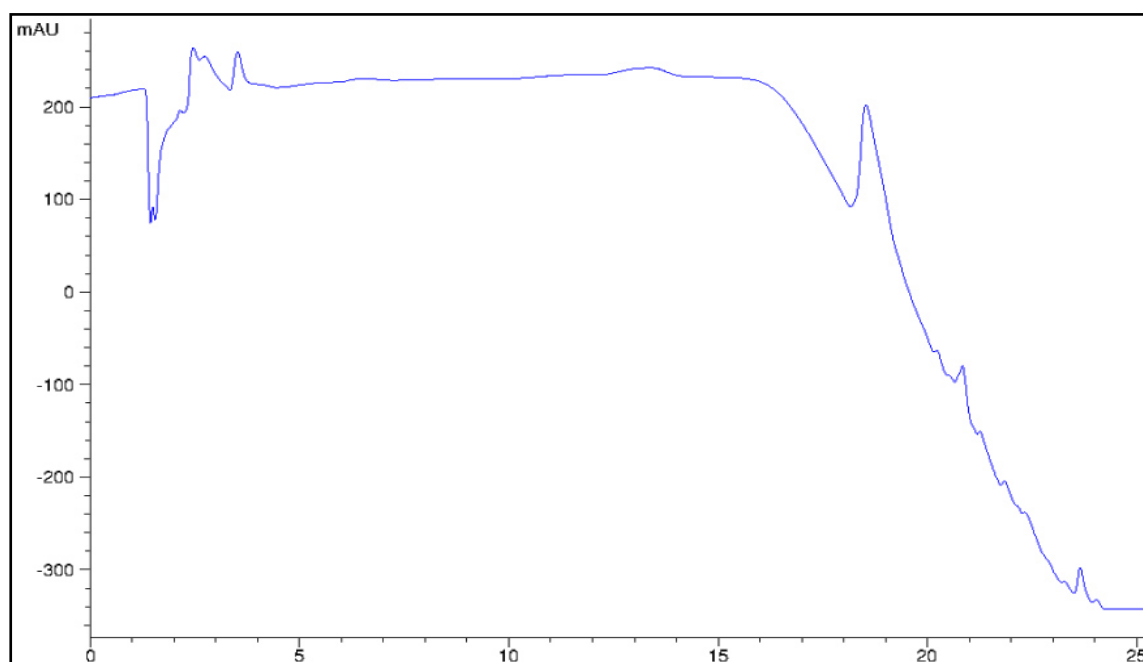


Figura 10. Cromatograma de la solución de Set3-NTf₂. Solución al 12.5 % v/v del Set3-NTf₂ en metanol: agua (60: 40); las condiciones cromatográficas se encuentran en la Tabla 9.

Posterior a la inyección de la solución del Set3-NTf₂, se inyectaron las soluciones de inmersión, en la Figura 11 se puede observar la comparación entre los blancos de solución

(agua mili-Q, agua-metanol 70: 30) vs las soluciones de inmersión de una fibra recubierta con la mezcla de IL / DCM / Pegamento.

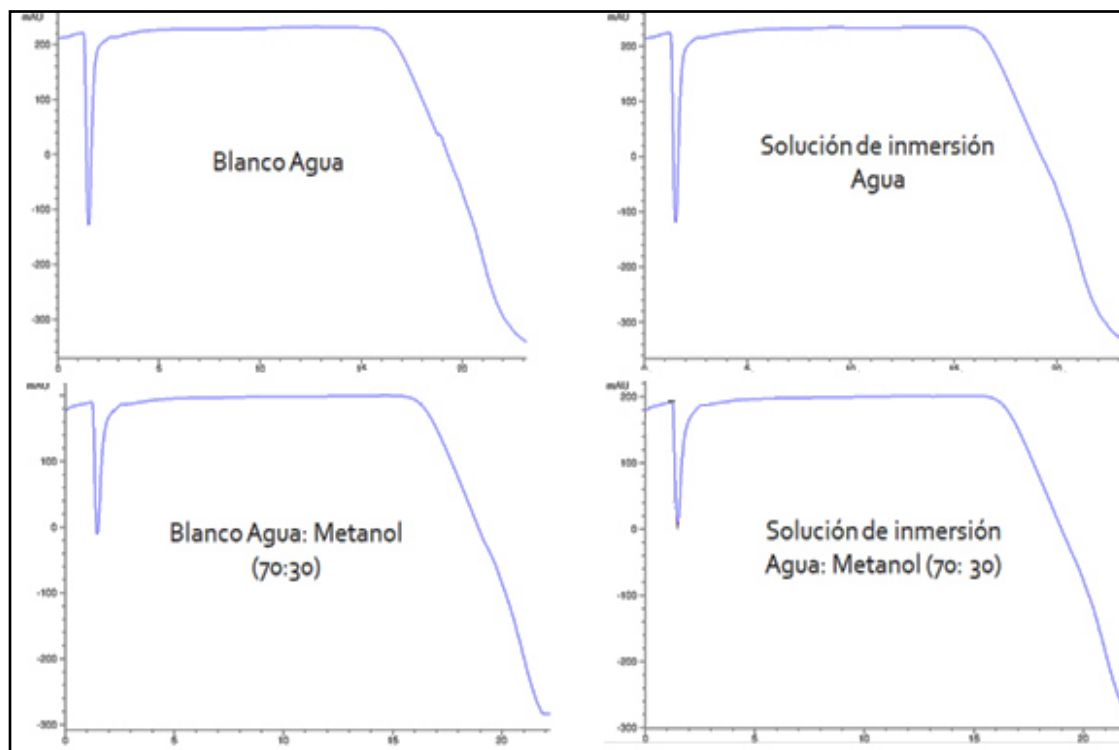


Figura 11. Inmersiones en agua y agua-metanol (70:30). Las condiciones cromatográficas se encuentran en la Tabla 9.

Por otra parte, en la Figura 12 se presenta el cromatograma correspondiente a la solución del Set3-NTf₂ en buffer a pH 3.

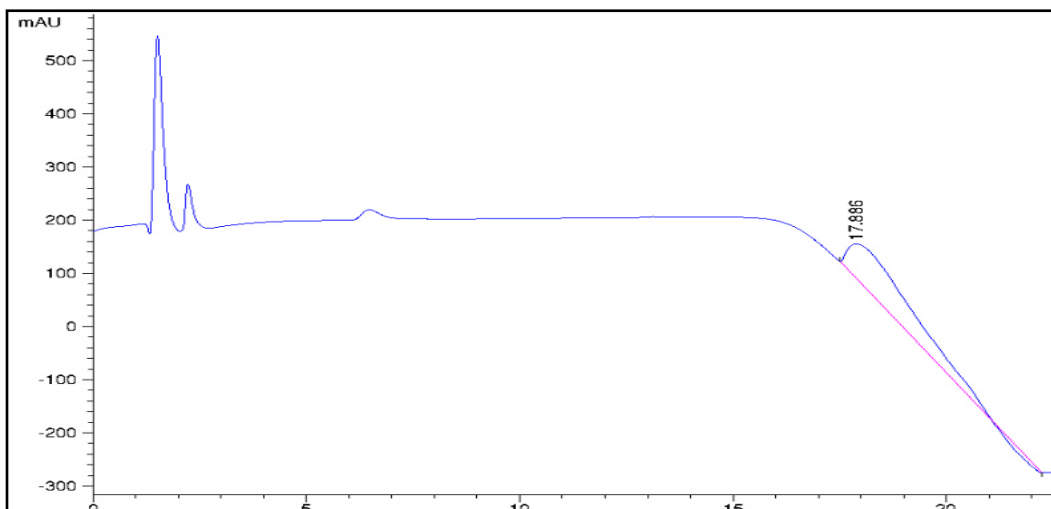


Figura 12. Cromatograma del Set3-NTf₂ en buffer de pH 3. Solución al 12.5 % v/v del Set3-NTf₂ en metanol: agua (60:40). Las condiciones cromatográficas se encuentran en la Tabla 9.

Los cromatogramas correspondientes a las soluciones de inmersión realizadas en la solución amortiguadora de pH 3 así como los blancos de solución, se pueden observar en la Figura 13.

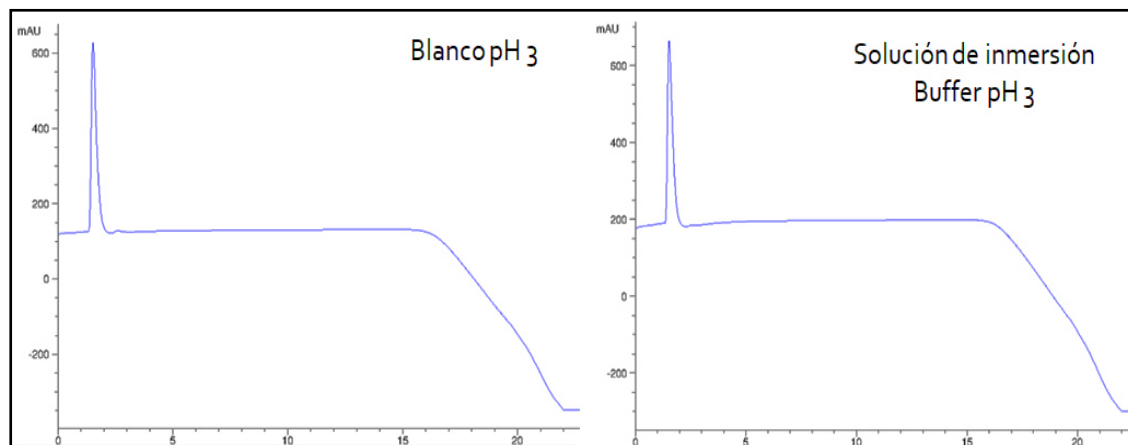


Figura 13. Inmersiones en solución amortiguadora de pH 3. Las condiciones cromatográficas se encuentran en la Tabla 9.

En la Figura 14 se muestra el cromatograma correspondiente a la solución del Set3-NTf₂ en solución amortiguadora de pH 9.

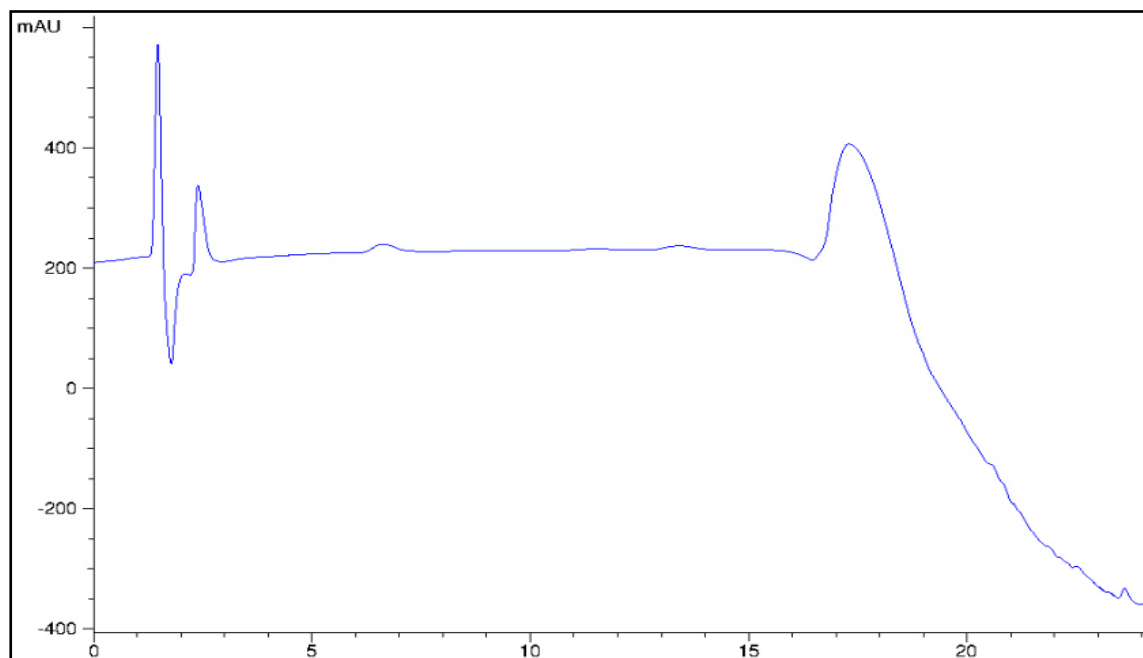


Figura 14. Cromatograma del Set3-NTf₂ en buffer de pH 9. Solución al 12.5 % v/v del Set3-NTf₂ en metanol- agua (60:40). Las condiciones cromatográficas se encuentran en la Tabla 9.

En la Figura 15 se presentan los cromatogramas correspondientes a las inmersiones realizadas en soluciones amortiguadoras de pH 9 así como sus blancos de solución.

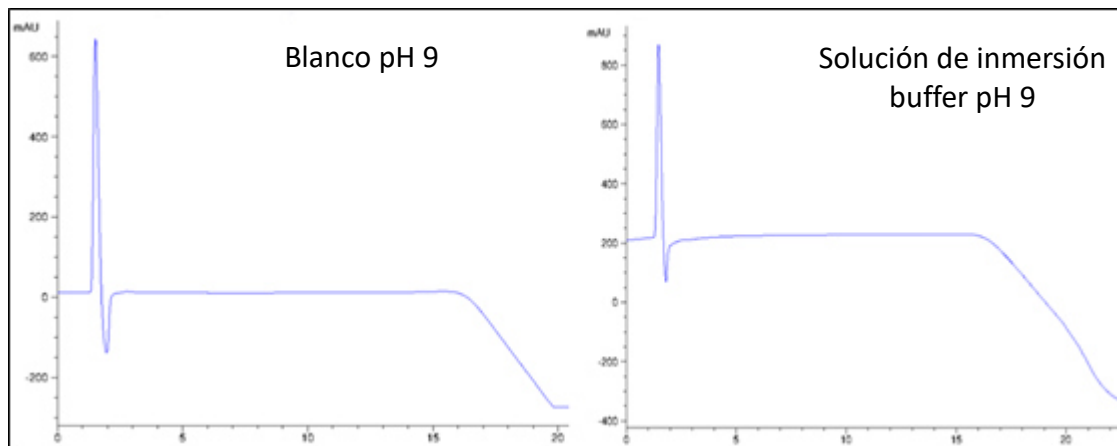


Figura 15. Inmersión en solución amortiguadora de pH 9. Las condiciones

cromatográficas se encuentran en la Tabla 9.

Cabe mencionar, que las soluciones de inmersión mostradas en los cromatogramas fueron aquellas en las que se realizaron 3 inmersiones en la misma solución. Además, cabe resaltar, que se obtuvieron los mismos resultados con las fibras recubiertas tanto por la proporción inferior como por la proporción superior con ambos pegamentos evaluados.

6.2.4.3 Evaluación de la resistencia del recubrimiento por Espectrometría de Masas.

Previamente a realizar las inyecciones de las soluciones de inmersión en el espectrómetro de masas, se inyectó la solución del Set3-NTf₂ para poder observar las señales debidas al catión y al anión del IL. En la Figura 16, se pueden observar los espectros de masas obtenidos para dicha solución en modo positivo y negativo.

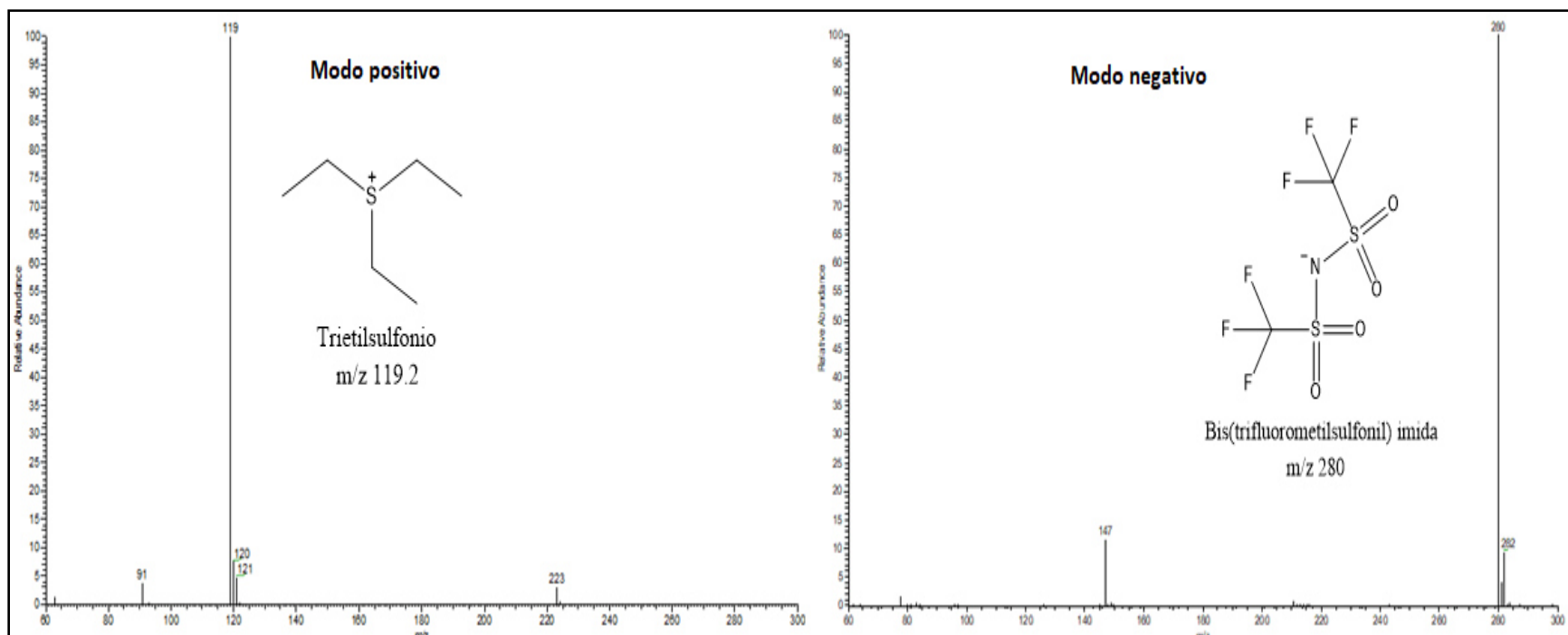


Figura 16. Espectros de masas de la solución de Set3-NTf₂. Solución al 12.5 % del Set3-NTf₂ en metanol-agua (60:40).

En la Figura 17, se presentan los espectros de masas obtenidos para las soluciones de inmersión en agua para con la mezcla con el pegamento UHU.

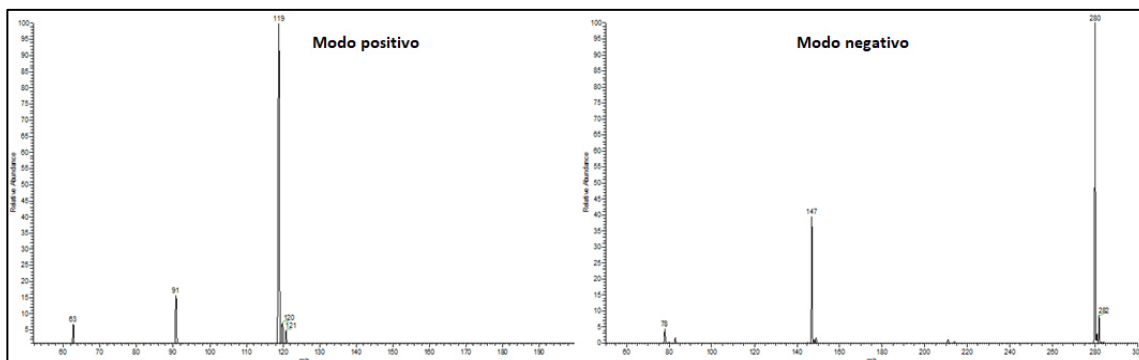


Figura 17. Espectros de masas de las soluciones de inmersión en agua para las mezclas con el pegamento UHU.

En la Figura 18 se pueden observar los espectros de masas obtenidos para las soluciones de inmersión en agua obtenidas a partir de las fibras recubiertas con la mezcla que contenía al pegamento Pelikan.

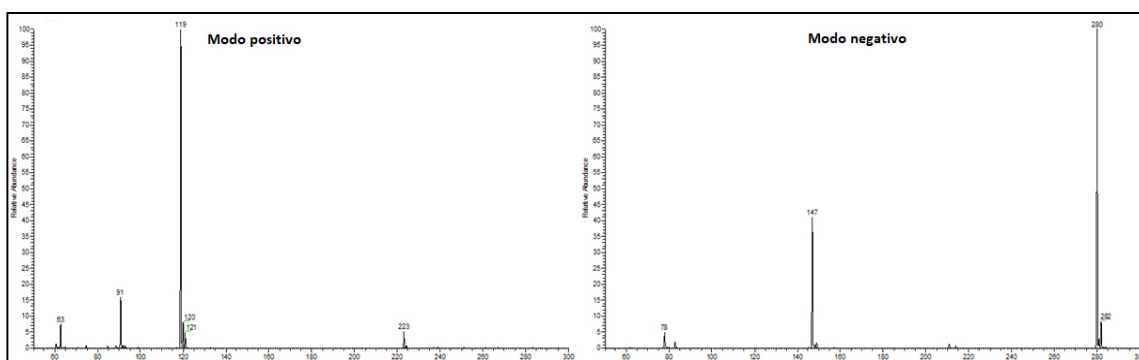


Figura 18. Espectros de masas de las soluciones de inmersión en agua para las mezclas con el pegamento Pelikan.

6.3 Evaluación del desempeño de la fibra desarrollada

6.3.1 Determinación de la capacidad extractante de las fibras desarrolladas.

Se evaluó la capacidad extractante de las fibras desarrolladas con las dos distintas proporciones antes seleccionadas, para lo cual se empleó una mezcla de los analitos modelo a 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$ en agua mili-Q. En la Figura 19 se muestra el cromatograma correspondiente a la mezcla de 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$ inyectada directamente en el cromatógrafo de líquidos HP 1100.

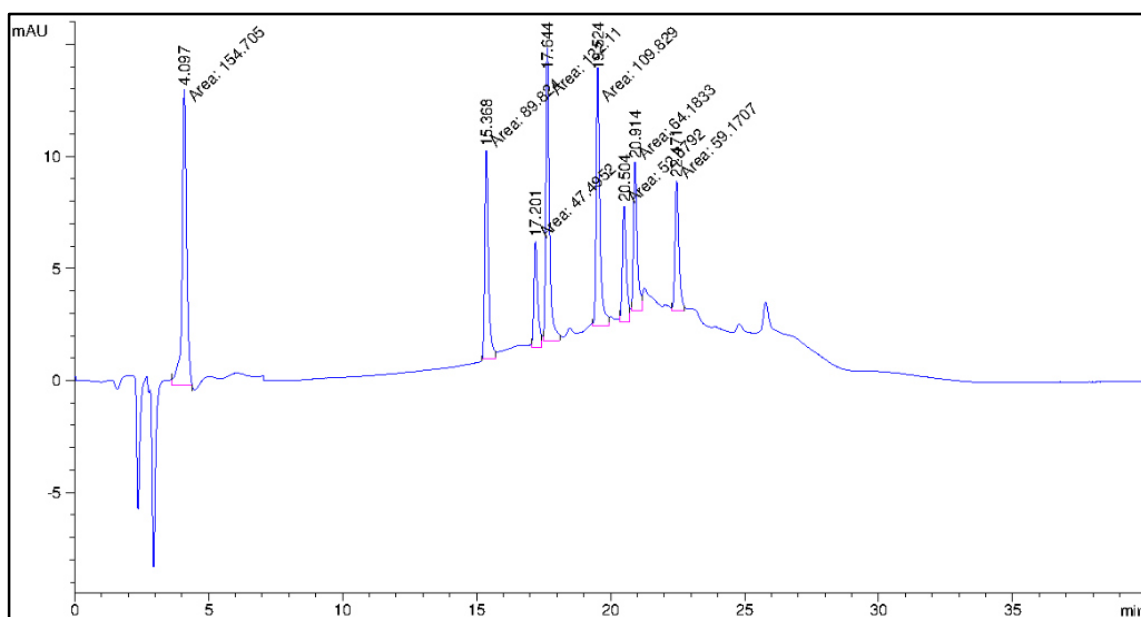


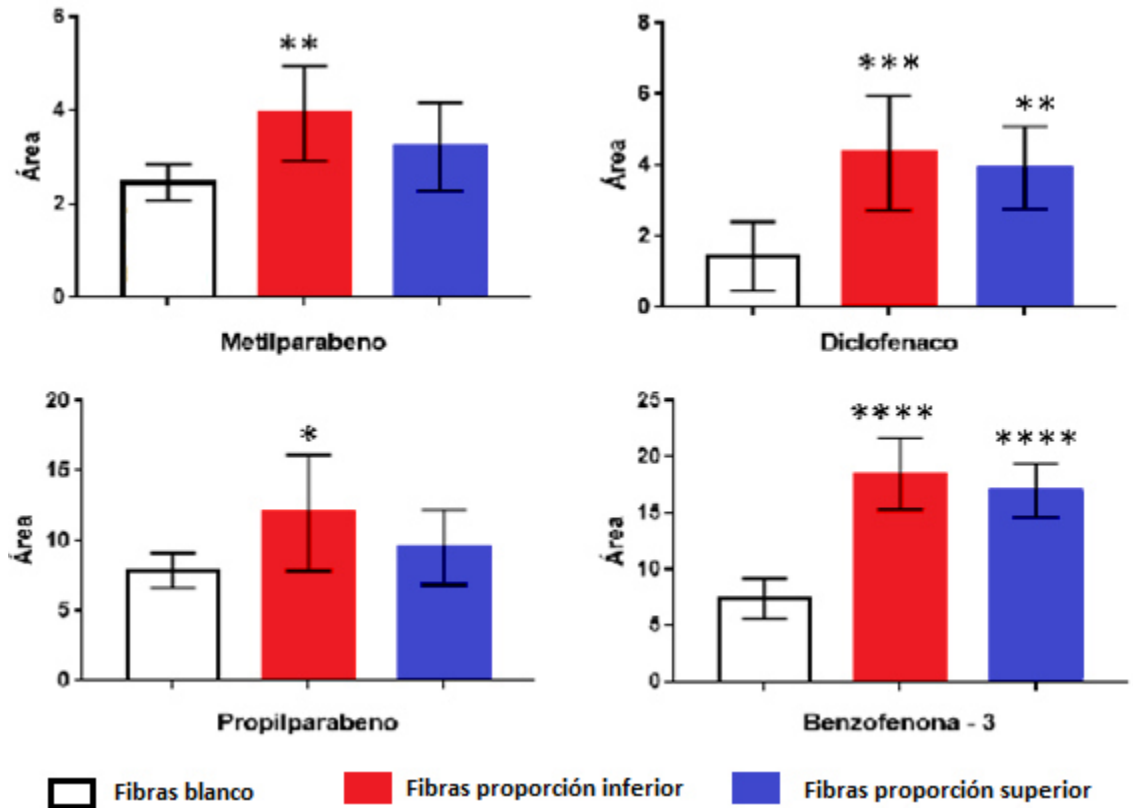
Figura 19. Cromatograma de la mezcla de los analitos modelo a 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Las

Condiciones de Análisis son las Descritas en la Tabla 5.

Se realizaron extracciones blanco y extracciones a la mezcla de los analitos modelo con las fibras recubiertas solamente con el pegamento UHU, así como con la mezcla de Set3-NTf₂ – DCM – UHU. Sin embargo, las extracciones realizadas con dichas fibras presentaron desplazamiento en los tiempos de retención al compararlos con la mezcla estándar.

Por otra parte, se realizaron de igual manera extracciones blanco y extracciones a la mezcla de los analitos modelo con las fibras recubiertas solamente con el pegamento Pelikan, así como con la mezcla de Set3-NTf₂ – DCM – Pelikan; a partir de dichas extracciones se pudo observar que las fibras blanco (compuestas solamente por el pegamento Pelikan) fueron capaces de extraer a los compuestos: metilparabeno, propilparabeno, diclofenaco y la benzofenona-3. De igual manera, dichos compuestos fueron extraídos por las fibras recubiertas con la mezcla de Set3-NTf₂ – DCM - Pelikan, sin embargo, las señales de los compuestos extraídos con dichas fibras presentaron una mayor intensidad en las señales en comparación a las extracciones realizadas con las fibras blanco.

A partir de los resultados obtenidos con las fibras recubiertas con el pegamento Pelikan se realizó un gráfico de barras en el que se comparan las extracciones realizadas con las fibras blanco vs las fibras de las proporciones inferior (300 μL Set3-NTf₂, 300 μL DCM y 0.3 g Pelikan) y superior (450 μL Set3-NTf₂, 300 μL DCM y 0.3 g Pelikan), dicho gráfico se encuentra en la Figura 20.



*: $p < 0.05$ **: $p < 0.01$ ***: $p < 0.001$ ****: $p < 0.0001$

Figura 20. Comparación de las Extracciones Realizadas con las Fibras Blanco vs las Proporciones Evaluadas de la Mezcla de Set3-NTf₂ – DCM – Pelikan.

Una vez obtenidos los resultados de la comparación entre las fibras blanco, las fibras recubiertas con la proporción inferior y las fibras recubiertas con la proporción superior, se realizó un análisis estadístico de ANOVA y los resultados fueron graficados comparando las extracciones realizadas tanto con las fibras de proporción inferior como las de proporción superior. En la Figura 21 se muestran los gráficos de barras correspondientes a las comparaciones de las dos proporciones evaluadas, así como las dos extracciones realizadas con dichas fibras.

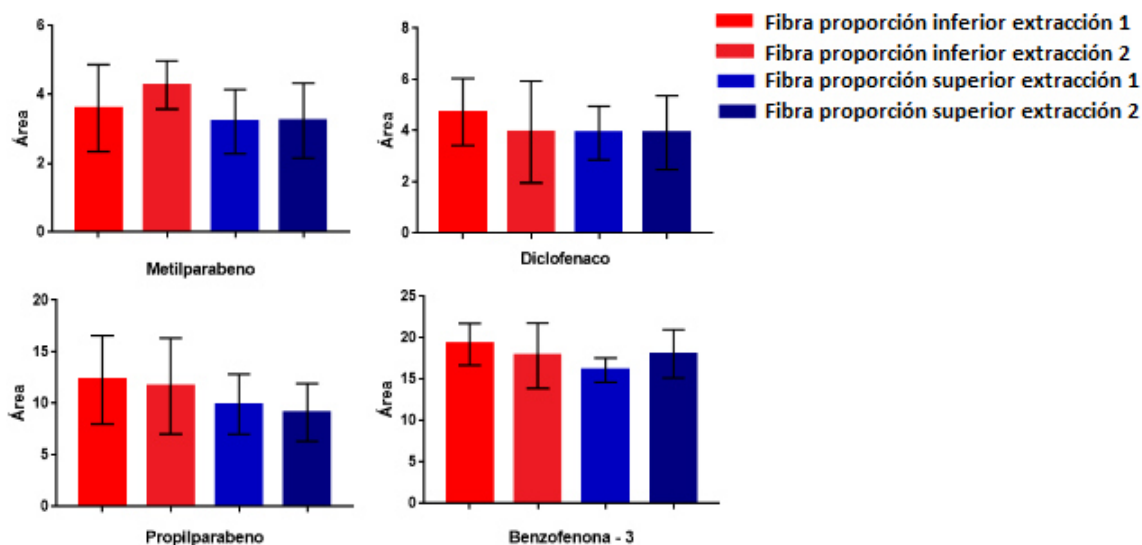


Figura 21. Comparación entre las extracciones realizadas con las proporciones evaluadas.

Teniendo en cuenta estos resultados, la fibra compuesta por el recubrimiento de 300 μL Set3-NTf₂, 300 μL DCM y 0.3 g Pelikan fue seleccionada para los posteriores experimentos.

Una vez seleccionada la fibra, se realizaron extracciones sin llevar las soluciones de desorción hasta la proporción de metanol: agua (60:40); ya que con anterioridad fue inyectada una mezcla de 2 μg / mL de los analitos modelo la cual contenía además 10 μL de Set3-NTf₂, esto para observar si la presencia del IL ocasionaba alguna modificación en las señales cromatográficas, por efecto de matriz. Sin embargo, no se observaron desplazamientos en los t_R de los compuestos, deformación en las señales o en la línea base.

De igual forma se realizaron extracciones individuales de los compuestos que conforman la mezcla. A partir de dichas extracciones se pudo comprobar que la

metformina, cafeína y la benzofenona-4 no eran extraídos por las fibras de pegamento Pelikan y las fibras con el Set3-NTf₂, por lo que en los siguientes experimentos solamente fueron empleados los compuestos que si habían mostrado afinidad por el recubrimiento de las fibras desarrolladas. Además, se logró observar que existía competencia entre los compuestos por la fase extractante de la fibra; ya que los compuestos propilparabeno y benzofenona-3 presentaban respuestas similares al realizarse las extracciones individuales.

6.3.2 Evaluación de la eficiencia de la extracción.

La comprobación de la eficiencia de la extracción se demostró utilizando 3 lotes conformados por 3 fibras cada lote. En la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos con los lotes recubiertos solamente por el pegamento Pelikan.

En la Tabla 14 se pueden observar los resultados obtenidos con los lotes de las fibras recubiertas por la mezcla de 300 μ L de Set3-NTf₂, 300 μ L de DCM y 0.3 g Pelikan.

Tabla 12

Eficiencia de la extracción con las fibras blanco.

Compuestos extraídos	Fibras recubiertas con Pelikan																									
	Lote 1						% DER entre fibras		Lote 2						% DER entre fibras		Lote 3						% DER entre fibras		% DER entre lotes	
	Fibra 1		Fibra 2		Fibra 3		Ext 1	Ext 2	Fibra 1		Fibra 2		Fibra 3		Ext 1	Ext 2	Fibra 1		Fibra 2		Fibra 3		Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2
	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2			Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2			Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2				
	Respuesta (Área)																									
Mpb	3.39	3.12	3.03	3.37	2.9	2.92	8.17	7.19	2.66	3.6	2.71	3.17	2.74	3.49	1.49	6.53	2.87	2.77	3.63	3.13	2.66	2.32	16.71	14.81	11.61	15.39
Ppb	7.94	10.02	7.68	9.87	7.16	9.7	5.23	1.62	7.59	10.53	8.03	10.44	7.6	11.65	3.25	6.2	10.12	11.07	10.32	10.38	8.27	10.34	11.81	3.87	13.65	4.86
Nap	4.21	4.19	3.32	3.9	3.65	3.69	12.07	6.39	3.3	3.89	4.05	3.98	3.53	3.65	10.59	4.44	3.62	4.16	3.8	3.46	2.85	2.41	14.74	26.35	11.45	17.52
Dic	2.76	3.74	1.64	3.6	1.51	3.72	34.89	2.05	1.93	4.41	1.88	3.65	1.85	4.44	2.14	10.74	3.79	5.73	3.51	4.04	2.21	3.04	26.6	31.84	35.28	21.5
Bf-3	16.05	22.96	18.42	25.75	16.48	31.43	7.43	16.16	17.99	27.99	19.03	27.02	18.78	28.86	2.92	3.29	23.39	30.7	20.86	28.3	15.18	26.74	21.22	6.98	13.7	5.06

Ext.: Extracción Mpb: metilparabeno Ppb: propilparabeno Nap: naproxeno Dic: diclofenaco Bf-3: benzofenona-3

Tabla 13

Eficiencia de la extracción con las fibras de IL.

Compuestos extraídos	Fibras recubiertas con Set3-NTf2																									
	Lote 1						% DER entre fibras		Lote 2						% DER entre fibras		Lote 3						% DER entre fibras		% DER entre lotes	
	Fibra 1		Fibra 2		Fibra 3		Ext 1	Ext 2	Fibra 1		Fibra 2		Fibra 3		Ext 1	Ext 2	Fibra 1		Fibra 2		Fibra 3		Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2
	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2			Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2			Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2	Ext 1	Ext 2				
	Respuesta (Área)																									
Mpb	1.97	1.95	2.58	2.42	2	1.93	15.75	13.21	2.68	2.17	2.36	2.6	3.23	2.54	15.96	9.56	2.79	2.62	2.63	2.95	2.81	2.37	3.6	10.99	15.65	13.91
Ppb	3.56	4.18	5.55	6.24	4.67	5.65	21.71	19.8	7.09	6.17	7.45	6.57	8.29	6.6	8.09	3.72	8.61	6.83	7.82	6.76	7.67	6.55	6.29	2.17	25.87	13.44
Nap	6.25	6.17	6.53	6.41	6.15	5.91	3.12	4.06	6.98	5.97	6.85	6.78	7.78	6.71	6.99	6.92	7.32	6.98	7.57	6.87	7.38	6.84	1.76	1.07	8.33	6.3
Dic	4.34	3.59	6.31	4.91	5.6	4.5	18.42	15.59	8.85	5.27	9.77	5.89	10.39	6.3	8.01	8.91	8.96	5.65	9.66	5.97	9.63	6.49	4.2	7.02	26.56	17.29
Bf-3	19.02	20.94	25.99	26.52	22.4	24.34	15.51	11.75	30.61	23.48	30.04	27.16	31.78	25.89	2.88	7.33	27.34	26.39	33.37	27.22	32.57	29.38	10.53	5.58	17.39	9.59

Ext.: Extracción Mpb: metilparabeno Ppb: propilparabeno Nap: naproxeno Dic: diclofenaco Bf-3: benzofenona-3

CAPITULO 7

DISCUSIÓN

7.1 Validación de un método de cromatografía de líquidos para la cuantificación de los analitos modelo

Los parámetros evaluados durante la validación del método fueron la linealidad, precisión, exactitud y los límites de detección y cuantificación. Para ello, se prepararon por triplicado las mezclas de los EC's a 5 niveles de concentración. Además, se emplearon tres intervalos de concentración, para garantizar una resolución ≥ 1 entre picos consecutivos, lo cual es ideal para una buena cuantificación (100); dichos intervalos de concentración fueron de 1 a 25 $\mu\text{g/mL}$ para la benzofenona – 4 y el metilparabeno, de 1 a 30 $\mu\text{g/mL}$ para el naproxeno y el diclofenaco y por último de 5 a 80 $\mu\text{g/mL}$ para la metformina, cafeína, propilparabeno y la benzofenona – 3.

Las ecuaciones de las rectas se obtuvieron empleando un análisis de regresión con el método de los mínimos cuadrados, resultando ser lineales con coeficientes de determinación (r^2) > 0.99 para todos los analitos, como se muestra en la Tabla 9 (98). La precisión se evaluó como % DER de la respuesta de cada nivel de concentración de los estándares de la curva, los valores obtenidos para los analitos modelo se encontraron dentro del rango de 0.175 – 7.717 %, considerando que el criterio de aceptación es < 15%, se concluyó que el método es preciso (98). La exactitud se estableció mediante el análisis de la correlación entre la concentración calculada y la concentración real de los estándares de calibración; se obtuvieron valores de r^2 > 0.99 y $m \approx 1$ para todos los analitos, por lo que se pudo concluir que el método es exacto (101).

Por último, los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) se calcularon considerando una relación señal/ruido de 3 y 10, respectivamente; los valores obtenidos estuvieron en un intervalo de 0.134 – 0.439 $\mu\text{g/mL}$ para el LD y de 0.448 – 1.462 $\mu\text{g/mL}$ para el LC. Se han desarrollado distintos métodos para la cuantificación de EC's, especialmente del grupo de los PPCP's, en dichos métodos fueron utilizados detectores de tipo arreglo de diodos y con los cuales se obtuvieron límites de detección entre 0.005 – 0.20 $\mu\text{g / mL}$ y para el límite de cuantificación entre 0.02 – 0.30 $\mu\text{g / mL}$ (102–104); dichos límites de detección y de cuantificación se encuentran por debajo de los obtenidos en este trabajo, sin embargo, esto pudo deberse a que en los métodos antes mencionados fueron utilizados intervalos de concentración más bajos a los empleados por nosotros, además de emplearse volúmenes mayores de inyección.

7.2 Desarrollo del proceso de fabricación de una fibra de SPME empleando el Set3-NTf₂.

7.2.1 Recubrimiento del alambre tratado con Set3-NTf₂.

La solubilidad entre el Set3-NTf₂ y los pegamentos fue evaluada para seleccionar aquellos pegamentos que fueran solubles en presencia del IL, para ello se pesaron 0.2 g de distintos pegamentos en viales de 1 mL a los cuales posteriormente se les adicionó 200 µL del Set3-NTf₂, una vez adicionado el IL la mezcla se agito en vórtex por 1 min y se observó si hubo o no solubilidad entre los componentes de la mezcla. En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos de dicha evaluación.

Adicionalmente a la evaluación de la solubilidad entre el Set3-NTf₂ y los pegamentos, se les adicionó disolvente a las mezclas de IL / Pegamento que contenían a los pegamentos Cey's o Stafford, ya que dichos pegamentos no fueron solubles en presencia del IL, solamente estos pegamentos fueron probados con la adición de disolventes, debido a que los demás presentaban precipitación al estar en presencia del IL o bien no eran solubles con los disolventes empleados previamente por nuestro grupo de trabajo, los resultados de la evaluación de solubilidad con la adición de disolvente se encuentran en la Tabla 12, en la cual se logra observar que aún adicionando disolvente a la mezcla de IL /Pegamento, estos no son solubles entre sí.

A partir de dichos resultados obtenidos, se decidió seleccionar a la resina sintética (UHU) y al silicón líquido (Pelikan) para formar parte de la mezcla a utilizar para realizar los recubrimientos, ya que dichos pegamentos fueron solubles con el IL.

En las Figuras 6 y 7 se muestran los recubrimientos realizados con las proporciones de 300 μL Set3-NTf₂ con 0.200 g Pegamento y de 100 μL Set3-NTf₂ con 0.200 g Pegamento; dichos recubrimientos no fueron visualmente homogéneos con ninguno de los ciclos de inmersión probados. Debido a esto se decidió adicionar un disolvente orgánico a la mezcla, esto para disminuir la viscosidad de la misma y mejorar de esta manera la uniformidad de los recubrimientos; Zhu y col. demostraron que al adicionar diclorometano (DCM) al IL se observa una disminución de la viscosidad del IL (105). Además, existen algunos reportes en los que fue utilizada una mezcla de IL / DCM para realizar los recubrimientos de fibras de SPME en los soportes de sílice (106) y de acero inoxidable (26). Debido a lo ya reportado, se decidió evaluar la miscibilidad entre el Set3-NTf₂ y el DCM, resultando ser miscibles entre sí por lo que dicho disolvente fue seleccionado, ya que podía solubilizar a los pegamentos seleccionados y era miscible con el IL.

Una vez seleccionado el disolvente a utilizar se procedió a realizar las mezclas de Set3-NTf₂ - DCM - Pegamento y emplearlas para recubrir los soportes tratados. En la Figura 8 se muestran los resultados obtenidos con las distintas proporciones evaluadas de la mezcla de Set3-NTf₂ - DCM - Pegamento; en dicha figura se puede observar como las proporciones que contenían tanto 300 μL , como 450 μL del Set3-NTf₂ presentaron recubrimientos visualmente uniformes con ambos pegamentos (Pelikan y UHU), por lo que ambas proporciones fueron seleccionadas para realizar los recubrimientos posteriores.

7.3 Evaluación del proceso de fabricación.

7.3.1 Selección de la longitud de onda de máxima absorción del Set3-NTf₂.

La selección de la longitud de onda de máxima absorción del Set3-NTf₂ fue requerida ya que un método de análisis de las soluciones de inmersión fue por cromatografía con detección UV y al no encontrarse la longitud de onda de lectura del IL fue necesario obtener el espectro de absorción del Set3-NTf₂. Para llevar a cabo la selección de la longitud de onda de máxima absorción del Set3-NTf₂, se preparó una solución de dicho IL al 12.5 % v/v en metanol-agua (60:40); dicha solución fue leída en el espectrofotómetro Beckman y se obtuvo el espectro de absorción mostrado en la Figura 9, como se observa en dicha figura la longitud de onda de 215 nm fue seleccionada como la longitud de onda de máxima absorción.

Una vez seleccionada la longitud de onda para el análisis del Set3-NTf₂, se procedió a inyectar en el cromatógrafo de líquidos HP 1100 las soluciones de las inmersiones con las que se comprobaría la presencia o ausencia del IL en dichas soluciones.

7.3.2 Evaluación de la resistencia del recubrimiento por cromatografía de líquidos.

La evaluación de la resistencia del recubrimiento se llevó a cabo para comprobar que las fibras generadas pudieran ser utilizadas por inmersión directa en matrices acuosas y que además pudieran soportar mezclas de disolvente y agua.

Debido a que el propósito de este trabajo era generar una fibra capaz de extraer EC's directamente de matrices acuosas, se seleccionó al Set3-NTf₂ el cual contiene un anión altamente hidrofóbico (NTf₂⁻) lo que permitía pensar que era posible la utilización de dicha fibra en SPME-ID, en comparación con los recubrimientos comerciales los cuales presentan dentro de sus desventajas, el deterioro del recubrimiento al ser expuesto a matrices acuosas por inmersión directa (29,30).

Para llevar a cabo dicha evaluación, primeramente, se inyectó en el cromatógrafo de líquidos la solución del IL antes mencionada, obteniendo el cromatograma presentado en la Figura 10. Posterior a la inyección de la solución del Set3-NTf₂ se analizaron las soluciones de inmersión en agua, en mezclas de agua: metanol y en soluciones amortiguadoras de pH 3 y 9.

En las figuras 11, 13 y 15, se pueden observar los cromatogramas correspondientes a las inmersiones realizadas 3 veces en la misma solución, en las que no se logró apreciar la presencia del Set3-NTf₂ y lo cual concuerda con Cui y Co. (26), ellos no reportan la presencia de IL en las soluciones inyectadas en el HPLC después de la desorción en

metanol, sin embargo, si reportan que al aumentar la temperatura arriba de 40 °C la miscibilidad del IL con el agua aumenta, por lo que fue posible la detección del IL en las soluciones bajo dichas condiciones; en nuestro caso al realizar las inmersiones a temperatura ambiente se puede asegurar que el IL no sea miscible con el agua, no obstante, esto no es indicativo de la ausencia del IL en las soluciones de inmersión, ya que la cantidad de Set3-NTf₂ que posee el recubrimiento es poca y aunado a esto, menor sería la cantidad de dicho IL en las soluciones de inmersión, por lo que tomando en cuenta lo anterior, se decidió inyectar dichas soluciones en el espectrómetro de masas.

7.3.3 Evaluación de la resistencia del recubrimiento por espectrometría de masas.

Como se mencionó anteriormente se inyectaron las soluciones de inmersión en el espectrómetro de masas para observar si existía pérdida del recubrimiento (IL) al realizarse las inmersiones en. Para ello, primeramente, se inyectó la solución del Set3-NTf₂ por infusión directa en el Espectrómetro de masas LCQ Fleet de Thermo Scientific. En la Figura 16 se muestran los espectros de masas de la solución del IL en modo positivo y negativo; en dichos espectros se observan los iones de m/z 119 y 280 correspondientes al catión trietilsulfonio y al anión bis(trifluorometilsulfonil)imida, respectivamente.

Una vez inyectada la solución del Set3-NTf₂ en el espectrómetro de masas, se procedió a realizar las inyecciones por infusión directa de las soluciones de inmersión en agua de las fibras, en las Figuras 17 y 18 se presentan los espectros de masas de dichas inmersiones; en dichos espectros se puede observar que tanto las fibras recubiertas por las

mezclas que contenían al pegamento UHU como al pegamento Pelikan muestran las señales correspondientes a los iones de m/z 119 y 280, indicando la presencia del Set3-NTf₂, ocasionada por un desprendimiento del mismo al realizar las inmersiones en agua, lo cual puede llegar a afectar la reproducibilidad de los resultados después de cierto número de extracciones / desorciones, por lo cual la fibra fue probada posteriormente en dos ciclos de extracción/desorción para observar la reproducibilidad en al menos dos extracciones.

7.4 Evaluación del desempeño de la fibra desarrollada

7.4.1 Determinación de la capacidad extractante de las fibras desarrolladas.

Para demostrar la capacidad extractante, se realizaron extracciones a una mezcla de 2 μg / mL con las fibras que contenían tanto al pegamento UHU como las que contenían al pegamento Pelikan. Las fibras probadas se encontraban recubiertas por la proporción inferior (300 μL Set3-NTf₂, 300 μL DCM y 0.3 g Pegamento) y por la proporción superior (450 μL Set3-NTf₂, 300 μL DCM y 0.3 g Pegamento).

A partir de los resultados obtenidos de las extracciones realizadas con las fibras en las que se empleó el UHU como adhesivo, se observó un desplazamiento en los t_R de las señales de los compuestos extraídos, esto pudo deberse a que existe alguna interacción

entre los compuestos extraídos y la resina sintética UHU, sin embargo, la causa del desplazamiento no pudo ser identificada. Debido al desplazamiento presente en los tiempos de retención no se pudo identificar a los compuestos extraídos por lo que se decidió descartar a las fibras en las que fue empleada la resina sintética UHU.

Por otra parte, en las extracciones realizadas tanto con las fibras recubiertas solamente por el pegamento Pelikan como por la mezcla de Set3-NTf₂, DCM y Pelikan, se logró observar la extracción de 4 compuestos de la mezcla original, dichos compuestos fueron: el Metilparabeno, Propilparabeno, Diclofenaco y Benzofenona – 3, los cuales representan los compuestos más hidrofóbicos de la mezcla. La extracción de dichos compuestos por la fibra recubierta solamente con el silicón líquido (Pelikan) concuerda con lo ya reportado, ya que han sido empleados los recubrimientos a base de pegamentos de tipo silicón para la extracción de compuestos hidrofóbicos (107,108).

En la Figura 20 se puede observar la comparación de las extracciones realizadas con las fibras recubiertas con el pegamento Pelikan vs las fibras recubiertas con la mezcla de Set3-NTf₂, DCM y Pelikan, en la cual se logra apreciar un aumento en las respuestas de los compuestos extraídos por las fibras recubiertas con la mezcla que contiene al IL en comparación con las fibras blanco; el análisis estadístico de ANOVA mostró que para los 4 compuestos extraídos existió diferencia significativa con las fibras de proporción inferior (300 µL Set3-NTf₂, 300 µL DCM y 0.3 g Pelikan) con respecto a las fibras blanco (Pelikan). Por otra parte, las fibras de la proporción superior (450 µL Set3-NTf₂, 300 µL DCM y 0.3 g Pegamento) solamente mostraron diferencia significativa en la extracción del Diclofenaco y la Benzofenona -3 con respecto a las fibras blanco.

Por último, en la Figura 21 se muestran las comparaciones entre las extracciones realizadas con las distintas proporciones utilizadas, además, de la equiparación de las dos extracciones realizadas con cada una de las proporciones. A partir de la prueba de ANOVA, se pudo concluir que no existía diferencia significativa entre las proporciones evaluadas, así como entre las dos extracciones realizadas con dichas fibras. Debido a que la fibra recubierta con 300 μ L Set3-NTf₂, 300 μ L DCM y 0.3 g Pelikan presento mejores recuperaciones de los analitos extraídos y a que requiere una menor cantidad de IL, dicha fibra fue seleccionada como la mejor en la extracción de los EC's modelo.

A partir de las extracciones individuales se pudo observar que el Naproxeno era extraído por la fibra desarrollada, sin embargo, en la extracción de la mezcla la señal observada era muy pequeña, esto posiblemente debido a la competencia que se presenta entre los componentes de la mezcla de acuerdo con la afinidad que presentan cada uno de ellos por el recubrimiento desarrollado; lo anterior concuerda con lo reportado por Vila y col. (75), ya que dichos autores evaluaron la extracción de 14 filtros UV en agua para lo cual emplearon 3 distintas fibras (PA, PDMS/DVB y DVB/CAR/PDMS) de las cuales 2 fueron las que mejores resultados arrojaron (PA y PDMS/DVB), al comparar las extracciones con dichas fibras se pudo observar como la eficacia de la extracción de algunos filtros UV era muy baja a comparación de los compuestos que presentaban mayor afinidad por el recubrimiento empleado, debido a que la SPME se basa en la exposición del recubrimiento de la fibra en la muestra para la extracción de los analitos con fuerte afinidad, esto debido a que los compuestos con baja afinidad pueden ser desplazados por los de alta afinidad y dar como resultado una cuantificación errónea (2).

Para comprobar la extracción del Naproxeno se inyectó en el cromatógrafo Waters un estándar de dicho compuesto así como la solución correspondiente a la extracción individual y a la extracción de la mezcla, en dicho equipo se pudo observar el espectro de absorción del estándar de Naproxeno ($2 \mu\text{g} / \text{mL}$) el cual era similar al espectro mostrado por la señal correspondiente al compuesto en la solución de extracción, corroborando de esta manera la extracción del Naproxeno compuesto por las fibras desarrolladas.

Por lo que de manera general la fibra desarrollada fue capaz de extraer a 5 de los 8 compuestos que conformaban la mezcla de los contaminantes emergentes. Los compuestos extraídos fueron: el Metilparabeno, Propilparabeno, Naproxeno, Diclofenaco y la Benzofenona -3.

7.4.2 Evaluación de la eficiencia de la extracción.

Para evaluar la eficiencia de la extracción se emplearon 3 lotes de fibras conformados por 3 fibras cada uno. En las Tablas 17 y 18 se pueden observar los resultados de las extracciones realizadas con los lotes de las fibras blanco y los lotes de las fibras con Set3-NTf₂, respectivamente. En dichas tablas se puede observar como la eficiencia de la extracción aumenta al estar presente el Set3-NTf₂ en el recubrimiento, sin embargo, el caso más notorio es el de la Benzofenona-3. No obstante, las respuestas obtenidas estuvieron por debajo de la respuesta del estándar de menor concentración de nuestras curvas de calibración, por lo que no fue posible cuantificar los compuestos extraídos.

Por otra parte, los lotes correspondientes a las fibras blanco presentaron un rango de % DER entre lotes de 11.45 – 35.28 % en la primera extracción y un rango de 4.86 – 21.5 % para la segunda extracción. En el caso de los lotes de las fibras recubiertas por la mezcla con el Set3-NTf₂ se obtuvo un rango del % DER entre lotes de 8.33 – 26.56 % para la primera extracción y un rango de 6.3 – 17.29 % para la segunda extracción. Cui y col. (26), y Liu y col. (44), emplearon fibras de acero inoxidable y de sílice recubiertas por IL's, respectivamente; dichos autores reportan % DER < 11.2 % una vez optimizado el método de extracción para muestras adicionadas y de soluciones estándar. De manera que los % DER obtenidos nos indican una baja reproducibilidad entre las fibras, sin embargo, los valores obtenidos de desviación estándar relativa cumplen con el criterio de aceptación dictado por la EPA, de que sean < 30 % para extracciones por SPE (109). Cabe resaltar que los compuestos que presentaron el % DER más alto fueron el Metilparabeno, Propilparabeno y Diclofenaco, los cuales presentaban una señal baja, dificultándose su integración. Debido a esto sería conveniente realizar la optimización del proceso de extracción-desorción para mejorar la extracción de los compuestos que son afines a la fibra desarrollada y poder realizar la cuantificación para de esta forma calcular el FE.

CAPITULO 8

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

8.1 Conclusiones

- 1.** Se desarrollaron 4 fibras a base de la mezcla de los pegamentos Pelikan/UHU y Set3-NTf₂, siendo la mezcla de 300 µL Set3-NTf₂, 300 µL DCM y 0.300 g Pelikan la que mostró una mejor recuperación en la extracción de los contaminantes emergentes.
- 2.** Las fibras con recubrimiento a base de Set3-NTf₂ / Pelikan exhibieron una mayor afinidad hacia algunos de los componentes más hidrófobos de la mezcla tales como: Metilparabeno, Propilparabeno, Naproxeno, Diclofenaco y Benzofenona-3.

3. Además, se demostró que las fibras que contenían al Set3-NTf₂ en el recubrimiento tenían una mayor eficiencia en la extracción en comparación con las fibras que solo estaban recubiertas con el pegamento. Sin embargo, no se logró la cuantificación de los compuestos extraídos con el método validado.

8.2 Perspectivas

1. Determinar el número total de extracciones que pueden ser llevadas a cabo con la fibra desarrollada, sin que esta muestre disminución en su capacidad extractante.
2. Optimizar el método de SPME-ID empleando la fibra desarrollada.
3. Aplicar el método de SPME-ID en muestras reales de agua.

CAPITULO 9

BIBLIOGRAFÍA

1. Kataoka H, Ishizaki A, Saito K. Recent progress in solid-phase microextraction and its pharmaceutical and biomedical applications. *Anal Methods*. 2016;8(29):5773–88.
2. Ouyang G, Jiang R. *Solid phase microextraction: recent developments and applications*. Springer; 2017.
3. Šrámková IH, Horstkotte B, Fikarová K, Sklenářová H, Solich P. Direct-immersion single-drop microextraction and in-drop stirring microextraction for the determination of nanomolar concentrations of lead using automated Lab-In-Syringe technique. *Talanta*. 2018;184:162–72.
4. Yao C, Li T, Twu P, Pitner WR, Anderson JL. Selective extraction of emerging contaminants from water samples by dispersive liquid–liquid microextraction using functionalized ionic liquids. *J Chromatogr A*. 2011;1218(12):1556–66.

5. Sarafraz-Yazdi A, Amiri A. Liquid-phase microextraction. *TrAC - Trends Anal Chem.* 2010;29(1):1–14.
6. Yan Y, Chen X, Hu S, Bai X. Applications of liquid-phase microextraction techniques in natural product analysis: A review. *J Chromatogr A.* 2014;1368:1–17.
7. Zgoła-Grześkowiak A, Grześkowiak T. Dispersive liquid-liquid microextraction. *TrAC - Trends Anal Chem.* 2011;30(9):1382–99.
8. Prosen H, Helena. Applications of Liquid-Phase Microextraction in the Sample Preparation of Environmental Solid Samples. *Molecules.* 2014;19(12):6776–808.
9. Cai L, Dong J, Wang Y, Chen X. Thin-film microextraction coupled to surface enhanced Raman scattering for the rapid detection of benzoic acid in carbonated beverages. *Talanta.* 2018;178(442):268–73.
10. Mirnaghi FS, Hein D, Pawliszyn J. Thin-film microextraction coupled with mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry. *Chromatographia.* 2013;76(19–20):1215–23.
11. Lord H, Pawliszyn J. Evolution of solid-phase microextraction technology. Vol. 885, *Journal of Chromatography A.* 2000. 153-193 p.
12. Piri-Moghadam H, Alam MN, Pawliszyn J. Review of geometries and coating materials in solid phase microextraction: Opportunities, limitations, and future perspectives. *Anal Chim Acta.* 2017;984:42–65.
13. Benedé JL, Anderson JL, Chisvert A. Trace determination of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters by magnetic ionic liquid-based stir bar dispersive liquid microextraction. *Talanta.* 2018;176:253–61. 14. Polo Piñeiro M. Desarrollo de nuevos métodos de microextracción en fase sólida para la

- determinación de contaminantes emergentes en matrices acuosas memoria para optar al grado de doctora en química. Universidade de Santiago de Compostela, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2007.
15. Padrón M, Afonso-Olivares C, Sosa-Ferrera Z, Santana-Rodríguez J. Microextraction Techniques Coupled to Liquid Chromatography with Mass Spectrometry for the Determination of Organic Micropollutants in Environmental Water Samples. *Molecules*. 2014;19(12):10320–49.
 16. Albero B, Sánchez-Brunete C, Miguel E, Tadeo JL. Rapid determination of emerging contaminants in water and herbal infusions by in situ derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Methods*. 2015 ;7(7):3006–14.
 17. Pawliszyn J. Solid phase microextraction : theory and practice. Wiley-VCH; 1997
 18. Verreau W, Baril G. Solid-phase microextraction : advances in research and applications. 171 p. Available from: https://books.google.com.mx/books/about/Solid_Phase_Microextraction.html?id=zPDLaUvhCtAC&redir_esc=y
 19. Lucio Gutierrez JR. Desarrollo y evaluación de un procedimiento de microextracción en fase sólida para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en agua potable. Universidad Autonoma de Nuevo León; 2005.
 20. Guillaume D, Veuthey J-L, Royal Society of Chemistry (Great Britain). UHPLC in life sciences. Royal Society of Chemistry; 2012. 447 p.
 21. Pawliszyn J. Theory of Solid-Phase Microextraction. *Handb Solid Phase Microextraction*. 2012;38(July):13–59.
 22. Fernández Álvarez M (química). Estudio del comportamiento fotoquímico y

determinación de compuestos fitosanitarios en matrices medioambientales y agroalimentarias mediante técnicas avanzadas de extracción y microextracción memoria para optar al grado de doctora en química. Universidade de Santiago de Compostela, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2009 .

23. Montes Goyanes RM. Avances en técnicas de microextracción para la determinación de compuestos traza en muestras medioambientales y alimentarias memoria para optar al grado de doctora en Química. Universidade de Santiago de Compostela, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico; 2010.
24. Ríos JJ, Directores A, Polo LM, Nour D, Sayadi K. Nuevos desarrollos metodológicos en SPME. 2017; Available from: <http://eprints.ucm.es/42933/1/T38815.pdf>
25. Abbasi V, Sarafraz-Yazdi A, Amiri A, Vatani H. Determination of Aromatic Amines Using Solid-Phase Microextraction Based on an Ionic Liquid-Mediated Sol-Gel Technique. *J Chromatogr Sci.* 2016;54(4):677–81.
26. Cui M, Qiu J, Li Z, He M, Jin M, Kim J, et al. An etched stainless steel wire/ionic liquid-solid phase microextraction technique for the determination of alkylphenols in river water. *Talanta.* 2015;132:564–71.
27. SIGMA-ALDRICH. Selection Guide for Supelco SPME Fibers | Sigma-Aldrich. Available from: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/selecting-spme-fibers.html>
28. Wang S, Oakes KD, Bragg LM, Pawliszyn J, Dixon G, Servos MR. Validation and use of in vivo solid phase micro-extraction (SPME) for the detection of emerging contaminants in fish. *Chemosphere.* 2011;85(9):1472–80.
29. McClure EL, Wong CS. Solid phase microextraction of macrolide, trimethoprim,

- and sulfonamide antibiotics in wastewaters. *J Chromatogr A*. 2007;1169(1–2):53–62.
30. Luise Wennrich ^{*,†}, Peter Popp [‡] and, Möder [‡] M. Determination of Chlorophenols in Soils Using Accelerated Solvent Extraction Combined with Solid-Phase Microextraction. 1999; Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac990463r>
31. Hou X, Guo Y, Liang X, Wang X, Wang L, Wang L, et al. Bis(trifluoromethanesulfonyl)imide-based ionic liquids grafted on graphene oxide-coated solid-phase microextraction fiber for extraction and enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons in potatoes and phthalate esters in food-wrap. *Talanta*. 2016;153:392–400.
32. Hsieh Y-N, Huang P-C, Sun I-W, Whang T-J, Hsu C-Y, Huang H-H, et al. Nafion membrane-supported ionic liquid–solid phase microextraction for analyzing ultra trace PAHs in water samples. *Anal Chim Acta*. 2006;557(1–2):321–8.
33. Zheng Z, Xu Q, Guo J, Qin J, Mao H, Wang B, et al. Structure–Antibacterial Activity Relationships of Imidazolium-Type Ionic Liquid Monomers, Poly(ionic liquids) and Poly(ionic liquid) Membranes: Effect of Alkyl Chain Length and Cations. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(20):12684–92.
34. Zhang S, Sun N, He X, Lu X, Zhang X. Physical Properties of Ionic Liquids: Database and Evaluation. *J Phys Chem Ref Data*. 2006;35(4):1475–517.
35. Chiappe C, Pieraccini D. Ionic liquids: solvent properties and organic reactivity. *J Phys Org Chem*. 2005;18(4):275–97.
36. Mahmood H, Moniruzzaman M, Yusup S, Welton T. Ionic liquids assisted processing of renewable resources for the fabrication of biodegradable composite

- materials. *Green Chem.* 2017;19(9):2051–75.
37. Dai Z, Noble RD, Gin DL, Zhang X, Deng L. Combination of ionic liquids with membrane technology: A new approach for CO₂ separation. *J Memb Sci.* 2016;497:1–20.
 38. Couadou E, Jacquemin J, Galiano H, Hardacre C, Anouti M. A Comparative Study on the Thermophysical Properties for Two Bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide-Based Ionic Liquids Containing the Trimethyl-Sulfonium or the Trimethyl-Ammonium Cation in Molecular Solvents. *J Phys Chem B.* 2013;117(5):1389–402.
 39. Dzyuba S V., Bartsch RA. Influence of Structural Variations in 1-Alkyl(aralkyl)-3-Methylimidazolium Hexafluorophosphates and Bis(trifluoromethylsulfonyl)imides on Physical Properties of the Ionic Liquids. *ChemPhysChem.* 2002;3(2):161–6.
 40. Muhammad A, Abdul Mutalib MI, Wilfred CD, Murugesan T, Shafeeq A. Thermophysical properties of 1-hexyl-3-methyl imidazolium based ionic liquids with tetrafluoroborate, hexafluorophosphate and bis(trifluoromethylsulfonyl)imide anions. *J Chem Thermodyn.* 2008;40(9):1433–8.
 41. Garza Tapia Marsela. Evaluación del desempeño de líquidos iónicos como solventes para fármacos hidrofílicos y su aplicación en procesos de microextracción en fase líquida [Internet]. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2013. Available from: <http://eprints.uanl.mx/3467/1/1080240811.pdf>
 42. Li Z, Jia Z, Luan Y, Mu T. Ionic liquids for synthesis of inorganic nanomaterials. *Curr Opin Solid State Mater Sci.* 2008;12(1):1–8.
 43. He Y, Pohl J, Engel R, Rothman L, Thomas M. Preparation of ionic liquid based solid-phase microextraction fiber and its application to forensic determination of

- methamphetamine and amphetamine in human urine. *J Chromatogr A*. 2009;1216(24):4824–30.
44. Liu J, Li N, Jiang G, Liu J, Jönsson JÅ, Wen M. Disposable ionic liquid coating for headspace solid-phase microextraction of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in paints followed by gas chromatography–flame ionization detection. *J Chromatogr A*. 2005;1066(1–2):27–32.
45. Fernández-González A, Mallada MT, Viesca JL, González R, Badía R, Hernández-Battez A. Corrosion activity and solubility in polar oils of three bis(trifluoromethylsulfonyl) imide/bis(trifluoromethylsulfonyl) amide ([NTF2]⁻) anion-based ionic liquids. *J Ind Eng Chem*. 2017;56:292–8.
46. Hayyan M, Mjalli FS, Ali Hashim M, AlNashef IM. Generation of Superoxide Ion in Pyridinium, Morpholinium, Ammonium, and Sulfonium-Based Ionic Liquids and the Application in the Destruction of Toxic Chlorinated Phenols. ; Available from: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ie3006879>
47. Muthupradeepa R, Sivakumar M, Subadevi R, Suryanarayanan V. Sulfonium cation based ionic liquid incorporated polymer electrolyte for lithium ion battery. *Polym Bull*. 2017;74(5):1677–91.
48. Dai S, Ju YH, Barnes CE. Solvent extraction of strontium nitrate by a crown ether using room-temperature ionic liquids†. *J Chem Soc Dalt Trans*. 1999;2(8):1201–2.
49. Bhattacharjee A, Luís A, Santos JH, Lopes-da-Silva JA, Freire MG, Carvalho PJ, et al. Thermophysical properties of sulfonium- and ammonium-based ionic liquids. *Fluid Phase Equilib*. 2014;381:36–45.
50. Nonthanasin T, Henni A, Saiwan C. Solubility of Carbon Dioxide in Five Promising Ionic Liquids. *Chem Eng Trans*. 2013;35:1417–22.

51. Kang H, Mao Y, Wang X, Zhang Y, Wu J, Wang H. Disposable ionic liquid-coated etched stainless steel fiber for headspace solid-phase microextraction of organophosphorus flame retardants from water samples. *RSC Adv.* 2015;5(52):41934–40.
52. Raghav M, Eden S, Mitchell K, Witte B, Polle J. Contaminants of Emerging Concern Raise Many Questions; Available from: https://wrrc.arizona.edu/sites/wrrc.arizona.edu/files/Arroyo2013LR_0.pdf
53. US EPA O. Contaminants of Emerging Concern including Pharmaceuticals and Personal Care Products. Available from: <https://www.epa.gov/wqc/contaminants-emerging-concern-including-pharmaceuticals-and-personal-care-products>
54. Aznar R, Albero B, Sánchez-Brunete C, Miguel E, Martín-Girela I, Tadeo JL. Simultaneous determination of multiclass emerging contaminants in aquatic plants by ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersion and GC-MS. *Environ Sci Pollut Res.* 2017;24(9):7911–20.
55. Sauvé S, Desrosiers M. A review of what is an emerging contaminant. *Chem Cent J.* 2014;8(1):15.
56. Lei M, Zhang L, Lei J, Zong L, Li J, Wu Z, et al. Overview of emerging contaminants and associated human health effects. *Biomed Res Int.* 2015;2015.
57. Ribalta C, Solé M. *In Vitro* Interaction of Emerging Contaminants with the Cytochrome P450 System of Mediterranean Deep-Sea Fish. *Environ Sci Technol.* 2014;48(20):12327–35.
58. Gracia-Lor E, Martínez M, Sancho J V., Peñuela G, Hernández F. Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem

- mass spectrometry. *Talanta*. 2012;99:1011–23.
59. Liu H, Liu L, Xiong Y, Yang X, Luan T. Simultaneous determination of UV filters and polycyclic musks in aqueous samples by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2010;1217(43):6747–53.
 60. SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-001-SEMARNAT1996, QUE ESTABLECE LOS LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN AGUAS Y BIENES NACIONALES. Available from: <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO2470.pdf>
 61. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Available from: <http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Documents/Normas/mod127ssa1.pdf>
 62. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-179-SSA1-1998, Vigilancia y evaluación del control de calidad del agua para uso y consumo humano, distribuida por sistemas de abastecimiento público. Available from: <http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Documents/Normas/179ssa1.pdf>
 63. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NMX-AA-118-SCFI-2001, Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes, Lista de sustancias e informe. Available from: <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PPD02/DO107.pdf>

64. Janet M, Garzón G, Gil MJ, Adriana I, Soto M, Usma JI, et al. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments Contaminantes emergentes em águas, efeitos e possíveis tratamentos. *Prod + Limpia*. 2012;7(2):52–73.
65. Federal Register. The Daily Journal of the United States Government. Drinking Water Contaminant Candidate List 4-Final. Available from: <https://www.federalregister.gov/documents/2016/11/17/2016-27667/drinking-water-contaminant-candidate-list-4-final>
66. Gavrilescu M, Demnerová K, Aamand J, Agathos S, Fava F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *N Biotechnol*. 2015;32(1):147–56.
67. US EPA O. Pollution Prevention Law and Policies. Available from: <https://www.epa.gov/p2/pollution-prevention-law-and-policies>
68. Rodriguez-Mozaz S, Lopez de Alda MJ, Barceló D. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography–mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. *J Chromatogr A*. 2007;1152(1–2):97–115.
69. Comisión Nacional del Agua. Contaminantes Emergentes en Matrices Ambientales. Available from: [http://files.conagua.gob.mx/transparencia/Reporte final - CONTAMINANTES EMERGENTES.pdf](http://files.conagua.gob.mx/transparencia/Reporte%20final%20-%20CONTAMINANTES%20EMERGENTES.pdf)
70. Loos R, Carvalho R, António DC, Comero S, Locoro G, Tavazzi S, et al. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Res*. 2013;47(17):6475–87.
71. Cai Y, Jiang G, Liu J, Liang X, Yao Z, Liu J, et al. Solid-Phase Microextraction

Coupled with High Performance Liquid Chromatography-Fluorimetric Detection for the Determination of Bisphenol A, 4- *n* -Nonylphenol, and 4- *tert* -Octylphenol in Environmental Water Samples. *Anal Lett.* 2004;37(4):739–53.

72. Díaz A, Peña-Alvarez A. A Simple Method for the Simultaneous Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in River Sediment by Ultrasound-Assisted Extraction Followed by Solid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J Chromatogr Sci.* 2017;55(9):946–53.
73. Salgado R, Noronha JP, Oehmen A, Carvalho G, Reis MAM, Salgado AR. Analysis of 65 pharmaceuticals and personal care products in 5 wastewater treatment plants in Portugal using a simplified analytical methodology. Available from: http://docentes.fct.unl.pt/sites/default/files/p214/files/analysis_of_65_pharmaceuticals_and_personal_care_products_in_5_wastewater_treatment_plants_in_portugal_using_a_simplified_analytical_methodology_salgado_2010_wst_65_pharm.pdf
74. Togunde OP, Oakes KD, Servos MR, Pawliszyn J. Determination of Pharmaceutical Residues in Fish Bile by Solid-Phase Microextraction Couple with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). *Environ Sci Technol.* 2012;46(10):5302–9.
75. Vila M, Celeiro M, Lamas JP, Dagnac T, Llompart M, Garcia-Jares C. Determination of fourteen UV filters in bathing water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Methods.* 2016;8(39):7069–79.
76. Vakondios N, Mazioti AA, Koukouraki EE, Diamadopoulos E. An analytical method for measuring specific endocrine disruptors in activated sludge (biosolids) using solid phase microextraction-gas chromatography. *J Environ Chem Eng.*

2016;4(2):1910–7.

77. Regueiro J, Becerril E, Garcia-Jares C, Llompert M. Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2009;1216(23):4693–702.
78. Nerín C, Philo M., Salafranca J, Castle L. Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction–high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 2002;963(1–2):375–80.
79. Huppert N, Würtele M, Hahn HH. Determination of the plasticizer N-butylbenzenesulfonamide and the pharmaceutical Ibuprofen in wastewater using solid phase microextraction (SPME). *Fresenius J Anal Chem*. 1998;362(6):529–36.
80. Rodríguez I, Carpinteiro J, Quintana JB, Carro AM, Lorenzo RA, Cela R. Solid-phase microextraction with on-fiber derivatization for the analysis of anti-inflammatory drugs in water samples. *J Chromatogr A*. 2004;1024(1–2):1–8.
81. Kim D, Han J, Choi Y. On-line solid-phase microextraction of triclosan, bisphenol A, chlorophenols, and selected pharmaceuticals in environmental water samples by high-performance liquid chromatography–ultraviolet detection. *Anal Bioanal Chem*. 2013;405(1):377–87.
82. Unceta N, Sampedro MC, Bakar NKA, Gómez-Caballero A, Goicolea MA, Barrio RJ. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in wastewaters by dual solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography electrospray ionization ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2010;1217(20):3392–9.
83. Godayol A, Besalú E, Anticó E, Sanchez JM. Monitoring of sixteen fragrance

- allergens and two polycyclic musks in wastewater treatment plants by solid phase microextraction coupled to gas chromatography. *Chemosphere*. 2015;119:363–70.
84. Polo M, Llompart M, Garcia-Jares C, Gomez-Noya G, Bollain M-H, Cela R. Development of a solid-phase microextraction method for the analysis of phenolic flame retardants in water samples. *J Chromatogr A*. 2006;1124(1–2):11–21.
85. Lima Gomes PCF, Barnes BB, Santos-Neto AJ, Lancas FM, Snow NH. Determination of steroids, caffeine and methylparaben in water using solid phase microextraction-comprehensive two dimensional gas chromatography–time of flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2013;1299:126–30.
86. Lamas JP, Sanchez-Prado L, Garcia-Jares C, Llompart M. Solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry determination of fragrance allergens in baby bathwater. *Anal Bioanal Chem*. 2009;394(5):1399–411.
87. Araujo L, Wild J, Villa N, Camargo N, Cubillan D, Prieto A. Determination of anti-inflammatory drugs in water samples, by in situ derivatization, solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*. 2008;75(1):111–5.
88. Basaglia G, Pietrogrande MC. Optimization of a SPME/GC/MS Method for the Simultaneous Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Waters. *Chromatographia*. 2012;75(7–8):361–70.
89. Lambropoulou D., Giokas D., Sakkas V., Albanis T., Karayannis M. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-p-aminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid-phase microextraction. *J Chromatogr A*. 2002;967(2):243–53.

90. Balakrishnan VK, Terry KA, Toito J. Determination of sulfonamide antibiotics in wastewater: A comparison of solid phase microextraction and solid phase extraction methods. *J Chromatogr A*. 2006;1131(1–2):1–10.
91. Block LC, Schemling LO, Couto AG, Mourão SC, Bresolin TMB. Pharmaceutical equivalence of metformin tablets with various binders. *Rev Ciencias Farm Basica e Apl*. 2008;29(1):29–35.
92. Machatha SG, Yalkowsky SH. Comparison of the octanol/water partition coefficients calculated by ClogP®, ACDlogP and KowWin® to experimentally determined values. *Int J Pharm*. 2005;294(1–2):185–92.
93. Fent K, Kunz PY, Zenker A, Rapp M. A tentative environmental risk assessment of the UV-filters 3-(4-methylbenzylidene-camphor), 2-ethyl-hexyl-4-trimethoxycinnamate, benzophenone-3, benzophenone-4 and 3-benzylidene camphor. *Mar Environ Res*. 2010;69(SUPPL. 1):S4–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.10.010>
94. Onoue S, Yamauchi Y, Kojima T, Igarashi N, Tsuda Y. Analytical studies on photochemical behavior of phototoxic substances; effect of detergent additives on singlet oxygen generation. *Pharm Res*. 2008;25(4):861–8.
95. Da Silva CP, Emídio ES, De Marchi MRR. UV filters in water samples: Experimental design on the SPE optimization followed by GC-MS/MS analysis. *J Braz Chem Soc*. 2013;24(9):1433–41.
96. Scheytt T, Mersmann P, Lindstädt R, Heberer T. Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere*. 2005;60(2):245–53.
97. Quattrocchi OA, De Andrizzi SA, Laba RF. Introduccion a la HPLC. Aplicacion y

Práctica.

98. Vega Rodriguez G. Comisión De Control Analítico Y Ampliación De Cobertura Criterios Para La Validación De Métodos Físicoquímicos. Secr salud. 2011;20. Available from: <http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/cvfq032011.pdf>
99. Emara AAA. The recent developments in dispersive liquid – liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. J Saudi Chem Soc. 2014;18(6):745–61.
100. Christian GD. Química Analítica. Sexta. Mc Graw Hill; 2009. 568-569 p.
101. Minsa. Guía de validación de métodos analíticos. Regist Prod interés Sanit. 2005;1–18. Available from: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/tramites-ms/registro-de-productos-de-interes-sanitario/medicamentos-1/documentos-de-interes-3/guias-de-registro-medicamentos/2472-guia-de-validacion-de-metodos-analiticos/file>.
102. Pérez-Lozano P, García-Montoya E, Orriols A, Miñarro M, Ticó JR, Suñé-Negre JM. Development and validation of a new HPLC analytical method for the determination of alprazolam in tablets. J Pharm Biomed Anal. 2004;34(5):979–87.
103. De Abreu CC, Rosa PC, Alves Bda C, Azzalis LA, Gehrke Fde S, Pereira EC, et al. Development and validation of HPLC method to determination of Methotrexate in children oncologic patients. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2015;19(8):1373–80.
104. Letić NNG, Milanović ML, Milić NB, Miloradov MBV, Radonić JR, Mihajlović IJ, et al. Determination of Emerging Substances in the Danube and Potential Risk Evaluation. Clean - Soil, Air, Water. 2015;43(5):731–8.

105. Zhu A, Wang J, Han L, Fan M. Measurements and correlation of viscosities and conductivities for the mixtures of imidazolium ionic liquids with molecular solutes. *Chem Eng J.* 2009;147(1):27–35.
106. Amini R, Rouhollahi A, Adibi M, Mehdinia A. A new disposable ionic liquid based coating for headspace solid-phase microextraction of methyl tert-butyl ether in a gasoline sample followed by gas chromatography-flame ionization detection. *Talanta.* 2011;84(1):1–6.
107. Panavaitė D, Vičkačkaitė V. Silicone glue based solid phase microextraction fiber for amino acid determination. *Microchim Acta.* 2007;158(3–4):283–9.
108. Panavait D, Padarauskas A, Viš V. Silicone glue coated stainless steel wire for solid phase microextraction. 2006;571:45–50.
109. Moroles NED. Desarrollo, validación y aplicación de métodos cromatográficos para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en fuentes de abastecimiento de agua potable de la ciudad de monterrey. Universidad Autónoma de Nuevo León; 2006.