

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.
ESCUELA DE QUÍMICA.



Trabajo de graduación:

Estudio teórico de la determinación de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (**BTEX**) en muestras de agua utilizando microextracción en fase sólida (**SPME**) y cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (**GC-MS**)

Presentado por:

Br. José Alfredo Carranza Ruada

Para optar al grado de:

Licenciado en Ciencias Químicas

Diciembre de 2022

Ciudad Universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, San Salvador,
Centro América.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.
ESCUELA DE QUÍMICA.



Trabajo de graduación:

Estudio teórico de la determinación de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX) en muestras de agua utilizando microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS).

Presentado por:

Br. José Alfredo Carranza Ruada

Asesor:

Dr. Néstor Guillermo Orellana Velado

Diciembre de 2022

Ciudad Universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, San Salvador,
Centro América.

Autoridades Universitarias

Msc. Roger Armando Arias

Rector

Ing. Francisco Antonio Alarcón Sandoval

Secretario general

Lic. Rafael Huberto Peña Marín

Fiscal General

MSc. Mauricio Hernán Lovo Córdoba

Decano

Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

Lic. Jaime Humberto Salinas Espinoza

Secretario

Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

Lic. Nelson mauricio Coto Mendoza

Director de Escuela de Química.

Dra. Velia Ruth Sosa Gómez

Tribunal Calificador

Ms.C. Jorge Alberto Velásquez Reales

Tribunal Calificador

Dr. Néstor Guillermo Orellana Velado

Asesor de tesis

Dedicatoria.

Con mucho cariño.

A mis hermanos y sobrinos, especialmente a mi madre.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar les agradezco a mis padres que siempre me han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos. Ellos son los que con su cariño me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades.

Le agradezco muy profundamente a mi tutor por su dedicación y paciencia, sin sus palabras y correcciones precisas no hubiese podido lograr llegar a esta instancia tan anhelada. Gracias por su guía y todos sus consejos, los llevaré grabados para siempre en la memoria en mi futuro profesional.

Son muchos los docentes que han sido parte de mi camino universitario, y a todos ellos les quiero agradecer por transmitirme los conocimientos necesarios para hoy poder estar aquí. Sin ustedes los conceptos serían solo palabras, y las palabras ya sabemos quién se las lleva, el viento”.

Agradecerles a todos mis compañeros universitarios y ahora laborales los cuales muchos de ellos se han convertido en mis amigos. Gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto y las historias vividas”

Agradezco a mis asesores Dr. Velia Sosa y Msc. Jorge Velásquez por todas las correcciones y observaciones que ayudaron a mejorar la calidad del trabajo, y por su empeño y esfuerzo.

Por último agradecer a la universidad que me ha exigido tanto, pero al mismo tiempo me ha permitido obtener mi tan ansiado título. Agradezco a cada directivo por su trabajo y por su gestión, sin lo cual no estarían las bases ni las condiciones para aprender conocimientos”.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1)ACRÓNIMOS.....	12
2)INTRODUCCIÓN	13
3)OBJETIVOS.....	14
3.1 OBJETIVO GENERAL:	14
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	14
4)PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	15
5)MARCO TEÓRICO.....	16
5.1 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS.....	16
5.2 FUENTES DE EMISIÓN DE BENCENO, TOLUENO, ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX).....	17
5.3 EFECTO SOBRE LA SALUD.....	20
5.4 ATENUACIÓN DE CONTAMINANTES	24
6)MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE BTEX	27
6.1 MÉTODO 5021A COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EN VARIAS MATRICES DE MUESTRA UTILIZANDO ANÁLISIS DE ESPACIO DE CABEZA EN EQUILIBRIO.	27
6.2 MÉTODO 8260B COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ESPECTROMETRÍA DE MASAS	27
7)CROMATOGRAFÍA DE GASES- ESPECTROMETRÍA MASAS	28
8)MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME).....	29
8.1 TIPOS DE EXTRACCIÓN UTILIZADOS EN SPME.....	32
8.2 INTERFERENCIAS DEL MÉTODO.....	35
8.3 FACTORES QUE AFECTAN A LA ADSORCIÓN Y DESORCIÓN EN SPME.	36
9)VALIDACIÓN.....	44
9.1 ¿QUÉ ES VALIDACIÓN?.....	44
9.1 ¿POR QUÉ DEBE DE REALIZARSE LA VALIDACIÓN?	45
9.2 ¿CUÁNDO DEBE DE VALIDARSE UN MÉTODO?	45

9.3	PARÁMETROS DE VALIDACIÓN	46
9.3.1	SELECTIVIDAD	46
9.3.2	LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD) Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ) 46	
9.3.3	LINEALIDAD	46
9.3.4	PRECISIÓN.	47
9.3.5	REPETIBILIDAD	47
9.3.6	LA SENSIBILIDAD ANALÍTICA DEL MÉTODO:	47
9.3.7	EXACTITUD.	47
10)	ANÁLISIS-COMPARATIVO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS	47
11)	DISCUSIÓN DE ANÁLISIS COMPARATIVO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS. 63	
12)	CONCLUSIONES	69
13)	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. A) Porcentaje de BTEX en la gasolina. B) Porcentaje específico de cada BTEX en el 18 %. ^{7,8}	18
Figura 2. Principales Fuentes de BTEX en el medio ambiente. ¹¹	19
Figura 3. Vías metabólicas del benceno. ¹¹	21
Figura 4. Metabolismo del tolueno en humanos y animales. ¹³	22
Figura 5. Procesos de atenuación natural de hidrocarburos de petróleo. ¹⁶	25
Figura 6. Pasos generales para la degradación de BTEX. ¹⁵	26
Figura 7. Componentes del sistema GC- MS. ²²	29
Figura 8. Esquema del dispositivo comercial de SPME. ⁸	30
Figura 9. Equilibrios del analito en el sistema trifásico. ¹²	31
Figura 10. Tipos de extracción A) HS-SPME , B) ID-SPME y C) ID-SPME utilizando membrana protectora. ²⁰	33
Figura 11. Criterios de selección del tipo de extracción. ²⁰	33
Figura 12. Clasificación de la fibra según el mecanismo de extracción. De acuerdo a las siguientes fases de extracción : polidimetilsiloxano(PDMS), Divinilbenceno(DVB), Cabowax(CW), Resina templada(TPR), Carboxeno(CAR). ²⁰	34
Figura 13. a) Proceso de extracción utilizando espacio de cabeza, b) Proceso de extracción utilizando inmersión directa, c) Proceso de desorción en sistemas cromatográfico de gases o gases-masas y d) Proceso de desorción en cromatografía líquida de alto rendimiento ²⁰	35
Figura 14. Propiedades de las fibras de microextracción comercializadas. Enlazada, No enlazada, Parcialmente enlazada, Altamente entrelazada. ²⁰	38
Figura 15. Tipos de fibras de microextracción en fase sólida y su capacidad de extracción de BTEX de forma simultánea. ²⁷	38
Figura 16. Volumen de extracción de 15 mL determinado por Lee et al., 2007 para vial de 40 mL. ²⁷	39
Figura 17. Curva representativa de la optimización del tiempo de extracción. ²⁸	40
Figura 18. Efecto de la temperatura de la muestra. ¹²	40
Figura 19. Método de agitación de la muestra en SPME. ^{8,29}	41
Figura 20. Efecto de la velocidad de agitación HS-SPME. ³⁰	42
Figura 21. Efecto de la adición de sal en HS-SPME-GC-FID. ³⁰	43
Figura 22. Efecto de la temperatura de desorción en el inyector. ³¹	44
Figura 23. Resultados obtenidos por Flórez Menéndez et al., 2000 de la determinación de BTEX por GC-FID en aguas contaminadas como resultado de la lixiviación de residuos de alquitrán con los tres diferentes sistemas de muestreo. ³⁰	48
Figura 24. Resultados obtenidos por Cho et al., 2003, Efecto de los revestimientos y la composición de las fibras sobre la cantidad extraída a 0,1 mM; (1), fibra Carboxen-PDMS de 75 µm, extracción de un solo componente; (2), fibra Carboxen-PDMS de 75 µm, extracción multicomponente; (3), fibra PDMS de 100 µm, extracción mono y multicomponente.	49

Figura 25. Cromatogramas Obtenidos por HS-SPME A) Fibra de 75 μm CAR-PDMS y B) Fibra de 100 μm de PDMS. ²⁸	50
Figura 26. Concentraciones de BTEX en suelos determinadas por Ezquerro, 2004. ²⁸	50
Figura 27. Resumen de los resultados de la investigación realizada por Almeida y Boas, 2004. ³⁴	51
Figura 28. Se muestran los rangos de concentraciones de BTEX en tres muestreos analizadas por Arambarri et al., 2004. ³⁴	52
Figura 29. Tabla resumen de resultados de la investigación de Lee et al., 2007 utilizando SPME-cryo-trap-GC-MS. ²⁷	53
Figura 30. Comparación del rendimiento de extracción en soluciones estándar de 1 $\mu\text{g/L}$ de COVs de acuerdo con el recubrimiento de la fibra obtenidos por Guimarães et al., 2008. ³⁶	54
Figura 31. Resultados obtenidos por Guimarães et al., 2008	54
Figura 32. Tabla resumen de resultados obtenidos por Alfaro Romero, 2008, de los 18 puntos de muestreo del Golfo de Fonseca. ND> no detectado. ¹²	55
Figura 33. Resultados obtenidos por Gaujac y colaboradores de la determinación de BTEX en efluentes de petróleo. ³⁷	56
Figura 34. Cromatograma del efluente A. Número de identificación ;(1) benceno; (2) tolueno; (3) etilbenceno; (4) m,p-xilenos; (5) o-xileno. ³⁷	56
Figura 35 . Respuestas obtenidas por Bianchin et al., 2012 en la comparación de las metodologías: HS-DI-SPME, HS-SPME y DI-SPME. Analitos: 1 - benceno, 2 - tolueno, 3 - etilbenceno, 4 - p-xileno, 5 - m-xileno, 6 - o-xileno, 7 - acenaftileno, 8 - fluoreno, 9 - antraceno, 10 - heantreno, 11 - pireno, 12 - benzo (a) antraceno, 13 - criseno, 14 - benzo (k) fluoranteno, 15 - benzo (a) pireno, 16 - benzo (b) fluoranteno, 17 - indeno-1-2-3-pireno, 18 - dibenzo (a, h) antraceno, 19 - benzo (g, h, i) perileno.	57
Figura 36. Concentraciones enriquecidas y recuperaciones determinadas para la aplicación del método recientemente desarrollado con separación / detección por GC-MS, desarrollado por Bianchin et al., 2012 . ND (no detectado), DE (detectado). Detectado significa concentración entre los límites de detección y cuantificación.	58
Figura 37. Resultados obtenidos en muestras de agua y suelos por Chalabiani Et al., 2012 utilizando la fibra de microextracción de Zeolita y Carburo de silicio. ³¹	58
Figura 38. Principales metabolitos del benceno ²⁶	59
Figura 39. Determinación de BTEX y metabolitos por métodos SPME-GC/MS y SPME-HPLC en diente humanos como biomarcadores. B: benceno, T: tolueno, E: etilbenceno, X: xilenos, P: fenol, pC: p-cresol, MA: ácido mandèlico, HA: ácido hipúrico y 4-mHA: ácido 4- metilhipúrico. ²⁶	59
Figura 40. Valores óptimos para determinar BTEX utilizando HS- SPME- GC/MS en muestras acuosas. ⁸	60

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Características físicas y químicas de los BTEX.</i> ³	16
<i>Tabla 2. Límites máximos de concentración permisibles en aguas de consumo humano de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos.</i> ⁵	17
<i>Tabla 3. Producción mundial anual de BTEX en toneladas.</i> ⁶	17
<i>Tabla 4. Ingesta diaria estimada de BTEX.</i> ^{6,8}	19
<i>Tabla 5. Patologías causadas por el benceno a exposiciones altas y bajas.</i> ¹¹	20
<i>Tabla 6. Tipos de fibras de microextracción.</i> ¹⁷	37
<i>Tabla 7. Definiciones de validación en ISO 9000, ISO/IEC 17095 y VIM.</i> ³²	44
<i>Tabla 8. Comparación de diferentes métodos en SPME para la determinación de BTEX en diferentes matrices, HS-SPME: microextracción en fase sólida con espacio de cabeza, CAR- PDMS: carboxeno-polidimetilxiloxano, GC-FID: Cromatografía de gasa detector de ionización de flama, MS: Espectrometría de masas y CryoTra: criotrampa criogénica.....</i>	61
<i>Tabla 9. Comparación de los parámetros de optimización y parámetros de validación. B: benceno, E: Etilbenceno, T:tolueno, X:xilenos.</i>	62
<i>Tabla 10. Valores óptimos de variables de extracción y desorción en SPME para la determinación de BTEX.....</i>	68

1) ACRÓNIMOS

<i>Benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos</i>	-----	<i>(BTEX)</i>
<i>Microextracción en fase sólida</i>	-----	<i>(SPME)</i>
<i>Espacio de cabeza</i>	-----	<i>(HS)</i>
<i>Inyección directa</i>	-----	<i>(ID)</i>
<i>Compuestos orgánicos volátiles</i>	-----	<i>(COVs)</i>
<i>Cromatógrafo de gases</i>	-----	<i>(GC)</i>
<i>Espectrómetro de masas</i>	-----	<i>(MS)</i>
<i>Agencia internacional para la investigación del cáncer</i>	-----	<i>(IARC)</i>
<i>Polidimetilsiloxano</i>	-----	<i>(PDMS)</i>
<i>Carboxen/Polidimetilsiloxano</i>	-----	<i>(CAR/PDMS)</i>

2) INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se realiza un estudio teórico de la determinación de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (*BTEX*) por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas, utilizando una técnica de extracción alternativa a las técnicas tradicionales (Líquido - Líquido, Sólido - Líquido), microextracción en fase sólida (SPME) la cual posee múltiples ventajas respecto a las convencionales, entre las cuales se encuentra la disminución del tiempo de trabajo, mejora de sensibilidad, menores límites de detección, disminución de la cantidad de muestra y la no utilización de disolventes para realizar la extracción.¹

La relevancia que tiene este grupo de compuestos aromáticos (*BTEX*), radica en la alta toxicidad que representan sus metabolitos principales y en su distribución en el medio ambiente, casi omnipresente, por ello el benceno, tolueno y etilbenceno son considerados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (USEPA)² y su distribución en el medioambiente se atribuye mayoritariamente a fuentes antropogénicas.

El trabajo se divide en dos secciones principales, la primera que consta de una revisión teórica de la familia de compuestos, toxicidad, atenuación de estos contaminantes, métodos para su determinación, cromatografía de gases con detector de masas, la técnica de microextracción en fase sólida y los parámetros de validación y optimización; en la segunda parte se realizó una revisión de artículos científicos íntimamente relacionados con la determinación de *BTEX*, además de detallarse la discusión y conclusiones del trabajo

3) OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

- ☐ Desarrollar un estudio teórico de la determinación de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos en muestras de agua utilizando microextracción en fase sólida y cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ☞ Describir los efectos de los *BTEX* sobre la salud humana y el medio ambiente.
- ☞ Comparar metodologías utilizadas para la determinación de *BTEX* en agua de consumo humano en las que se empleó cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas.
- ☞ Citar los parámetros que se tienen que optimizar en los procesos de absorción y desorción de la fibra de *SPME*.
- ☞ Realizar un análisis comparativo con información existente sobre el contenido de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos en muestras de agua utilizando cromatografía de gases- espectrometría de masas.

4) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos(*BTEX*) forman parte de la familia de los compuestos orgánicos volátiles (*COVs*); estos pueden ser tóxicos para la salud de los seres humanos. Su cuantificación ha adquirido relevancia, debido a que generan contaminación en suelos, agua subterránea, agua marina y aire, y pueden afectar la salud de los seres vivos hasta en concentraciones de millonésimas de gramos por litros. Su presencia en el medio ambiente se relaciona con el uso excesivo como disolventes en la industria y como desechos en los procesos de extracción del petróleo e incluso en el ambiente marino debido a vertidos o derrames de cargamento de petróleo.

El estudio de los *BTEX* en acuíferos terrestres y marinos es de ineludible obligación realizar por todas las consecuencias negativas que generan, nuestro país en la actualidad no le ha dado la importancia que se merece. Por lo antes expresado se plantea realizar este estudio teórico de la determinación de *BTEX* utilizando cromatografía de gases con detector de masas y la técnica *SPME*.

El fin del estudio es crear conciencia del riesgo que genera la contaminación por estas sustancias e incentivar la implementación de controles más rigurosos para el agua de consumo humano.

5) MARCO TEÓRICO

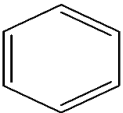
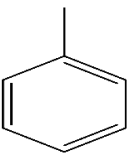
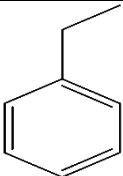
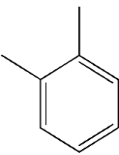
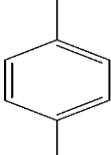
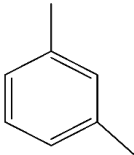
5.1 HIDROCARBUROS AROMÁTICOS

Los hidrocarburos aromáticos son una familia de compuestos que tienen en común al grupo bencílico, estos son generados mayormente en los procesos refinación del petróleo. Entre ellos se encuentra una familia de compuestos monoaromáticos abreviados como *BTEX*.³

Los *BTEX* pertenecen a la familia de los *COVs*, se caracterizan por estar en estado de vapor a temperatura ambiente, son moderadamente solubles en agua y muy soluble en sustancia no polares. En el medioambiente están presentes por acciones antropogénicas como consecuencia de su uso excesivo como solventes industriales para la síntesis de varios compuestos orgánicos (por ejemplo, plásticos, fibras sintéticas y pesticidas), además de ser los principales componentes aromáticos de los productos industriales (en refinerías de petróleo, unidades petroquímicas, plantas químicas, tanques de almacenamiento, escape de vehículos e incineradores de residuos). Los *BTEX* representan hasta el 80% del *COVs* totales en las plantas petroquímicas y representan hasta el 59% (p/p) de los contaminantes de la gasolina.³

Además de ser derivados del benceno, poseen densidades un poco mayores que los compuestos alifáticos, pero sin superar la densidad del agua, estos también tienden a ser más simétricos por lo que se empaquetan mejor y forman cristales con mayores puntos de fusión.⁴ Entre sus principales características se pueden mencionar las descritas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Características físicas y químicas de los *BTEX*.³

COMPUESTOS	BENCENO	TOLUENO	ETILBENCENO	O-XILENO	P-XILENO	M-XILENO
Estructura química						
Fórmula	C ₆ H ₆	C ₇ H ₈	C ₈ H ₁₀	C ₉ H ₁₀	C ₉ H ₁₀	C ₉ H ₁₀
Peso fórmula (g/mol)	78.11	92.13	106.16	106.16	106.16	106.16
Punto de ebullición (°C)	80.1	110.6	136.2	144.4	139.30	137.00
Punto de fusión (°C)	5.50	-95.00	-94.97	-25.00	-47.40	13.00
Presión de vapor (mmHg)	95.19	28.40	4.53	6.60	8.30	3.15
Densidad (g/ml)	0.87	0.87	0.87	0.88	0.87	0.86
Solubilidad (mg/L)	1791.00	535.00	161.00	175.00	146.00	156.00
Constante de la Ley de Henry (KPa*m ³ /mol)	0.557	0.660	0.843	0.551	0.730	0.690
Reacciones generales	$C_6H_6 + 7.5O_2 \rightarrow 6CO_2 + 3H_2O$		$C_7H_8 + 9O_2 \rightarrow 7CO_2 + 4H_2O$		$C_8H_{10} + 10.5O_2 \rightarrow 8CO_2 + 5H_2O$	

Estos compuestos han sido clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como contaminantes prioritarios estableciendo límites permisibles en aguas

de consumo humano, una gran cantidad de países siguen dichos lineamientos y nuestro país no ha sido la excepción, según la normativa salvadoreña los límites máximos de concentraciones permisible para los *BTEX* en agua de consumo humano son los presentados en la **Tabla 2**.⁵

*Tabla 2. Límites máximos de concentración permisibles en aguas de consumo humano de benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos.*⁵

Parámetro	Límite máximo de concentración permisible ($\mu\text{g. L}^{-1}$)
Tolueno	10
Benceno	700
Etilbenceno	300
Xilenos	500

5.2 FUENTES DE EMISIÓN DE BENCENO, TOLUENO, ETILBENCENO Y XILENOS (BTEX)

Los BTEX se han considerado los principales contribuyentes al deterioro de la calidad del agua y el aire. Su mayor fuente de emisión al medio ambiente tiene origen antropogénico, ya que se generan en los procesos de combustión y refinación de petróleo. También son ampliamente utilizados como disolventes en la industria para la síntesis de varios compuestos orgánicos (por ejemplo, plásticos, fibras sintéticas y pesticidas) y son uno de los principales subproductos en la refinación del petróleo.²

Tienen gran relevancia por su alta toxicidad y amplia presencia en el agua debido a su alta solubilidad en comparación con otros compuestos aromáticos.² Se considera que la contaminación de efluentes naturales se debe principalmente al derrame de petróleo o subproductos derivados del petróleo o a la proximidad a depósitos naturales de gas o petróleo. Además se encuentran dentro de los productos químicos más abundantes, con una producción anual de estos que se detalla de **Tabla 3**.⁶

*Tabla 3. Producción mundial anual de BTEX en toneladas.*⁶

Compuesto	Producción Anual (millones de toneladas)
Benceno	8 a 10
Tolueno	5 a 10
Etilbenceno	5 a 10
Xilenos	10 a 15

El contenido de *BTEX* en una mezcla de gasolina estándar es aproximadamente del 18% p/p según **Figura 1. A) Porcentaje de BTEX en la gasolina. B) Porcentaje**

específico de cada BTEX en el 18 %.^{7,8} En la gasolina el benceno el componente más tóxico representa el 11% de la fracción total de *BTEX*, el tolueno el 26%, etilbenceno 11% y los xilenos representan 52%.⁷

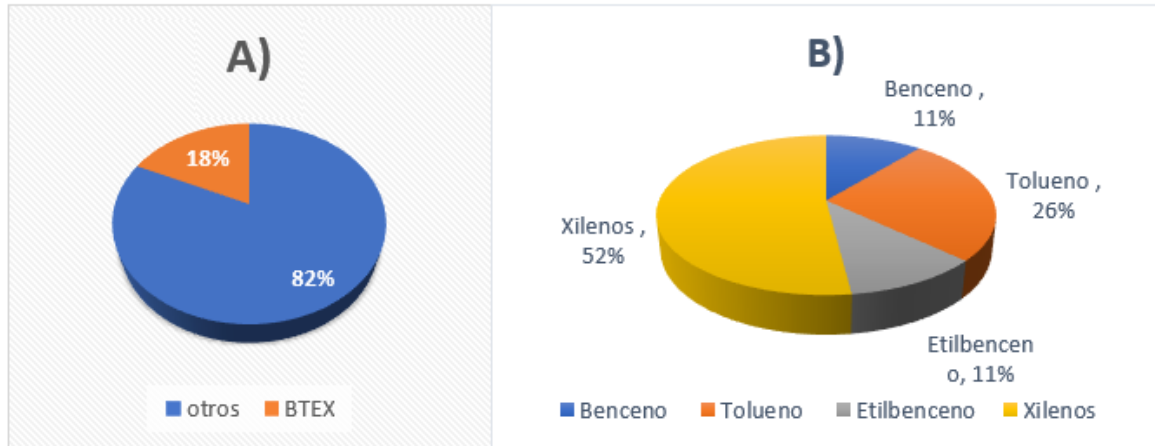


Figura 1. A) Porcentaje de BTEX en la gasolina. B) Porcentaje específico de cada BTEX en el 18 %.^{7,8}

Fuentes de emisión del tolueno:

El tolueno como solvente orgánico es utilizado en las pinturas, adhesivos, recubrimientos, tintas y productos de limpieza.⁹ El tolueno también se utiliza en la producción de polímeros que se utilizan para fabricar nylon, botellas de plástico para refrescos, productos farmacéuticos y cosméticos.¹⁰

Fuentes de emisión del benceno:

Es usado como solvente en muchas áreas de la industria, se utiliza en la manufactura de caucho y zapatos, y en la producción de sustancias importantes como estireno, fenol y ciclohexano. Es esencial en la manufactura de detergentes, pesticidas, solventes y removedores de pinturas.¹⁰

Fuentes de emisión del etilbenceno:

Es altamente inflamable, se encuentra naturalmente en el alquitrán de hulla y el petróleo, también se encuentra en productos manufacturados como tintas, pesticidas y pinturas. El principal uso de etilbenceno es en la producción del estireno.¹⁰

Fuentes de emisión de los xilenos:

Se encuentra naturalmente en el petróleo y el alquitrán de hulla. Las industrias químicas producen xilenos a partir de petróleo. Estos se utilizan como agentes de limpieza y diluyente de pintura y en pinturas, colas, tintas de impresión y barnices.¹⁰

Como podemos notar la presencia de los *BTEX* en el medio ambiente es amplia debido a la diversidad de fuentes de emisión que son consecuencia de la diversidad

de aplicaciones que poseen estos en la industria; entre las fuentes podemos mencionar las que se detallan en **Figura 2**.

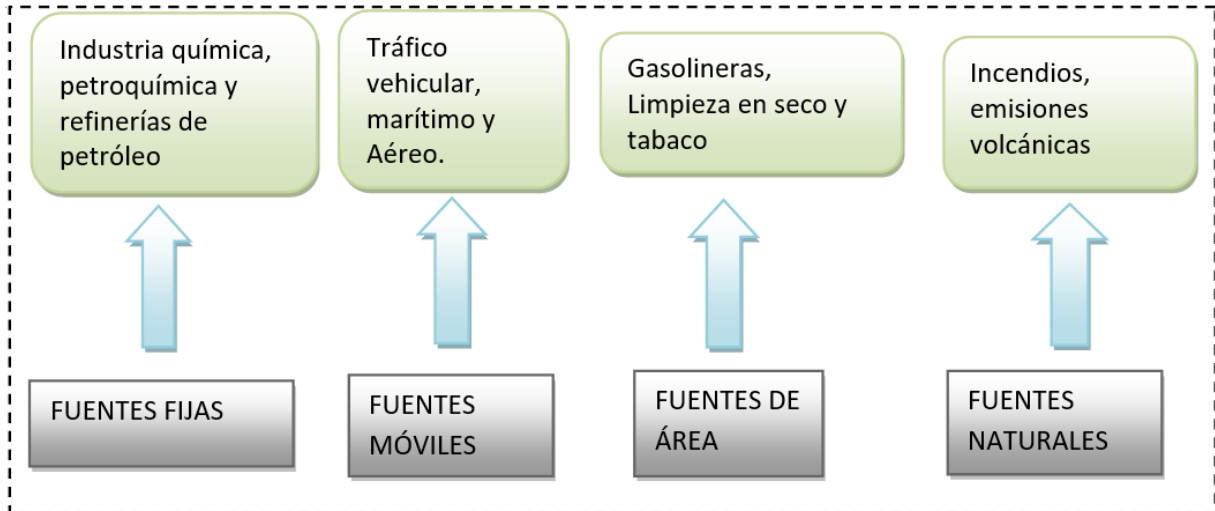


Figura 2. Principales Fuentes de BTEX en el medio ambiente. ¹¹

Se estima que la ingesta global diaria de *BTEX* para un ser humano tomando en cuenta las diferentes fuentes de emisión se aproxima a los datos presentados en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Ingesta diaria estimada de BTEX. ^{6,8}

	Benceno (µg/d)	Tolueno (µg/d)	Etilbenceno (µg/d)	Xilenos (µg/d)
Respiración	90-1300	2-1200	2-3600	70-2000
Fumar Cigarros	1800	2000	40	Hasta 190
Comida	Hasta 250	Hasta 64	NA	NA
Agua potable	Hasta 10	Hasta 43	Hasta 20	Hasta 24

5.3 EFECTO SOBRE LA SALUD

El benceno, tolueno y etilbenceno son compuestos designados como “contaminantes prioritarios” por la Agencia de Protección Medioambiental de Estados Unidos (USEPA).²

Efectos del benceno sobre la salud:

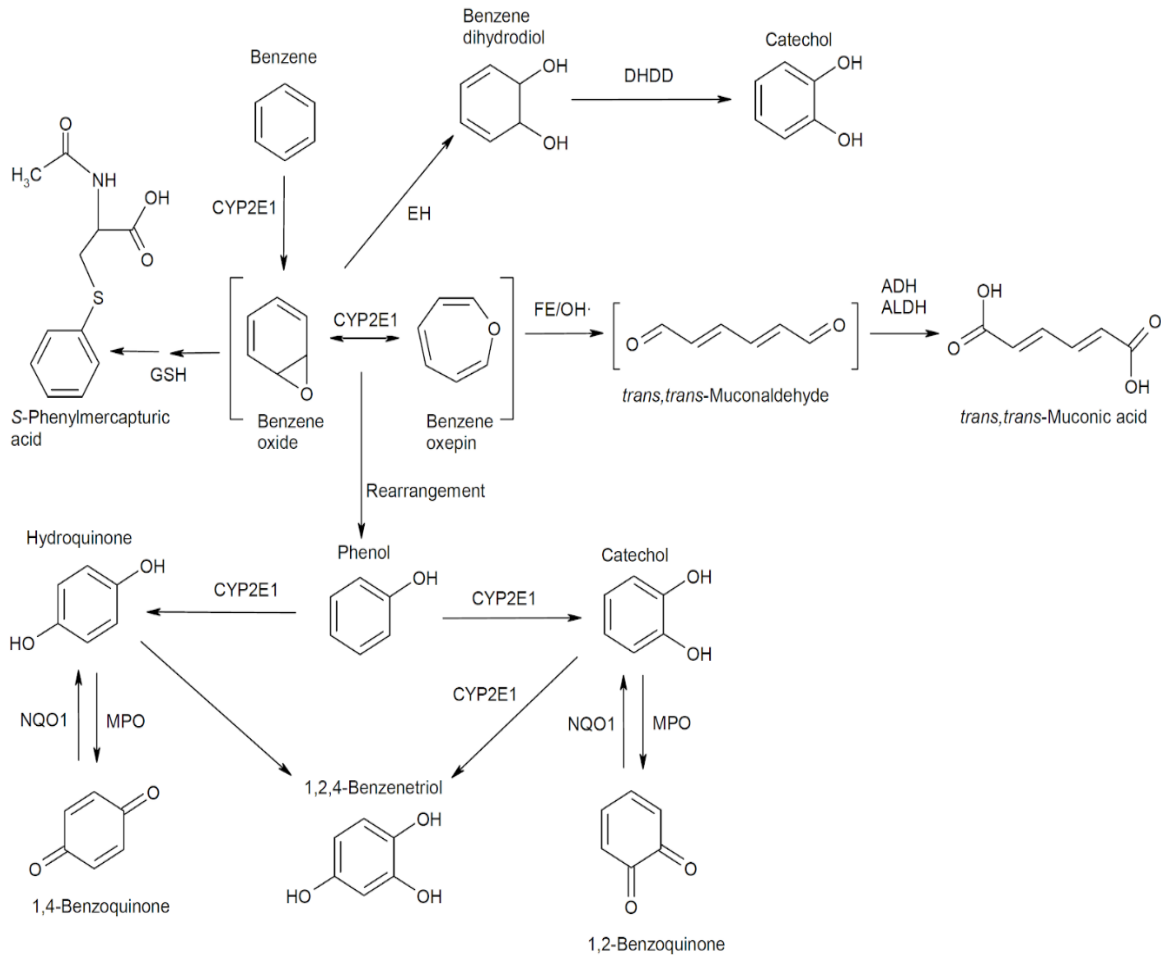
Es catalogado como cancerígeno categoría A por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), se le atribuye que provoca leucemia no linfocítica y una variedad de otros desórdenes hematológicos, inmunológicos, neurológicos, reproductivos y de desarrollo.¹¹

Además, por la tendencia del benceno a acumularse en tejido que contiene grandes cantidades de lípidos, las mujeres son más susceptibles a sufrir envenenamiento por poseer mayor contenido de grasa corporal, esta misma característica permite que atraviese la placenta en mujeres embarazadas provocando daños al feto. Se han reportado concentraciones mayores en el cordón umbilical de los recién nacidos a las que ha sido expuesta la madre.^{11,12} Según la concentración a la cual han sido expuestas las personas se pueden presentar las patologías mencionadas en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Patologías causadas por el benceno a exposición altas y bajas.¹¹

<i>Exposición a baja concentraciones</i>	<i>Exposición a altas concentraciones</i>	<i>Enfermedades que causa:</i>
Causa mareos, aturdimiento, dolor de cabeza, pérdida de apetito y malestar estomacal e irritación de la nariz y garganta.	Conduce a irregularidades funcionales en los latidos del corazón y en casos graves la muerte. La exposición de 5-10 min a una concentración igual o mayor de 20,000 ppm en el aire de benceno se considera letal. ¹¹	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Leucemia mielógena aguda ❖ Leucemia linfocítica aguda ❖ Leucemia mielógena crónica ❖ Leucemia linfocítica. ❖ Leucemia de células pilosas.¹⁰

Los metabolitos derivados del metabolismo del benceno en seres humanos fueron determinados a partir de estudios de individuos que han sufrido alguna exposición a concentraciones mayores a 1 ppm (partes por millón) de benceno vía aérea, entre estos se encuentran; el fenol, ácido mucónico, hidroquinona, catecol y ácido fenilmercaptano.¹¹ El mecanismo para la degradación del benceno en nuestro cuerpo se detalla en la **Figura 3**.



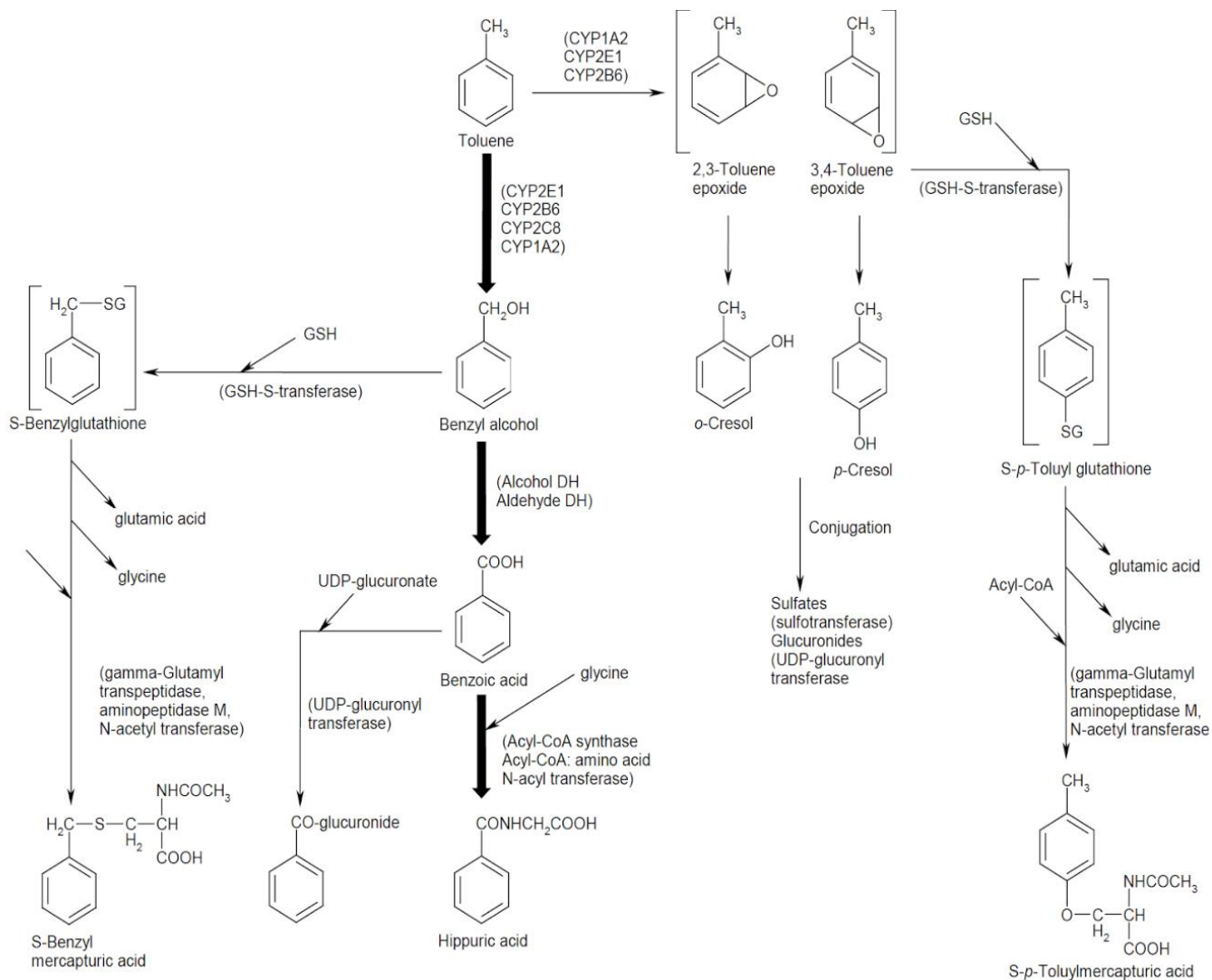
ADH= Alcohol deshidrogenasa; ALDH: Aldehído deshidrogenasa, CYP2E1= Citocromo P-420 2E1; DHDD=Dihidrodiol deshidrogenasa; EH=Epóxido hidrolasa; GSH= glutatión; MPO=Mieloperoxidasa; NQO1=NAD(P)H: Quinona oxidorreductasa.

Figura 3. Vías metabólicas del benceno. ¹¹

El principal repositorio del cuerpo humano para metabolizar el benceno es el hígado debido a la mayor concentración de CYP que es una de las enzimas que degradan al benceno, también se sabe que este proceso se da en la médula ósea de ahí se deriva su toxicidad. Los metabolitos fenólicos (fenol, hidroquinona, catecol, 1,2,4-benzenotriol y 1,2- y 1,4-benzoquinona) parecen desempeñar un papel importante en la toxicidad del benceno.¹¹ La hidroquinona y el 1,2,4-benzenotriol producen daño oxidativo al ADN en la médula ósea.

Efectos del tolueno sobre la salud:

Por ser uno de los solventes más ampliamente utilizados en la industria, se han realizado muchas investigaciones con relación a genotoxicidad, como producto se ha reportado en estudios epidemiológicos un aumento significativo en el cáncer de vías respiratorias, pulmones, riñón, vejiga urinaria y leucemia en trabajadores de imprentas.⁹ El principal metabolito urinario del tolueno es el ácido hipúrico.¹³ Como podemos observar en la se describe el metabolismo del tolueno en animales y seres humanos.



CYP: isoenzimas citocromo, Alcohol DH: Alcohol deshidrogenasa, Aldehído DH: aldehído deshidrogenasa, Acil COA: Acilcoenzima A, UDP-glucoronil tranferasa:uridinadifosfato glucoronil transferas, GSH-s-tranferasa: Glutacion S tranferasa.

Figura 4. Metabolismo del tolueno en humanos y animales. ¹³

Una vía de biotransformación del tolueno conduce a la formación de epóxido de tolueno, este puede generar especies reactivas con el oxígeno, lo que puede causar estrés oxidativo y daño al ADN. Esta oxidación del ADN tiene potencial genotóxico y está relacionada con la patogénesis de varias enfermedades incluyendo el cáncer y los trastornos neurodegenerativos.⁹ Uno de los intermediarios en el metabolismo del tolueno es el cresol que se hidroxila para formar metilhidroquinona (MHQ), la cual se oxida de forma espontánea y produce metilbenzoquinona (MBQ). Es conocido que el cresol es un promotor de tumores y la MHQ y MBQ son derivados de la hidroquinona (HQ) y 1,4- benzoquinona (BQ), ambos metabolitos del benceno. Estos últimos producen daño oxidativo al ADN.¹⁴

Efectos del etilbenceno sobre la salud:

Causa efectos irritantes en los ojos, la piel y la vía respiratoria e incluso afecta al sistema nervioso central. El contacto con la piel causa ampollas, enrojecimiento, agrietamiento y dermatitis.

Tras experimentar con animales se llegó a la conclusión que aumenta el tamaño del hígado, riñón y el bazo. Pero no se han obtenido pruebas suficientes para clasificarlo como carcinogénico según la IARC.¹⁰

Efectos de los xilenos sobre la salud:

Algunos síntomas que se producen por la exposición a los xilenos son dolor de cabeza, fatiga, enrojecimiento, dermatitis, irritación de los ojos, nariz y garganta; deterioro del equilibrio, e irritabilidad cardíaca. Aunque la Agencia de protección Ambiental de EE. UU y la IARC no tienen suficientes pruebas para catalogarlo como cancerígeno para los seres humanos.¹⁰

En general, estos compuestos pueden ser más nocivos para los niños y pueden afectar al embarazo, ya que se ha reportado concentraciones en la sangre del cordón umbilical de niños igual o mayor a la cual ha estado expuesta la madre y se sabe que la principal enzima para metabolizar el benceno no está presente en el feto. Al etilbenceno y xilenos se les atribuye la afección de teratogenicidad o malformaciones monstruosa en fetos.¹²

El uso extendido de los BTEX sigue persistiendo debido a la variedad de sus aplicaciones en la industria. Sin embargo, la exposición a estos compuestos puede tener impacto a corto y a largo plazo. En el corto plazo para mantos acuíferos como ríos se presenta toxicidad para la vida acuática, así como peligros potenciales por inhalación y al largo plazo incluyen cambios en el hígado y efectos nocivos en los riñones, corazón, pulmones y sistema nervioso. La exposición como mezcla puede provocar daños neurológicos, respiratorios, genéticos y del sistema excretor y otras patologías que van desde irritación de los ojos, membranas mucosas, y piel, hasta sistemas nerviosos debilitados, función de la médula ósea reducida y cánceres.³

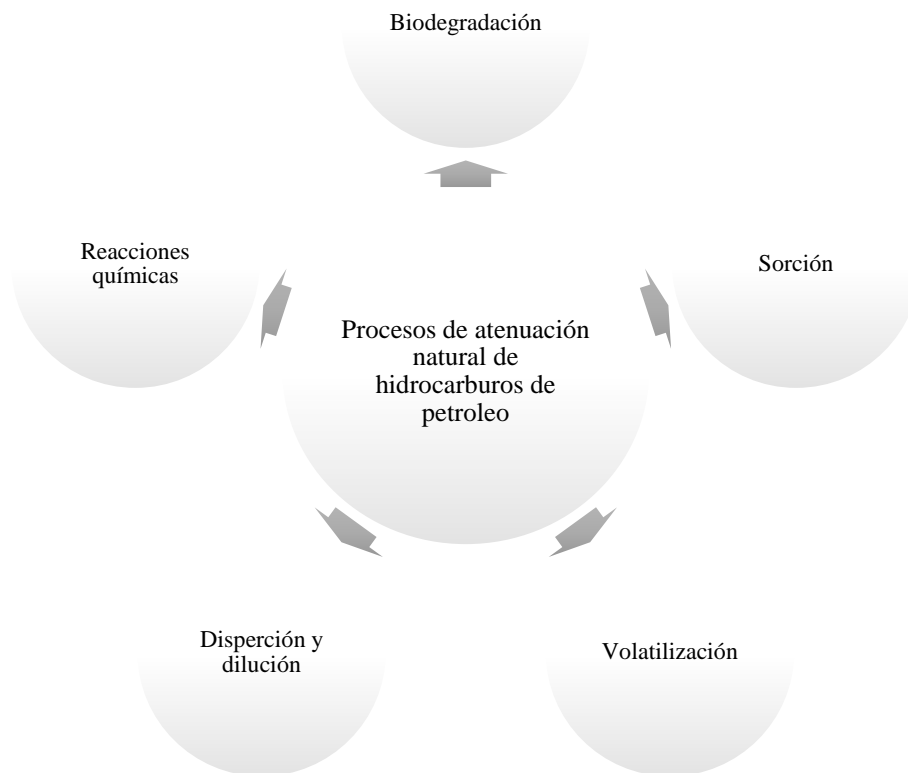
5.4 ATENUACIÓN DE CONTAMINANTES

La atenuación natural incluye una variedad de procesos físicos, químicos y biológicos, que, bajo condiciones favorables, actúan sin intervención humana para reducir la masa, la toxicidad, la movilidad, el volumen o la concentración de contaminantes en el suelo, agua y aire. Estos procesos incluyen biodegradación; dispersión; dilución; adsorción, volatilización; y estabilización, transformación o destrucción química o biológica de contaminantes.^{15,16.}

En la atenuación natural pueden ocurrir dos tipos de procesos:

- **Procesos destructivos:** se destruye el contaminante, es decir lo fragmenta generando subproductos, en consecuencia, se reduce la masa del contaminante. Entre estos procesos se encuentra la biorremediación y transformación química.
- **Procesos no destructivos:** no se destruyen los contaminantes solo causa una reducción de su concentración en el medio ambiente. Entre estos se encuentra la dilución o dispersión, volatilización y adsorción.¹²

En la **Figura 5.** se presentan los diferentes procesos de atenuación natural que pueden sufrir los *BTEX* en el medio ambiente.



*Figura 5. Procesos de atenuación natural de hidrocarburos de petróleo.*¹⁶

Los hidrocarburos son sustancias que fácilmente se degradan por el proceso de biodegradación o biorremediación.

Biodegradación o biorremediación: es un proceso donde participan los microorganismos como levaduras, hongos o bacterias descomponiendo los contaminantes en sustancias menos tóxicas o inocuas para la salud humana.¹⁶

La biodegradación puede ocurrir en condiciones aeróbicas o condiciones anaeróbicas, en el caso de ambientes aeróbicos. Se ha demostrado que los BTEX son altamente receptores al ataque microbiano principalmente en condiciones aeróbicas.³

Según estudios, el tolueno ha presentado una velocidad de degradación mayor que los demás. En este proceso el oxígeno actúa como aceptor de electrones para su degradación completa por bacterias, hongos o algas.³ Estos se descomponen en catecol por vía aeróbica y anaeróbica en benzoatos (vea **Figura 6**).

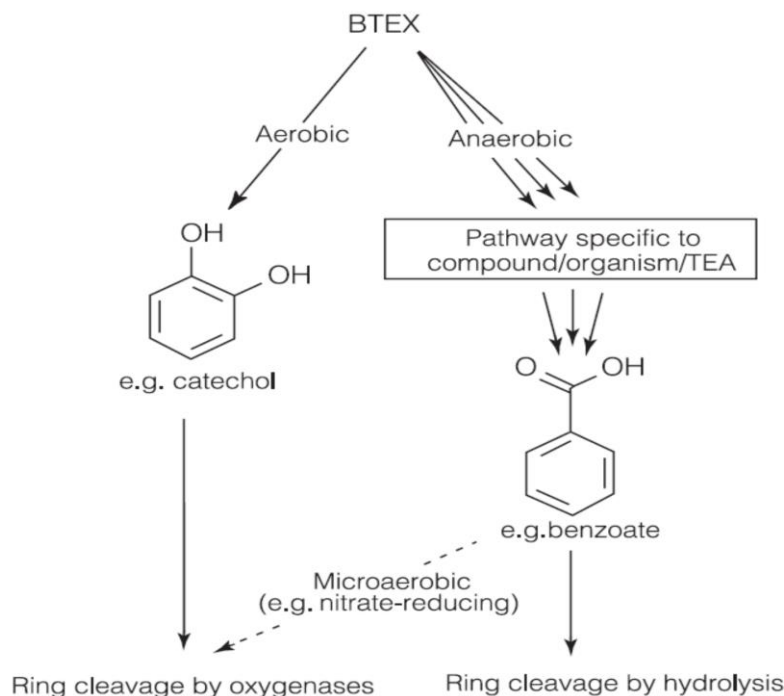


Figura 6. Pasos generales para la degradación de BTEX. ¹⁵

Entre los BTEX el benceno posee una estructura estable y su proceso de degradación puede inhibirse por la presencia de otros compuestos más biodegradables por ejemplo el Tolueno, hay mucha literatura que expresa su posible degradación en ambientes anaeróbicos mediante reacciones redox mediadas por microorganismos autóctonos que lo pueden descomponerlo a compuestos inocuos, como metano y dióxido de carbono. Incluso se sabe que los TEX se degradan de forma natural en aguas subterráneas. ¹⁵ Según un estudio de análisis de suelos enriquecidos con microorganismo la **tasa de atenuación de los BTEX sigue el siguiente orden de mayor a menor tolueno> etilbenceno> m-xileno> o-xileno> benceno> p-xileno**. Dando como resultado que el tolueno tiene una mayor tasa de degradación que los demás y que este no inhibe la degradación de los demás en concentraciones 100 mg/kg de suelo, sin embargo, a concentraciones mayores como a 300 mg/kg determinaron que, si resulta inhibida la degradación del benceno, o-xileno y p-xileno. La bioaumentación, es decir la adición de microorganismos especializados para mejorar la eficiencia de biodegradación de los contaminantes en el suelo ha demostrado ser un método viable y económico en comparación con otras técnicas de tratamiento. ¹⁷ No solo los microorganismo autóctonos influyen en la velocidad y el grado de biodegradación de los BTEX, la concentración de los contaminantes, la temperatura, el pH, la disponibilidad de nutrientes inorgánicos y la adaptación microbiana también afectan. ³

El principal genero de bacterias que ha demostrado tener un papel importante en la degradación de BTEX, son las Pseudomonas como *Pseudomona putida*, *Pseudomona fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*. Además de otras bacterias como *Microbacterium lactium*, *Bacillus cereus*, *Rhodococcus rhodochrous* y el hongo *Cladophilophora sp.* Se puede considerar exitoso el proceso de

biorremediación si los productos residuales son agua, dióxido de carbono y biomasa.¹⁸

6) MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE BTEX

6.1 MÉTODO 5021A DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EN VARIAS MATRICES DE MUESTRA UTILIZANDO ANÁLISIS DE ESPACIO DE CABEZA EN EQUILIBRIO.

Este método 5021A describe la técnica de **espacio de cabeza estático** basado en el equilibrio líquido-vapor de los compuestos volátiles en el suelo/sedimento, desechos sólidos, líquido acuoso y miscible en agua, además este método se puede combinar con los siguientes métodos EPA 8015, 8021 o 8260 para mejorar la eficiencia individual.¹⁹

La combinación del método 8260B con el método de preparación 5021A, es la combinación más conveniente para utilizar la técnica de microextracción en fase sólida para determinar BTEX.

Considerando que la técnica de microextracción en fases sólida con espacio de cabeza consiste principalmente en dos etapas para el análisis, la adsorción y la desorción, podemos notar la compatibilidad que tiene con el método 5021A.

❖ Adsorción y desorción.

En la etapa de adsorción se coloca en contacto directo o indirecto la fibra de microextracción en fase sólida con la matriz del analito a una temperatura y tiempo específico hasta que se produce el equilibrio entre el sistema trifásico y se extraiga lo máximo posible, en una segunda etapa después de un tiempo determinado se coloca la fibra en el inyector del sistema cromatográfico utilizado a una temperatura a la cual se desorban los analitos de la fibra.^{12,20}

6.2 MÉTODO 8260B DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Este método es ampliamente utilizado para la determinación de compuestos orgánicos volátiles entre los cuales se encuentran los BTEX, en una variedad de matrices de desechos sólidos. Este método es aplicable a casi todos los tipos de muestras, independientemente del contenido de agua, incluyendo varios medios de captura de muestreo de aire, aguas subterráneas y superficiales, lodos acuosos, licores cáusticos, licores ácidos, solventes de desecho, desechos oleosos, alquitranes, desechos fibrosos, emulsiones poliméricas, tortas de filtro, carbones gastados, catalizadores agotados, suelos y sedimentos. Este se puede usar para cuantificar la mayoría de los

compuestos orgánicos volátiles que tienen puntos de ebullición por debajo de 200°C, como los BTEX.²¹

Entre las técnicas de introducción de las muestras al sistema GC-MS se encuentran las siguientes: Purga y trampa, mediante los métodos EPA 5030 (muestras acuosas) y 5035 (muestras de aceite sólido y residual), es la técnica más comúnmente utilizada para analitos orgánicos volátiles.

7) CROMATOGRAFÍA DE GASES- ESPECTROMETRÍA MASAS

En cromatografía de gases se comparan los tiempos de retención relativos de los picos cromatográficos con curvas de calibración de los analitos o analito de interés. Si en el cromatograma de la muestra existen picos que coincidan en sus tiempos de retención relativos se llega a la conclusión que son el mismo compuesto, sin embargo, solo su coincidencia en realidad no garantiza que sea el mismo, esto depende de factores como el tipo y la complejidad de la muestra y los procedimientos de preparación de esta. Como una forma de resolver la incertidumbre al tratar con mezclas muy complejas se desarrolló el acoplamiento de la cromatografía de gases con la espectrometría de masas por medio del cual se puede hacer una caracterización más detallada y con una selectividad alta, este instrumento es el que conocemos actualmente como **cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas(GC/MS)**.²² A medida que los compuestos eluyen del cromatógrafo de gases entran al espectrómetro de masas. El espectrómetro de masas realiza el análisis de los gases eluidos (produce, separa y detecta iones) del cromatógrafo y genera un espectrograma de cada uno de los compuestos de la mezcla en orden de elución, como es conocido cada compuesto tiene una huella digital única por lo que por medio de estos podemos identificar y determinar el compuesto correspondiente a cada uno de los picos cromatográficos de un cromatograma y de esta forma confirmar un resultado como positivo.

En general un sistema típico de GC-MS realiza las siguientes funciones de acuerdo con sus componentes que lo conforman: 1) separación de compuestos individuales en una mezcla mediante cromatografía de gases; 2) transferencia de componentes separados a la cámara de ionización; 3) ionización; 4) análisis de masas; 5) detección de los iones mediante un multiplicador de electrones; y 6) adquisición, procesamiento y visualización de datos mediante un sistema informático. Durante el proceso de ionización los compuestos son bombardeados por una corriente de electrones que conduce a la fragmentación en iones. La masa del fragmento dividida por su carga es la relación masa-carga(M/Z). Casi siempre la carga es de +1, y la relación M/Z representa la masa molar del fragmento.²³ Los espectrómetros de masas se configuran normalmente con analizadores de tipo sector magnético o triple cuadrupolo. Estos están programados para dirigir fragmentos uno a la vez al detector, hasta que se recupera el rango total de M/Z. Como consecuencia de eso se genera un espectro de masas, estos son gráficos de la intensidad de la señal (abundancia relativa) frente a las relaciones M/Z (esencialmente el peso molecular).²³ En **Figura 7**

podemos observar los componentes de un sistema GC-MS y si diagrama de bloques de sus componentes.



Figura 7. Componentes del sistema GC- MS.²²

8) MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME)

Es una técnica de extracción que se puede emplear en cromatografía de gases y cromatografía de gases-espectrometría de masa, esta se desarrolló en el año de 1990 por Pawliszyn y colaboradores. Tiene múltiples ventajas respecto a las técnicas tradicionales de preconcentración, ya que disminuye el tiempo de trabajo, presenta un bajo coste²⁰, se mejora la sensibilidad, el límite de detección, límite de cuantificación, disminuye la cantidad de muestra y no utiliza disolventes para realizar la extracción. Además de ser simple y fácil automatización para los análisis.¹ Esta técnica se ha vuelto popular por la versatilidad de sus ámbitos de aplicación, se pueden realizar análisis de muestras gaseosas, líquidas y sólidas. Para realizar la extracción se hace uso de una fibra sorbente de composición conocida (**ver Figura 10**) que se puede sacar y retraer de una aguja hueca de acero inoxidable utilizando un embolo que incluye el porta fibra y por medio de la cual se

puede realizar la inyección a través de septum en el cromatógrafo de gases. En la **Figura 8.** podemos observar todos los componentes de una fibra comercial de forma detallada.²⁰

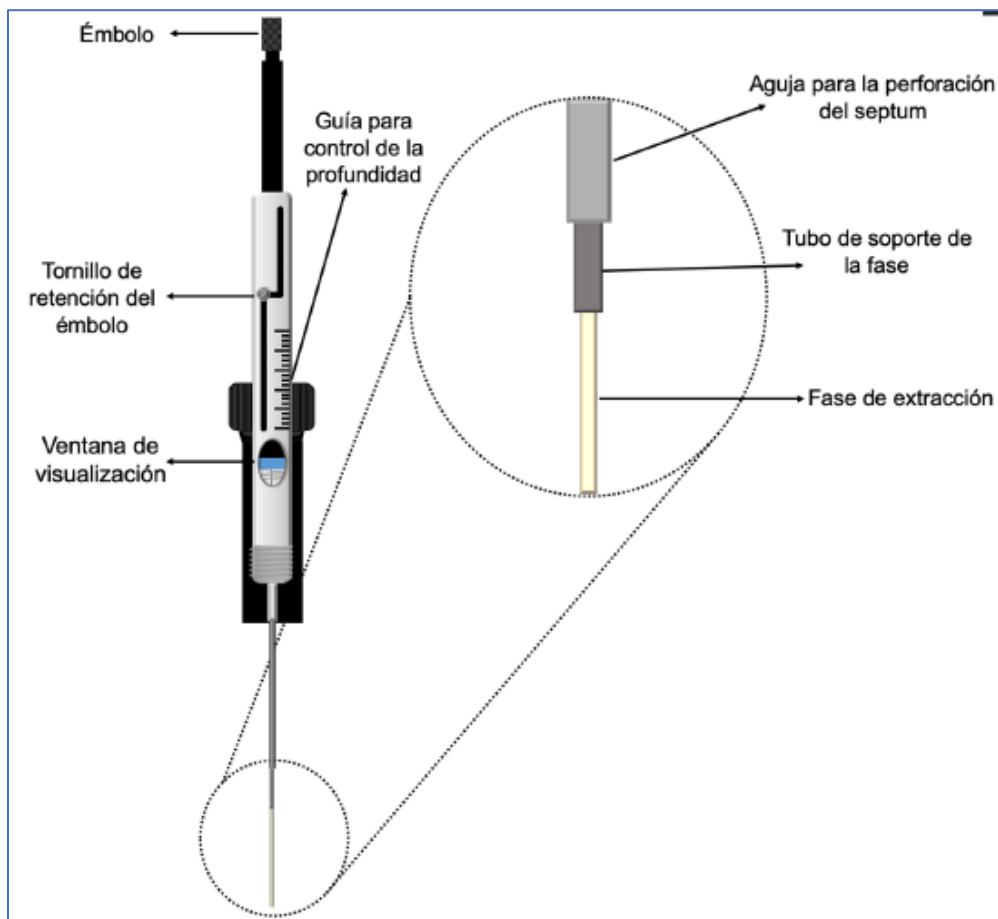


Figura 8. Esquema del dispositivo comercial de SPME. ⁸

En este dispositivo de inyección se utiliza una fibra de fase absorbente cuya composición depende de las propiedades de los analitos que se deseen estudiar. En general se involucran tres fases en el análisis: la matriz (L), fase sólida (F) y la fase gaseosa (G).¹

Los analitos expuestos a la fibra alcanzan un equilibrio trifásico (**Figura 9.**).

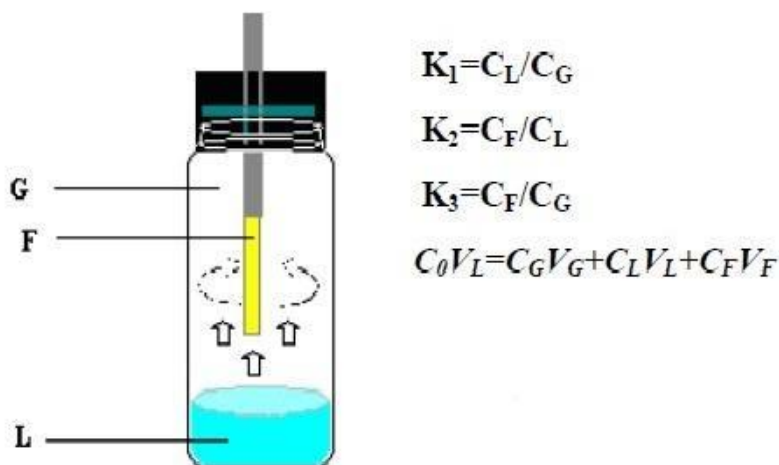


Figura 9. Equilibrios del analito en el sistema trifásico. ¹²

Donde C_0 representa la concentración inicial del analito en la muestra y las constantes de equilibrio K_1 , K_2 y K_3 representan la proporción de las concentraciones en las fases, C_F, C_G, C_L son las concentraciones del analito en la fase sólida, gaseosa y líquida respectivamente y V_G, V_F, V_L son los volúmenes de las fases.¹

$$C_0 V_L = C_G V_G + C_L V_L + C_F V_F \quad \text{Ecuación (1)}$$

La cantidad de analito retenida en la fibra se expresa $\eta_{fibra} = C_F V_F$

Multiplicando la ecuación (1) por $\frac{C_F V_F}{C_L}$ y simplificando se obtiene.

$$\eta_{fibra} = \frac{K_2 V_F V_L}{K_2 V_F + K_1 V_G + V_L} \times C_0 \quad \text{Ecuación (3)}$$

Esta expresión se simplifica en dos casos:

1. Si $V_L \gg K_2 V_F + K_1 V_G$ se simplifica a

$$\eta_{fibra} = K_2 V_F C_0 \quad \text{Ecuación (4)}$$

Si se cumple el caso uno en base la ecuación 4 observamos que volumen de la muestra (V_L) no influye en la cantidad de analito extraído cuando este es mucho mayor que $K_2 V_F + K_1 V_G$.²⁴

2. Si $K_1 V_G + V_L \ll K_2 V_F$ se simplifica a

$$\eta_{fibra} = V_L \times C_0 \quad \text{Ecuación (5)}$$

Cuando el volumen de la muestra es mucho menor a $K_1 V_G + V_L$ se produce una extracción exhaustiva, esto ocurre con muestra de volúmenes muy pequeños y analitos con valores de K_2 muy grandes.²⁴

Al aumentar el volumen de la muestra, aumenta la cantidad de analito extraído hasta alcanzar un valor a partir del cual la cantidad extraída no depende del volumen de muestras.

24

En microextracción en fase sólida se pueden identificar dos etapas, la primera cuando la fibra se pone en contacto directo o indirecto con la muestra durante un tiempo y temperatura determinada donde se produce lo que se conoce como adsorción y la segunda, donde la fibra se coloca en el inyector a una temperatura determinada y se produce la desorción de los analitos.

8.1 TIPOS DE EXTRACCIÓN UTILIZADOS EN SPME.

Se encuentran dos formas principales mediante las cuales se puede realizar la extracción con la fibra: con espacio de cabeza (HS-SPME) y con inyección directa (ID-SPME) (**ver Figura 10.**), en el primer caso la fibra solo se expone a la fase gaseosa del vial y en la inyección directa la fibra se pone en contacto con la disolución de la muestra para que se lleve a cabo la adsorción. Posteriormente se guarda la fibra y se lleva hacia el inyector para su desorción.¹ La selección de la técnica se basa en la composición de la matriz, la volatilidad del analito y la afinidad de este con la matriz.¹

La eficacia de estas técnicas de extracción radica en la naturaleza del analito que se esté estudiando y la matriz. Se sabe que ID-SPME es más sensible que HS-SPME pero en general para compuestos volátiles se utiliza HS-SPME, debido a que los componentes no volátiles se absorben en la fibra como en el caso de las proteínas que se adhieren de forma permanente disminuyendo la vida útil e incluso inutilizando a la fibra.²⁴ Una forma para evitar que algún componente de alto peso molecular como ácidos húmicos o proteínas se adhieran a la fibra exponiéndola directamente a la muestra, es utilizando una membrana protectora, aunque el proceso de extracción es más lento ya que los analitos necesitan difundirse por la membrana antes de llegar al recubrimiento de la fibra.²⁰ Además que los tiempos de equilibrio para los compuestos volátiles son más cortos en HS-SPME.²⁵

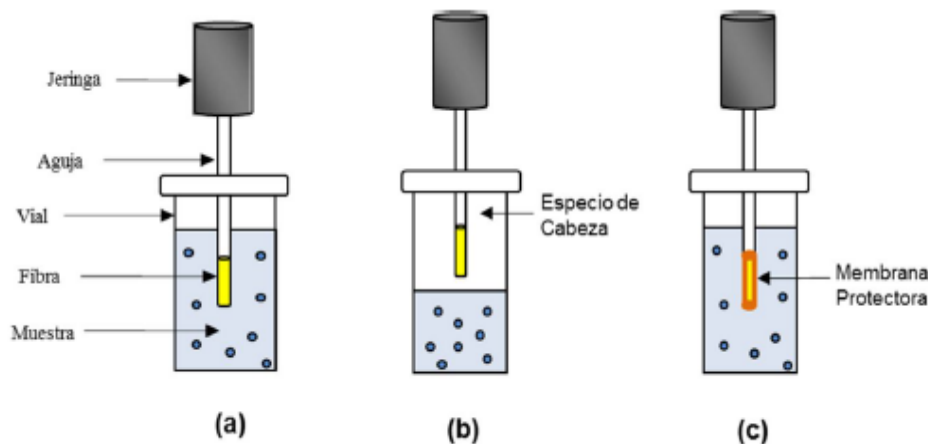


Figura 10. Tipos de extracción A) HS-SPME , B) ID-SPME y C) ID-SPME utilizando membrana protectora.²⁰

El tipo de extracción se elige con base a criterios (ver Figura 11.) relacionados con: el tipo de matriz, la volatilidad del analito y la afinidad de este con la fibra sorbente.

<i>Modo SPME</i>	<i>Propiedades del analito</i>	<i>Matrices</i>
<i>Inmersión Directa</i>	<i>De media a baja volatilidad</i>	<i>Muestras gaseosas , líquidas</i>
<i>Espacio de cabeza</i>	<i>De alta a mediana volatilidad</i>	<i>Muestras líquidas, solidas</i>
<i>Membrana Protectora</i>	<i>Baja volatilidad</i>	<i>Muestras complejas</i>
<i>In-vivo</i>	<i>De mediana a baja volatilidad</i>	<i>Muestras biológicas</i>

Figura 11. Criterios de selección del tipo de extracción.²⁰

Por medio del mecanismo de extracción las fibras de microextracción se pueden clasificar como: fibras adsorbentes y fibras absorbentes. Según la **Figura 12** podemos observar que las fibras monofásicas, es decir que solo están compuestas por una fase absorbente predomina el mecanismo de absorción, aunque según algunos autores en ciertas condiciones podría producirse cierta competitividad entre ambos procesos, por ejemplo cuando el analito es muy polar el proceso puede ser por adsorción en el caso de la fibra de PDMS²⁰ y para las fibras multifásicas, las cuales pueden contener más de una fase absorbente predomina el mecanismo de adsorción; por ejemplo en las fibra de CAR-PDMS.

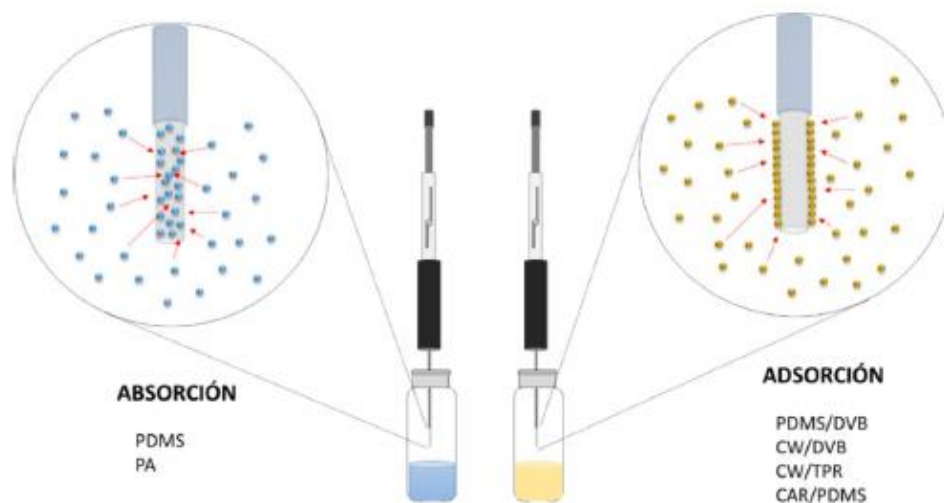


Figura 12. Clasificación de la fibra según el mecanismo de extracción. De acuerdo a las siguientes fases de extracción : polidimetilsiloxano (PDMS), Divinilbenceno (DVB), Cabowax (CW), Resina templada (TPR), Carboxeno (CAR).²⁰

La desorción ocurre en el inyector a una temperatura equivalente al punto de ebullición del compuesto más volátil, el tiempo de desorción depende de la temperatura del inyector y el flujo de gas portador en la fibra.²⁴ En la **Figura 13.** se esquematiza el proceso de adsorción y de desorción por los dos modos de extracción ID y HS.

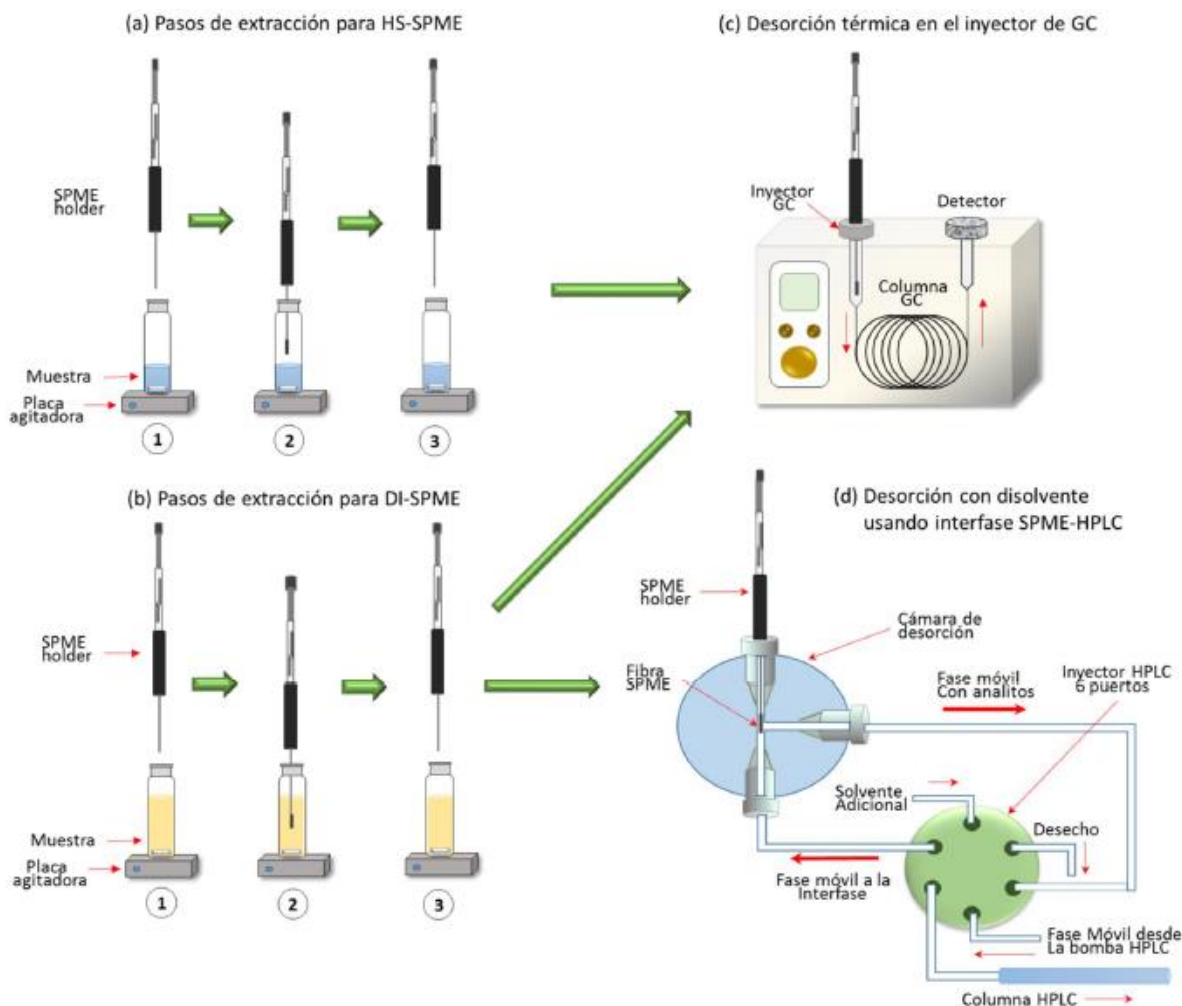


Figura 13. a) Proceso de extracción utilizando espacio de cabeza, b) Proceso de extracción utilizando inmersión directa, c) Proceso de desorción en sistemas cromatográfico de gases o gases-masas y d) Proceso de desorción en cromatografía líquida de alto rendimiento²⁰.

8.2 INTERFERENCIAS DEL MÉTODO.

Todos los compuestos a analizar por GC-MS utilizando SPME tienen que ser estrictamente volátiles, en el análisis de agua interfieren:

- ❖ Compuestos polares (fenol) o térmicamente inestables (pesticidas) produciendo colas extensas en los picos cromatográficos.¹ Los componentes no volátiles se adsorben en la fibra como en el caso de las proteínas que se adhieren de forma permanente quitándole vida útil e incluso inutilizando a la fibra.²⁴
- ❖ El contenido de materia orgánica en agua con un nivel de carbono orgánico disuelto (COD) de 21 mg.L⁻¹ afecta un 20% eficiencia de la extracción.²⁴

- ❖ El pH de las muestras se tiene que ajustar para el estudio de sustancias básicas o ácidas debido a que por SPME solo se extraen sustancias neutras.^{24,26}

La inadecuada optimización de los parámetros cromatográficos implica un error en el análisis de los datos, debido a que la adsorción y desorción se ven afectadas por las condiciones en las que se realizan.

8.3 FACTORES QUE AFECTAN A LA ADSORCIÓN Y DESORCIÓN EN SPME.

Adsorción:

La adsorción refiriéndonos a la concentración del analito adherido a la fibra en HS-SPME, se ve afectada por las constantes de equilibrio entre el sistema trifásico, además del volumen de la muestra, tiempo de extracción, pH, longitud introducida de la fibra, adición de sal, temperatura, agitación, composición de matriz y su afinidad con el analito.²⁴

Para cada una de esas variables se realiza un proceso de optimización de acuerdo al tipo de analito y matriz. Para ello se varía una variable y todas las demás se dejan de forma constante con el fin de ver la variación de la cantidad de analito extraído respecto a los cambios de esa variable. A continuación, se da una breve descripción:

- ❖ **Tipo de fibra de microextracción en fase sólida.**

El tipo de fibra se elige de acuerdo con la afinidad de los analitos tanto con la matriz como del recubrimiento de la fibra, estas pueden variar tanto en longitud como en grosor. En la **Tabla 6.** se describen los tipos de fibras. Las fibras más utilizadas hasta el momento son las de PDMS que se presentan en diferentes espesores (7, 30, 100 micras), al igual de las fibras de PA solo están constituidas por un solo polímero y la extracción se da por el fenómeno de absorción; también se presentan fibras con la combinación de polímeros entre las cuales podemos mencionar las CAR-PDMS con espesores de 75 y 85 micras, CW-DVB con espesor de 65 y 70 micras, cuyo proceso de extracción se da por el fenómeno de adsorción (**ver Figura 12.**). Estas últimas según la literatura son más adecuadas para el análisis de compuestos volátiles porque en comparación a las de una sola fase sus coeficientes de partición con los analitos son mayores, aunque su principal defecto sea presentar un rango lineal dinámico más corto.²⁰

Tabla 6. Tipos de fibras de microextracción.¹⁷

Fase estacionaria / espesor	T máxima de uso	Polaridad	Uso recomendado
<i>Polidimetilsiloxano (PDMS)</i>			
100µm, fase no enlazada	280 °C	No polar	GC/HPLC
30 µm, fase no enlazada	280 °C	No polar	GC/HPLC
7 µm, fase enlazada	340°C	No polar	GC/HPLC
<i>Polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB)</i>			
65 µm, fase parcialmente entrecruzada	270°C	Bipolar	GC
60 µm, fase parcialmente entrecruzada	270°C	Bipolar	HPLC
65 µm, fase muy entrecruzada (<i>stableflex1</i>)	270°C	Bipolar	GC
<i>Poliacrilato (PA)</i>			
85 µm, fase parcialmente entrecruzada	320°C	Polar	GC/HPLC
<i>Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PDMS)</i>			
75 µm, fase parcialmente entrecruzada 85 µm, fase muy entrecruzada (<i>stableflex1</i>)	320°C	Bipolar	GC-GC
<i>Carbowax/Divinilbenceno (CW/DVB)</i>			
65 µm, fase parcialmente entrecruzada	265°C	Polar	GC
70 µm, fase muy entrecruzada (<i>stableflex1</i>)	265°C	Polar	GC
<i>Carbowax/Resina templada (CW/TPR)</i>			
50 µm, fase parcialmente entrecruzada	240°C	Polar	HPLC
<i>Divinilbenceno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS)</i>			
50/30 µm, fase muy entrecruzada (<i>stableflex1</i>)	270°C	Bipolar	GC
50/30 µm, fase muy entrecruzada (<i>stableflex1</i>) ²	270°C	Bipolar	GC

1 fibras *Stableflex*: el recubrimiento está depositado sobre una fibra de sílice fundida flexible.

2 longitud especial de 2 cm.

Las propiedades de las fibras se pueden clasificar de acuerdo con la polaridad y su capacidad de retención de los analitos según la **Figura 14**. estas siguen la siguiente tendencia.

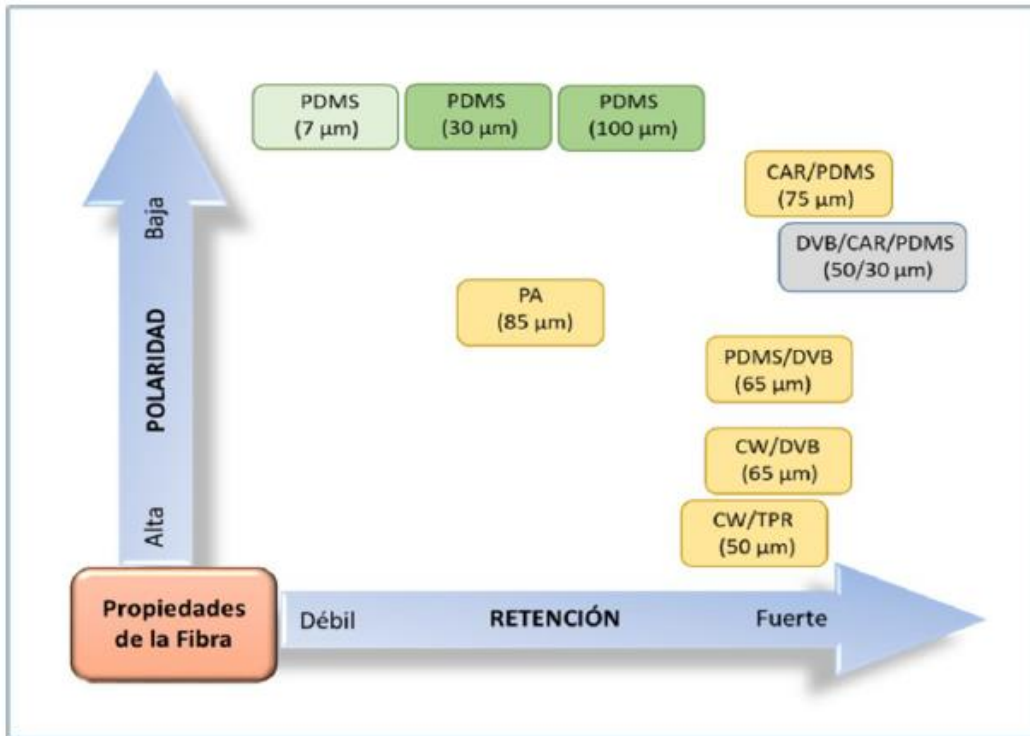


Figura 14. Propiedades de las fibras de microextracción comercializadas. Enlazada, No enlazada, Parcialmente enlazada, Altamente entrelazada.²⁰

Según Lee y colaboradores (*Lee et al., 2007*)²⁷ el mejor recubrimiento para realizar la extracción de forma simultánea de BTEX es el de Carboxen-polidimetilsiloxano (CAR-PDMS) y esto se puede observar claramente en la **Figura 15**. debido a que con esta fibra se extrae en mayor proporción de cada analito en comparación con la demás.

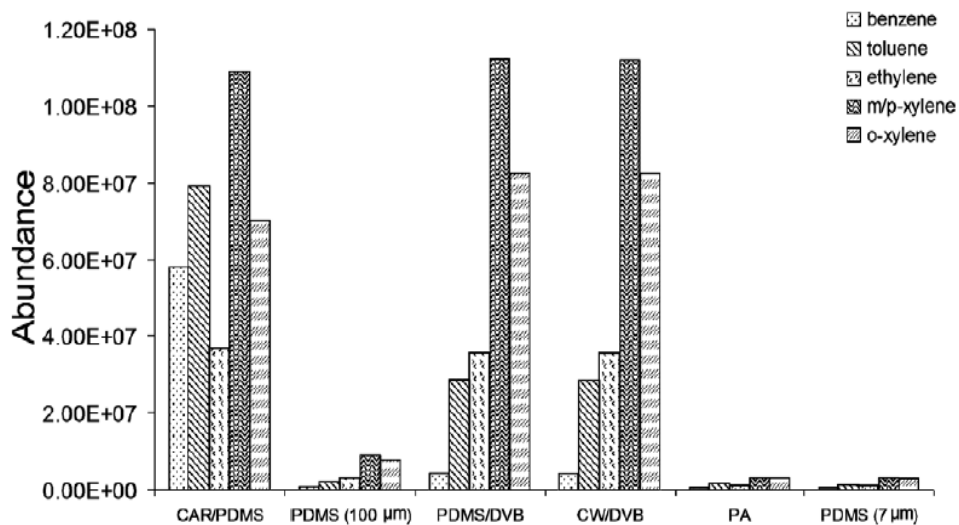
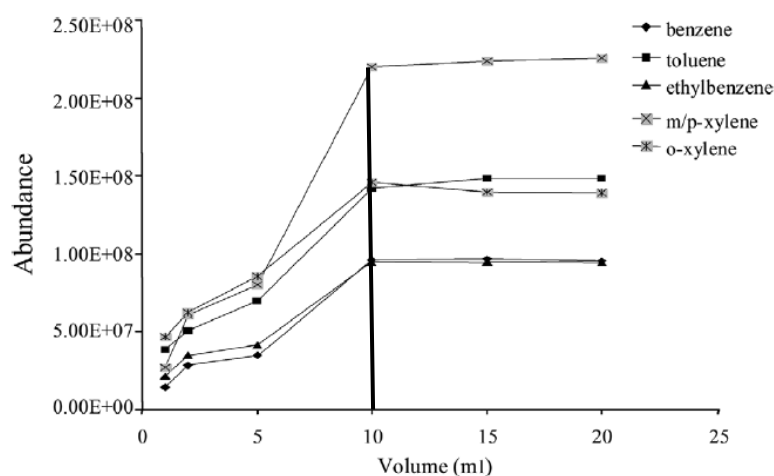


Figura 15. Tipos de fibras de microextracción en fase sólida y su capacidad de extracción de BTEX de forma simultánea.²⁷

❖ Volumen de la muestra.

Para la técnica de microextracción en fase sólida se utiliza un vial de forma cilíndrica y sellado con un tapón de goma, el estudio del volumen de la muestra se realiza con el objetivo de determinar la cantidad de muestra por medio de la cual se extrae la mayor cantidad de analito. En la **Figura 16** podemos observar que el volumen de extracción para los BTEX en ese caso particular es de 15 mL para un vial de 40 mL, este representaría el 37.5 % del volumen total ,²⁷ este volumen no es universal ya que el volumen puede verse afectado por la geometría del recipiente y por la capacidad de este.



*Figura 16. Volumen de extracción de 15 mL determinado por Lee et al., 2007 para vial de 40 mL.*²⁷

❖ Tiempo de extracción.

Se entiende como tiempo de extracción óptimo como el tiempo mínimo necesario para extraer la máxima cantidad de analito de la muestra. En la **Figura 17**, podemos observar las curvas típicas que se pueden obtener al optimizar el tiempo de extracción, podemos observar que el tiempo óptimo según ese estudio está en el intervalo de 15-20 min para los BTEX.

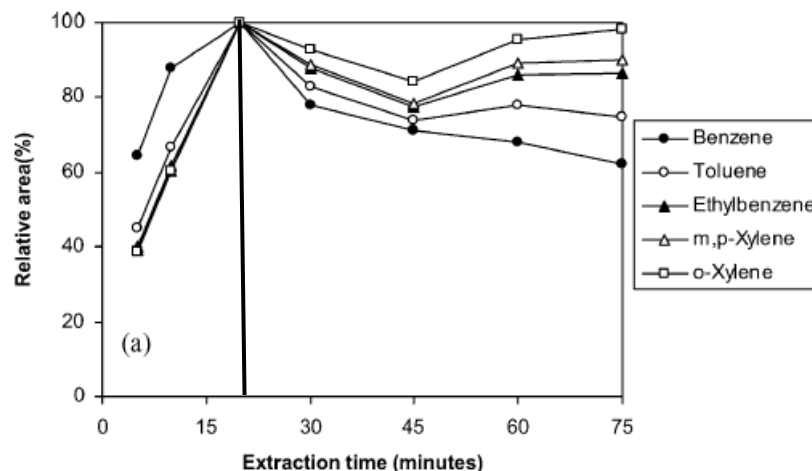


Figura 17. Curva representativa de la optimización del tiempo de extracción.²⁸

❖ Temperatura de extracción.

Como el proceso de SPME es exotérmico, al disminuir la temperatura aumenta la constante de distribución y el rendimiento de la extracción. Sin embargo, en este proceso están involucrados factores cinéticos y termodinámicos, al aumentar la temperatura aumenta la transferencia de masa hasta una $T^{\circ}\text{C}$ óptima y también la adsorción. Cuando se aumenta más que la $T^{\circ}\text{C}$ óptima la adsorción disminuye, ya que disminuye la constante de distribución.²⁴ Es fenómeno lo podemos observar en la **Figura 18**. después de 30°C la cantidad de analito disminuye drásticamente.¹²

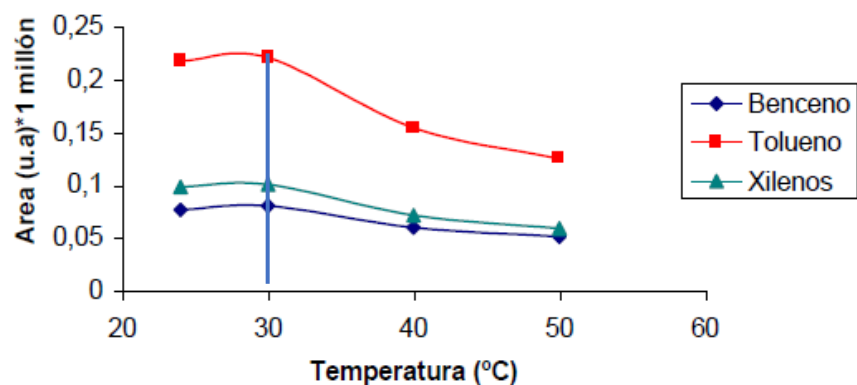


Figura 18. Efecto de la temperatura de la muestra.¹²

❖ Geometría del vial

La forma de los viales afecta la cinética del proceso de extracción de SPME, concretamente para los casos en que se utilice espacio de cabeza debido a que tiene que haber una transferencia de masa entre la muestra y el espacio de cabeza. En ese caso entre más estrecho sea el vial menor va a ser la superficie de contacto entre la muestra y el espacio de cabeza, lo que disminuiría la cinética del proceso de extracción. Por otra parte los viales altos pueden dificultar la agitación eficaz de la muestra.¹⁷

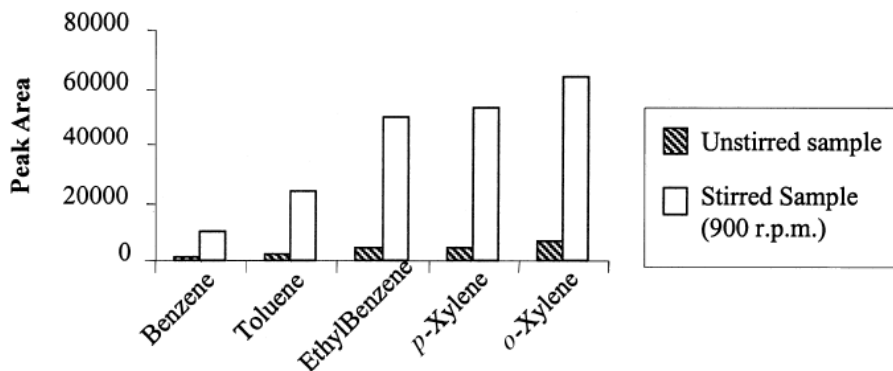
❖ Agitación de muestra

El método de agitación más utilizado para este tipo de análisis es el de agitación magnética donde se utiliza una barra de agitación en el vial, en la **Figura 19.** se presentan los diferentes métodos de agitación, sus ventajas y limitaciones.^{8,29} Es importante tener una buena agitación en la etapa de extracción ya que esto ayuda a que se difundan más los analitos por lo que con esto se logra disminuir el tiempo de equilibrio, se conoce que mejora significativamente la exactitud y presión del análisis.²⁰

Método de agitación	Ventajas	Desventajas
Estático	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Simple ➤ Funciona bien para muestras gaseosas 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Limitado a analitos muy volátiles ➤ Solo para HS-SPME
Agitación magnética	Buen desempeño, tanto para los analitos volátiles como para semivolátiles	Requiere que la barra de agitación este en el vial
Vórtex/movimiento del vial	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Buen desempeño ➤ No se necesita de barra de agitación 	Tensión en la aguja y en la fase de extracción debido al movimiento
Movimiento de la fase de extracción	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Buen desempeño ➤ No necesita de la barra de agitación en el vial 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tensión en la aguja y en la fase de extracción debido al movimiento ➤ Limitado a volúmenes pequeños de muestra
Ultrasonido	Tiempos de extracción muy pequeños	Calentamiento no controlado

Figura 19 Método de agitación de la muestra en SPME.^{8,29}

Como podemos observar en la **Figura 20**, la agitación aporta significativamente un aumento en la cantidad de analito a extraer, a medida que aumentan las revoluciones por minuto aumenta la cantidad de BTEX extraído.³⁰



*Figura 20. Efecto de la velocidad de agitación HS-SPME.*³⁰

❖ Ajuste de pH.

Realizar este ajuste para analitos ácidos o básicos es de gran importancia porque se mejora la sensibilidad del método. Si los analitos son ácidos, por ejemplo, es necesario que se encuentre en su forma neutra y el valor de pH tiene que ser por lo menos menor en dos unidades del pKa o dos unidades por encima para los analitos básicos. También tiene que estar en el rango especificado para cada fibra de microextracción.²⁰ Según Serrano y Gallegos⁷ para el análisis de BTEX en muestras acuosas no se ajusta el pH porque estos tengan propiedades acido-base, porque es conocido que no las tienen, sin embargo las muestras pueden tener materia orgánica en exceso o metales que pueden precipitar e inhibir la evaporación de los BTEX al espacio de cabeza por ello en su experimento prepararon las disoluciones de muestras al 0.1 M $\text{HNO}_{3(\text{ac})}$.

❖ Adición de sal.

Según estudios la adición de sal a las disoluciones acuosas mejora el rendimiento de la extracción, debido a que aumenta la constante de distribución y el analito es obligado a pasar a la fase gaseosa donde sucede la adsorción. Este efecto se ve afectado por la polaridad del compuesto, por lo que se puede observar el comportamiento contrario.²⁴ Como podemos observar en la **Figura 21**. La adición de sal es favorable.

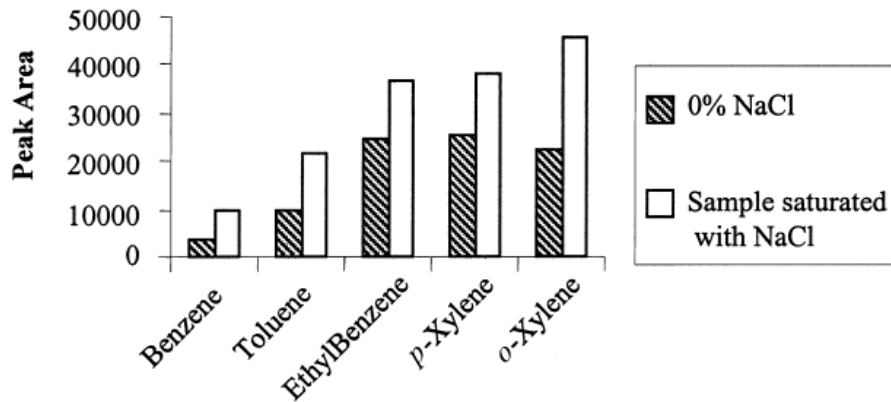


Figura 21. Efecto de la adición de sal en HS-SPME-GC-FID.³⁰

❖ Composición de la matriz.

La composición de la matriz influye de gran manera en el análisis, la presencia de materia orgánica suspendida o compuestos orgánicos como ácidos húmicos, fúlvicos, aceites, disminuyen la cinética de la extracción, esto debido a la interacción de los analitos con la materia orgánica. He incluso se sabe que ciertas sustancias húmicas pueden retenerse de forma permanente en la fibra de extracción disminuyendo la vida útil de la fibra o en casos extremos dejándola inservible.²⁰

Desorción:

La desorción eficiente y la transferencia rápida de los analitos desde el inyector a la columna requiere de altas tasas de flujo lineal del gas portador alrededor del recubrimiento, este proceso depende también de la temperatura del inyector y del tiempo de exposición al inyector.²⁴

❖ Temperatura de desorción y tiempo de desorción.

Es la temperatura a la cual los analitos se desorben de la fibra de microextracción esta se optimiza variando la temperatura del inyector en el programa cromatográfico, los analitos se desorben a la temperatura óptima a un tiempo determinado conocido como tiempo de desorción. Es recomendable utilizar como temperatura de desorción la temperatura máxima que pueda soportar la fibra según el fabricante, esto con el objetivo de evitar efectos de memoria y que otros componentes volátiles de la muestra con puntos de ebullición más altos que los analitos queden adsorbidos por la fibra. Los efectos de memoria ocurren cuando la temperatura y el tiempo de desorción de fibra no se optimizan y estos pueden afectar considerablemente los resultados del análisis. Se recomienda utilizar la temperatura máxima de trabajo de la fibra recomendada por el fabricante para evitar efectos de memoria.²⁰ En la **Figura 22**, podemos observar el efecto de la temperatura de desorción con la cantidad de analito de-sorbido

en el inyector. En ese caso Chalabiani y colaboradores³¹ determinaron que la temperatura óptima de desorción para los BTEX es de 250°C.

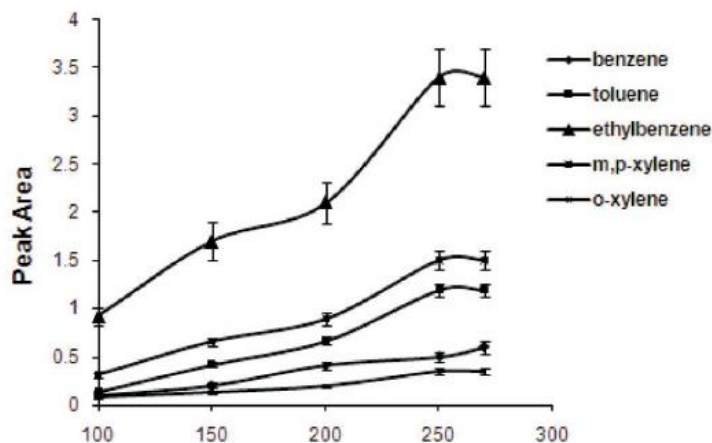


Figura 22. Efecto de la temperatura de desorción en el inyector.³¹

Otros aspectos que se tienen que tomar en cuenta según el programa cromatográfico utilizado son el flujo del gas acarreador, el modo de inyección en este caso tiene que ser específicamente Splitless ya que usar el modo Split disminuye la sensibilidad del método. La desorción requiere un alto flujo de gas alrededor de la fase de extracción con el fin de garantizar una extracción eficiente, el alto flujo se logra utilizando un liner más pequeño que los convencionales.²⁹

9) VALIDACIÓN

9.1 ¿QUÉ ES VALIDACIÓN?

El término validación tiene una gran diversidad de definiciones establecidas en documentos internacionales como (Organización Internacional de Normalización) ISO/IEC 17025, ISO 9000 [9]^a, (Vocabulario Internacional de Metrología) VIM [7]^a.³² En la **Tabla 7** se presentan las definiciones según los documentos internacionales de normalización.

Tabla 7. Definiciones de validación en ISO 9000, ISO/IEC 17095 y VIM.³²

Referencia	Definición
ISO 9000	confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto
ISO/IEC 17095	confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto
VIM	verificación, donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto

Sin embargo, en todas estas definiciones se hace referencia a la ***“confirmación de la exactitud y precisión de un procedimiento Analítico, mediante la recopilación de pruebas o evidencias documentales fidedignas y objetivas, que cumplan con los requerimientos particulares y requisitos de calidad establecidos previamente”***.

9.1 ¿POR QUÉ DEBE DE REALIZARSE LA VALIDACIÓN?

Las mediciones analíticas y la interpretación de los resultados pueden conducir en la toma de malas decisiones que se derivan de las malas prácticas, estas se traducen en pérdidas económicas además de su alto costo de realización. Por ello es importante la realización de la validación de los métodos analíticos, la validación proporciona las siguientes ventajas.^{25,32}

- ❖ Demostrar que los métodos son adecuados para su uso previsto.³²
- ❖ Proporciona un conocimiento sólido y experiencia sobre los detalles prácticos del método.
- ❖ Trabajar con métodos que generen confianza y seguridad en sus resultados, lo que se expresa en la realización de menos ensayos y en la generación de menos errores instrumentales, humanos en el desarrollo del análisis.^{25,32}
- ❖ Genera resultados con una mayor trazabilidad, calidad y eficacia.
- ❖ Para los clientes genera un nivel de aceptación de los resultados.
- ❖ El reconocimiento y el cumplimiento de los requisitos de normativas internacionales como la ISO/IEC 17095 y el de buenas prácticas de laboratorio.

9.2 ¿CUÁNDO DEBE DE VALIDARSE UN MÉTODO?

Los términos de validación y verificación usualmente suelen confundirse, pero en realidad poseen diferentes definiciones, la verificación se refiere a la evaluación del desempeño de métodos validados por ejemplo los métodos normalizados, publicados por ISO o ASTM. En cambio, la validación implica la formulación y comprobación de la idoneidad de un método analítico para un uso previsto.³²

Según la norma ISO/IEC 17095³² los métodos se deben de validar en los siguientes casos:

- *Cuando los métodos no sean normalizados.*
- *Los métodos sean diseñados o desarrollados por el laboratorio.*
- *Cuando los Métodos normalizados sean usados fuera de su ámbito de aplicación.*
- *Por ampliación o modificación de métodos normalizados.*

Otra causal de validación de un método es cuando se desea demostrar la equivalencia de los resultados entre dos métodos, por ejemplo, un método diseñado o desarrollado por el laboratorio con un método normalizado.³²

9.3 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.

Dentro del proceso de validación de métodos analíticos se pueden identificar ciertos parámetros o características de desempeño, las cinco más importantes son las siguientes: **selectividad, linealidad e intervalo de trabajo, precisión, exactitud y límites de detección y cuantificación.**²⁵

9.3.1 SELECTIVIDAD

Se define como la capacidad de un método analítico en cuantificar e identificar de forma inequívoca a los analitos o analito en una muestra compleja que contenga otras sustancias. Por medio de esta etapa podemos identificar si la señal proporcionada por las muestras es explícitamente producida por la sustancia de interés o si se encuentra presente un interferente que puede incidir en la señal y por tanto en los resultados obtenidos.^{25,32}

La selectividad se estudia generalmente evaluando la habilidad del método para identificar y cuantificar el analito en muestras en las que intencionalmente se ha realizado la adición de interferentes que probablemente tenga la muestra.³²

9.3.2 LÍMITE DE DETECCIÓN (LOD) Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LOQ)

Se entiende por límite de cuantificación en un método analítico, como la mínima cantidad del analito que se puede cuantificar en determinadas condiciones, con una precisión y exactitud aceptable y el límite de detección como la cantidad de analito en la muestra que se puede detectar, no necesariamente cuantificar. Las muestras usadas para determinarlos pueden ser muestras blancos, es decir que no contengan cantidades detectables de analito o muestras de ensayo con concentraciones que contengan concentraciones similares a las esperadas en el LOQ.^{32,25.}

9.3.3 LINEALIDAD

La linealidad es la capacidad del método analítico para proporcionar resultados directamente proporcionales a las concentraciones de los analitos en las matrices. Para el estudio de la linealidad es necesario el empleo de estándares del analito o analitos para la realización de curvas de calibración, para esto se realizan de 5 a 6 mediciones de soluciones estándar con orden

creciente de concentración, normalmente para definir el rango de trabajo se toman en cuenta los límites máximos permisibles de los analitos o analito.^{32,25}

9.3.4 PRECISIÓN.

Expresa el grado de concordancia entre una serie de medidas múltiples en condiciones prescritas, es decir como una medida de cuan cerca están los datos, por lo general se expresa mediante parámetros estadísticos que expresan la dispersión o propagación de los datos, es decir la desviación estándar y la varianza.^{25,32}

9.3.5 REPETIBILIDAD

Estudia la variabilidad del método analizando una misma muestra en las mismas condiciones, por el mismo analista, mismo laboratorio y en tiempo corto. Esta se calcula mediante los coeficientes de variación y los intervalos de confianza para cada una de las concentraciones empleadas.²⁵

9.3.6 LA SENSIBILIDAD ANALÍTICA DEL MÉTODO:

Se define como la capacidad del método de análisis para discriminar pequeñas variaciones en las concentraciones y masa del analito, es el inverso de la pendiente de la recta de regresión lineal, se expresa en unidades de concentración $\mu g. L^{-1}$.²⁵

9.3.7 EXACTITUD.

La exactitud de un procedimiento analítico es una media que expresa cuán cerca está el valor experimental del valor ocupado como referencia, es de suma importancia no confundir los términos precisión y exactitud, la precisión es una medida de la dispersión de resultados de una serie de medidas del método analítico, pero no proporciona que tan cercanos están los resultados obtenidos al valor tomado como referencia, sin embargo para que un método sea exacto si es necesario un grado de precisión aceptable.²⁵

10) ANÁLISIS-COMPARATIVO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Según **Menéndez y colaboradores**³⁰ el modo de extracción más adecuado para realizar el análisis de BTEX en SPME es el espacio de cabeza(HS) utilizando una fibra de PDMS, esto debido a que es la más adecuado para trabajar con muestras complejas que pueden tener contaminantes que dañen la fibra de microextracción, además de eso ofrece límites de detección más bajos (**ver Figura 23**). Dentro de los parámetros de optimización para la fibra estudiaron los siguientes: temperatura de extracción, tiempo de extracción, influencia

de la fuerza iónica, temperatura de desorción, tiempo de desorción, posición de la fibra en el inyector, efecto de la agitación de la muestra.

Entre estos realizó las siguientes observaciones relacionadas con la influencia de la fuerza iónica y de la temperatura de extracción. Determinó que la adición de sal afecta positivamente la cantidad de analitos extraídos en HS-SPME-FID y con respecto a la temperatura explicó que a pesar de que un aumento favorece la transferencia de los BTEX hacia la fase gaseosa se produce un efecto negativo debido a que las constantes de distribución de los BTEX con la fibra disminuyen, utilizando como temperatura de extracción la ambiente ($18\pm 5^{\circ}\text{C}$) para no utilizar termostato ya que en realidad determinó que a una temperatura de 4°C se obtenían mejores rendimientos de extracciones, también menciona que la diferencia no es significativa. Usualmente en la optimización no se toma en cuenta la posición de la fibra en el inyector sin embargo Menéndez menciona en su trabajo, que para ciertos compuesto si es importante la posición de la fibra en el inyector, esto porque en ocasiones el inyector no calienta uniformemente, identificó que si existe influencia en la profundidad de la fibra en el inyector para los TEX encontrando como longitud óptima de profundidad 3.5 cm. También hacen hincapié que uno de los factor decisivos para disminuir el tiempo de extracción es la agitación de las muestras ya que con ello se favorece la difusión de los analitos hacia la fibra de microextracción por lo que utilizaron una agitación de 900 rpm.

Sample no.	Compound	Concentration (ng ml^{-1}) ^a		
		HS	SPME	HS-SPME
1	Benzene	189±4	163±23	179±12
	Toluene	580±17	562±29	569±21
	Ethylbenzene	350±8	343±22	361±16
	(<i>m+p</i>)-Xylene	1125±46	1018±75	1094±101
2	Benzene	95±3	83±8	94±5
	Toluene	228±8	212±15	236±12
	Ethylbenzene	161±4	162±6	173±11
	(<i>m+p</i>)-Xylene	293±3	277±14	285±9
3	Benzene	65±4	56±8	59±6
	Toluene	139±2	127±12	125±9
	Ethylbenzene	96±2	88±9	91±6
	(<i>m+p</i>)-Xylene	200±3	184±23	188±9

^a Mean±S.D. ($n=3$).

*Figura 23. Resultados obtenidos por Flórez Menéndez et al., 2000 de la determinación de BTEX por GC-FID en aguas contaminadas como resultado de la lixiviación de residuos de alquitrán con los tres diferentes sistemas de muestreo.*³⁰

Cho y colaboradores³³ investigaron las ventajas y limitaciones en el uso de la fibra de Carboxen- polidimetilsiloxano (CAR-PDMS), para ello estudiaron la afinidad de los BTEX por el tipo de revestimiento de la fibra, por lo que pusieron a prueba dos fibras una de Carboxen-polidimetilsiloxano (Carboxen-PDMS) y una de polidimetilsiloxano (PDMS) utilizando espacio de cabeza (HS), demostrando que la afinidad total de los analitos por la fibra de Carboxen-PDMS es alta e identificaron el siguiente orden de mayor a menor afinidad: xilenos, etilbenceno, tolueno y benceno (**Ver Figura 24**). Además concluyeron

que en sistemas de multicomponentes extrae en mayor proporción que la de PDMS, además de realizar la extracción de los componentes con la misma eficiencia. Sin embargo, menciona que el uso de la fibra de Carboxen-PDMS es complicado aun si se conoce la composición de la muestra y solo se puede lograr una verdadera eficiencia cuando las concentración de analito o analitos son muy bajas y no hay compuestos interferentes. También mencionan que la masa molecular, tamaño de la partícula, presión de vapor, grupos funcionales, polaridad del analito y de la fibra, punto de ebullición y el rango de concentraciones son los parámetros principales que afectan la extracción en análisis de muestras multicomponentes, se sabe que compuestos de masa molecular más elevada pueden sustituir en la fibra a uno de menos masa molecular, lo mismo sucede con la afinidad un compuesto con mayor afinidad por el recubrimiento de la fibra puede sustituir a otro con menor afinidad. Con relación a el rango de concentraciones si el analito posee una concentración alta los sitios activos de la fibra disminuyen rápidamente por tanto surge una competencia entre los componentes de la muestra y el que tiene una mayor afinidad sustituye al de menor afinidad en este caso específico el benceno es sustituido por el TEX, otro fenómeno que sucede a altas concentraciones es la condensación capilar.

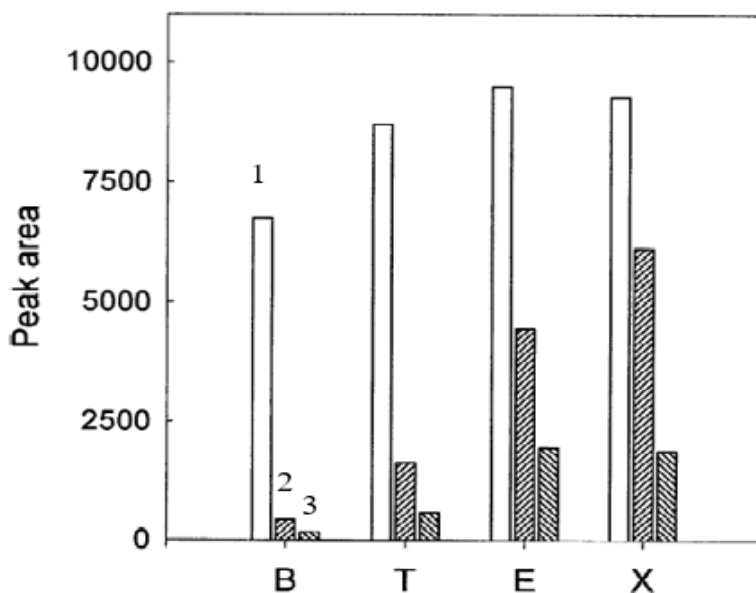


Figura 24. Resultados obtenidos por Cho et al., 2003, Efecto de los revestimientos y la composición de las fibras sobre la cantidad extraída a 0,1 mM; (1), fibra Carboxen-PDMS de 75 μ m, extracción de un solo componente; (2), fibra Carboxen-PDMS de 75 μ m, extracción multicomponente; (3), fibra PDMS de 100 μ m, extracción mono y multicomponente.

Ezquerro y colaboradores²⁸ trabajaron en la determinación de BTEX en muestras de suelo a través del análisis de suspensiones de suelo en agua. Utilizando la Microextracción múltiple de espacio de cabeza-fase sólida (MHS-SPME), describen que utilizaron la fibra de carboxeno-polidimetilxiloxano (CAR-PDMS) porque proporciona mayor sensibilidad que la de PDMS aun que produce rangos lineales más cortos la **Figura 25** podemos observar por medio de los cromatogramas un mejor rendimiento para dicha fibra.

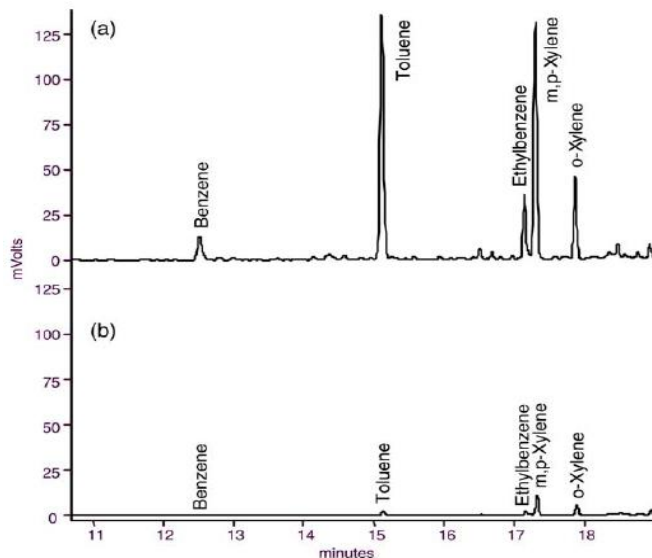


Figura 25. Cromatogramas Obtenidos por HS-SPME A) Fibra de 75 µm CAR-PDMS y B) Fibra de 100 µm de PDMS.²⁸

La técnica de microextracción múltiple de espacio de cabeza (MHS-SPME) fue desarrollada para evitar el efecto de matriz en muestras sólidas, para ello se realizan varias extracciones de una misma muestra y el área total de dicho analito es la sumatoria de las áreas correspondientes a dichos cromatogramas, por medio del trabajo de Ezquerro se comprobó la efectividad de esta técnica. Con respecto a los parámetros de optimización solo detallan el tiempo de extracción, tiempo de desorción, fuerza iónica y temperatura de extracción, en los cuales identificaron que la adición de sal afectaba la solvatación del suelo en el momento que se realizaba la disolución, así como también que el aumento de temperatura disminuía la cantidad de analito extraída. En la **Figura 26.** se muestran los resultados de BTEX en muestras de suelo por MHS-SPME-GC-FID. Concluyeron que los resultados del área total obtenidos en condiciones de no equilibrio fueron estadísticamente iguales a los obtenidos en condiciones de equilibrio.

Compound	Concentration ± S.D. (mg analyte/kg soil)
Benzene	0.055 ± 0.011
Toluene	0.15 ± 0.04
Ethylbenzene	2.8 ± 0.3
<i>m,p</i> -Xylene	3.0 ± 0.3
<i>o</i> -Xylene	1.97 ± 0.18

Figura 26. Concentraciones de BTEX en suelos determinadas por Ezquerro, 2004.²⁸

Almeida y colaboradores³⁴ determinó BTEX y otros compuestos monoaromáticos (Clorobenceno, o,p,m-Diclorobenceno, 1, 2, 4-diclorobenceno, y 1- clorooctano como compuesto alifático) utilizando HS-SPME y cromatografía de gas con detector de ionización de llama, además de realizar la respectiva validación del método y la

optimización de los parámetros de extracción y desorción para SPME. En particular optimizó los siguientes parámetros; revestimiento de la fibra, volumen de muestra, tiempo de extracción, temperatura de extracción, temperatura del inyector y tiempo de desorción. Con respecto a la columna cromatográfica (**ver Tabla 8**) utilizó la recomendada por los métodos **EPA 503.1 y 502.1** para este tipo de compuestos. Los revestimientos que pusieron a prueba fueron PDMS, PA, PDMS/DVB/CAR y PDMS/DVB identificando que el mejor para llevar a cabo su análisis es PDMS/DVB/CAR. Además de eso determinaron que la temperatura óptima para el análisis es de 50 °C aun cuando realizan la observación que a temperaturas altas el coeficiente de distribución disminuye, con relación a él volumen óptimo, determinaron un volumen de muestra de 40 mL en viales de 50 mL. La extracción se realizó sin agitación debido a que no encontraron diferencias significativas respecto a esta variable. Sin embargo, es de tomar en cuenta que el análisis de estos compuestos se realizó de forma simultánea y que los puntos de ebullición de los demás analitos monoaromáticos son mayores que los BTEX (Exceptuando el Clorobenceno). En la **Figura 27** se presenta el resumen de los resultados obtenido por Almeida en 255 muestras tomadas entre el 5 de junio del 2000 al 28 de enero del 2001.

Compound	SM01A, sample/ $\mu\text{g L}^{-1}$			SL09A, sample/ $\mu\text{g L}^{-1}$
	00/06/08	00/07/06	00/07/13	00/07/13
Toluene	<0.16	<0.16	<0.16	0.51
Ethylbenzene	<0.03	0.63	0.23	<0.03
<i>m-, p-Xylene</i>	<0.06	2.49	1.23	0.20
Styrene/ <i>o-Xylene</i>	<0.04	1.40	0.71	0.20
<i>o</i> -Dichlorobenzene	<0.25	<0.20	0.76	0.59
Trichlorobenzene	1.01	<0.26	<0.26	<0.26

Figura 27. Resumen de los resultados de la investigación realizada por Almeida y Boas, 2004.³⁴

Arambarri y colaboradores³⁵, realizaron un estudio donde determinaron concentraciones de dialquil éteres y BTEX en muestras de agua, para ello empleó SPME como técnica de extracción y para identificar y detectar los analitos GC-FID. Hace énfasis en que las variables como el tipo de fibra, la temperatura de extracción, la concentración de cloruro de sodio y el volumen del espacio de cabeza son significativas para llevar a cabo este tipo de análisis. Sin embargo, para definir su campo experimental tomaron en cuenta 7 variables experimentales; tipo de fibra, tiempo de extracción, pH de las disoluciones, influencia de la fuerza iónica, tiempo de desorción, temperatura de extracción. Identificó como variables no significativas: el pH de la solución, tiempo de extracción y tiempo de desorción. Con respecto a la adición de sal a las muestras determinaron que la cantidad adecuada para el análisis es de 300 g/L y con la temperatura de extracción en vez de realizar aumentos progresivos la disminuyeron hasta 10 °C y a esta temperatura realizaron todas las extracciones, también es importante mencionar que mantuvieron en agitación constante las muestras durante el experimento.³⁵

En la **Figura 27** se presentan el rango de concentraciones para 18 muestras, realizado en junio de 2002, en febrero y en junio de 2003.

Range of BTEX concentrations ($\mu\text{g/l}$) in superficial waters of Gipuzkoa (North Spain)

Samples	Benzene	Toluene	Ethylbenzene	<i>m,p</i> -Xylene	<i>o</i> -Xylene
June 2002					
River waters	nd to 8.87	nd to 3.38	nd to 0.36	nd to 0.94	nd to 0.39
Marinas/fishing harbors	nd to 9.64	0.06 to 2.44	nd to 0.14	0.02 to 0.16	nd to 0.18
February 2003					
River waters	nd to 0.13	nd to 0.53	nd to 0.07	nd to 0.12	nd to 0.06
Marinas/fishing harbors	<ld to 0.23	0.05 to 1.82	<ld to 0.19	nd to 0.34	<ld to 0.27
June 2003					
River waters	nd to 0.07	nd to 0.26	nd to 0.06	nd to 0.05	nd to 0.05
Marinas/fishing harbors	nd to 1.21	0.03 to 6.41	nd to 0.66	0.03 to 1.58	0.03 to 1.28

nd, not detected; <ld, below method detection limit.

Figura 28. Se muestran los rangos de concentraciones de BTEX en tres muestreos analizadas por Arambarri et al., 2004.³⁴

Lee y colaboradores²⁷, determinaron BTEX a nivel de trazas (ng/L) en muestras de agua acoplado una trampa criogénica al sistema GC-MS utilizando HS-SPME como técnica de extracción. En el análisis cromatográfico se explicó que los compuestos de m-xileno y p-xileno no se pudieron separar por lo que se combinaron y analizaron como la suma de las áreas de pico correspondientes, además de eso poseen la misma ruta de fragmentación. Con respecto al recubrimiento de la fibra de SPME desarrollaron varios análisis con diferentes recubrimientos y determinaron que la más adecuada para realizar el análisis de BTEX a nivel de trazas es la CAR-PDMS (**ver Figura 15**).

Lee, optimizó los siguientes parámetros para SPME, tiempo de extracción, volumen de muestra (espacio de cabeza del vial), influencia de la fuerza iónica, temperatura de extracción y temperatura de desorción. Comenta que los factores que afectan el coeficiente de partición entre la fibra y los BTEX son el tiempo de extracción, temperatura y el espacio de cabeza del vial y que la agitación favorece la transferencia de masa hacia la fase gaseosa. Obteniendo resultados desfavorables para el aumento de la temperatura y una correlación positiva al adicionar NaCl hasta una concentración máximo de 267 g/L, la adición de sal mejora la fuerza iónica y aumenta la cantidad de analito extraído por la fibra.

En la **Figura 29**, se muestran los resultados obtenidos en esta investigación.

Concentration ($\mu\text{g l}^{-1}$) of BTEX in water samples by SPME-cryo-trap-GC-MS

Real water sample	Benzene	Toluene	Ethylbenzene	<i>m/p</i> -Xylene ^a	<i>o</i> -Xylene
S ₁ ^b	5.9 ± 0.5	6.2 ± 0.8	0.62 ± 0.05	0.85 ± 0.04	0.35 ± 0.05
S ₂	0.72 ± 0.08	0.95 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.10 ± 0.03	0.12 ± 0.02
S ₃	< ^c	<	<	<	<
S ₄	0.18 ± 0.05	36 ± 4.20	ND	1.60 ± 0.05	0.56 ± 0.04
S ₅	<	24.2 ± 2.2	0.28 ± 0.06	0.52 ± 0.02	0.98 ± 0.05
S ₆	15.2 ± 2.5	35.2 ± 6.0	7.4 ± 0.9	12.1 ± 0.4	4.0 ± 0.4
S ₇	<	1.21 ± 0.09	<	<	<

^a The value of *m/p*-xylene expressed the sum of *m*-xylene and *p*-xylene.

^b S₁-S₃; ground water nearby different gas station in Taichung; S₄-S₅; ground water nearby different paint factory in Taichung; S₆; ground water nearby some university in Taichung; S₇; river water in Taichung.

^c < : <LOQ value.

*Figura 29. Tabla resumen de resultados de la investigación de Lee et al., 2007 utilizando SPME-cryo-trap-GC-MS.*²⁷

Guimarães y colaboradores³⁶, desarrollaron una metodología de residuos múltiples por medio de la cual determinaron de forma simultánea 23 COVs incluyendo a los BTEX utilizando HS-SPME-GC-MS en agua potable y tomando como base el método **EPA 524.2**. En el proceso de optimización de la fibra tomaron en cuenta los siguientes parámetros; recubrimiento de la fibra, tiempo de extracción, temperatura de extracción (20± 2°C), volumen de extracción (**HS 10 mL en vial de 20 mL**), agitación, pH y fuerza iónica. La agitación, el pH y la fuerza iónica reportaron que para su análisis no eran variables importantes y que no fue necesario de su modificación. Para identificar el tipo de recubrimiento pusieron a prueba las siguientes fibras; 100 μm PDMS, 7 μm PDMS, 75 μm CAR-PDMS identificando que el mejor recubrimiento para este análisis es el de CAR-PDMS debido a que produjo los mejores rendimientos de extracción (**ver Figura 30**). Explicaron que no se interesaron en el estudio de la fuerza iónica ni de la temperatura ya que según la bibliografía algunos autores consideran que dichos factores no afectan significativamente en el análisis por HS. En cuanto a la validación del método la realizaron conforme la norma internacional **ISO/IEC 17095:2005**, y los parámetros que evaluaron fueron la linealidad y rango de trabajo, límite de detección y cuantificación, repetibilidad y precisión intermedia y efecto de matriz. En la **Figura 31** podemos observar los resultados obtenidos para los 23 COVs.

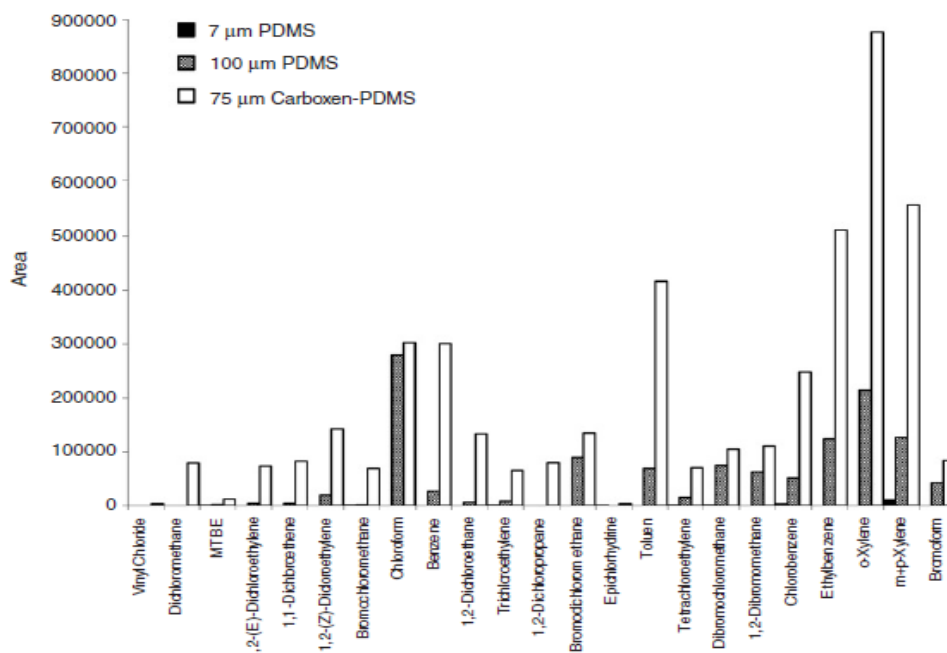


Figura 30. Comparación del rendimiento de extracción en soluciones estándar de 1 µg/L de COVs de acuerdo con el recubrimiento de la fibra obtenidos por Guimarães et al., 2008.³⁶

Compound	Uncertainties		
	Concentration (µg L ⁻¹)	Combined uncertainties (µg L ⁻¹)	Expanded uncertainties (µg L ⁻¹)
Vinyl chloride	0.92	0.16	0.33
Dichloromethane	0.75	0.16	0.33
MTBE	1.03	0.17	0.34
1,2-(E)-Dichloroethylene	0.79	0.24	0.48
1,1-Dichloroethene	0.75	0.19	0.38
1,2-(Z)-Dichloroethylene	1.05	0.19	0.38
Bromochloromethane	0.96	0.20	0.40
Chloroform	1.01	0.22	0.43
Benzene	1.02	0.19	0.39
1,2-Dichloroethane	0.99	0.16	0.32
Trichloroethylene	1.08	0.19	0.38
1,2-Dichloropropane	0.99	0.19	0.39
Bromodichloromethane	1.10	0.17	0.33
Epichlorohydrine	0.89	0.20	0.40
Toluene	1.15	0.23	0.46
Tetrachloroethylene	1.21	0.17	0.34
Dibromochloromethane	1.09	0.16	0.32
1,2-Dibromomethane	1.21	0.17	0.34
Chlorobenzene	1.09	0.19	0.38
Ethylbenzene	0.95	0.17	0.34
o-Xylene	1.10	0.17	0.34
m + p-Xylene	0.99	0.15	0.30
Bromoform	1.02	0.18	0.36

Figura 31. Resultados obtenidos por Guimarães et al., 2008

*Alfaro Romero*¹², determinó BTX en agua de mar utilizando una fibra de PDMS en un sistema GC-FID tomando como base el método EPA 8260B, esta es una de las pocas investigaciones referente a BTX en El Salvador. En su trabajo tomó en cuenta los siguientes parámetros de optimización de la fibra, tiempo de extracción, tiempo de agitación, volumen de la fase gaseosa, tiempo de desorción y temperatura de desorción. No tomó en cuenta la influencia de la fuerza iónica, ya que las muestras contenían sal. Observó el mismo efecto negativo al aumento de la temperatura de extracción, por lo que trabajó a temperatura ambiente. En la **Figura 32** se presentan los puntos de muestreo y las concentraciones de BTX obtenidas en este trabajo. Los parámetros de validación que evaluaron para comprobar la veracidad de los resultados fueron linealidad, precisión, LOD, LOQ, exactitud, reproducibilidad y sensibilidad.

Lugar de muestreo	Benceno		Tolueno		Xilenos	
	mg/L	% RSD	mg/L	% RSD	mg/L	% RSD
1- Playa El Cuco	0,03	9,04	0,02	23,89	0,02	35,84
2- Playa El Icacal	0,03	10,28	0,02	28,64	0,02	48,17
3- Playa Las Tunas	0,03	20,40	0,02	28,29	0,03	30,04
4- Playa Negra	0,01	99,86	0,02	25,76	0,03	36,03
5- Isla de Meanguera	0,04	39,58	0,04	56,59	0,04	65,86
6- Isla de Conchagueta	0,04	32,95	0,04	56,05	0,04	64,85
7- Playa Playitas	0,04	44,52	0,04	56,98	0,04	57,75
8- Isla Martín Pérez	0,04	32,81	0,04	51,66	0,04	58,29
9- Isla Zacatillo	0,04	54,42	0,04	58,25	0,04	65,03
10- Punta Jocote	0,04	39,54	0,03	62,97	0,04	64,72
11- Isla Perico	0,05	39,46	0,04	49,37	0,04	58,68
12- Los Jotes	0,04	35,70	0,04	52,21	0,04	56,67
13- Estero Ramaditas	0,04	41,84	0,04	57,25	0,04	65,92
14- Punta Chiquirín	0,02	10,41	0,02	4,39	0,02	3,16
15- El Cacao	0,03	7,90	ND	ND	ND	ND
16- Playa El Tamarindo	0,03	2,95	0,02	3,71	0,02	1,32
17- Entrada a Estero El Tamarindo	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18- Entre Naval y Puerto Cutuco	0,03	3,60	0,02	1,16	0,02	0,51

*Figura 32. Tabla resumen de resultados obtenidos por Alfaro Romero, 2008, de los 18 puntos de muestreo del Golfo de Fonseca. ND> no detectado.*¹²

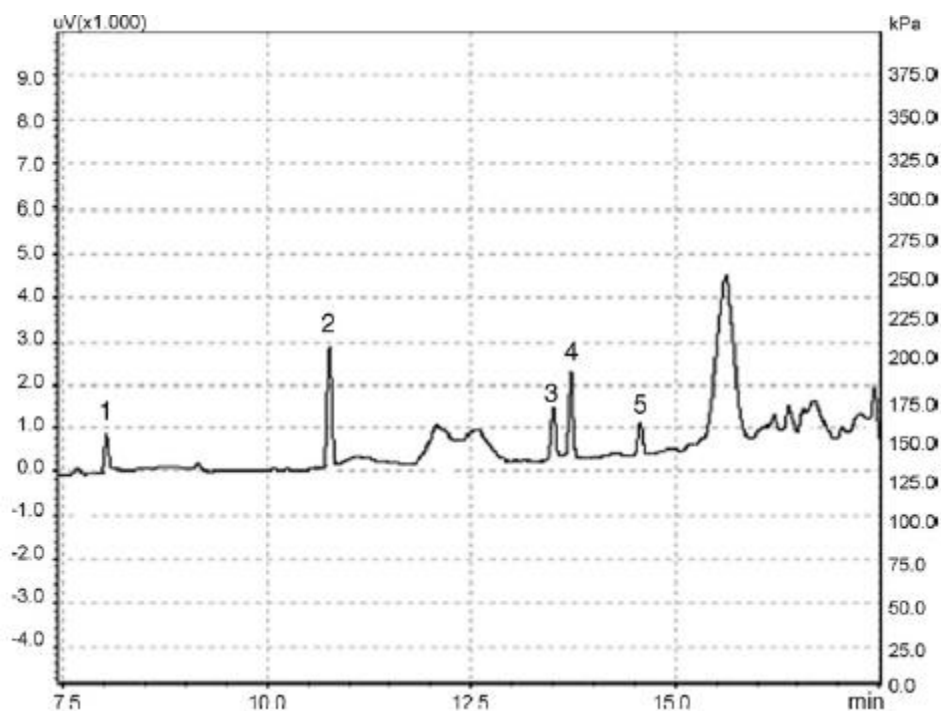
*Gaujac y colaboradores*³⁷, realizaron un estudio de análisis multivariado utilizando el programa Statistica 6.0 (StarSoft, Tulsa, USA) para discriminar parámetros de optimización de SPME en la determinación simultánea de BTEX en efluentes de planta de tratamiento de desechos. Para el análisis de muestras utilizaron HS-SPME- GC-FID y compararon la

influencia de los siguientes factores experimentales para SPME: fuerza iónica; tiempo de extracción; tiempo de desorción; velocidad de agitación; volumen del espacio de cabeza.

Identificaron que a concentraciones cercanas al punto de saturación 250 g/L de NaCl afectaba la precisión del método y determinaron que a 40 g/L la precisión del método no se veía afectada, con respecto a la agitación identificaron que a 1000 rpm se extraía la mayor cantidad de BTEX, ya que los picos cromatográficos producidos poseen una mayor área. Por medio del análisis individual de los gráficos de Pareto para cada BTEX demostraron que todos los factores experimentales tomados en cuenta son significativos, a excepción del tiempo de desorción y de acuerdo con el modelo, el de más importancia es el tiempo de adsorción. La fiabilidad y el rendimiento de la técnica fueron evaluados considerando los parámetros robustez, linealidad, precisión, límites de detección y límites de cuantificación. Los resultados obtenidos en esta investigación se presentan en la **Figura 33** y en la **Figura 34** se muestra el cromatograma de la mezcla de BTEX para el efluente A.

Compounds	A ($\mu\text{g L}^{-1}$)	B ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Benzene	1221	1670
Toluene	1224	1891
Ethylbenzene	243.7	405.0
<i>m,p</i> -Xylenes	205.1	218.0
<i>o</i> -Xylene	145.8	175.3

*Figura 33. Resultados obtenidos por Gaujac y colaboradores de la determinación de BTEX en efluentes de petróleo.*³⁷



*Figura 34. Cromatograma del efluente A. Número de identificación ;(1)benzeno; (2) tolueno; (3) etilbenceno; (4) m,p-xilenos; (5) o-xileno.*³⁷

Bianchin y colaboradores³⁸, determinaron de forma simultánea hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y BTEX (**Ver Figura 35**), utilizando como técnica de extracción SPME y método de identificación y cuantificación GC-MS. Para la optimización de la extracción tomaron en cuenta los siguientes parámetros: fuerza iónica, modo de extracción, tiempo de extracción y temperatura de extracción. Estos parámetros los evaluaron en los dos modos de extracción, inmersión directa (ID) y en espacio de cabeza(HS), además evaluaron la combinación de estos para dicho análisis concluyeron que la combinación de los modos de extracción era el más adecuado y el que presentaba mejores rendimientos de extracción (**Ver Figura 36**). El tiempo de extracción total fue de 80 min, 48 min en ID a una temperatura de 80 °C y 32 min a 10 °C respectivamente, es evidente que utilizaron la ID para obtener mejores rendimientos para los PAHs que son compuestos semivolátiles y HS para la extracción de los BTEX. Con respecto al revestimiento de la fibra realizaron un análisis para las siguientes PDMS 100 µm, PDMS / DVB 65 µm y DVB / CAR / PDMS 50/30 µm de los cuales identificaron que la que mejores rendimientos brindaba era la de PDMS/CAR/DVB 50/30 µm, sin embargo, utilizaron la fibra de PDMS/DVB de 65 µm por presentar un comportamiento intermedio. La validación de la metodología la llevaron a cabo obteniendo las principales cifras de mérito; rango lineal, coeficiente de correlación, límites de detección y cuantificación, también evaluó la precisión con pruebas de recuperación, concluyeron que su método demostró ser adecuado para este tipo de análisis y abrió un camino para la evaluación y determinación de compuestos con diferencias significativas en sus propiedades fisicoquímicas. Los resultados que obtuvieron de la evaluación del método aplicado a muestras de agua se presentan en la **Figura 36**.

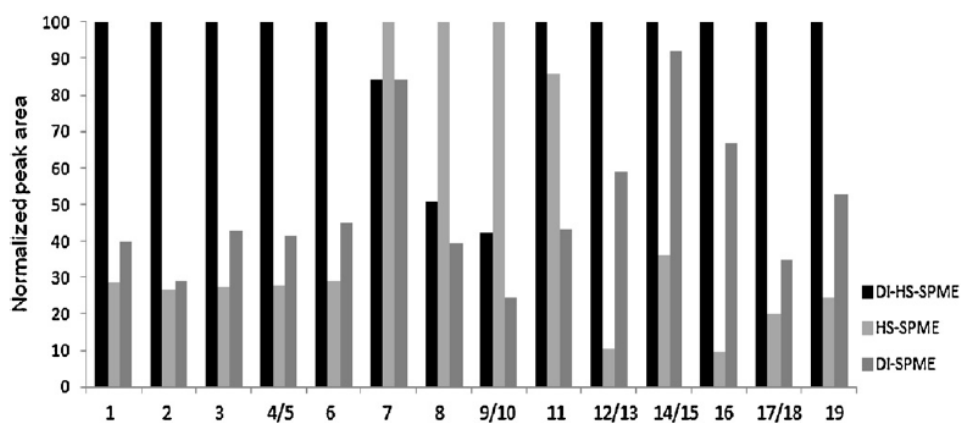


Figura 35 . Respuestas obtenidas por Bianchin et al., 2012 en la comparación de las metodologías: HS-DI-SPME, HS-SPME y DI-SPME. Analitos: 1 - benceno, 2 - tolueno, 3 - etilbenceno, 4 - p-xileno, 5 - m-xileno, 6 - o-xileno, 7 - acenaftileno, 8 - fluoreno, 9 - antraceno, 10 - heantreno, 11 - pireno, 12 - benzo (a) antraceno, 13 - criseno, 14 - benzo (k) fluoranteno, 15 - benzo (a) pireno, 16 - benzo (b) fluoranteno, 17 - indeno-1-2-3-pireno, 18 - dibenzo (a, h) antraceno, 19 - benzo (g, h, i) perileno.

Araranguá river				Tubarão river			Tap water			Mineral bottled water		
Analytes ^c	Sample (µg L ⁻¹)	Rec ^a (%)	Rec ^b (%)	Sample (µg L ⁻¹)	Rec ^a (%)	Rec ^b (%)	Sample (µg L ⁻¹)	Rec ^a (%)	Rec ^b (%)	Sample (µg L ⁻¹)	Rec ^a (%)	Rec ^b (%)
1	ND	81	63	DE	77	60	ND	110	120	ND	103	110
2	DE	115	98	ND	108	85	ND	94	98	ND	89	93
3	DE	70	85	DE	66	60	ND	110	74	ND	120	99
4/5	DE	71	83	DE	65	61	ND	111	73	ND	113	100
6	ND	90	60	ND	102	70	ND	99	101	ND	111	74
7	ND	88	61	ND	68	60	ND	96	97	ND	81	82
8	ND	78	60	ND	78	83	ND	65	69	ND	60	71
9/10	ND	81	61	ND	99	101	ND	98	99	ND	60	66
11	DE	60	99	DE	110	120	ND	61	78	ND	72	90
12/13	ND	83	104	ND	99	104	ND	109	108	ND	90	93
14/15	ND	75	83	ND	84	68	ND	85	68	ND	89	111
16	DE	70	120	DE	91	101	ND	92	101	ND	97	106
17/18	DE	110	115	DE	120	116	ND	76	84	ND	68	77
19	DE	109	115	DE	117	117	ND	77	83	ND	68	78

^a 1 µg L⁻¹.

^b 5 µg L⁻¹.

Figura 36. Concentraciones enriquecidas y recuperaciones determinadas para la aplicación del método recientemente desarrollado con separación / detección por GC-MS, desarrollado por Bianchin et al., 2012. ND (no detectado), DE (detectado). Detectado significa concentración entre los límites de detección y cuantificación.

Chalabiani y colaboradores (Chalabiani et al., 2012)³¹, fabricaron una nueva fibra de microextracción en fase sólida hecha a base de Zeolita y carburo de silicio (las zeolitas son minerales de aluminosilicatos microporosos que comúnmente son utilizados como absorbentes y el carburo de silicio es un compuesto inorgánico utilizado como abrasivo) en una matriz de PVC, utilizándola para la determinación de **BTEX** en muestras de agua y suelos, utilizando HS. Los parámetros que optimizaron para la extracción fueron: tiempo de extracción, temperatura de extracción, agitación y fuerza iónica. Para la desorción: tiempo de desorción y temperatura de desorción. Con respecto a la fuerza iónica observaron que afecta significativamente la extracción de los analitos, determinaron como concentración óptima de sal 2 mol/L en muestras. Los resultados obtenidos por Chalabiani se presentan la **Figura 37**.

Sample	Shahr Chay river (µg L ⁻¹) ^a	Soil Sample (µg kg ⁻¹) ^b	RSD (%) ^c	RSD (%) ^d
Benzene	17.43 ± 1.69	ND ^e	9.7	0
Toluene	132.66 ± 7.39	0.13 ± 0.01	5.5	7.6
Ethylbenzene	223.82 ± 6.94	0.846 ± 0.049	3.1	5.7
<i>m,p</i> -Xylene	191.4 ± 14	0.43 ± 0.03	7.3	7
<i>o</i> -Xylene	259.69 ± 24.37	0.095 ± 0.0046	9.3	4.8

^{a,b} Average ± standard deviation (n = 4)

^{c,d} Relative standard deviation for water and soil samples, respectively.

^e Not detected

Figura 37. Resultados obtenidos en muestras de agua y suelos por Chalabiani Et al., 2012 utilizando la fibra de microextracción de Zeolita y Carburo de silicio.³¹

González y colaboradores (González et al., 2017)²⁶, llevaron a cabo un estudio para la determinación de BTEX y sus metabolitos utilizando los dientes como biomarcadores y muestras de partida con un paso previo de extracción, utilizando una solución de NaOH 1M

utilizando ultrasonido, los metabolitos de los BTEX(ver **Figura 38**) se determinaron por HS-SPME-HPLC y SPME-HPLC (**Ver Figura 39**).

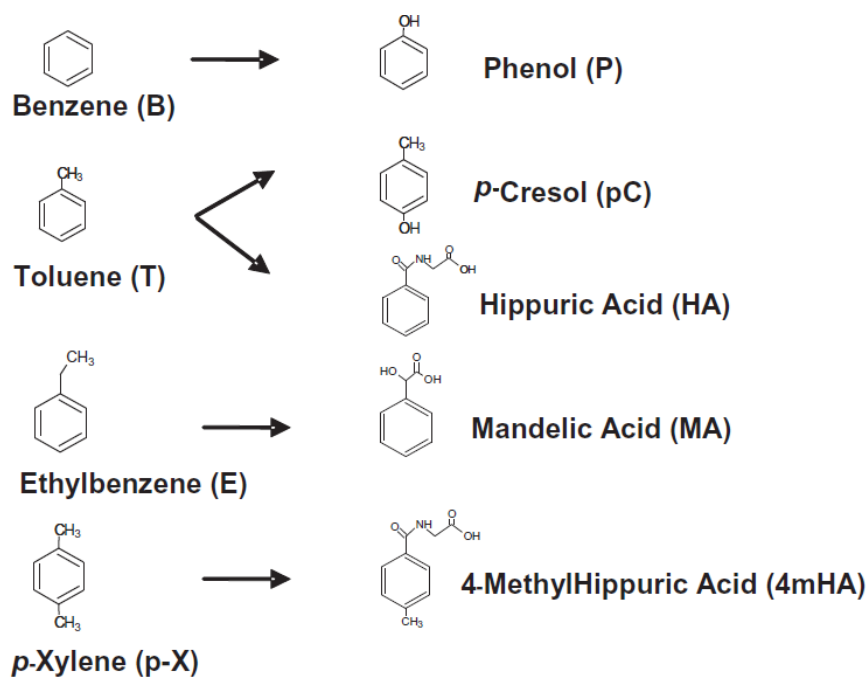


Figura 38. Principales metabolitos del benceno²⁶

Para determinar los BTEX aplicaron la técnica HS-SPME y GC-MS, con respecto al recubrimiento de la fibra utilizaron CAR-PDMS por reportarse como el mejor recubrimiento para el análisis de BTEX con espacio de cabeza a bajas concentraciones. Las variables que optimizaron con respecto a la fibra fueron: el tiempo de extracción, temperatura de extracción, pH, salinidad. Algunos parámetros de GC-MS establecidos estaban de acuerdo con Lee et al. (**Lee et al., 2007**), como la temperatura de desorción, el tiempo de desorción y el programa de temperatura del horno de GC.

Sample teeth	Age (years)	Smoker	Profession or work place	Amount of BTEX (ng/g) and metabolites (µg/g) ^a								
				B	T	E	X	P ^a	pC ^a	MA	HA	4mHA
1	28	Yes	Painting	26	18	25	25	42	99	-	-	-
2	71	Yes	Mechanic	1386	1967	1519	1883	54	69	-	-	-
3	32	No	Solvent industry	76	200	958	728	42	36	-	-	-
4	56	Yes	Construction company	37	23	-	-	51	36	-	-	-
5	59	No	Construction company	126	95	72	84	84	69	-	-	-
6	24	No	Construction company	51	19	8	12	48	69	-	-	-
7	29	No	Construction company	1085	1640	1665	1978	54	72	-	-	-
8	42	No	Construction company	118	42	10	10	45	75	-	-	-
9	71	Yes	Coffee factory	19	15	7	10	51	36	-	-	-
10	35	No	Pharmaceutical Ind.	78	23	12	18	72	57	-	-	-

Figura 39. Determinación de BTEX y metabolitos por métodos SPME-GC/MS y SPME-HPLC en diente humanos como biomarcadores. B: benceno, T: tolueno, E: etilbenceno, X: xilenos, P: fenol, pC: p-cresol, MA: ácido mandélico, HA: ácido hipúrico y 4-mHA: ácido 4-metilhipúrico.²⁶

*Martínez y asesores*⁸, describen de forma detallada el proceso de optimización de SPME con espacio de cabeza(HS) utilizando GC/MS para la cuantificación de BTEX en muestras acuosas. En su investigación optimizaron los siguientes parámetros de extracción y desorción, de extracción; fase de extracción, tiempo de extracción, temperatura de extracción, fuerza iónica. De Desorción: tiempo y temperatura de extracción. El pH no lo tomaron en cuenta debido a que los analitos no presentan propiedades ácido-base. Con respecto a la optimización de la fase de la fibra de extracción estudiaron la cantidad de extracción respecto a las siguientes fibras PDMS 100 µm, PDMS 7 µm, PA µm y PDMS-DVB 65 µm después de acondicionarse e identificaron que la fibra que realizaba la mejor extracción fue la de PDMS 100 µm. Con respecto a la adición de la sal concluyeron que afecta significativamente la extracción en el experimento indicando que la concentración adecuada de sal es de 311 g/L. Para determinar la efectividad del método determinó los siguientes parámetros de validación: la linealidad, LOD, LOQ y precisión. En la **Figura 40**. Podemos observar los valores de los parámetros de optimización que recomienda Martínez.

Variable	Valor optimizado
Fase de extracción	PDMS 100 µm
Tipo de extracción	HS
Agitación	Agitación magnética a 1200 rpm
Volumen de muestra	10 mL
Volumen del vial	20 mL
Tiempo de extracción	20 min
Temperatura de extracción	30 °C
Porcentaje de NaCl	86.4 % (3.11 g)
Temperatura de desorción	250 °C
Tiempo de desorción	3 min

*Figura 40. Valores óptimos para determinar BTEX utilizando HS- SPME- GC/MS en muestras acuosas.*⁸

Con base a los artículos científicos revisados para esta investigación se sintetizó la información relevante en la **Tabla 8** y la **Tabla 9**. La **Tabla 8** agrupa los datos en base a la referencia, analitos estudiados, tipos de muestras, modo de extracción, tipo de fibra utilizada y el tipo de sistema cromatográfico utilizado para realizar el análisis y la **Tabla 9** se realiza una comparación de los parámetros de extracción y desorción tomados como óptimos en los diferentes trabajos, también se detallan los límites de detección de cada trabajo.

Tabla 8. Comparación de diferentes métodos en SPME para la determinación de BTEX en diferentes matrices, HS-SPME: microextracción en fase sólida con espacio de cabeza, CAR- PDMS: carboxeno-polidimetilsiloxano, GC-FID: Cromatografía de gasa detector de ionización de flama, MS: Espectrometría de masas y CryoTra: criotrampa criogénica.

Referencia	Analitos	Tipo de muestra	Extracción	Tipo de fibra	Sistema cromatográfico
(Menéndez et al., 2000) ³⁰	BTEX	Acuosa	HS-SPME	PDMS 100 µm	GC-FID 50m x0.53mm x I.D, DB-5 (5% fenilo y 95 meltilpolisiloxano) columna capilar de sílice fundida.
(Cho Et. Al 2003) ³³	BTEX	Acuosa	HS-SPME	CAR-PDMS. 75-µm	GC-FID 30 m x30.25 mm HP-1 columna capilar
(Almeida y Boas, 2004) ³⁴	BTEX y otros bencenos sustituidos	Acuosa	HS-SPME	PDMS/DVB/CAR 50 -µm	GC-FID 30 m x0,53 mm de D.I., columna DB-624 de 3 mm de espesor de película(6% de cianopropilfenilmetilpolisiloxano, J & W Scientific, Folsom, CA). Modo de inyección Splitless
(Ezquerro, 2004) ²⁸	BTEX	Suelo	MHS-SPME	CAR-PDMS 75 µm	GC-FID CP-Select 624 CB; 30 m × 0.25 mm i.d. con una fase estacionaria de sílice fundida de espesor de 1.4 µm . Modo de inyección Splitless.
(Arambarri et al., 2004) ³⁵	BTEX y dialkileteres	Aguade rio	HS-SPME	PDMS-DVB 75 µm	GC-FID columna capilar de sílice fundida (HP-1, 30 m × 0,32 mm × 0,25 m de espesor de película, Tecnologías Agilent). Modo de inyección Splitless
(Lee et al., 2007) ²⁷	BTEX	Agua Subterránea	HS-SPME	CAR-PDMS 75 µm	Cryotrap-GC-MS DB-5 MS 30m x30m× 0.25mm I.D., con fase estacionaria de sílice fundida con un espesor de 0.25 µm
(Guimarães et al., 2008) ³⁶	COVs incluyendo BTEX.	Agua Potable	HS-SPME	CAR-PDMS 75 µm	GC-MS Cromatógrafo de gases CP Select 624 CB (30 m, 0,25 mm de d.i., 1,4 mm de espesor de película) Espectrómetro de masas con trampa de iones Varian Saturn 2000
(Alfaro Romero, 2008) ¹²	BTX	Agua de mar	HS-SPME	PDMS	GC-FID. Columna PDMS 30m×0.32mm×1.33µm film. Columna PDMS 10m×0.1mm×0.17µm film. Inyección modo Splitless
(Gaujac et al., 2008) ³⁷	BTEX	Efluentes de desechos	HS-SPME	PDMS 100 µm	GC-FID Columna DB-624megabore de sílice fundida (6% de cianopropilfenilo, 94% de dimetilpolisiloxano; 75 m × 0,53 mm de d.i., 3 m de espesor de película). Inyección modo Splitless
(Bianchin et	PAHs y BTEX	Agua de rio	ID-SPME y HS-SPME	PDMS-DVB 65 µm	Cromatógrafo de gases Shimadzu (GC MS-QP2010 Plus) equipado con una

					columna Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm ID × 0,25 m de espesor) Inyección modo Splitless
(Chalabiani et al., 2012) ³⁸	BTEX	Agua de río y suelo	HS-SPME	Zeolita-Carburo de silicio en matrix de PVC	GC Agilent 6890N (Agilent Technologies, EE. UU.) Detector de ionización de llama (FID) columna capilar HP-5 (J&W, EE. UU.) (30 m x 0,32 mm DI, 0,25 µm de espesor de película) Inyección modo Splitless
(González et al., 2017) ²⁶	BTEX	Sólida	HS-SPME	CAR-PDMS. 85 µm	Sistema GC /MS de cuadrupolo. Columna BP-5 (sílice fundida WCOT de 30 m × 0,25 mm, fase estacionaria de 0,5 µm)
(Martínez, 2019) ⁸	BTEX	Agua de río	HS-SPME	PDMS 100 µm	GC/MS. Columna capilar HP5-MS-UI de 30m x 0.25 mm x 0.25µm Detector de masas Hewlett Packard HP-5973

Tabla 9. Comparación de los parámetros de optimización y parámetros de validación. B: benceno, E: Etilbenceno, T:tolueno, X:xilenos.

Referencia	Extracción/detección	Tiempo/ Temperatura/ Volumen de extracción/ Salinidad/Agitación	Tiempo /Temperatura de desorción	Límite de detección(LOD)	Linealidad
(Menéndez et al., 2000) ³⁰	HS-SPME-GC-FID	4 min 18±5°C HS 11mL (vial 22 mL) NaCl cercana a la saturación Agitación constante	3 min 150°C	B= 0.6 ng/mL T=0.2 ng/mL EX=0.08 ng/mL	No especifica R ²
(Almeida y Boas, 2004) ³⁴	HS-SPME-GC-FID	20 min 50°C HS 10 mL(vial 50 mL). Sin adición de sal Sin agitación	1 min 200°C	B= 15 ng/L T=160 ng/L E=32 ng/L m-X= 56 ng/L p-X=69 ng/L o-X=42 ng/L	R ² entre 0.9937 y 0.9953
(Ezquerro, 2004) ²⁸	MHS-SPME-GC-FID	30 min 30°C HS 20 mL sin adición de sal sin agitación	10 min 280°C	B=0.2 ng T=1.0 ng E=0.2 ng m, p, X= 1.0 ng o, X=0.4 ng	R ² entre 0.994 y 0.996
(Arambarri et al., 2004) ³⁵	HS-SPME-GC-FID	10 min 10°C HS 20 mL (vial 40 mL) 300 g/L 1000 rpm	1 min 250°C	B=0.07 µg/L TEX=0.02 µg/L	R ² entre 0.9991 y 0.9999
(Lee et al., 2007) ²⁷	Cryotrap-HS-SPME-GC-MS	15min 25°C HS 25 ml (Vial 40 mL) 267 g/L NaCl	2 min 290 °C	B=0.04 ng/L T= 0.02 ng/L E=0.05 ng/L m, p, X=0.01	R ² entre 0.996 y 0.999

		1000 rpm		ng/L o, X=0.02 ng/L B= 0.06 µg/L T= 0.14µg/L E=0.07 µg/L m, p. X=0.09 µg/L o,p X=0.17µg/L	
(Guimarães et al., 2008)³⁶	HS-SPME-GC-MS	15 min 20±2 °C HS 10 mL(Vial 20 mL) Sin adición de Sal	5min 250°C		R ² entre 1 y 0.993
(Alfaro Romero, 2008)¹²	HS-SPME-GC-FID	10 min 30°C HS 10 mL vial de 25 mL Agitación constante	5 min 225°C	B=0.03 mg/L T=0.02 mg/L X=0.03 mg/L	R ² entre 0.991 a 0.998
(Gaujac et al., 2008)³⁷	HS-SPME-GC-FID	15 min 23°C HS 3.5 mL en viales de 6.5 mL ámbar. 40 g/L 1000 rpm	1 min 250°C	B=0.28 µg/L T=0,19 µg/L E=0.06 µg/L m,p X=0.05 µg/L o, X=0.05 µg/L	R ² entre 0.997 a 0.9984
(Bianchin et al., 2012)³⁸	ID-SPME HS-SPME	ID-48 min(80°C). HS 32 min(10°C). HS 15mL en viales de 40 mL 240 g/L Agitación constante	10 min	B=0.15 µg/L T=0,10 µg/L E=0.07 µg/L m,p X=0.08 µg/L o, X=0.30 µg/L	R ² entre 0.99988 a 0.99961
(Chalabiani et al., 2012)³¹	HS-SPME	30 min 25± 1°C Solo indica volumen de muestra 10 mL 116 g/L Agitación vigorosa	1 min 250°C	B,T,E y m,p- X=0.66 µg/L o, X=1.66 µg/L	R ² entre 0.995 a 0.991
(González et al., 2017)²⁶	HS-SPME-GC / MS	15 min HS 10mL en viales de 20 mL 300 g/L Agitación vigorosa	2 min 290°C	B=0.6 pg/mL T=0.8 pg/mL E, p-X=0.9 pg/mL	R ² entre 0.984 a 0.996
(Martínez, 2019)⁸	HS-SPME-GC/MS	20 min 30°C HS 10 mL en viales de 20 mL 311 g/L 1200 rpm.	3 min 250°C	B=0.1 ng/mL T, E, o-X=0.2 m, p-X=0.4	R ² entre 0.9915 a 0.99959

11) DISCUSIÓN DE ANÁLISIS COMPARATIVO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

El proceso de extracción por SPME puede verse afectado por los siguientes factores: tiempo de extracción, pH de la disolución, fuerza iónica, revestimiento de la fibra, temperatura de extracción y la agitación, esto principalmente se debe a un equilibrio de partición que existe entra el sistema trifásico; fibra , fase líquida y gaseosa. La cantidad de

analito extraído depende de tipo de sistema, pudiendo ser un sistema multicomponentes o monocomponentes, para el primero las extracciones se ven afectadas también por las propiedades fisicoquímicas de los componentes de la muestra, las cuales influyen en la afinidad de estos por el tipo de recubrimiento.³³ Los revestimientos pueden ser además de un solo polímero o de combinación de dos o tres polímeros, estos se pueden elegir con base a la afinidad por los analitos según los ensayos, estos recubrimientos se clasifican principalmente por tres características: la polaridad, la capacidad de retención de estos y el tipo de proceso de extracción.²⁰ Con base a lo anterior, se analizaron diferentes artículos científicos relacionados con la determinación de BTEX por SPME para los cuales se presentan observaciones que pueden llegar a simplificar y mejorar la detección de BTEX en matrices acuosa e incluso ampliar el rango de compuestos de interés.

Proceso de adsorción:

Modo de extracción:

En la **Tabla 8** podemos observar que el modo de extracción que predomina para el análisis de BTEX en diferentes matrices es el de espacio de cabeza (HS),^{8,12,26,27,29,30,32,35,37,38} esto debido a que con él se garantiza una mayor sensibilidad y mejores rendimientos de extracción³³. Además, se evita dañar la fibra por la absorción de compuestos como proteínas y ácidos húmicos que puede adherirse de forma permanente a la fibra lo cual disminuye su vida útil.³⁹ Sin embargo, se ha demostrado que para el estudio de los BTEX y otros tipos de compuestos con propiedades fisicoquímicas distintas puede combinarse los dos modos de extracción ID y HS para obtener mejores rendimientos de extracción³⁸. Otra técnica utilizada para la eliminación de efectos de matriz en muestras acuosas que puede ser prometedora para el análisis de COVs y compuestos semivolátiles es la de Microextracción múltiple de espacio de cabeza-fase sólida (MHS-SPME), ya que su principal aplicación según reportes es la eliminación de efectos de matriz en muestras sólidas demostrando ser confiable para dicho propósito²⁸, aunque con estas dos técnicas se sacrifica al menos uno de los beneficios que ofrece la técnica de SPME ya que el tiempo de análisis se incrementa considerablemente.

Revestimiento de la fibra:

Cho y Colaboradores³³ específicamente realizaron un estudio para la identificación del mejor recubrimiento concluyendo que el mejor para la determinación de BTEX por ofrecer mejores rendimientos, sensibilidad y eficiencia es el CAR-PDMS, esto lo corroboraron otras investigaciones que llegaron a la misma conclusión cuando incluían la fibra de CAR-PDMS (**ver Tabla 8**)^{26,28,33,36}. Incluso esta fibra ha tenido buenos rendimientos para análisis de múltiples componentes COVs y BTEX por lo que el rango de compuestos que se podrían analizar con esta misma fibra pueden ser muy grande esto sin duda puede ser de ayuda para el análisis de contaminantes en agua potable en nuestro país.³⁶ Además, se han realizado investigaciones en busca de desarrollar fibras de microextracción con mejores rendimientos y de menor costo. Este es el caso de la fabricación del recubrimiento de zeolita y carburo de silicio en matriz PVC para la cual obtuvieron buenos resultados (**ver**

Tabla 9).³¹ Es importante mencionar que para la elección del recubrimiento de la fibra también es necesario tomar en cuenta, además de las propiedades fisicoquímicas de los analitos y su afinidad, el rango de concentraciones a la cual se trabajará, el uso de la fibra de CAR-PDMS se tiene que realizar a bajas concentraciones esto es debido principalmente a dos fenómenos, uno debido a la condensación capilar y el otra que se relaciona principalmente con la afinidad de los compuestos por el recubrimiento y su masa molecular; es conocido que compuestos con mayor afinidad y masa molecular pueden sustituir a otros de menor afinidad. En el caso particular de los BTEX la afinidad por la fibra de CAR-PDMS es en el orden de Xileno>etilbenceno> tolueno>benceno, por lo cual a concentraciones de BTEX elevadas los TEX pueden sustituir al benceno en el recubrimiento.³³

Tiempo de extracción:

El tiempo de extracción oscila entre 5-20 min para muestras acuosas (**ver Tabla 9**) este depende de las condiciones en que se realice el experimento, temperatura de extracción, fuerza iónica de la solución, agitación de las muestras y volumen del espacio de cabeza. También puede aumentar considerablemente de cuerdo a la técnica que se utilice y la matriz, por ejemplo, al utilizar MHS-SPME el tiempo de extracción total de una sola muestra puede ser mayor al rango presentado; en el caso que se utilicen dos modos de extracción como lo realizado por Bianchin para la detección de PAHs y BTEX donde determinaron como tiempo de extracción óptimo 80 min, en ID 48 min y HS 32 min.³⁸

Fuerza iónica:

Arambarri, Lee, Martínez han reportado concentraciones que oscilan entre los 250-311 g/L de cloruro de sodio ^{8,27,35} y Chalabiani de 116 g/L³¹ de cloruro de sodio como óptimas para la realización de la determinación de BTEX en muestras acuosas. Sin embargo, Gaujac y colaboradores³⁷ identificaron que a concentraciones de 250g/L de NaCl afecta la precisión del método y determinaron que la concentración óptima es de 40 g/L de NaCl. ³⁷ El efecto salino es decir la presencia de sales(NaCl, KCl y Na₂SO₄) en la soluciones acuosas en presencia de analitos volátiles aumenta los coeficientes de distribución, lo que provoca el paso a analitos de la fase acuosa a la gaseosa aumentando la eficiencia de la extracción.²⁰

Temperatura de extracción:

Según la literatura al incrementar la temperatura de las muestras hay un efecto negativo en el proceso de extracción. Según Guimarães y colaboradores el estudio de la temperatura de extracción no tiene relevancia en el análisis COVs en HS ³⁶; sin embargo, se ha demostrado que en realidad a bajas temperaturas se producen mejores rendimiento de extracción, por ejemplo, Arambarri y colaboradores en su trabajo determinaron como temperatura óptima para la extracción de dialkil éteres y BTEX 4°C ³⁵. Esto en realidad tiene mucho sentido ya que se conoce que el proceso de extracción por SPME es un proceso exotérmico. De acuerdo con el principio de Le Chatelier al suministrar calor a un sistema exotérmico afectaría de forma negativa al proceso, en este caso el de extracción, el caso inverso provocaría un efecto positivo, es decir al quitar calor del sistema. Bianchin por otra parte, al

combinar los modos de extracción observó que al aumentar la temperatura en ID utilizando una temperatura de extracción de 80°C favorece al extracción de compuestos semivolátiles como los PAHs y al realizar de forma inmediata una extracción en HS utilizando una temperatura de extracción de 10°C se lograba extraer de forma significativa los volátiles (BTEX), esto lo logró con la fibra de PDMS-DVB, además de eso otro factor que permitió este tipo de extracción fue la diferencia en su masa molecular los compuestos semivolátiles poseen masas molares más grandes por lo que no son sustituidos por los COVs (BTEX)^{33,38}.

pH de la disolución:

Se sabe que los BTEX no tiene propiedades ácida-base pero algunos autores modifican el pH de las muestra por los componentes que pueden interferir en el análisis como por ejemplo la materia orgánica y metales pesados que pueden precipitar en la solución, se conoce que a un nivel de carbono orgánico disuelto de 21 mg.L⁻¹ afecta un 20% de la eficiencia de la extracción. Según Serrano y Gallego⁷ para eliminar los interferentes es necesario preparar las soluciones de las muestras con una concentración del 0.1 M(mol/L) HNO_{3(ac)}.⁷ Gonzáles en su trabajo utilizó variaciones de pH para realizar una múltiple extracción de compuestos polares como ácidos, fenoles y cresoles apoyándose en que en este proceso se extraen los analitos en forma neutra. Así pudo controlar en qué momento extraer dichos compuestos²⁶. Sin duda el control de pH resulta importante hasta el punto de que con su variación podríamos eliminar efectos de matriz y controlar los analitos a extraer.

Volumen de espacio de cabeza:

El espacio de cabeza según una tendencia que siguen las investigaciones analizadas en la **Tabla 9**, en términos de porcentaje representaría el 50% del volumen total del vial utilizado para la microextracción, en particular esto se identificó que se cumplió para volúmenes de viales de 20-22 mL.^{8,26,26,30,35}. Los compuestos volátiles se concentran en el HS debido a sus coeficientes de difusión por lo tanto entre más grande sea el volumen menor será la eficiencia. Otros parámetros que se relación con el volumen de HS son la geometría del vial los viales muy estrechos disminuyen la superficie de contacto de la muestra y la fase gaseosa provocando que la cinética de la extracción sea menor. En caso de viales altos pueden dificultar la agitación de la muestra.²⁰

Agitación de las muestras:

La agitación de las muestras en HS es de suma importancia para mejorar la cantidad de analitos extraídos, esto debido a que se mejora la transferencia de los analitos a la fase gaseosa. En la **Tabla 9** observamos que para la extracción de BTEX se utiliza de 1000-1200 rpm.^{8,26,27,30,31,35,37,38}. Almeida y colaboradores no encontraron diferencias significativas para esta variable en la determinación de BTEX y otros compuestos monoaromáticos más polares y de mayor peso molecular como el Diclorobenceno.

Proceso de desorción:

Temperatura de desorción:

Para elegir la temperatura de desorción es necesario tomar en cuenta el tipo de matriz y la temperatura máxima de trabajo que especifique el proveedor para la fibra SPME. Con respecto al tipo de matriz se toma en consideración, ya que pueden contener otros compuestos que se adsorban con mayor fuerza que los BTEX y que no se desorban a la temperatura a la cual se desorban los BTEX lo cual afectaría el tiempo y el rendimiento de extracción ya que tendrían menores sitios activos para que se produjera la adsorción. Según los datos de la **Tabla 9** el intervalo para la fibra de CAR-PDMS es de 280-290°C, por lo general se utilizan temperaturas cercanas a la temperatura máxima a la cual pueden funcionar, sin excederse ya que al excederse se podría producir sangramiento de la fibra lo cual es algo parecido a lo que sucede con las columnas cromatográficas y en consecuencia se inutilizaría o disminuiría la vida media de la fibra.

Profundidad de la fibra en el inyector:

Este factor en la mayoría de los trabajos no lo tomaron en cuenta por considerarse no relevante, debió a que se consideraba que no afectaba significativamente la desorción. Sin embargo, Menéndez mencionó que para algunos compuestos si es importante la posición de la fibra en el inyector esto debido posiblemente a que algunos inyectores no calientan uniformemente. Identificó como profundidad óptima 3.5 cm para la fibra de CAR-PDMS. Además, mencionó que en el caso de los BTEX dicha profundidad tiene influencia en los TEX.³⁰ Es decir que a una profundidad menor la desorción de los TEX es menor.

Tiempo de desorción:

Oscila entre 1–5 min para los BTEX se ha reportado como menor tiempo desorción 1 min. Aunque con el objetivo de evitar efectos de memoria de las fibras por una mala desorción o la presencia de sustancias que puedan interferir en el análisis, se recomienda que el tiempo de desorción sea un poco mayor que el óptimo.

Métodos de referencia:

Para la elección de las condiciones cromatográficas para la detección de BTEX por lo general se toman como base métodos estandarizados, dentro de los métodos que tomaron como referencia se pueden mencionar el EPA 503.1, 502.1, 524.1 y 8260B. Almeida y colaboradores utilizaron el método 503.1 y 502.1 en la determinación de BTEX y otros compuestos aromáticos utilizando HS-SPME-GC-FID y Guimarães utilizó el método EPA524.2 para la determinación de COVs incluyendo los BTEX en el sistema de HS-SPME-GC-MS. Es importante tomar un método de referencia para realizar este tipo de análisis; en este caso particular, el que más se adecua para la matriz es el EPA 524.2 ya que se utiliza para la identificación y determinación de COVs purgables en aguas superficiales, subterráneas y potable.⁴⁰

Parámetros de validación:

- El parámetro de sensibilidad del método fue afectado por el recubrimiento de la fibra utilizada para realizar la extracción. Ezquerro y colaboradores demostraron que el recubrimiento que produjo una mayor sensibilidad fue el de CAR-PDMS en las detección de BTEX aun que produce menores rangos lineales en comparación a la fibra de PDMS.
- La precisión del método puede verse afectada por la concentración de sal utilizada para realizar la extracción. Gaujac y colaboradores identificaron que a concentraciones de 250g/L de NaCl afecta la precisión del método y determinaron que la concentración óptima es de 40 g/L de NaCl.³⁷

En general los parámetros de validación utilizados en la determinación de BTEX fueron: robustez, sensibilidad y repetibilidad, LOQ, LOD, precisión y exactitud. En la **Tabla 9**. se muestran los LOD determinados en las investigaciones relacionadas con la determinación de BTEX, utilizando la fibra de CAR-PDMS se logran incluso medir en picogramos(10^{-12} g/mL) utilizando el sistema HS-SPME-GC-MS.²⁶

Los valores que se han identificado como óptimos para dicho estudio son los que se presentan en la **Tabla 10**, algunos se presentan como intervalos como la temperatura de desorción. Con respecto al tiempo de adsorción se presenta como intervalo debido a que no se encontró ninguna investigación que concretamente analizará BTEX utilizando CAR-PDMS en HS-SPME-GC-MS.

Tabla 10. Valores óptimos de variables de extracción y desorción en SPME para la determinación de BTEX.

Variable	Valor óptimo
Adsorción	
Modo de extracción	HS
Tipo de fibra de SPME	CAR-PDMS 75 μ m
Tiempo de extracción	1-5 min
Temperatura de extracción	4°C
Fuerza iónica	40 g/L NaCl
Volumen de espacio de cabeza	10 mL(en viales de 20mL)
pH de la disolución	1
Agitación de muestra	1000-1200 rpm
Desorción	
Tiempo de desorción	1-5 min
Temperatura de desorción	280-290°C
Profundidad de la fibra en el inyector	3.5 cm

12) CONCLUSIONES

- Los BTEX en la actualidad pueden considerarse como una de las familias de compuestos con un gran potencial de contaminación para ríos, mares, agua de consumo y agua marina esto se puede comprobar debida a que su presencia en estas matrices es recurrente como podemos observar para cada una de las investigaciones antes mencionadas y analizadas estos fueron detectados esto como consecuencia del uso excesivo de estos a nivel industrial. Por ello es importante su estudio y monitoreo
- La técnica de HS-SPME en combinación con GC o GC/MS ha comprobado ser una de las más eficaces y efectivas para realizar análisis de COVs y compuestos semivolátiles en diferentes matrices, esta tiene muchas ventajas en comparación a las extracciones tradicionales. Sin embargo, en El Salvador es poco conocida e implementada. Para la determinación de BTEX el recubrimiento con mejores rendimientos de extracción y con mayor afinidad ha resultado ser el de CAR-PDMS, este ha demostrado ser efectivo para la determinación de 23 COVs de forma simultánea, incluyendo los BTEX. Los parámetros que se tienen que tomar en cuenta para la optimización del análisis de BTEX para muestras acuosa son: tiempo de extracción, temperatura de extracción, pH de la disolución, volumen de espacio de cabeza, temperatura de desorción, agitación, fuerza iónica, tiempo de desorción, temperatura de desorción, profundidad de la fibra en el inyector.

13) REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.

- (1) Pawliszyn, J. Applications of Solid Phase Microextraction. 676.
- (2) Mottaleb, M. A.; Abedin, M. Z.; Islam, M. S. Determination of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylene in River Water by Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography. *Anal. Sci.* **2003**, *19* (10), 1365–1369. <https://doi.org/10.2116/analsci.19.1365>.
- (3) El-Naas, M. H.; Acio, J. A.; El Telib, A. E. Aerobic Biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. *J. Environ. Chem. Eng.* **2014**, *2* (2), 1104–1122. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.04.009>.
- (4) Wade, L. G., Jr. *Química Orgánica*, 7th ed.; Pearson; Vol. 2.
- (5) Ghiringhello, S.; Molina, C. A.; de Mena, C.; Otros. Norma Salvadoreña NSO 13.07.01:03 AGUA. AGUA POTABLE; Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; p 20.
- (6) Leusch, D. F.; Bartkow, D. M. A Short Primer on Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylenes (BTEX) in the Environment and in Hydraulic Fracturing Fluids. 8.
- (7) Serrano, A.; Gallego, M. Direct Screening and Confirmation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylenes in Water. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1045* (1–2), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.028>.
- (8) Martínez, S. P. Optimización de la microextracción en fase sólida (SPME) para la determinación de BTEX y HAPs en matrices acuosas, Universidad Autónoma de México, México, 2019.
- (9) Moro, A. M.; Brucker, N.; Charão, M.; Bulcão, R.; Freitas, F.; Baierle, M.; Nascimento, S.; Valentini, J.; Cassini, C.; Salvador, M.; Linden, R.; Thiesen, F.; Buffon, A.; Moresco, R.; Garcia, S. C. Evaluation of Genotoxicity and Oxidative Damage in Painters Exposed to Low Levels of Toluene. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* **2012**, *746* (1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.02.007>.
- (10) Dikshith, T. S. S. Hazardous Chemicals: Safety Management and Global Regulations. 661.
- (11) Gerberding, J. L.; Howard Frumkin. TOXICOLOGICAL PROFILE FOR BENZENE, 2007.
- (12) Alfaro Romero, A. E. Microextracción Enfase Sólida y Cromatografía de Gases (GC-FID) Para La Determinación de Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos En Muestras de Agua Del Golfo de Fonseca. tesis, Universidad de El Salvador, 2008.
- (13) Patrick N. Breyse. Toxicological Profile for Toluene, 2017.
- (14) Murata, M.; Tsujikawa, M.; Kawanishi, S. Oxidative DNA Damage by Minor Metabolites of Toluene May Lead to Carcinogenesis and Reproductive Dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *261* (2), 478–483. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1041>.
- (15) Johnson, S. J.; Woolhouse, K. J.; Prommer, H.; Barry, D. A.; Christofi, N. Contribution of Anaerobic Microbial Activity to Natural Attenuation of Benzene in Groundwater. *Eng. Geol.* **2003**, *70* (3–4), 343–349. [https://doi.org/10.1016/S0013-7952\(03\)00102-9](https://doi.org/10.1016/S0013-7952(03)00102-9).
- (16) Pope, D. F.; Jerry N. Jones,. Monitored Natural Attenuation of Petroleum Hydrocarbons, 1999.

- (17) Dou, J.; Liu, X.; Hu, Z. Anaerobic BTEX Degradation in Soil Bioaugmented with Mixed Consortia under Nitrate Reducing Conditions. *J. Environ. Sci.* **2008**, *20* (5), 585–592. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62098-7](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62098-7).
- (18) Mazzeo, D. E. C.; Levy, C. E.; de Angelis, D. de F.; Marin-Morales, M. A. BTEX Biodegradation by Bacteria from Effluents of Petroleum Refinery. *Sci. Total Environ.* **2010**, *408* (20), 4334–4340. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.07.004>.
- (19) Method 8260B Volatic Organic Compounds by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry(GC/MS), 1996.
- (20) Acevedo, J. J. R. Nuevos desarrollos metodológicos en SPME. 223.
- (21) Method 5021A Volatile Organic Compounds in Various Samplematrices Equilibrium Head Space Analysis, 2014.
- (22) Gary D., C. *Química Analítica*, Sexta.; McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S. A. DE C. V.: Mexico, 2009; Vol. I.
- (23) Mani, D.; Kalpana, M. S.; Patil, D. J.; Dayal, A. M. Organic Matter in Gas Shales. In *Shale Gas*; Elsevier, 2017; pp 25–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809573-7.00003-2>.
- (24) Fernández, M. T. C. Edita: Universidad de La Rioja Servicio de Publicaciones. 470.
- (25) Aguirre Ortega, L.; Martín Pomar, M.; entre otros. Validación de Métodos Analíticos, 2001.
- (26) González, J. L.; Pell, A.; López-Mesas, M.; Valiente, M. Simultaneous Determination of BTEX and Their Metabolites Using Solid-Phase Microextraction Followed by HPLC or GC/MS: An Application in Teeth as Environmental Biomarkers. *Sci. Total Environ.* **2017**, *603–604*, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.267>.
- (27) Lee, M.-R.; Chang, C.-M.; Dou, J. Determination of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylenes in Water at Sub-Ngl-1 Levels by Solid-Phase Microextraction Coupled to Cryo-Trap Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Chemosphere* **2007**, *69* (9), 1381–1387. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.004>.
- (28) Ezquerro, Ó.; Ortiz, G.; Pons, B.; Tena, M. T. Determination of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylenes in Soils by Multiple Headspace Solid-Phase Microextraction. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1035* (1), 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.02.030>.
- (29) Risticvic, S., Vuckovic, D., Lord, H. L., y Pawliszyn, J. *Solid-Phase Microextraction. In Comprehensive Sampling and Sample Preparation*; 2012; Vol. 2.
- (30) Menéndez, J. C. F.; Fernández Sánchez, M. L.; Sánchez Uría, J. E.; Fernández Martínez, E.; Sanz-Medel, A. Static Headspace, Solid-Phase Microextraction and Headspace Solid-Phase Microextraction for BTEX Determination in Aqueous Samples by Gas Chromatography. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *415* (1–2), 9–20. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00862-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00862-X).
- (31) Chalabiani, A.; Abbas Matin, A.; Farhadi, K. Zeolite-SiC in PVC Matrix as a New SPME Fiber for Gas Chromatographic Determination of BTEX in Water and Soil Samples. *J. Chin. Chem. Soc.* **2012**, *59* (9), 1080–1085. <https://doi.org/10.1002/jccs.201100692>.
- (32) Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*, 1º.; 2016.

- (33) Cho, H.-J.; Baek, K.; Lee, H.-H.; Lee, S.-H.; Yang, J.-W. Competitive Extraction of Multi-Component Contaminants in Water by Carboxen–Polydimethylsiloxane Fiber during Solid-Phase Microextraction. *J. Chromatogr. A* **2003**, *988* (2), 177–184. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)02083-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)02083-6).
- (34) Almeida, C. M. M.; Boas, L. V. Analysis of BTEX and Other Substituted Benzenes in Water Using Headspace SPME-GC-FID: Method Validation. *J. Environ. Monit.* **2004**, *6* (1), 80. <https://doi.org/10.1039/b307053k>.
- (35) Arambarri, I.; Lasa, M.; Garcia, R.; Millán, E. Determination of Fuel Dialkyl Ethers and BTEX in Water Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography–Flame Ionization Detection. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1033* (2), 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.01.046>.
- (36) Guimarães, A. D.; Carvalho, J. J.; Gonçalves, C.; Alpendurada, M. de F. Simultaneous Analysis of 23 Priority Volatile Compounds in Water by Solid-Phase Microextraction–Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Estimation of the Method’s Uncertainty. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2008**, *88* (3), 151–164. <https://doi.org/10.1080/03067310701642982>.
- (37) Gaujac, A.; Emídio, E. S.; Navickiene, S.; Ferreira, S. L. C.; Dórea, H. S. Multivariate Optimization of a Solid Phase Microextraction-Headspace Procedure for the Determination of Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylenes in Effluent Samples from a Waste Treatment Plant. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1203* (1), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.06.022>.
- (38) Bianchin, J. N.; Nardini, G.; Merib, J.; Dias, A. N.; Martendal, E.; Carasek, E. Simultaneous Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylene in Water Samples Using a New Sampling Strategy Combining Different Extraction Modes and Temperatures in a Single Extraction Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography–Mass Spectrometry Procedure. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1233*, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.02.022>.
- (39) Pawliszyn, J. Applications of Solid Phase Microextraction. 676.
- (40) Eichelberger, J. W.; Munch, J. W. NATIONAL EXPOSURE RESEARCH LABORATORY OFFICE OF RESEARCH AND DEVELOPMENT U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY CINCINNATI, OHIO 45268. 47.