



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

**Estrategias analíticas de
cribado basadas en
espectrometría de masas
para la identificación de
sustancias per y
polifluoroalquiladas en aguas**

Alumno/a: Sofía Vela Castillo

Junio, 2023



UNIVERSIDAD
DE JAÉN



Trabajo Fin de Grado

Estrategias analíticas de cribado basadas en espectrometría de masas para la identificación de sustancias per y polifluoroalquiladas en aguas

Alumno/a: Sofía Vela Castillo

Jaén, junio 2023

ÍNDICE

RESUMEN/ ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS)	2
1.2. Origen y evolución de las sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS)	4
1.3. Efectos para la salud	6
1.3.1. Vías de exposición	6
1.3.2. Efectos derivados por la exposición a PFAS	7
2. PRINCIPALES CLASES DE SUSTANCIAS PER Y POLIFLUOROALQUILADAS Y LEGISLACIÓN	8
2.1. PFAS poliméricas	9
2.2. PFAS no poliméricas	10
2.2.1. Ácido carboxílico perfluoroalquilo (PFCA)	11
2.2.2. Ácido sulfonato perfluoroalquilado (PFSA)	12
2.3. Legislación	13
3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	15
3.1. Extracción en fase sólida (SPE)	15
4. TÉCNICAS DE SEPARACIÓN Y DE DETECCIÓN	18
4.1. Cromatografía de líquidos (LC)	19
4.2. Fuente de ionización electrospray (ESI)	22
4.3. Espectrometría de masas (MS)	24
5. MATERIALES Y MÉTODOS: BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA	26
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
6.1. Recolección y recogida de muestras	30
6.2. Extracción y purificación de muestras	34
6.3. Métodos de separación y determinación	36
6.3.1. Análisis dirigido	37
6.3.2. Análisis no dirigido	39

7. CONCLUSIONES	42
8. REFERENCIAS	43
9. ABREVIATURAS	49

RESUMEN/ ABSTRACT

Las sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS) son un grupo de compuestos químicos orgánicos artificiales con alto contenido en flúor cuyo uso se ha integrado en nuestra vida cotidiana. Se caracterizan por su diversidad estructural; actualmente se conocen más de 4000 compuestos. En la última década, los esfuerzos científicos se han centrado en la monitorización de PFAS debido a que su producción y utilización masiva ha originado problemas medioambientales y para la salud humana, aun cuando se han implementado medidas para restringir su uso. La diversidad química de las PFAS hace necesario el desarrollo de métodos analíticos específicos para detectar y monitorizar su ocurrencia. Este trabajo se centra en una revisión bibliográfica sobre el estado del arte de los métodos analíticos basados en cromatografía acoplada a la espectrometría de masas para la determinación de PFAS en matrices acuosas. Se han tenido en cuenta investigaciones utilizando análisis dirigido, no dirigido y análisis de compuestos sospechosos.

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) are a group of artificial organic chemical compounds with high fluorine content integrated in our daily lives. One of the features of PFAS is their structural diversity; currently, more than 4000 compounds are known. In the last decade, scientific efforts have focused on monitoring PFAS due to their production and overuse, which have resulted in environmental and human health issues despite the regulation on the topic. The extensive chemical diversity of PFAS necessitates the implementation of specific analytical methods to detect and monitor their occurrence. This work focuses on a literature review of the state-of-the-art analytical methods based on chromatography coupled with mass spectrometry for the determination of PFAS in aqueous matrices. Studies involving target analysis, and suspect and non-target screening have been evaluated.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS)

Las sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS, por sus siglas en inglés) son compuestos químicos orgánicos artificiales que se caracterizan por su alto contenido en flúor. La estructura química característica de estos compuestos permite usarlo en productos para la vida cotidiana y para la industria desde hace más de 6 décadas. Entre otras utilidades, se pueden usar como agentes de dispersión, humectantes o en tratamiento de superficies. Algunos de los productos que los contienen son los envases para almacenar comida, utensilios antiadherentes de uso doméstico y cualquier textil que tenga dicha propiedad, pintura, champú, cinta adhesiva, alfombras, tapicerías, espumas formadoras de película acuosa (AFFF) utilizadas para los incendios, fabricación de plaguicidas, etc. (F. Li *et al.*, 2019). Hasta la fecha, se han identificado más de 4000 PFAS cuyo punto en común es la estructura alifática que las compone (Sunderland *et al.*, 2019). Recientemente, las PFAS se han convertido en compuestos de interés para los investigadores debido a que son contaminantes persistentes que se encuentran a concentraciones cada vez más crecientes en alimentos, lugares de trabajo, agua potable, así como en seres vivos. Además, se ha observado que, aunque se cese su producción inmediata, van a seguir estando presentes en el medio ambiente durante un período similar al transcurso de varias generaciones más debido a su carácter persistente (Henry *et al.*, 2018; ECHA; EPA).

A la hora de definir las PFAS, hay que hacer distinción entre las sustancias polifluoroalquiladas y las perfluoroalquiladas debido a que, aunque adopten un nombre global, la composición de cada una es diferente. Las sustancias polifluoroalquiladas son compuestos alifáticos donde algunos átomos de hidrógeno unidos a átomos de carbono son sustituidos por átomos de flúor, mientras que el resto de átomos de hidrógeno siguen unidos a átomos de carbono. A diferencia de las polifluoroalquiladas, las sustancias perfluoroalquiladas son compuestos alifáticos donde todos los átomos de hidrógeno que se encuentran unidos a átomos de carbono son reemplazados

por átomos de flúor (Buck *et al.*, 2011). La Figura 1.1 ilustra con ejemplos las diferencias estructurales entre las sustancias per y polifluoroalquiladas.

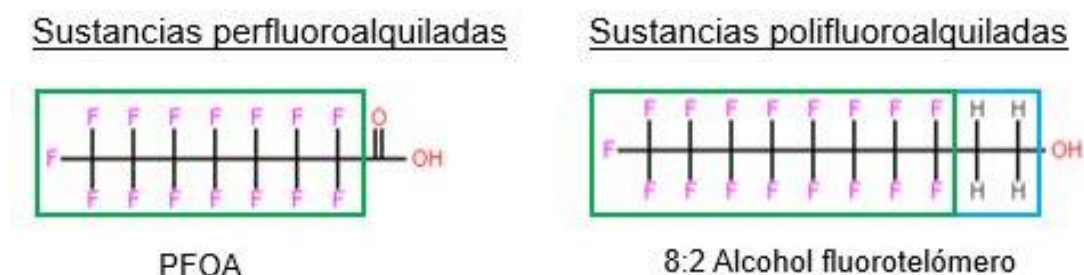


Figura 1.1. Ilustración de las estructuras de las sustancias per y polifluoroalquiladas.

Cabe destacar que estas sustancias pueden ser clasificadas según su origen, en dos categorías: fuentes directas e indirectas. Las fuentes directas se caracterizan por ser foco de PFAS que se liberan directamente al medio, siendo ejemplos de esto las PFAS que se generan en las industrias en forma de productos, las PFAS que se utilizan para aumentar el revestimiento de diferentes tipos de metales en las fábricas y también las que se utilizan para el empleo de AFFF. Por otro lado, las indirectas están formadas por los tratamientos de agua residuales (EDAR), por los vertederos y sus lixiviados y por las potabilizadoras de agua; en este caso se engloban los sitios que pueden dar lugar a la formación de precursores de PFAS y cuya formación pueda conllevar a una posible liberación al medio (Dasu *et al.*, 2022).

Una de las curiosidades que hacen únicas a las PFAS y que le aportan estabilidad son los enlaces flúor-carbono, cuya energía de enlace es de hasta 536 kJ/mol, convirtiéndose así en uno de los enlaces más fuerte dentro de la química orgánica. Además, dicho enlace tiene baja polaridad, haciendo que las PFAS tengan también propiedades hidrofóbicas y lipofílicas. A medida que se van sustituyendo los átomos y se va aumentando la longitud de la cadena, las PFAS se vuelven más inertes, es decir, menos reactivas en cualquier medio. Sin embargo, al disminuir la longitud de la cadena son más solubles en agua. Otra propiedad que las caracteriza es la resistencia a diferentes degradaciones, ya sea térmica, microbiana, metabólica o química, haciendo que adquieran propiedades exclusivas para poder usarlas en diferentes sectores como se ha visto anteriormente (Gagliano *et al.*, 2020). Esta exclusividad es la que provoca que sean sustancias duraderas y estables en el tiempo, generando así un

problema a la hora de controlarlas en diferentes medios como son el agua y el aire, entre otros, haciendo que adquirieran el nombre de “*Forever Chemicals*” (Kurwadkar *et al.*, 2022).

1.2. Origen y evolución de las sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS)

Las PFAS se empezaron a producir y a distribuir en la década de 1940 (Sunderland *et al.*, 2019), aunque en la década de los 30 ya se empezaron a utilizar los fluoropolímeros como el politetrafluoroetileno (PTFE) (Henry *et al.*, 2018). Las PFAS fueron detectadas por Taves en la década de los 60 en muestras biológicas (Taves, 1968), catalogándose así como la primera vez que se identificaban en ese tipo de muestras, aunque para ese entonces no se le dio importancia ya que no se encontraban en altas concentraciones y se continuó con su producción y utilización (Xiao, 2017). A principios del año 2001, la preocupación por la liberación y los posibles efectos para la salud de las PFAS se vio intensificada por la aparición de sulfonato de perfluorooctano (PFOS) en sueros de diferentes organismos, incluido en humanos. En 2002, la empresa 3M, una de las mayores productoras de PFAS, junto con otras empresas, procedieron al reemplazo de PFAS de cadena larga por PFAS de cadena corta (Sunderland *et al.*, 2019).

La idea de reemplazar las PFAS de cadena larga por cadena corta se llevó a cabo cuando se detectó que los compuestos de cadena corta se caracterizaban por su capacidad de poder eliminarse a mayor velocidad del cuerpo humano, minimizando así el problema de bioacumulación que provocaban los compuestos de cadena larga (Brennan *et al.*, 2021). Entre los diferentes compuestos que se fabricaron, el Gen X es uno de los más notables debido a que se utilizaban en la industria para obtener fluoropolímeros, evitando así que se usaran el PFOS y el ácido perfluorooctanoico (PFOA), consideradas con el tiempo dos de las sustancias de cadena larga más bioacumulativas y peligrosas para la salud (F. Li, *et al.*, 2019). Aunque esta alternativa solucionó algunos inconvenientes, se ha descubierto con el paso de los años que los compuestos de cadena corta son más solubles en agua, menos adsorbentes, igual de persistentes y resistentes a la degradación y, dependiendo del tipo de PFAS, presentan una toxicidad similar

a la de los compuestos de cadena larga. Por tanto, este cambio no ha supuesto mejoras con respecto a los efectos que provoca a la salud (Wang *et al.*, 2015).

A partir del año 2006, las industrias decidieron suprimir el uso PFOA y PFOS con el objetivo de llegar al año 2015 eliminado los PFAS que más daños provocaban al medio ambiente (Sunderland *et al.*, 2019; F. Li, *et al.*, 2019).

Actualmente, las PFAS siguen siendo un problema para el medio ambiente y para la salud debido a que siguen acumulándose a pesar de las medidas tomadas y propuestas. En los últimos años, las investigaciones se han centrado en evaluar más a fondo las PFAS, lo que ha generado un elevado interés científico. Esto se ha reflejado en un aumento de artículos científicos publicados con relación a las PFAS, tal y como presenta la Figura 1.2. Los datos para la representación de la Figura 1.2 se han obtenido a través del repositorio Scopus poniendo como palabra clave en la búsqueda “PFAS” y acotando a los años especificados. Este aumento se ha producido por el impacto de estos compuestos en el medio ambiente y en el bienestar de los seres vivos, y por la necesidad de detectarlos en el medio ambiente y la biota, entre otros medios. Además, la ampliación y la investigación ha ascendido debido a que a día de hoy sigue faltando mucha información con respecto a cómo analizar, identificar, clasificar y observar los daños que provoca a la salud y a otros sectores (Henry *et al.*, 2018).

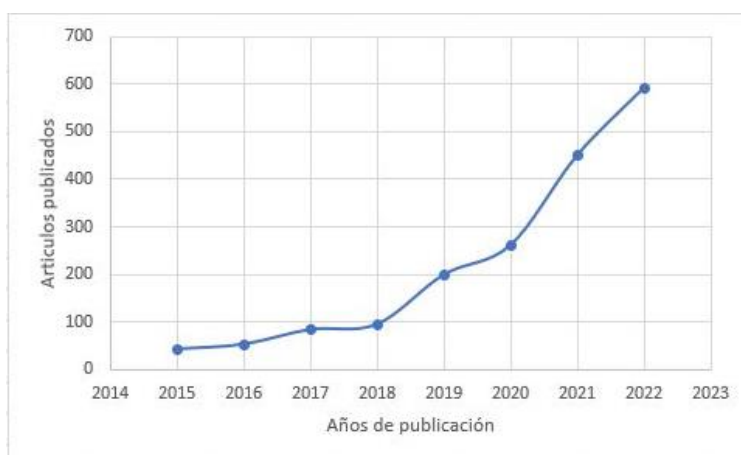


Figura 1.2. Número de artículos científicos publicados sobre PFAS entre los años 2015 y 2022. Datos obtenidos de la base de datos Scopus.

1.3 Efectos para la salud

Los problemas de salud relacionados con las PFAS aparecen debido a su acumulación y liberación en diferentes medios ya que estos compuestos se caracterizan por ser persistentes.

1.3.1 Vías de exposición

Como se ha comentado anteriormente, las PFAS son un amplio grupo de sustancias contaminantes que se han extendido a lo largo de las décadas por diferentes medios, llegando a acumularse y a detectarse en grandes cantidades en alimentos, medios acuáticos como ríos, océanos o agua potable, en el aire, en productos domésticos, etc. (Kurwadkar *et al.*, 2022).

La alimentación es una de las principales vías que suponen un riesgo para la salud, siendo la ingesta de marisco recogido en zonas donde la acumulación de PFAS es abundante uno de los mayores factores de riesgo. La Autoridad Europea de Seguridad alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) comprobó que alrededor del 86% de la ingesta en adultos de PFAS corresponde a este medio. Se ha investigado que las PFAS de cadena larga y el sulfonato de perfluoroalcano (PFSA) se encuentran en mayor concentración que el ácido perfluoroalquilcarboxílico (PFCA) y las PFAS de cadena corta. De igual manera, suponen una gran bioacumulación y un foco de exposición elevado (Sunderland *et al.*, 2019).

El agua es otra de las vías que más preocupación produce debido a que se han encontrado PFAS en diversas matrices acuáticas. Esto ocurre sobre todo con los PFOA debido a que son solubles en agua y cruzan rápidamente del suelo a aguas subterráneas u otras fuentes de agua potable, siendo ya compuestos difíciles de eliminar en este medio (Post *et al.*, 2012; Brendel *et al.*, 2018). Otro medio que afecta a la contaminación del agua superficial y subterránea son los vertederos debido a que los compuestos se filtran mediante los lixiviados y efluentes de las EDAR, provocando que llegue después al consumo humano y al medio ambiente (Phong Vo *et al.*, 2020; Ahrens, 2011).

Otro medio de exposición a los PFAS es el aire, sobre todo para los trabajadores y vecinos de lugares cercanos a industrias que usan PFAS. También se

consideran vías de exposición las PFAS empleadas en el empaquetamiento de alimentos, los diversos productos y textiles para el hogar, etc. (Sunderland *et al.*, 2019).

La Figura 1.3 recoge un resumen de las diferentes vías de exposición explicadas en este apartado.

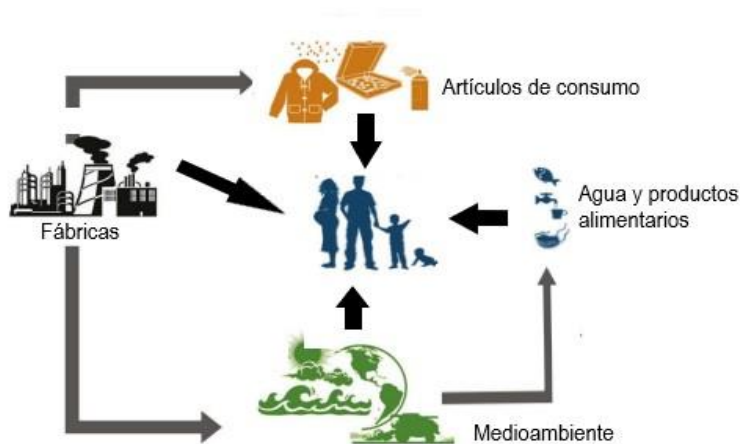


Figura 1.3. Vías de exposición adaptado de (Sunderland *et al.*, 2019).

1.3.2. Efectos derivados por la exposición a PFAS

La presencia de PFAS en múltiples lugares cotidianos, su toxicidad, gran movilidad y su capacidad de bioacumularse los hace uno de los motivos principales de preocupación a nivel de salud. Realmente, uno de los problemas que más inquieta es a nivel inmunológico puesto que, por ejemplo, se ha demostrado que reducen la capacidad que tienen las vacunas de formar anticuerpos en los niños (EFSA, 2020;18(9)). Por este y otros motivos, la EFSA en el año 2020 decidió definir las PFAS como una de las sustancias que genera más problemas a nivel inmunitario (EFSA, 2020;18(9)), tomando la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) la misma decisión poco tiempo después (Ehrlinch *et al.*, 2023).

Cabe destacar que las PFAS se acumulan de manera persistente en el organismo, sobre todo en el hígado, suero y riñones, llegando a estar durante varios años sin metabolizarse (Post *et al.*, 2012). Además, actúan como disruptores endocrinos modificando dicho sistema y causando problemas

inmunológicos, reproductivos y de desarrollo hormonal, entre otros (Crawford *et al.*, 2017).

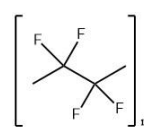
Entre los diversos problemas relacionados con la salud, a parte de los que ya han sido mencionados, destacan niveles de colesterol elevados, enfermedades tiroideas, obesidad, cáncer en diversos órganos como el riñón y testículos, infertilidad, cambios en el funcionamiento de la glucosa, retraso en el desarrollo infantil, etc. (Sunderland *et al.*, 2019; Brennan *et al.*, 2021).

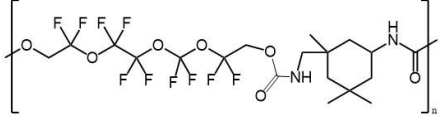
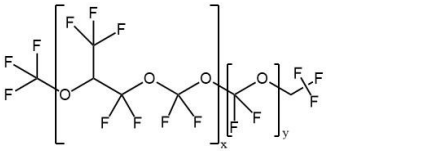
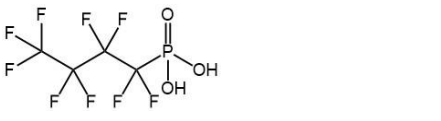
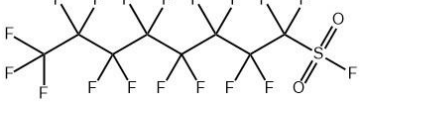
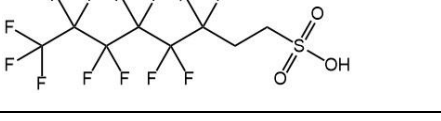
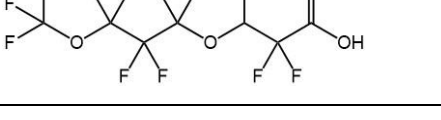
Las investigaciones futuras han de estar orientadas hacia la determinación y evaluación toxicológica de PFAS emergentes, es decir, sustancias que se han ido produciendo a través de la transformación de PFAS precursores, puesto que, la mayoría de evaluaciones toxicológicas se han obtenido de PFAS que no se han modificado con el tiempo (Sunderland *et al.*, 2019). Esta información ayudará a desarrollar metodologías analíticas, determinar posibles vías de exposición y prevención de riesgos toxicológicos (Cordner *et al.*, 2019).

2. PRINCIPALES CLASES DE SUSTANCIAS PER Y POLIFLUOROALQUILADAS Y LEGISLACIÓN

Las PFAS son compuestos que presentan estructuras alifáticas caracterizadas por cadenas que contienen flúor y un grupo terminal funcional (Ateia *et al.*, 2019). A su vez, estas sustancias se clasifican en compuestos poliméricos y no poliméricos (Phong Vo *et al.*, 2020). En la Tabla 2.1 se encuentran resumidas las principales PFAS según su clasificación y la estructura característica que presentan, con ejemplos representativos de uno o varios compuestos que pertenecen a la misma familia.

Tabla 2.1. Clasificación de PFAS descrita por (Phong Vo *et al.*, 2020).

Tipos de PFAS	Subgrupos	Ejemplos
Poliméricos	Fluoropolímeros	

Tipos de PFAS	Subgrupos	Ejemplos
	Polímeros fluorados de cadena lateral	
	Perfluoropoliéteres poliméricos	
No poliméricos	Ácido perfluoroalquilo	
	Fluoruro de sulfonilo de perfluoroalcano	
	Fluorotelómeros	
	Éter de perfluoroalquilo	

2.1 PFAS poliméricas

Este grupo está formado por sustancias que contienen monómeros y que pueden transformarse a compuestos terminales no poliméricos, es decir, que actúan también como precursores de los ácidos perfluoroalquilos (PFAA). A su vez, este grupo se subdivide en polímeros fluorados de cadena lateral, fluoropolímeros (FP) y perfluoropoliéteres poliméricos (PFPE) (Phong Vo *et al.*, 2020).

Los FP se caracterizan por tener una cadena perfluorada de átomos de carbono a la cual se adhieren de manera directa átomos de flúor. (Buck *et al.*, 2011). Normalmente presenta elevado peso molecular, estabilidad química y biológica, entre otras, no sufren degradación y carecen de monómeros residuales. Entre sus propiedades destacan la resistencia mecánica, tener carga neutra en

referencia a la electricidad, estabilidad, ser casi insolubles en medio acuoso y carecer de poder desplazarse a larga distancia (Henry *et al.*, 2018).

La segunda subclase serían los PFPE, que presentan un esqueleto de átomos de carbono y flúor en el cual se intercalan átomos de oxígeno mediante enlaces tipo éter. Se utilizan como recubrimiento de superficies de diferentes metales y materiales empleados para la alimentación, entre los que destacan el papel y el cartón, textiles, etc. (Buck *et al.*, 2011). Además, se caracterizan por ser sustancias solubles, estables en medio acuoso y de carácter ácido. Dentro de este subgrupo destacan el GenX, las sales de amonio de dodecafluoro-3H-4,8-dioxanonato (ADONA) y el ácido etoxiacético (EFE-NH₄), proviniendo de alteraciones de cadenas cortas por la sustitución de PFOS y PFOA de cadena larga (Lohmann and Letcher, 2023).

En el último subgrupo se encuentran los polímeros fluorados de cadena lateral, caracterizados por contener una cadena lateral variable de compuestos per y polifluoroalquilados. Dicho cambio da lugar a la aparición de diferentes polímeros fluorados, alguno de los cuales se está demostrando que pueden convertirse en PFAA por degradación (Buck *et al.*, 2011; Brendel *et al.*, 2018). Recientemente, se han encontrado indicios de que se pueden transformar a PFOA, una sustancia cuya concentración máxima está legislada. Por este motivo se deberían de legislar y controlar también los polímeros fluorados de cadena lateral al degradarse en PFOA (Henry *et al.*, 2018). Con respecto a las aplicaciones, estos compuestos se utilizan en textiles para convertir las prendas en resistentes al agua, grasa y suciedad gracias a que son sustancias hidrofóbicas (Lohmann and Letcher, 2023).

2.2 PFAS no poliméricas

Este grupo se divide en 4 subgrupos. Los más importantes son los PFAA, puesto que se encuentra mayoritariamente y de forma persistente en el medio ambiente por su exposición directa o su formación a partir de otros precursores. A su vez, presentan formas catiónicas y aniónicas donde sus propiedades fisicoquímicas

varían dependiendo del estado en el que se encuentre el compuesto (Buck *et al.*, 2011).

Los PFAA están formados a su vez por varias familias, entre las cuales destacan los PFCA y los PFSA, siendo estos los que se encuentran en mayor concentración en el medio ambiente y los que provocan efectos negativos en la salud (Brennan *et al.*, 2021).

El resto de subgrupos que forman parte de las PFAS no poliméricas son compuestos derivados del fluoruro de sulfonilo de perfluoroalcano (PASF), fluorotelómeros (FT) y éteres de perfluoroalquilo (F. Li, *et al.*, 2019).

2.2.1. Ácido carboxílico perfluoroalquilo (PFCA)

Los PFCA se obtienen de compuestos precursores que, o bien proceden de PFAS neutros que se degradan en el medio ambiente (Ahrens, 2011), o de compuestos polifluoroalquilos donde lo que se degrada son los grupos funcionales de fluorocarbono e hidrocarburos (Nakayama *et al.*, 2019). En concreto, pertenecen al grupo de “*tensioactivos fluorados aniónicos*” (Xiao, 2017).

Con respecto a su clasificación, los PFCA se pueden agrupar por la longitud de la cadena. Los PFCA de “cadena larga” son los que contienen entre 7 y más carbonos fluorados (Buck *et al.*, 2011), mientras que los compuestos de “cadena corta” son los que tienen una cadena de carbonos fluorados inferior a 7 (Phong Vo *et al.*, 2020).

En general, entre las propiedades de los PFCA destacan su elevada solubilidad y estabilidad en agua. Son compuestos que se pueden desprotonar fácilmente y presentar formas aniónicas en algunos casos, y su poca volatilidad que provoca mayor persistencia en el aire. (Sunderland *et al.*, 2019; Ateia *et al.*, 2019).

De todos los compuestos que forman parte del grupo de PFCA, el que más destaca es el PFOA, representado en la Figura 2.1. Es una de las sustancias que se detectan en mayor concentración en la mayoría de análisis realizados en el medio ambiente, sobre todo en aguas. Se caracterizan por ser persistentes,

por tener poco tamaño y por su elevada movilidad (Henry *et al.*, 2018). Además, se han usado durante muchos años en las industrias para la elaboración de fluoropolímeros (Phong Vo *et al.*, 2020). A día de hoy se siguen realizando estudios para saber cuáles son sus posibles efectos, puesto que, al ser compuestos persistentes y solubles, hace que no se puedan eliminar del agua con facilidad mediante tratamientos convencionales, y que se localicen en el agua potable, entre otros medios. Hay que destacar también que se pueden detectar en las analíticas de sangre humanas debido a que se acumulan en el organismo y tardan años en eliminarse (Lindstrom *et al.*, 2011). Dentro de los diversos efectos que provocan a la salud, los que más preocupan son su elevada toxicidad, su capacidad de reducir los efectos que tiene las vacunas para formar anticuerpos, la generación de hipersensibilidad y su potencial carcinogenicidad tras una exposición a largo plazo (Ehrlinch *et al.*, 2023).



Figura 2.1. Estructura PFOA.

2.2.2. Ácido sulfonato perfluoroalquilado (PFSA)

Los PFSA se obtienen de compuestos precursores al igual que los PFCA. Estos compuestos pertenecen al grupo de “*tensioactivos fluorados aniónicos*” (Xiao, 2017).

Generalmente, los PFSA se pueden clasificar en función de la longitud de la cadena. Los PFSA de “cadena larga” son los que contienen una cadena de carbonos fluorados de 6 o más átomos (Buck *et al.*, 2011), y los compuestos de “cadena corta” son los que tienen una cadena de carbonos fluorados inferior a 6 (Phong Vo *et al.*, 2020).

El PFSA está formado por un amplio grupo de compuestos. El que más destaca por bioacumularse en el medio ambiente y en el organismo es el PFOS, representado en la figura 2.2. (Ahrens, 2011). Como se ha comentado anteriormente, los PFOS fueron los primeros compuestos que generaron mayor

Los problemas de salud generados por los PFOS pueden derivar de una exposición directa o indirecta. Los que más destacan son la reducción de los efectos de las vacunas para formar anticuerpos y la inhibición de las células “natural killer” (NK) en el organismo, encargadas de eliminar células tumorales o que contengan virus (Ehrlinch *et al.*, 2023).



Las propiedades que presentan los PFSA son elevado poder de adsorción, capacidad de acumulación, elevada solubilidad y estabilidad en medio acuoso y poca volatilidad, lo que hace más difícil su eliminación por ser más persistente y tener una presión de vapor baja (Sunderland *et al.*, 2019; Ateia *et al.*, 2019; Gagliano *et al.*, 2020).

Debido a que los PFAS se consideran sustancias altamente peligrosas, bioacumulativas y persistentes en el medio ambiente, se han establecido una serie de convenios y reglamentos para intentar regular la liberación de PFAS. De todos los reglamentos que existen a día de hoy, este apartado se va a centrar en el Convenio de Estocolmo, la Agencia de Protección Ambiental en Estados Unidos y el Reglamento Europeo de Productos Químicos.

13

Medio Ambiente (PNUMA, 2009) y fue expuesto a los Estados para su firma en el año 2001. En 2004 se empezó a aplicar tras conseguir la firma de 152 países, donde estaban incluidos los Estados Miembro de la Unión Europea (Reglamento 850/2004). En el año 2009, el PFOS y el PFOA fueron introducidos en el Anexo B de la lista COP del Convenio de Estocolmo (UNEP/POPS/COP.4/38), cuyo objetivo fue limitar al máximo su fabricación y reducir su uso solo a casos específicos. Una de las funciones que tiene este convenio es obligar a los países que se encargan de analizar COP a detectarlas con un intervalo de error no superior al 25%, cuando sea necesario realizar su análisis (PNUMA, 2015). Además, este Convenio ha dado lugar a Reglamentos que limitan el consumo semanal de las PFAS y establecer el límite máximo que pueden contener los alimentos. Por ejemplo, el Reglamento (UE) 2022/2388 establece que el límite máximo total de ingesta por semana de PFOS, PFOA, ácido perfluorononanoico (PFNA) y ácido perfluorohexanosulfónico (PFHxS) es de 4,4 ng/kg de peso corporal por semana (DOUE-L-2022-81807). Cabe destacar también que ese Reglamento y el Reglamento (UE) 2022/1421 se encargan de establecer los límites que no se pueden superar de PFAS para alimentos específicos como leche, huevos y verduras, entre otros (DOUE-L-2022-81267; DOUE-L-2022-81807).

El segundo reglamento a destacar es el de la USEPA, el cual establece límites y normas con respecto a las PFAS bajo una serie de leyes reguladoras. En el año 2002 se comenzó a controlar la industria relacionada con las PFAS, incluyéndolas en la Regla de Nuevo Uso Significativo (SNUR) (sección 5(a) de TSCA y 40 CFR parte 721) que obligaba a las empresas a notificar las PFAS que estaban fabricando o importando. Entre 2003 y 2006 la USEPA se reunió con diferentes empresas para frenar la producción de PFOA y evitar que se siguiera liberando (Brennan *et al.*, 2021; Lindstrom *et al.*, 2011). En 2015, PFOA, PFOS y otros 4 PFAS se introdujeron en la regla 3 de monitoreo de contaminantes no regulados (UCMR 3) (77 FR 26072) con el objetivo de que las industrias de agua potable recopilaran dicha información y sirviera como medio de regulación y de control para los niveles de concentración de PFAS en el futuro (Post *et al.*, 2012; Brennan *et al.*, 2021). Además, colabora con la búsqueda de diferentes métodos de pretratamiento y de análisis para determinar PFAS en aire (Winchell *et al.*,

2021). La Junta científica Asesora de la USEPA aconsejó el control de las PFAS en agua potable estableciéndose un límite de emisión de 200 ng/L para PFOS y 400 ng/L para PFOA (EPA, 2009c, Lindstrom *et al.*, 2011; Post *et al.*, 2012). Actualmente, la USEPA está en proceso de aprobación del límite máximo para PFOA y PFOS fijado en 4 ng/L en todos los sistemas de tratamientos de agua, incluido para el agua potable (USEPA, 2023).

El tercero es el Reglamento Europeo de Productos Químicos (REACH EC N.º 1907/2006), el cual regula distintas PFAS con diferentes características y propiedades físico-químicas, entre las que destacan que sean compuestos catalogados como sustancias extremadamente preocupantes (SVHC), o que sean altamente bioacumulativos, tóxicos y persistentes. Atendiendo a esto, la mayoría de PFSA y PFCA de cadena larga y los polímeros que dejan restos de PFAS que pueden actuar como precursores, se regulan bajo este reglamento con la intención de establecer límites de concentración para su control. Además, las PFAS de cadena corta se han incluido como SVHC debido a que se ha comprobado que también suponen un peligro (REACH EC N.º 1907/2006).

3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

El siguiente apartado se va a centrar en describir la técnica de extracción más empleada para el análisis de PFAS en medio acuoso, siendo la extracción en fase sólida (SPE). Esta técnica se caracteriza, por ejemplo, por ser capaz de extraer un gran volumen de agua con poca cantidad de disolvente de elución y concentrar más la muestra para la determinación de contaminantes orgánicos en medio acuoso (Cela *et al.*, 2003). En el punto 3.1 se va a detallar el fundamento para realizar su función.

3.1 Extracción en fase sólida (SPE)

La SPE es una técnica ampliamente empleada para la extracción, limpieza y concentración de analitos mayoritariamente utilizada para el análisis de muestras acuosas (Nakayama *et al.*, 2019). Se puede usar de manera automática o

manual, y se ajusta a las propiedades que presentan los analitos (Nakayama *et al.*, 2019). Entre sus objetivos destacan la preconcentración de compuestos a nivel de trazas consiguiendo concentraciones elevadas con poca cantidad de disolvente, la limpieza con disolventes adecuados para eliminar impurezas presentes en la muestra, y el fraccionamiento de la muestra mediante la elución de la misma con una fase líquida diferente (Cela *et al.*, 2003).

El origen de la SPE proviene de la adaptación de la extracción líquido-líquido (LLE) dados sus inconvenientes en la formación de emulsiones en medios acuosos y el bajo grado de automatización. Estos inconvenientes de la LLE se solventaron mediante el uso en SPE de columnas de polietileno rellenas de una fase estacionaria, las cuales contienen diversos grupos funcionales (Thurman and Mills, 1998).

Con respecto al fundamento, hay que destacar que la SPE es un proceso físico entre una fase sólida y un líquido. La fase sólida se caracteriza por tener mayor afinidad por el analito que por el disolvente donde está disuelto. Al pasar la disolución de la muestra por el adsorbente, este va a hacer que los analitos se queden retenidos en él, concentrándolos en la superficie, haciendo que el resto de compuestos pasen sin ser retenidos. Para la realización de la SPE hay que seguir una serie de etapas con el objetivo de obtener extracciones específicas. La primera etapa consiste en el acondicionamiento del cartucho con un disolvente semejante a la muestra para preparar la fase sólida de cara a aumentar la retención del analito y favorecer la eliminación de interferentes. Una vez acondicionado, se procede a eluir la muestra para retener los analitos en la fase estacionaria a una velocidad controlada. Durante esta etapa, es posible que algunos interferentes presentes en la muestra queden también retenidos en la fase estacionaria. A continuación, se pasa a la etapa de limpieza, que consiste en añadir un disolvente que no eluya el analito de interés pero que ayude a eliminar las posibles interferencias e impurezas que se contengan en la muestra, como pueden ser sales. Por último, se da la etapa de elución, donde se hace pasar poca cantidad de disolvente capaz de arrastrar los analitos de interés para proceder a su análisis posteriormente (Cela *et al.*, 2003). La Figura 3.1 ilustra las diferentes etapas de un proceso convencional de SPE.

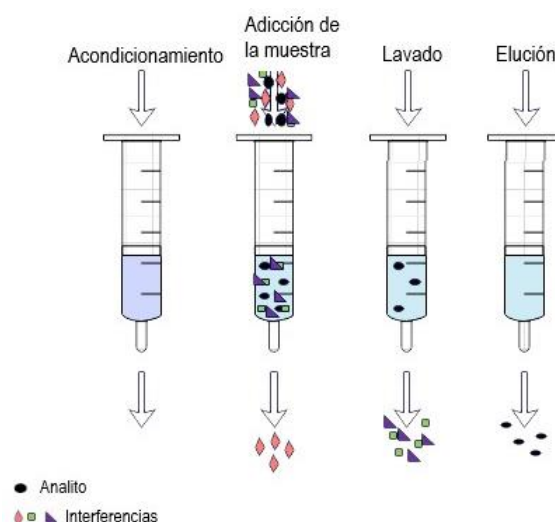


Figura 3.1. Etapas de la SPE.

El cartucho para la SPE está compuesto por una columna corta, normalmente se trata de una jeringuilla cilíndrica abierta, que contiene en su interior un adsorbente con una medida de partícula entre 50 y 60 nm, el cual está rodeado con un metal de tipo poroso. Para poder pasar por la columna los disolventes y la muestra, se necesita aplicar una presión o realizar un vacío en el cartucho (Cela *et al.*, 2003). Las ventajas que presenta son su sencillez de uso, la posibilidad de fácil automatización, la elevada capacidad de retención de los analitos y de conseguirlos purificados y el bajo consumo de disolventes (Thurman and Mills, 1998).

Para el caso del análisis de contaminantes orgánicos en medio acuoso, como por ejemplo para el análisis de las PFAS en agua, se utiliza un disco en lugar del cartucho. Este disco se caracteriza porque el adsorbente está retenido en una membrana de tipo microfibras de 0,5 mm de grosor. Tolera flujos más elevados que cuando se emplean los cartuchos y se utiliza cuando hay grandes volúmenes de muestra que contienen una pequeña concentración de analitos. Además, las ventajas que tienen los discos son su mayor rapidez a la hora de pasar la muestra y su elevada eficacia. En este caso, la extracción se realiza con un aparato estándar de filtración y pasando la muestra por el disco a vacío con un flujo constante. Los analitos de interés se van a quedar retenidos igual que pasa con los cartuchos y, tras realizar las etapas ya descritas anteriormente, se eluye el

analito con una pequeña cantidad de disolvente para su posterior análisis (Cela *et al.*, 2003).

Entre los adsorbentes que más se utilizan en la SPE para el análisis de PFAS en agua, están los de intercambio iónico y los de fase reversa. Los de intercambio iónico se caracterizan por extraer los analitos dependiendo de la carga iónica que contenga, es decir, si se desean analizar analitos catiónicos se emplea intercambio catiónico y si se quieren analitos aniónicos se usa intercambio aniónico ya que la polaridad del analito que está cargado se va a cambiar por otro que está ya retenido en la resina de intercambio (Thurman and Miller, 1998). La fase reversa se caracteriza por usar una fase estacionaria que repele más el agua que la propia muestra a determinar, y se utilizan sobre todo cuando el analito de interés se encuentra en un medio acuoso.

Con respecto a las fases, las más empleadas para las PFAS son los adsorbentes poliméricos, en concreto los copolímeros estireno-divinilbenceno (PS-DVB) cuya superficie es hidrofóbica. Se caracterizan por tener un gran rango de pH de trabajo y por retener más a los compuestos polares gracias al tipo de superficie que tiene. Su eficacia va a depender del tamaño de la partícula y del poro, y del área de la superficie. Otros adsorbentes que existen son las resinas de amberlita XAD-2, resinas químicamente modificadas, HLB, etc. (Cela *et al.*, 2003).

4. TÉCNICAS DE SEPARACIÓN Y DE DETECCIÓN

En este capítulo se van a desarrollar los fundamentos y el equipamiento utilizados para separar y detectar las PFAS en muestras acuosas. De todas las técnicas analíticas disponibles para la separación y detección de analitos, se han elegido la cromatografía de líquidos (LC) acoplada a espectrometría de masas puesto que es la más usada por los investigadores debido a las nuevas innovaciones que permiten detectar e identificar este tipo de sustancias con una elevada especificidad y sensibilidad.

4.1 Cromatografía de líquidos (LC)

La cromatografía de líquidos (LC) fue desarrollada por Tswett (Ettre and Sakodyskii, 1993) a comienzos del siglo veinte, para poder conseguir un flujo constante de líquidos. En los años 60 se aplicaron flujos de líquidos a alta presión, desarrollándose la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Cela *et al.*, 2003). HPLC es una técnica empleada para la separación y el estudio de diferentes composiciones químicas en una misma muestra que trabaja dependiendo de la afinidad que tengan los analitos con la fase móvil y estacionaria (Snyder *et al.*, 2010). Actualmente, la cromatografía se emplea con alta presión para todos los casos, sin hacer distinción ya entre LC o HPLC (Skoog *et al.*, 1997). Además, tanto HPLC como LC han sido de gran uso para el desarrollo y evolución de productos naturales, para la síntesis de compuestos orgánicos, y para el avance en el área de la bioquímica (Cela *et al.*, 2003). Esta técnica se emplea sobre todo para compuestos no volátiles y termolábiles. Se caracteriza por su elevada sensibilidad, sencilla automatización y elevada precisión en análisis cuantitativos (Skoog *et al.*, 1997; Snyder *et al.*, 2010).

Los componentes básicos de un instrumento de LC se encuentran representados en la Figura 4.1, de entre los que cabe destacar: el inyector de muestras, el sistema de bombeo, la columna cromatográfica que se puede encontrar termostatzada en el interior de un horno de columna, el detector y un sistema de amplificación y registro de datos. Estos componentes pueden sufrir variaciones dependiendo del tipo de fase móvil que se tenga, de la muestra que se quiera separar y del modo cromatográfico a emplear (Cela *et al.*, 2003).

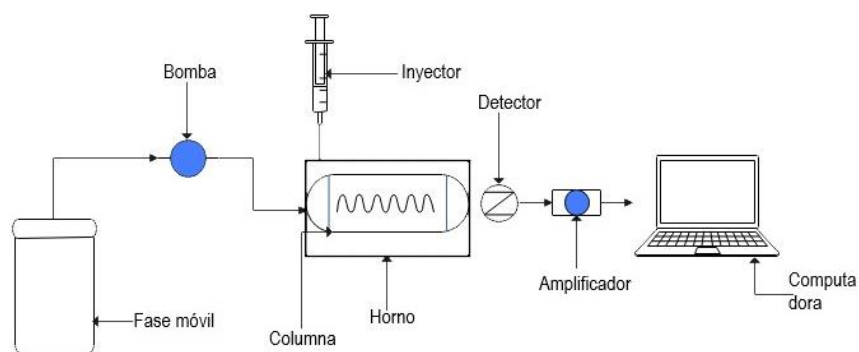


Figura 4.1: Esquema general HPLC.

El recipiente de almacenamiento de la fase móvil se emplea para asegurar que siempre haya fase móvil que recorra el sistema en el modo adecuado, evitando que se contamine. Esta fase está formada por una mezcla de disolventes polares y no polares cuya concentración varía dependiendo de la muestra a analizar (Snyder *et al.*, 2010). Otro aspecto que se tiene en cuenta antes de emplear los disolventes para la LC es filtrarlos a través de un poro de 0,45 micras para asegurar que no contienen ninguna partícula que pueda interferir posteriormente, si los mismos no poseen una pureza calidad HPLC (Cela *et al.*, 2003).

La bomba es un elemento característico en todos los HPLC. Para poder hacer uso de las mismas deben de cumplir una serie de condiciones: soportar presiones de mínimo 400 atm, permitir un flujo constante y controlable de fase móvil, limitar todo lo posible el volumen muerto para el empleo de eluciones programadas, ser químicamente inertes, permitir una autonomía de horas o días, tolerar modificaciones de disolventes o de operaciones de manera fácil y rápida y permitir el trabajo de manera segura con disolventes inflamables (Cela *et al.*, 2003). A menudo, este sistema cuenta con un desgasificador para eliminar los posibles gases que se encuentran en las fases móviles ya que pueden generar ensanchamiento de bandas y flujos no constantes. Las bombas más empleadas son las de doble pistón recíproco, también denominadas bombas de desplazamiento, cuyo material suele ser de acero inoxidable. Hay que destacar que la función de la bomba es impulsar el disolvente o la fase móvil de forma constante (Cela *et al.*, 2003). Además, las bombas se pueden emplear en modo isocrático, donde se emplean disolventes con una composición constante, o en modo gradiente, donde se emplean disolventes con una composición variable a lo largo del análisis cromatográfico (Skoog *et al.*, 1997).

Con respecto al sistema de inyección, este debe permitir que se introduzca un cierto volumen de la muestra en el sistema sin alterar de manera significativa la presión a la que se encuentra. Este sistema, denominado válvula de inyección, está formado por dos circuitos, uno de ellos conectado con el exterior, y el segundo conectado en el mismo sistema. El modo de operación de la válvula se centra en rotar entre la posición de carga e inyección. Cuando la válvula está en posición de carga, se introduce la muestra con ayuda de una jeringuilla a la vez que la fase móvil va pasando directamente a la columna. En el momento donde

la válvula cambia de posición a la de inyección, la fase móvil que proviene de la bomba, se encarga de arrastrar la muestra permitiendo que se introduzca en la columna (Cela *et al.*, 2003).

La columna cromatográfica se caracteriza por estar construida en acero inoxidable y estar rellena de fase estacionaria, un material encargado de retener algunos compuestos que pasen a través de ella. Teniendo en cuenta la polaridad de la fase estacionaria, se puede dividir en cromatografía en fase normal y en fase reversa, centrándose este TFG en la fase reversa puesto que es la que se utiliza generalmente para el análisis de PFAS en muestras acuosas. La fase estacionaria reversa se caracteriza por ser apolar, tratándose normalmente de hidrocarburos con una cadena de 18 carbonos, consiguiendo así que los primeros compuestos que se obtengan sean los más polares al aplicar una fase móvil medianamente polar (Snyder *et al.*, 2010).

Si nos centramos en las propiedades de las columnas, estas se caracterizan por estar fabricadas de acero inoxidable, ser rectas, medir entre 10 a 15 cm de largo, con un diámetro interno de 4,6 mm y por estar rellenas de partículas con 5 μ m de tamaño. Estas columnas tienen la ventaja de permitir un trabajo a gran velocidad y consumir poco disolvente. En algunos casos, se utiliza antes una precolumna (Janda *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2016; Boiteux *et al.*, 2017), para eliminar tanto las partículas en suspensión como los compuestos que se quedan adheridos en la fase estacionaria. El relleno de la precolumna es similar al de la columna, con la única diferencia de que se usa un relleno con partículas de mayor tamaño. Al terminar de usarla hay dos opciones, vaciarla y volver a llenarla, o emplear una nueva, favoreciendo así que la columna no sufra ningún daño (Skoog *et al.*, 1997).

Con respecto al detector, su función es dar información de los componentes analíticos que se han separado y obtenido en la columna cromatográfica. Para el caso de la determinación de PFAS en agua, el análisis generalmente se lleva a cabo mediante HPLC acoplada a espectrometría de masas (MS), cuya configuración básica se ilustra en la Figura 4.2. Esto se debe a que este detector tiene la ventaja de dar lugar a un espectro que permite identificar un compuesto

aislado y aplicarlo a un amplio número de campos de estudio (Hoffman and Stroobant, 2007).

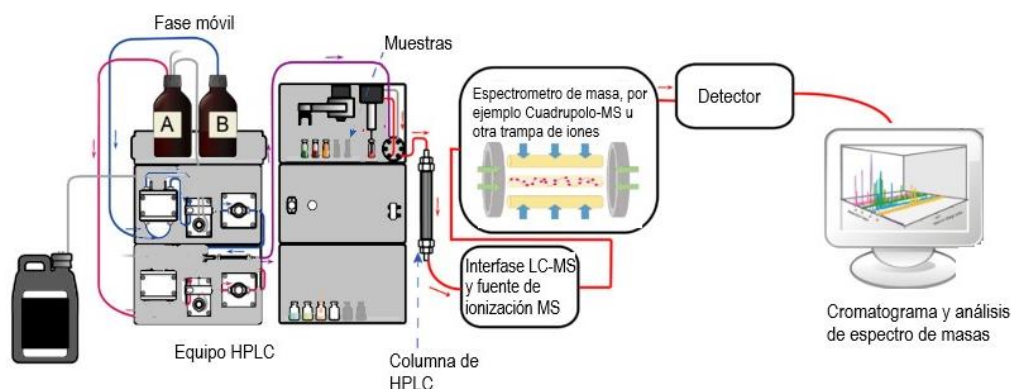


Figura 4.2. Equipo LC-MS adaptado de (Dagui, 1929).

Para llevar a cabo el acoplamiento de ambas técnicas, se acopla directamente el cromatógrafo a un espectrómetro para que se eluyan los componentes a la vez que se obtiene un registro a tiempo real del espectro de masas. Además, el detector usado en el acoplamiento debe de cumplir una serie de condiciones como no mezclar los compuestos ya separados, tener una elevada sensibilidad, ser selectivo a la hora de identificar los compuestos que se quieren estudiar y tener la capacidad de producir datos constantemente (Hoffman and Stroobant, 2007).

4.2 Fuente de ionización electrospray (ESI)

La ESI se caracteriza por ser una técnica de ionización suave que permite la ionización de la muestra líquida y su paso fase gaseosa de sustancias no volátiles y polares. Es la interfaz más usada para el acoplamiento entre LC y MS, siendo la más empleada para el desarrollo de este TFG (Gross, J.H, 2004; Gaskell, 1997). La utilización de la ESI se expandió cuando el equipo de Fenn, en la década de 1980, empleó esta técnica para obtener iones a partir de moléculas de gran tamaño como eran, por ejemplo, las proteínas (Fenn *et al.*, 1989). Actualmente, la ESI se utiliza tanto para moléculas de gran tamaño como para moléculas polares de pequeño tamaño (Hoffmann and Stroobant, 2007).

Con respecto al fundamento de la ESI, este se puede describir con aparente sencillez. Para que se inicie la ESI, hay que aplicar un elevado voltaje de manera constante al solvente con el analito que recorre el tubo capilar. Este voltaje permite la formación de un campo eléctrico en la punta del tubo capilar que da lugar a la formación de una neblina de gotas con elevada carga. Las gotas formadas en la punta del capilar cuando están sometidas a un elevado campo eléctrico presentan una forma alargada por la acumulación de cargas, denominado como “*cono de Taylor*”. Al evaporarse el solvente que contiene las gotas provoca que estas se reduzcan en tamaño, aumentando la carga y generando nuevamente una deformación por el efecto del exceso de carga. Las gotas generadas se van haciendo más pequeñas al evaporarse el solvente por la aplicación de un gas inerte caliente, como nitrógeno o dióxido de carbono, entre otros. La evaporación de las gotas cargadas se mantiene hasta que alcanzan un límite crítico de cargas contenidas en la gota, dando lugar a la formación de una gran cantidad de gotas de pequeño tamaño y estables a través de la denominada “*explosión de Coulomb*”. Estas gotas formadas vuelven a sufrir el proceso de desolvatación y explosión, dando lugar a la formación de iones en fase gaseosa al evaporarse el solvente, dejando el analito con la carga que tenía la gota. Los iones generados van a pasar al analizador por diferencia de presión (Hoffmann and Stroobant, 2007; Gaskell, 1997). En la Figura 4.3 se muestra un esquema general del fundamento de la ESI.

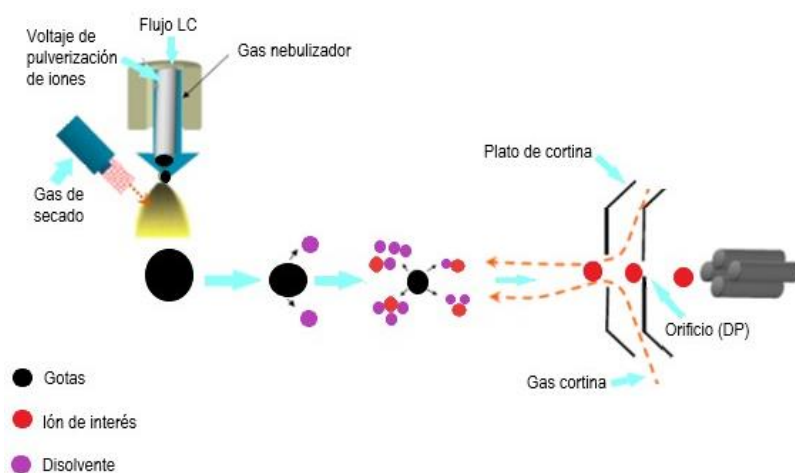


Figura 4.3 Esquema general de ESI.

4.3 Espectrometría de masas (MS)

La MS es una técnica que se encarga de formar y detectar iones procedentes de compuestos orgánicos e inorgánicos para proceder a separarlos y detectarlos tanto cualitativa como cuantitativamente según su relación masa/carga (m/z) (Gross, J.H, 2004). Es considerada un método versátil por las diferentes propiedades instrumentales que presenta, en referencia a la resolución, ionización y a la rapidez de fragmentación y escaneo (Steinmann and Ganzera, 2011).

Los instrumentos utilizados en MS constan siempre de una fuente de ionización, un analizador y un detector que suelen operar en condiciones de vacío, y un ordenador encargado de recopilar los datos (Gross, J.H, 2004).

Con respecto al fundamento, primero se introduce una pequeña cantidad de muestra en el espectrómetro a través de una interfase que ioniza la muestra a analizar. A continuación, el analizador va filtrando los iones según su relación m/z para hacer que lleguen al detector. Finalmente, los datos se recopilan en un ordenador para que den lugar al espectro de masas correspondiente a la muestra que se desea analizar (Steinmann and Ganzera, 2011).

Los analizadores de masa separan los iones usando campos eléctricos y magnéticos. Por tanto, los tipos de analizadores que existen se definen por las diferentes formas en las que se usan esos campos para llevar a cabo la separación. Dentro de la MS hay analizadores empleados para análisis de baja resolución (LRMS) y analizadores que se usan para análisis de alta resolución (HRMS). La LRMS se caracteriza por diferenciar iones que difieren en una unidad de masa, mientras que, la HRMS se caracteriza por detectar diferencias de masas que difieren en pocas milésimas de masa (Hoffmann and Stroobant, 2007).

Comenzando por los analizadores de LRMS, los más destacados son el analizador cuadrupolo y el analizador de trampa de iones. El analizador cuadrupolo está formado por cuatro varillas sometidas a voltaje constante que genera un campo eléctrico constante para llevar a cabo la separación m/z de los iones. La configuración por excelencia de este analizador es la de triple

cuadrupolo (QqQ), en la que tres cuadrupolos se presentan en línea para obtener información de iones precursores e iones fragmento, produciendo así espectros de MS/MS. El analizador de trampa de iones se caracteriza por capturar los iones producidos por un campo electromagnético y ser capaz de sacarlos cuando se requieran aplicando radiofrecuencia.

Para el caso de los analizadores HRMS, se caracterizan por permitir elucidar potenciales composiciones elementales del ion con suficiente precisión a partir de la m/z . Los analizadores más empleados para el análisis de PFAS en agua son tres. El Analizador de Resonancia Ciclotrónica de iones con Transformada de Fourier (FT-ICR) permite detectar los iones según su relación m/z a través de la aplicación de un campo magnético sobre dichos iones cargados que van a girar describiendo una órbita característica permitiendo su detección. El analizador de trampa iónica orbital (Orbitrap) se basa en utilizar la Transformada de Fourier (FT) para obtener frecuencias proporcionales a la relación m/z que den lugar al espectro de masas a partir de corrientes espejo provenientes de los iones cuando un campo electrostático hace que estos describan elipses alrededor de un huso. Y, por último, los analizadores híbridos que son el resultado de la combinación de varios analizadores con el objetivo de obtener espectros MS/MS y mejorar las resoluciones de los análisis (Hoffmann and Stroobant, 2007), como es por el ejemplo el analizador que combina un cuadrupolo con el de tiempo de vuelo (TOF). El analizador TOF determina la relación m/z por el tiempo que tardan los iones en desplazarse desde la entrada al tubo de vuelo hasta el detector. Se lleva a cabo aplicando un potencial igual a todos los iones, los cuales van a adoptar la misma energía cinética pero distintas velocidades por la diferencia de m/z que presentan (Hoffmann and Stroobant, 2007).

La determinación de los compuestos se puede realizar mediante dos aproximaciones: análisis dirigido, o análisis no dirigido o de barrido, el cual puede ser de compuestos sospechosos o de compuestos totalmente desconocidos. El análisis dirigido se emplea para detectar compuestos específicos ya conocidos a partir del uso de estándares de referencia (Winchell *et al.*, 2021). En este tipo de aproximación es muy común el uso de LRMS dado su mayor selectividad y sensibilidad. Por el contrario, el análisis no dirigido se realiza mediante

equipamiento HRMS sin ninguna idea preconcebida de los analitos presentes en la muestra, pudiéndose monitorear a la vez una gran cantidad de iones con el objetivo de identificar compuestos poco o nada conocidos de los que no se dispone un estándar analítico. Este tipo de análisis se realiza principalmente mediante el uso de HRMS debido a la elevada especificidad que proporcionan en cuanto a masa exacta y a la posibilidad de caracterizar de manera inequívoca compuestos gracias a la variada información espectral. Además, utilizando la estrategia del análisis de compuestos sospechosos, se tiene información previa sobre la fórmula, masa exacta y el patrón de isótopos del compuesto que se espera detectar en la muestra, lo que disminuye la complejidad en la identificación de compuestos desconocidos (Hajeb *et al.*, 2022).

5. MATERIALES Y MÉTODOS: BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

Para la elaboración de este TFG se ha realizado una búsqueda bibliográfica a partir de una serie de base de datos relacionados con la investigación y con el tema desarrollado en cuestión. Esta búsqueda se ha llevado a cabo con la finalidad de poder profundizar y obtener información acerca de los conocimientos y avances que hay definidos para este estudio, centrándose sobre todo en revistas y artículos científicos.

A la hora de llevar a cabo la búsqueda de información a través de bases de datos, se han tenido que aplicar operadores booleanos para poder acotar el número de publicaciones y, así, poder centrar más en el tema de interés. Para los capítulos 1,2,3 y 4, se ha aplicado en todos los casos el filtro de revistas científicas para el tipo de documento, y el filtro de acceso abierto para poder acceder a todos los artículos disponibles. Además, para el capítulo 6 que se centra en el tratamiento, análisis y determinación de PFAS, se ha procedido a acotar el intervalo de publicaciones por año, en concreto desde 2010 hasta 2022. Esta acotación se ha llevado a cabo puesto que el objetivo de ese apartado es recoger la información más reciente acerca de los métodos que se emplean para la identificación y el descubrimiento de nuevos PFAS en medios acuosos en los

últimos años. Hay que añadir también que para la realización de ese capítulo se ha tenido en cuenta los que más han sido citados por otros investigadores.

Por tanto, para el desarrollo de este TFG se han utilizado las siguientes bases de datos:

- Scopus

La base de datos Scopus ha sido empleada para obtener la mayoría de artículos científicos centrados tanto en las PFAS de manera general como con respecto a las técnicas analíticas empleadas. Su acceso se ha llevado a cabo a través de una Institución Académica, que en este caso es con la identificación como alumnado de la Universidad de Jaén.

Esta base ha sido seleccionada para el desarrollo de este TFG puesto que incluye una gran cantidad diferente de artículos, libros y revistas de elevado prestigio como son las procedentes de la editorial Elsevier. Además, gracias al amplio rango de artículos que tiene disponible, se ha podido desarrollar gran parte de este trabajo puesto que ha aportado información para todos los capítulos, destacando sobre todo para los capítulos 1,2,4 y 6.

En la Tabla 5.1 se encuentran recogidos los resultados obtenidos una vez se han aplicado los filtros mencionados anteriormente (revista científica y acotación del año 2010 a 2022) y las palabras clave para facilitar la búsqueda.

Tabla 5.1. Palabras clave y filtros empleados para la búsqueda bibliográfica.

Palabras clave	Resultados obtenidos sin filtrar	Resultados obtenidos 2010-2022 tras filtrar
PFAS water	2071	89
PFAS target	313	16
PFAS non-target	88	7
PFAS	4420	202

Palabras clave	Resultados obtenidos sin filtrar	Resultados obtenidos 2010-2022 tras filtrar
Health PFAS	1458	108
PFCA	457	91
Fluoropolymeric	59	7
PFSA	1056	189
Legislation PFAS	24	4
Polymeric	238033	4232
Non-polymeric	23845	588
PFOA	5342	99
PFOS	5537	117

Hay que añadir que en la búsqueda también se ha tenido en cuenta, aparte de los filtros, el uso de ordenar los artículos de más a menos citados para facilitar la elección de ellos en caso de seguir teniendo una gran cantidad de artículos tras la acotación. En la mayoría de casos, se han seleccionado los 5 primeros artículos más citados.

- Google Scholar

Esta base de datos se ha usado para ampliar la información recopilada con la otra base ya descrita en este TFG. Google Scholar sirve para buscar artículos en cualquier revista o página web a nivel académico de manera más sencilla. Además, también muestra artículos que proviene de la editorial Elsevier y de otra base de datos denominada PubMed.

A la hora de realizar la búsqueda, también se han usado los mismos filtros que para la base de datos de Scopus, consiguiendo así que la información se acote a la más relevante. Los resultados obteniendo se recopilan en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2. Palabras clave y filtros empleados para la búsqueda bibliográfica.

Palabras clave.	Resultados obtenidos sin filtrar.	Resultados obtenidos tras filtrar.
PFAS water	41000	6730
PFAS target	31600	7530
PFAS non-target	27800	6640
PFCA	6920	536
PFSA	18400	1180
Legislation PFAS	18300	817
PFOA	37000	3770
PFOS	43800	4260

Además, a parte de esta búsqueda realizada para la ampliación de información de los capítulos 1,2 y 6 de este TFG, también se ha usado esta base para encontrar artículos relacionados con las diversas técnicas analíticas que se emplean en la identificación de PFAS. Otra cosa a tener en cuenta es que de la mayoría de artículos encontrados, este TFG solo se ha centrado en aquellos que hablen de PFAS en agua debido a que es el objetivo donde se centra esta revisión bibliográfica. La mayoría de artículos que siguen apareciendo tras la aplicación de los filtros ya nombrados se descartan ya que se salen del propósito de este trabajo.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este apartado se va a centrar en la discusión de diferentes métodos de análisis empleados para la investigación y descubrimiento de PFAS en diversas matrices acuosas. La elección de dichos trabajos se ha llevado a cabo puesto que han sido los más citados por diferentes investigadores y, además, son publicaciones de los últimos 12 años para así recopilar la información más actualizada posible.

La Tabla 6.1 recoge los diferentes autores con la información más relevante que aportan cada uno y cuya investigación se irá desarrollando en los siguientes subapartados.

6.1 Recolección, conservación y pretratamiento de muestras

Es ampliamente conocido que los recipientes de recolección de muestras acuosas para el análisis de PFAS deben ser de polipropileno (PP) o de polipropileno de alta densidad (HDPE) para evitar la absorción de PFAS al material, así como evitar que materiales como el vidrio o el Teflón puedan contaminar la muestra (Winchell *et al.*, 2021). Típicamente, es también muy común el lavado de las botellas previamente a la toma de la muestra con metanol y agua Milli-Q para solubilizar los analitos que pueden haberse absorbido en la pared del contenedor durante el envío y el almacenamiento. Como se ve reflejado en la Tabla 6.1, prácticamente todos los autores han usado botellas de PP, como es el caso del muestreo de aguas residuales (Liu *et al.*, 2015.; Boiteux *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2013), agua de ríos (Takazawa *et al.*, 2009), agua de mar y agua potable (Wille *et al.*, 2010; Janda *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2016; Gebbink *et al.*, 2017; Zacs and Bartkevics, 2016), así como aguas subterráneas (Wei *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022). Sin embargo, otros autores optan por botellas de HDPE a la hora de realizar el muestreo de efluentes de depuradora (Gallen *et al.*, 2018), agua de grifo (Munoz *et al.*, 2023) y agua de ríos (Strynar *et al.*, 2015).

Tabla 6.1. Diferentes métodos analíticos para la determinación de PFAS en agua.

Matriz	Muestreo	Método de extracción	Análisis mediante HPLC	Fuente de ionización	Detección	Tipo de análisis	Concentraciones (ng/L)	PFAS identificados	Referencia
Agua subterránea	Recogida en botellas PP. Almacenar a 4°C. Filtrar con fibra de vidrio.	SPE Oasis WAX. Elución: metanol, hidróxido de amonio en metanol.	Columna YMC Triart C18. Fase móvil: Acetato de amonio y metanol.	ESI (-)	QqQ	Dirigido	PFCA: 0,26-143. PFSA: 0,001-290. F-53B: 0,17-1,83. 6:2 FTSA: 0.32-8.54.	PFCA: 4-12, 14, 16, 18. PFSA: 4, 6, 8. F-53B y 6:2 FTSA.	Wei et al 2018.
	Recogida en botellas PP lavadas previamente con agua Mili Q, metanol y agua real. Almacenar en oscuridad a 4 °C. Filtrar con filtro de vidrio.	SPE Waters Oasis WAX. Elución: hidróxido de amonio en metanol. Filtrar con filtro de membrana.	Columna Agilent Eclipse Plus C18. Fase móvil: Acetato de amonio en agua y acetonitrilo.	ESI (-)	QTOF-MS	No dirigido	PFCA: 1410-8860. PFSA: 998-63600.	96 clases de PFAS. PFCA. PFSA. ΣPFAS C10.	Liu et al 2022.
Agua residual	Recogida en botellas PP. Filtración con filtros de microfibra de vidrio.	SPE Oasis HLB. Elución: metanol. Filtro de Nylon.	Columna Zorbax Eclipse XDB C18. Fase móvil: metanol en acetato de amonio.	ESI (-)	QqQ	Dirigido	F-53B: 43-112.	F-53B.	Wang et al 2013.
	Lavado con metanol y agua Mili Q, y recogida en recipiente de HDPE. Almacenar a -20°C.	SPE (Oasis HLB o Strata-x). Elución: Acetona, metanol y diclorometano.	Columna Gemini NX C18. Fase móvil: metanol en acetato de amonio. Columna Restek C18.	ESI (-)	QqQ	Dirigido	PFOS: 25. PFOA: 22. PFHpA: 13. PFHxS: 200.	PFOS. PFOA. PFHpA. PFHxS.	Gallen et al 2018.
	Recogida en recipiente PP. Almacenar a -50°C.	SPE Oasis HLB. Elución: hidróxido de amonio en metanol.	Columna C18 de fase inversa. Fase móvil: Acetato de amonio en agua y acetonitrilo.	ESI (-)	Orbitrap-MS	No dirigido	ΣPFCA: 0.05-90. ΣPFAS: 20.	PFCA C6-C11. ΣPFAS.	Liu et al 2015.

Matriz	Muestreo	Método de extracción	Análisis mediante HPLC	Fuente de ionización	Detección	Tipo de análisis	Concentraciones (ng/L)	PFAS identificados	Referencia
	Recogidas en botellas PP. Almacenar a 4°C.	SPE Oasis WAX. Elución: metanol, hidróxido de amonio en metanol e hidróxido de amonio en isopropanol/diclorometano.	Columna Acquity® BEH C18. Fase móvil: metanol y acetato de amonio en metanol.	ESI (-)	QTRAP	Dirigido	ΣPFCA y ΣPFSA: 0,56-47. PFOA: 4. FTSA 6:2: 22-195. FTAB 6:2: 248-968.	PFOA. FTSA 6:2. FTAB 6:2. PFCA (C4-C10). PFSA (C4, C6-C10).	Boiteux et al 2017.
Agua de ríos	Recogida en botella HDPE. Lavar con metanol. Almacenar a T° ambiente. Filtrar con papel de filtro de fibra de vidrio.	SPE WAX Waters. Elución: metanol.	Columna Eclipse Plus C8. Fase móvil: formiato de amonio y metanol en agua.	ESI (-)	QTOF-MS	No dirigido	PFOA: 21.	ΣPFCA. PFOA.	Strynar et al 2015.
	Recogida en botella PP lavado previamente con metanol y agua. Almacenar a 5°C. Filtración con malla de nailon.	SPE Oasis HLB. Elución: metanol y agua.	Columna ZORBAX Eclipse XDB-C18. Fase móvil: Acetato de amonio y acetonitrilo.	ESI (-)	QqQ	Dirigido	PFOS: 0.5-58.	PFOS.	Takazawa et al 2009.
Agua de mar	Filtración con papel de fibra de vidrio.	SPE Oasis HLB. Elución: metanol y agua.	Columna HPLC C18. Fase móvil: Acetato de amonio en agua y metanol.	ESI (-)	TOF-MS	No dirigido	Σ4 PFAS: 38,9. PFOS: 0-5.	Σ4 PFAS. PFOS.	Wille et al 2010.
Agua de grifo	Recogida en botella HDPE lavadas previamente con metanol y agua. Almacenar a 4°C.	SPE Strata X-AW. Elución: hidróxido de amonio en metanol.	Columna Thermo Hypersil Gold C18. Fase móvil: Formiato de amonio en acetonitrilo.	ESI (-)	Orbitrap-MS	No dirigido	PFOA: 0,27. PFOS: 0,15. PFECHS: 7,1.	PFCA C4-C12, C14. PFSA C2-C8, C14. Σ 54 PFAS. PFOA. PFOS. PFECHS.	Munoz et al 2023.
Agua superficial, subterránea y potable	Recogida en botella HDPE. Almacenar a 4°C.	SPE Strata X-AW. Elución: metanol, hidróxido de amonio en metanol e hidróxido de amonio en diclorometano/propanol.	Columna Acquity® BEH C18.	ESI (-)	QTRAP	Dirigido	PFOS: 4. FTAB 6:2: 140. FTSA 6:2: 28.	PFOS. FTSA 6:2. FTAB 6:2.	Boiteux et al 2016.

Matriz	Muestreo	Método de extracción	Análisis mediante HPLC	Fuente de ionización	Detección	Tipo de análisis	Concentraciones (ng/L)	PFAS identificados	Referencia
			Fase móvil: Acetato de amonio en agua y metanol.						
	Recogida en botella PP o de vidrio ambas lavadas previamente con metanol y agua. Almacenar a 4°C.	SPE (Oasis WAX y Strata X-AW).	Columna Kinetex C18. Fase móvil: Formiato de amonio en metanol.	ESI (-)	QqQ	Dirigido	ΣPFCA: 4500-17000.	PFCA C2-C8.	Janda et al 2018.
Agua de río y potable cerca de industria de FP	Recogida en botellas HDPE. Almacenar a 4°C.	SPE WAX Elución: hidróxido de amonio en acetonitrilo. Filtración.	Columna Acquity UPLC BEH C18. Fase móvil: acetato de amonio en agua y acetonitrilo.	ESI (-)	QqQ	Dirigido	Gen X: 1.7-812.	Gen X.	Gebbink et al 2017.
Agua superficial	Recogida en recipiente de vidrio, lavado previamente con metanol. Almacenar a -18 grados.	SPE (Enviro-Clean, Oasis Wax, Presep PFC-II y Strata X-AW) Elución: hidróxido de amonio en metil terc-butil éter/metanol.	Columna Kinetex C18. Fase móvil: formiato de amonio en acetonitrilo, metanol y acetonitrilo.	ESI (-)	Orbitrap-MS	No dirigido	PFOA: 843.	PFOA.	Zacs and Bartkevics, 2016.

ΣPFAS: Conjunto de PFAS de diferentes familias.

En cuanto a la conservación de la muestra, predominantemente se mantienen en refrigeración a 4°C (Wei *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022; Munoz *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2022; Boiteux *et al.*, 2017; Gebbink *et al.*, 2017; Janda *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2016), utilizando congelación a -20°C (Zacs and Bartkevics, 2016) o -50°C (Liu *et al.*, 2015) en otros estudios. El tratamiento de muestra previo a la extracción incluye en varios casos una etapa de filtración. Algunos investigadores utilizan filtros de microfibras de vidrio (Wei *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2013; Strynar *et al.*, 2015), mientras que otros realizan la filtración con filtros de Nylon (Takazawa *et al.*, 2009).

6.2 Extracción y purificación de muestras

El método de extracción empleado por los autores recogidos en la Tabla 6.1 es SPE. Esta elección se debe a que actualmente no hay mucho conocimiento ni protocolos estandarizados para la preparación de muestra y la extracción de las PFAS en diferentes matrices (Hajeb *et al.*, 2022).

La diferencia entre los diversos artículos está en el empleo de diferentes absorbentes como fase estacionaria de los cartuchos. Los absorbentes más empleados por los autores son los de intercambio de aniones débiles (WAX) (Wei *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022; Boiteux *et al.*, 2017; Strynar *et al.*, 2015; Gebbink *et al.*, 2017; Zacs and Bartkevics, 2016; Janda *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2016; Munoz *et al.*, 2023) y los de fase reversa polimérica como los HLB (Wang *et al.*, 2013; Gallen *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2015; Takazawa *et al.*, 2009; Wille *et al.*, 2010) y Strata X (Gallen *et al.*, 2018). HLB favorece la extracción de PFAA, PFAS neutros, además de poder obtener analitos de carácter ácido, neutro y básico con un pH neutro gracias a las propiedades hidrofílicas y lipofílicas que presenta. WAX, sin embargo, se emplea para retener y extraer PFAS que presentan carga negativa en condiciones de pH ambiental, utilizada mayoritariamente para la obtención de PFOS en matrices acuosas (Wille *et al.*, 2010).

El empleo de diferentes adsorbentes se debe a la diferencia de polaridad que presentan las PFAS. Los PFCA y PFSA iónicos, por ejemplo, necesitan un medio mayormente polar para poder retener los compuestos de cadena corta solubles

en agua, empleando el cartucho WAX para ello (Gebbink *et al.*, 2017; Zacs and Bartkevics, 2016; Janda *et al.*, 2018). Para la retención de PFAS de cadena larga se necesitan cartuchos menos polares o usar fases mixtas hidrofóbicas/polares, empleando para ello los cartuchos HLB (Gallen *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2015).

Cuando se emplean cartuchos de intercambio aniónico, el pH se vuelve un parámetro importante en las interacciones que se dan durante el intercambio aniónico, ya que contra más se aumente el pH, menor es la capacidad de intercambio que presenta. El pH afecta de manera diferente según las familias de PFAS que se encuentren presentes. En muestras de agua superficiales, residuales y subterráneas, se emplean cartuchos WAX variando el pH de 3 a 6 para analizar subfamilias de PFCA. Los estudios han determinado que para PFCA de cadena larga, las mejores recuperaciones se obtienen con pH bajo en torno a 3,8 - 4, puesto que se obtienen los compuestos en forma aniónica al tener un pKa inferior a 3 (Wille *et al.*, 2010; Janda *et al.*, 2018). Para PFCA de cadena corta, el pH empleado para obtener mejores recuperaciones en muestras de agua potable y subterránea es de 4 a 7, puesto que las condiciones ácidas favorecen su retención gracias a las interacciones electroestáticas y, además, permiten reducir las interferencias generadas por otras PFAS o aniones naturales que se encuentren en la muestra (Munoz *et al.*, 2023; Wei *et al.*, 2018; Gebbink *et al.*, 2017; Boiteux *et al.*, 2016). Otras familias de PFAS como son PFAA de cadena larga o perfluorooctanosulfonamida (FOSA), sin embargo, obtienen recuperaciones menores a medida que se reduce el pH ya que, FOSA, por ejemplo, se recuperó al 80% con pH 8 y con pH 4 se recuperó un 40%. Esto se debe a que, al reducir el pH por debajo de 6 en estas muestras, se obtienen compuestos en su forma neutra, provocando así una mayor hidrofobicidad y volatilidad, haciendo que no se puedan retener dichos compuestos (Munoz *et al.*, 2023).

En el empleo de HLB se ha demostrado que el pH no influye en la recuperación de PFAS, y que, además, se obtienen mayores recuperaciones de muestra en estado neutro con un pH en condiciones ambientales (Wille *et al.*, 2010; Munoz *et al.*, 2023; Gallen *et al.*, 2018).

Para la etapa de elución, el solvente empleado en la mayoría de artículos es metanol (Wang *et al.*, 2013; Strynar *et al.*, 2015; Takazawa *et al.*, 2009; Wille *et al.*, 2010; Zacs and Bartkevics, 2016). Además del metanol, los autores emplean a la vez otras mezclas como hidróxido de amonio en metanol (Liu *et al.*, 2022; Gebbink *et al.*, 2017). Gallen y colaboradores, por ejemplo, utiliza acetona y diclorometano (Gallen *et al.*, 2018). Otros estudios, a parte del metanol y del hidróxido de amonio en metanol, emplean también hidróxido de amonio en una mezcla de isopropanol/diclorometano (Boiteux *et al.*, 2017) e hidróxido de amonio en diclorometano/propanol (Boiteux *et al.*, 2016).

6.3 Métodos de separación y determinación

La realización de los análisis se ha llevado a cabo usando el acoplamiento entre HPLC y MS en tándem, usando la fuente de ionización ESI en modo de ionización negativo para todos los casos evaluados.

Todos los estudios recogidos en la Tabla 6.1 utilizan como técnica de separación HPLC en fase reversa, empleando una fase estacionaria apolar y una fase móvil polar. La fase estacionaria para el análisis de PFAS se basa en columnas C18 (Liu *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2015; Wille *et al.*, 2010; Zacs and Bartkevics, 2016; Wei *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2013; Gallen *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2017; Boiteux *et al.*, 2016; Gebbink *et al.*, 2017; Takazawa *et al.*, 2009; Munoz *et al.*, 2023; Janda *et al.*, 2018), exceptuando un estudio que emplea una columna C8 (Strynar *et al.*, 2015), rellenas en ambos casos de sílice. La columna C18, al estar formada por una cadena más larga, da lugar a una mayor retención, aumentando así el tiempo de retención y permitiendo el paso de una mayor cantidad de muestra. La fase móvil empleada para la elución se caracteriza por ser de elevada polaridad, destacando así el uso por parte de los investigadores del metanol (Wille *et al.*, 2010; Zacs and Bartkevics, 2016; Wei *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2013; Gallen *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2017; Boiteux *et al.*, 2016; Janda *et al.*, 2018; Strynar *et al.*, 2015) y acetonitrilo (Liu *et al.*, 2022; Zacs and Bartkevics, 2016; Gebbink *et al.*, 2017; Takazawa *et al.*, 2009; Munoz *et al.*, 2023). Además, a la fase móvil se le añade comúnmente una sal, como acetato de amonio (Wille *et al.*, 2010; Zacs and Bartkevics, 2016; Wei *et al.*, 2018; Wang

et al., 2013; Gallen *et al.*, 2018; Boiteux *et al.*, 2017; Boiteux *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2022; Gebbink *et al.*, 2017; Takazawa *et al.*, 2009) o formiato de amonio (Janda *et al.*, 2018; Strynar *et al.*, 2015; Munoz *et al.*, 2023), que actúa como tampón para favorecer la separación de las fases, disminuir la solubilidad de los compuestos y permitir un amplio rango de pH de entre 2 a 8 y favorecer la ionización de los analitos en la fuente. Hay que tener en consideración que el pH de la fase móvil no supere los 7,5 porque se puede dar la hidrólisis del siloxano, provocando que se pueda destruir o modificar el relleno de la fase estacionaria (Skoog *et al.*, 1997).

Como fuente de ionización, todos los trabajos científicos evaluados emplean ESI en modo negativo puesto que, a la hora de producir la ionización de los analitos de interés, es la que mayor sensibilidad instrumental presenta en matrices acuosas (Zacs and Bartkevics, 2016). Como la ESI genera la ionización de la muestra a partir de la disolución, se emplean disolventes con viscosidad y tensión superficial baja, y elevada conductividad, como son el agua, metanol o acetonitrilo. En este caso, como la ESI se utiliza en modo negativo, se usa formiato o acetato de amonio, los cuales favorecen la detección de compuestos aniónicos (Skoog *et al.*, 1997).

6.3.1 *Análisis dirigido*

En la tabla 6.1 se recogen diferentes estudios basados en análisis dirigido, empleando para ello analizadores QqQ. Este tipo de analizador se utiliza para el análisis de 14 PFAS en aguas subterráneas de lugares no industriales (Wei *et al.*, 2018), entre las que destacan 9 PFCA, 3 PFSA y dos derivados de PFSA que son el sulfonato de éter polifluorado clorado (F-53) y el sulfonato de fluorotelómero 6:2 (FTS 6:2). Las concentraciones a las que se encuentran son de PFCA 0,26-143 ng/L, de PFSA 0,001-290 ng/L, de F-53 0,17-1,83 ng/L y de FTS 6:2 0,32-8,54 ng/L, llegando a la conclusión de que las PFAS se transportan a largas distancias y que estas aguas se han podido contaminar por aguas residuales domésticas, por la atmósfera o por industrias que se encuentren cerca de esos lugares. A la hora de evaluar el análisis de riesgos, se ha visto que la cantidad de PFCA y PFSA presente en las aguas subterráneas no industrializadas no suponen un riesgo para la salud a largo plazo de las personas

que residen en dichos lugares y que se expondrían a ellas únicamente a través del agua potable.

En el estudio de matrices de aguas residuales, se encontró por primera vez el F-53 a una concentración de 43-112 ng/L debido a que procedía de una industria de cromado, causando también que las aguas superficiales que comunicaban con las residuales tuvieran una concentración de 10-50 ng/L de este compuesto (Wang *et al.*, 2013). En otras muestras de aguas residuales (Gallen *et al.*, 2018), sin embargo, se identificaron PFOS y PFOA con concentraciones de 25 y 22 ng/L respectivamente, y PFHpA y PFHxS con concentraciones de 13 y 200 ng/L. Al realizar un estudio en los efluentes, se vio que la concentración de PFOS y PFHxS aumentaban 30 veces más por la localización de una industria local. Con respecto a los niveles de seguridad ecológicos en aguas establecidos en Australia, Canadá, Estados Unidos y la Unión Europea para PFOA ($19000-1,824 \times 10^6$ ng/L) y PFOS (0,23-6000 ng/L) en el año 2016, 12 de las 14 muestras de efluentes que contenían PFOS superaron el límite establecido.

Con respecto al estudio de las matrices de aguas de río, se detectaron decenas de PFAS, entre las cuales destacaban el PFOA con una concentración de 4 ng/L, y dos FT, el 6:2 FTSA y 6:2 FTAB con concentraciones de 22-195 ng/L y 248-968 ng/L respectivamente. Estas PFAS provenían de las descargas de una industria de fluoroquímicos, y se descubrió que las PFAS se desplazaban a gran distancia ya que, a 62 km del punto de descarga, se analizó 6:2 FTAB con la misma concentración que en la zona de descarga en el río (Boiteux *et al.*, 2017). El mismo equipo (Boiteux *et al.*, 2016), un año antes, identificó las mismas familias de PFAS con una concentración para PFOS de 4 ng/L, 140 ng/L para 6:2 FTAB y 28 ng/L para 6:2 FTSA en otro río diferente pero que también conectaba el afluente con una industria de fluoroquímicos. En otro punto de muestreo, se detectó PFOS con concentraciones de 0,5-58 ng/L, cuya aparición en el río parece ser que se debe a las descargas de aguas residuales municipales, puesto que se ha demostrado que es una de las vías para los tensioactivos de perfluoroalquilo. En este caso, la USEPA ha realizado un análisis toxicológico en las aguas de río llegando a la conclusión de que las concentraciones de PFOS no afectan gravemente a la biota ya que el análisis a peces, crustáceos y algas dio concentraciones bajas (Takazawa *et al.*, 2009). La

detección del Gen X con concentraciones de 1,7-812 ng/L en muestras de río puede deberse a los cambios de flujo del agua producidos por la marea que conectan con el río (Gebbinck *et al.*, 2017).

Para muestras de agua potable, en un estudio la concentración de PFAS no superó los 60 ng/L (Boiteux *et al.*, 2017), y en otro, las concentraciones totales de PFCA C4-C10 y PFSA C4, C6-C8 fueron de 0,56-47 ng/L. (Gebbinck *et al.*, 2017). En ambos casos, las concentraciones no superan el valor máximo permitido para PFAS en agua potable en la Unión Europea, según el Reglamento (UE) 2022/1421, que es de 100 ng/L para la sumatoria de las 20 PFAS más tóxicas y de 500 ng/L para PFAS totales (DOUE-L-2020-81947).

Con el análisis dirigido lo que se pretende es controlar las PFAS conocidas en diversas matrices acuosas puesto que, como ya se ha visto, son sustancias tóxicas que pueden afectar a la salud cuando se encuentran en concentraciones más elevadas de lo permitido. Además, con este análisis, se pretende determinar la fuente de origen de las PFAS en diferentes medios, ver cómo afecta a la concentración cuando se alejan de la fuente de descarga, e intentar estudiar cómo afectan toxicológicamente estas sustancias a la biota en medios acuosos. Hay que destacar que todos los estudios se centran en los niveles de concentración a los que se encuentran los PFOA y FPOS, puesto que son dos de las PFAS más tóxicas para la salud humana.

6.3.2. *Análisis no dirigido/compuestos sospechosos*

La aparición de compuestos organofluorados no identificados en el medio ambiente, como el agua o la biota entre otros, ha impulsado el desarrollo de los métodos no dirigidos. Estos métodos son capaces de detectar de manera temprana PFAS desconocidas sin la necesidad de tener estándares específicos, permitiendo que estas sustancias se descubran antes de su distribución a gran escala, facilitando los controles de emisión y reduciendo la contaminación generalizada (Liu *et al.*, 2015).

Para la detección de PFAS no conocidos se emplea HRMS ya que es capaz de confirmar las fórmulas moleculares con una precisión elevada a través de las masas de los compuestos que aparecen, los isótopos estables que presentan y los fragmentos MS/MS de elevada resolución que se obtienen (Liu *et al.*, 2015).

Los analizadores más empleados en HRMS para la detección de PFAS no conocidos son Orbitrap y el analizador híbrido de tiempo de vuelo cuadrupolar (QToF).

El equipo de Liu (Liu *et al.*, 2015), analizó muestras procedentes de matrices de agua residuales cercanas a una industria de fluoroquímicos mediante Orbitrap, lo que dio lugar a la detección de 36 PFAS previamente desconocidos y nuevos en el medio ambiente, de unos 2000 compuestos aproximadamente que se encontraban en dicha matriz. Para su identificación se procedió a hacer dos inyecciones de la matriz a estudiar. Con la primera inyección se obtuvo los tiempos de retención de las PFAS desconocidas a través del escaneo de fragmentación, y, posteriormente, se elucidaron las fórmulas empíricas a partir de las masas exactas de sus fragmentos. La segunda inyección se utilizó para comparar los datos obtenidos con los espectros MS/MS, permitiendo la confirmación de las fórmulas empíricas y dando lugar a su caracterización estructural. En estas aguas residuales identificaron PFCA de cadenas C6 a C11 debido a que los tiempos de retención coincidían con los estándares específicos y presentaban los iones característicos de la fragmentación (C_nF_{2n+1}). Las concentraciones a las que se encontraron fueron de 0,05 a 90 ng/L, identificando también PFOS a concentraciones muy pequeñas, demostrando así que en la industria de fluoroquímicos empleaban PFCA, pero no PFSA. El resto de nuevos PFAS identificados se encontraban a concentraciones menores de 20 ng/L. Otro estudio basado en aguas residuales y superficiales (Zacs and Bartkevics, 2016) empleó también Orbitrap para el descubrimiento de PFAS desconocidos en la región del Báltico, utilizando en esta ocasión un análisis por escaneo completo o *full scan*. Se descubrieron nuevos PFAS nunca antes identificados en esa región, siendo la concentración de PFOA 10 veces más elevada en las aguas residuales que en las aguas superficiales, la cual presentó una concentración de 843 ng/L.

Con respecto al uso del analizador QToF, el equipo de Liu (Liu *et al.*, 2022) identificó 96 clases de PFAS medidas en muestras de agua subterránea cercanas a vertederos, superando las 35 PFAS que se cuantificaron usando análisis dirigido. Al analizar estas muestras se vio que estaban contaminadas por las filtraciones procedentes de los vertederos, puesto que, los lixiviados (sustancias líquidas residuales que se localizan en los vertederos) analizados

presentaban los mismos contaminantes que las aguas subterráneas del entorno. Las concentraciones de PFCA fueron de 1410-8860 ng/L y de PFSA fueron 988-63600 ng/L, destacando que dentro de estas familias se identificaron nuevas PFAS con cadenas de 10, nunca antes identificadas en otras muestras. Otros dos estudios se centran en investigar aguas de ríos y aguas de mar a partir de la contaminación de aguas superficiales. En agua de mar (Wille *et al.*, 2010) se han detectado 4 PFAS nuevos con diferentes concentraciones que llegan hasta los 38,9 ng/L. Se ha visto también que las concentraciones disminuyen a medida que se alejan de la costa, obteniendo PFOS inferiores a 5 ng/L, y las concentraciones medias obtenidas de PFOS y PFOA no suponen un riesgo elevado para los organismos acuáticos. En aguas de río (Strynar *et al.*, 2015) se han detectado 12 nuevas PFCA y sulfónicos de perfluoroalquil éter, procedentes de las descargas de efluentes de una fábrica de fluoroquímicos, con concentraciones de 21 ng/L de PFOA. Estos compuestos se han identificado a través de las masas precisas, los tiempos de retención característicos y las áreas de pico, comparando estos datos con otros picos ya identificados en las muestras de río e introduciéndolo en un software que permite identificar compuestos. El último estudio se ha centrado en aguas del grifo (Munoz *et al.*, 2023), identificando 54 PFAS, de las cuales el tioéter de fluorotelómero 6:2 amino sulfonato y tres derivados de él, fueron identificados en esta matriz por primera vez. Además, se detectaron 10 PFCA y 8 PFSA de diferentes longitudes de cadena en ambos casos. La concentración media de PFOA es de 0,27 ng/L y la de PFOS es de 0,15 ng/L. Ambas concentraciones superan los límites establecidos por la USEPA para el agua potable que serían de 0,004 ng/L para PFOA y 0,02 ng/L para PFOS (USEPA, 2022). También se detectaron sulfonato de ciclohexano de perfluoroetilo (PFECHS), por las formas cromatográficas de los picos y por comparaciones con los isómeros del compuesto con los MS/MS registrados, y sulfonamidas de perfluoroalquilo de cadena corta, cuyas concentraciones son de 7,1 ng/L y de 0,07 a 0,62 ng/L respectivamente.

7. CONCLUSIONES

Las PFAS son sustancias que actualmente siguen siendo un motivo de investigación puesto que no se tiene la suficiente información acerca de cómo se distribuyen, cómo se transforman o cómo pueden afectar a la salud tanto ambiental como humana. A día de hoy, no hay una metodología estandarizada para el análisis y determinación de PFAS en muestras acuosas. La combinación del uso de métodos analíticos clásicos como la SPE y los grandes avances en la LC-HRMS han contribuido de manera positiva en la identificación de muchos PFAS. Sin embargo, la existencia de un gran número de subproductos derivados aún desconocidos, la complejidad intrínseca de las matrices ambientales y la falta de estándares analíticos hace imposible la aplicación de una metodología única para su determinación.

La SPE se ha empleado para la extracción de PFAS en todos los estudios puesto que se obtienen mejores rendimientos de extracción. Comúnmente se utilizan cartuchos HLB para obtener PFAS neutros y PFAA, y cartuchos WAX para retener y extraer PFAS aniónicos. Para el análisis cromatográfico, se emplea una columna C18 de fase reversa para la separación, empleando una fase móvil polar, como metanol o acetonitrilo, y una sal, como formiato de amonio o acetato de amonio, que permiten la separación de las PFAS de interés del resto de componentes al ser sustancias polares.

La aplicación del análisis dirigido, dada su selectividad y la posibilidad de confirmación con el tiempo de retención del analito de interés, ha permitido determinar compuestos prohibidos desde hace más de una década como el PFOS o el PFOA en muestras acuosas en la actualidad, cuyas concentraciones generales han sido de 0,5-58 ng/L y 4-843 ng/L respectivamente.

Con los avances de la HRMS, se han podido identificar tentativamente y confirmar nuevas PFAS desconocidas en muestras ambientales. Estos avances han logrado que se puedan identificar las PFAS en la fuente de origen de la matriz antes de que se empiecen a distribuir por el medio. Además, la combinación entre el análisis dirigido y no dirigido es una buena estrategia

debido a que al análisis no dirigido puede complementar la información sobre aquellos compuestos que no han sido detectados por el análisis dirigido.

De cara al futuro, aunque con el análisis no dirigido se estén consiguiendo grandes avances en el descubrimiento de PFAS, se sigue necesitando más investigación para lograr identificar las sustancias lo más temprano posible con la finalidad de evitar su distribución y los posibles daños que pueda generar.

8. REFERENCIAS

- Ahrens, L. (2011). Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: a review of their occurrence and fate. *Journal of Environmental Monitoring: JEM*, 13(1), 20–31. <https://doi.org/10.1039/c0em00373e>
- Ateia, M., Maroli, A., Tharayil, N., & Karanfil, T. (2019). The overlooked short- and ultrashort-chain poly- and perfluorinated substances: A review. *Chemosphere*, 220, 866–882. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.186>
- Boiteux, V., Bach, C., Sagres, V., Hemard, J., Colin, A., Rosin, C., Munoz, J.-F., & Dauchy, X. (2016). Analysis of 29 per- and polyfluorinated compounds in water, sediment, soil and sludge by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 96(8), 705–728. <https://doi.org/10.1080/03067319.2016.1196683>
- Boiteux, V., Dauchy, X., Bach, C., Colin, A., Hemard, J., Sagres, V., Rosin, C., & Munoz, J.-F. (2017). Concentrations and patterns of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in a river and three drinking water treatment plants near and far from a major production source. *The Science of the Total Environment*, 583, 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.079>
- Brendel, S., Fetter, É., Staude, C., Vierke, L., & Biegel-Engler, A. (2018). Short-chain perfluoroalkyl acids: environmental concerns and a regulatory strategy under REACH. *Environmental Sciences Europe*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0134-4>
- Brennan, N. M., Evans, A. T., Fritz, M. K., Peak, S. A., & von Holst, H. E. (2021). Trends in the regulation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS):

A scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(20), 10900. <https://doi.org/10.3390/ijerph182010900>

- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., de Voogt, P., Jensen, A. A., Kannan, K., Mabury, S. A., & van Leeuwen, S. P. J. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513–541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>
- Cela, R., Lorenzo, R.A., Casais, M.C. (2003): “Cromatografía líquida”, en Síntesis, (eds): Técnicas de separación en química analítica, pp. 356-380.
- Cordner, A., De La Rosa, V. Y., Schaider, L. A., Rudel, R. A., Richter, L., & Brown, P. (2019). Guideline levels for PFOA and PFOS in drinking water: the role of scientific uncertainty, risk assessment decisions, and social factors. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 29(2), 157–171. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0099-9>
- Crawford, N. M., Fenton, S. E., Strynar, M., Hines, E. P., Pritchard, D. A., & Steiner, A. Z. (2017). Effects of perfluorinated chemicals on thyroid function, markers of ovarian reserve, and natural fertility. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 69, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.01.006>
- Dasu, K., Xia, X., Siriwardena, D., Klupinski, T. P., & Seay, B. (2022). Concentration profiles of per- and polyfluoroalkyl substances in major sources to the environment. *Journal of Environmental Management*, 301(113879), 113879. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.11387>
- Ehrlich, V., Bil, W., Vandebriel, R., Granum, B., Luijten, M., Lindeman, B., Grandjean, P., Kaiser, A.-M., Hauzenberger, I., Hartmann, C., Gundacker, C., & Uhl, M. (2023). Consideration of pathways for immunotoxicity of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 22(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12940-022-00958-5>
- Ettre, L. S., & Sakodynskii, K. I. (1993). M. S. Tswett and the discovery of chromatography I: Early work (1899–1903). *Chromatographia*, 35(3–4), 223–231. <https://doi.org/10.1007/bf02269707>
- Fenn, J. B., Mann, M., Meng, C. K., Wong, S. F., & Whitehouse, C. M. (1989). Electrospray ionization for mass spectrometry of large

biomolecules. *Science* (New York, N.Y.), 246(4926), 64–71.
<https://doi.org/10.1126/science.2675315>

- Gagliano, E., Sgroi, M., Falciglia, P. P., Vagliasindi, F. G. A., & Roccaro, P. (2020). Removal of poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) from water by adsorption: Role of PFAS chain length, effect of organic matter and challenges in adsorbent regeneration. *Water Research*, 171(115381), 115381.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115381>
- Gallen, C., Eaglesham, G., Drage, D., Nguyen, T. H., & Mueller, J. F. (2018). A mass estimate of perfluoroalkyl substance (PFAS) release from Australian wastewater treatment plants. *Chemosphere*, 208, 975–983.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.024>
- Gebbink, W. A., van Asseldonk, L., & van Leeuwen, S. P. J. (2017). Presence of emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in river and drinking water near a fluorochemical production plant in the Netherlands. *Environmental Science & Technology*, 51(19), 11057–11065.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02488>
- Gross, J.H., (2004): “High-Performance Liquid Chromatography, en Springer (eds): Mass Spectrometry, pp.880-884.
- Hajeb, P., Zhu, L., Bossi, R., & Vorkamp, K. (2022). Sample preparation techniques for suspect and non-target screening of emerging contaminants. *Chemosphere*, 287(Pt 3), 132306.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132306>
- Henry, B. J., Carlin, J. P., Hammerschmidt, J. A., Buck, R. C., Buxton, L. W., Fiedler, H., Seed, J., & Hernandez, O. (2018). A critical review of the application of polymer of low concern and regulatory criteria to fluoropolymers. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 14(3), 316–334. <https://doi.org/10.1002/ieam.4035>
- Hoffman, E., Stroobant, V. (2007): “Electrospray”, en Wiley, (eds): Mass Spectrometry, pp.43-54.
- Janda, J., Nödler, K., Brauch, H.-J., Zwiener, C., & Lange, F. T. (2019). Robust trace analysis of polar (C2-C8) perfluorinated carboxylic acids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: method development and application to surface water, groundwater and drinking water. *Environmental*

Science and Pollution Research International, 26(8), 7326–7336.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-1731-x>

- Kurwadkar, S., Dane, J., Kanel, S. R., Nadagouda, M. N., Cawdrey, R. W., Ambade, B., Struckhoff, G. C., & Wilkin, R. (2022). Per- and polyfluoroalkyl substances in water and wastewater: A critical review of their global occurrence and distribution. *The Science of the Total Environment*, 809(151003), 151003. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151003>
- Li, F., Duan, J., Tian, S., Ji, H., Zhu, Y., Wei, Z., & Zhao, D. (2020). Short-chain per- and polyfluoroalkyl substances in aquatic systems: Occurrence, impacts and treatment. *Chemical Engineering Journal (Lausanne, Switzerland: 1996)*, 380(122506), 122506. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122506>
- Lindstrom, A. B., Strynar, M. J., & Libelo, E. L. (2011). Polyfluorinated compounds: past, present, and future. *Environmental Science & Technology*, 45(19), 7954–7961. <https://doi.org/10.1021/es2011622>
- Liu, T., Hu, L.-X., Han, Y., Dong, L.-L., Wang, Y.-Q., Zhao, J.-H., Liu, Y.-S., Zhao, J.-L., & Ying, G.-G. (2022). Non-target and target screening of per- and polyfluoroalkyl substances in landfill leachate and impact on groundwater in Guangzhou, China. *The Science of the Total Environment*, 844(157021), 157021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157021>
- Liu, Y., Pereira, A. D. S., & Martin, J. W. (2015). Discovery of C5-C17 poly- and perfluoroalkyl substances in water by in-line SPE-HPLC-Orbitrap with in-source fragmentation flagging. *Analytical Chemistry*, 87(8), 4260–4268. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b00039>
- Lohmann, R., & Letcher, R. J. (2023). The universe of fluorinated polymers and polymeric substances and potential environmental impacts and concerns. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 41(100795), 100795. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2023.100795>
- Nakayama, S. F., Yoshikane, M., Onoda, Y., Nishihama, Y., Iwai-Shimada, M., Takagi, M., Kobayashi, Y., & Isobe, T. (2019). Worldwide trends in tracing poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) in the environment. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 121(115410), 115410. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.011>

- Phong Vo, H. N., Ngo, H. H., Guo, W., Hong Nguyen, T. M., Li, J., Liang, H., Deng, L., Chen, Z., & Hang Nguyen, T. A. (2020). Poly-and perfluoroalkyl substances in water and wastewater: A comprehensive review from sources to remediation. *Journal of Water Process Engineering*, 36(101393), 101393. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101393>
- Post, G. B., Cohn, P. D., & Cooper, K. R. (2012). Perfluorooctanoic acid (PFOA), an emerging drinking water contaminant: a critical review of recent literature. *Environmental Research*, 116, 93–117. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.03.007>
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J. (1997): “Cromatografía Líquida de Alta Resolución”, en Reverte, (eds): *Fundamentos de Química Analítica*, pp.709-735.
- Snyder, L.R., Kirkland J.J., Dolan, J.W. (2010): “Solid-Phase Extraction”, en Wiley, (eds): *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, pp.771-772.
- Steinmann, D., & Ganzera, M. (2011). Recent advances on HPLC/MS in medicinal plant analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(4), 744–757. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.11.015>
- Strynar, M., Dagnino, S., McMahan, R., Liang, S., Lindstrom, A., Andersen, E., McMillan, L., Thurman, M., Ferrer, I., & Ball, C. (2015). Identification of novel perfluoroalkyl ether carboxylic acids (PFECAs) and sulfonic acids (PFESAs) in natural waters using accurate mass time-of-flight mass spectrometry (TOFMS). *Environmental Science & Technology*, 49(19), 11622–11630. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01215>
- Sunderland, E. M., Hu, X. C., Dassuncao, C., Tokranov, A. K., Wagner, C. C., & Allen, J. G. (2019). A review of the pathways of human exposure to poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) and present understanding of health effects. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 29(2), 131–147. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0094-1>
- Takazawa, Y., Nishino, T., Sasaki, Y., Yamashita, H., Suzuki, N., Tanabe, K., & Shibata, Y. (2009). Occurrence and distribution of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in the rivers of Tokyo. *Water, Air, and Soil Pollution*, 202(1–4), 57–67. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9958-7>

- Taves, D. R. (1968). Evidence that there are two forms of fluoride in human serum. *Nature*, 217(5133), 1050–1051. <https://doi.org/10.1038/2171050b0>
- Thurman, E.M., Mills, M.S. (1998): “Extracción líquido-líquido”, en J.D. Winefordner, (ed): Extracción en fase sólida, pp.1-22.
- USEPA. 2009a. United States Environmental Protection Agency. Existing Chemical Action Plans. Office of Pollution Prevention and Toxics. <http://www.epa.gov/opptintr/existingchemicals/pubs/ecactionpln.html#posted>
- Wang, S., Huang, J., Yang, Y., Hui, Y., Ge, Y., Larssen, T., Yu, G., Deng, S., Wang, B., & Harman, C. (2013). First report of a Chinese PFOS alternative overlooked for 30 years: its toxicity, persistence, and presence in the environment. *Environmental Science & Technology*, 47(18), 10163–10170. <https://doi.org/10.1021/es401525n>
- Wei, C., Wang, Q., Song, X., Chen, X., Fan, R., Ding, D., & Liu, Y. (2018). Distribution, source identification and health risk assessment of PFASs and two PFOS alternatives in groundwater from non-industrial areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 152, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.039>
- Wille, K., Vanden Bussche, J., Noppe, H., De Wulf, E., Van Caeter, P., Janssen, C. R., De Brabander, H. F., & Vanhaecke, L. (2010). A validated analytical method for the determination of perfluorinated compounds in surface-, sea- and wastewater using liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(43), 6616–6622. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.03.054>
- Winchell, L. J., Wells, M. J. M., Ross, J. J., Fonoll, X., Norton, J. W., Jr, Kuplicki, S., Khan, M., & Bell, K. Y. (2021). Analyses of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) through the urban water cycle: Toward achieving an integrated analytical workflow across aqueous, solid, and gaseous matrices in water and wastewater treatment. *The Science of the Total Environment*, 774(145257), 145257. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145257>
- Xiao, F. (2017). Emerging poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: A review of current literature. *Water Research*, 124, 482–495. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.024>

- Zacs, D., & Bartkevics, V. (2016). Trace determination of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in environmental samples (surface water, wastewater, biota, sediments, and sewage sludge) using liquid chromatography - Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1473, 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.060>

9. ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
PFAS	Sustancias per y polifluoroalquiladas
AFFF	Espumas formadoras de película acuosa
EDAR	Tratamientos de agua residuales
PTFE	Politetrafluoroetileno
PFOS	Sulfonato de perfluorooctano
PFOA	Ácido perfluorooctanoico
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad alimentaria
PFSA	Sulfonato de perfluoroalcano
PFCA	Ácido perfluoroalquilcarboxílico
USEPA	Agencia de Protección Ambiental en Estados Unidos
PFAA	Ácidos perfluoroalquilo
FP	Fluoropolímeros
PFPE	Perfluoropoliéteres poliméricos
ADONA	Amonio de dodecafluoro-3H-4,8-dioxanonato
EFE-NH ₄	Ácido etoxiacético
PASF	Fluoruro de sulfonilo de perfluoroalcano
FT	Fluorotelómeros
NK	Natural Killer
COP	Contaminantes orgánicos persistentes
PNUMA	Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente
PFNA	Ácido perfluorononanoico
PFHxS	Ácido perfluorohexanosulfónico
SNUR	Regla de Nuevo Uso Significativo
UCMR 3	Regla 3 de monitoreo de contaminantes no regulados
REACH	Reglamento Europeo de Productos Químicos
SVHC	Sustancias extremadamente preocupantes
SPE	Extracción en fase sólida

Abreviatura	Significado
LLE	Extracción líquido-líquido
LC	Cromatografía de líquidos
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
ESI	Fuente de ionización electrospray
MS	Espectrometría de masas
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
LRMS	Espectrometría de masas de baja resolución
TOF	Analizador de tiempo de vuelo
FT-ICR	Analizador de Resonancia Ciclotrónica de iones con Transformada de Fourier
FT	Transformada de Fourier
PP	Polipropileno
HDPE	Polipropileno de alta densidad
FOSA	Perfluorooctanosulfonamida
PFECHS	Sulfonato de ciclohexano de perfluoroetilo