



Informe Técnico

Desarrollo y validación de una metodología analítica vía cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas para cuantificar ibuprofeno en reacciones de degradación fotocatalítica en medio acuoso. Agua Mili-Q y de la llave

M. en C. Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela

02 de febrero del 2021

Desarrollo

Institución Patrocinadora. DGAPA, UNAM
Financiamiento. Proyecto PAPIIT IA103818

Desarrollo y validación de una metodología analítica vía cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas para la determinación y evaluación de la actividad degradativa de ibuprofeno en agua Mili-Q y de la llave mediante el uso de fotocatalizadores

Autor: Mario Ricardo Israel Rodríguez Varela

Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología, Departamento de Micro y Nanotecnologías, Catálisis y Fenómenos de Superficie

Resumen

En el informe se presenta el desarrollo y la validación de una metodología analítica basada en cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) capaz de cuantificar ibuprofeno en agua Mili-Q y agua de la llave, en concentraciones comprendidas dentro del intervalo de trabajo $0.05\text{-}50\text{ mgL}^{-1}$. El intervalo de trabajo mostró una buena linealidad presentando coeficientes de correlación $r > 0.999$. Los límites de detección (LDD) para ambas matrices fueron de 0.03 mgL^{-1} , mientras que los límites de cuantificación (LDC) para agua Mili-Q y de la llave fueron 0.05 y 0.04 mgL^{-1} , respectivamente. La precisión y exactitud del método fueron evaluadas a 3 niveles de concentración en ambos tipos de agua; mostrando magnitudes comprendidas entre los $0.2\text{-}2.2\text{ \%CV}$ y $95.6\text{-}104.3\text{ \%R}$, respectivamente. Los resultados de la validación denotan que el método desarrollado es aceptable y eficiente para cuantificar ibuprofeno de acuerdo con guías de validación nacionales e internacionales. El método fue aplicado para cuantificar la concentración de ibuprofeno en agua Mili-Q y de la llave a lo largo de 5 horas en una reacción de degradación fotocatalítica.

Índice

Nomenclatura

Introducción

1. Metodología analítica para la cuantificación del Ibuprofeno 8

1.1 Establecimiento de las condiciones experimentales y optimización de los parámetros del espectrómetro de masas y de las condiciones cromatográficas para la identificación selectiva del ibuprofeno 8

1.1.1 Identificación estructural del ibuprofeno mediante el barrido de iones fragmento (SCAN) 8

1.1.2 Establecimiento de las condiciones cromatográficas 9

1.1.3 Optimización de los parámetros correspondientes al espectrómetro de masas 10

1.2 Validación del método analítico para la cuantificación de ibuprofeno en matriz acuosa..... 13

1.2.1 Determinación de los parámetros de desempeño del método 13

1.3 Aplicación del método. Evaluación de la actividad de foto degradación de ibuprofeno generada por cinco catalizadores..... 16

2. Resultados..... 17

2.1 Establecimiento de las condiciones experimentales y optimización de los parámetros del espectrómetro de masas y cromatográficos para la identificación selectiva del ibuprofeno..... 17

2.1.1 Identificación estructural del ibuprofeno mediante el barrido de iones fragmento (SCAN) 17

2.1.2 Establecimiento de las condiciones cromatográficas 18

2.1.3 Optimización de los parámetros del espectrómetro de masas 21

2.2 Desarrollo y validación de los métodos de cuantificación de ibuprofeno para agua Mili-Q y agua de la llave 24

2.2.1 Validación del método para la cuantificación de ibuprofeno en agua Mili-Q 24

2.2.2	Validación del método para la cuantificación de ibuprofeno en agua de la llave	29
2.2.3	Evaluación del efecto matriz y comparación entre métodos	33
2.3	Aplicabilidad de los métodos de cuantificación de ibuprofeno.....	36

Conclusiones

Agradecimientos

Referencias bibliográficas

Publicación periódica

Nomenclatura

Símbolo (orden alfabético)	Significado
α	<i>Riesgo estadístico, a un nivel de confianza dado</i>
σ	<i>Desviación estándar</i>
$\bar{X}$	<i>Media estadística</i>
CV	<i>Coeficiente de variación</i>
CCAyAC	<i>Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura</i>
C_F	<i>Concentración de analito en muestra fortificada</i>
C_A	<i>Concentración de analito añadido</i>
C_B	<i>Concentración del blanco de muestra</i>
CV	<i>Coeficiente de variación</i>
CLAE	<i>Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia</i>
EM	<i>Espectrometría de Masas</i>
EURACHEM	<i>Guía de validación de métodos internacional europea</i>
IBP	<i>Ibuprofeno</i>
LD	<i>Límite de Decisión</i>
LDC	<i>Límite de Cuantificación</i>
LDD	<i>Límite de Detección</i>
L	<i>Litros</i>
mg	<i>Miligramos</i>
R	<i>Recuperación</i>
r	<i>Coeficiente de correlación de Pearson</i>
SCAN	<i>Barrido completo de iones</i>

<i>SIM</i>	<i>(Single Ion Monitoring, Monitoreo de Ion Simple)</i>
<i>u.a.</i>	<i>Unidades de Área</i>

Introducción

El ibuprofeno (IBP) un antiinflamatorio no esteroideo utilizado para aliviar el dolor de múltiples afecciones. Este compuesto tiene una masa molecular de $206.28 \text{ g mol}^{-1}$, un punto de fusión entre $75\text{-}77^\circ\text{C}$, ebullición de 157°C y una solubilidad en agua de 21 mgL^{-1} a 25°C (ChemPub, Bethesda (MD), National Library of Medicine (US), 2004). Dichas propiedades le confieren una estabilidad ante los mecanismos de atenuación natural tal como la fotólisis; ya que, de acuerdo con lo reportado por Andreozzi *et al*, (2003) la degradación del IBP mediante la incidencia de luz solar es prácticamente nula. A causa de ello, la utilización de técnicas de oxidación avanzada como el uso de diversos tipos de fotocatalizadores, es una de las principales estrategias de tratamiento de agua; ya que tiene por objetivo degradar y mineralizar en su totalidad a este tipo de compuestos. Sin embargo, evaluar la eficiencia degradativa de los fotocatalizadores requiere del uso de técnicas analíticas de alta sensibilidad y selectividad, capaces de medir la molécula objetivo en concentraciones a nivel de trazas en medios acuosos.

La selección del método analítico dependerá, por un lado, de las necesidades de medición, por ejemplo: nivel de concentración por evaluar, precisión y exactitud del método, entre otras. Y por el otro, de las propiedades físicas y químicas intrínsecas del analito, así como del conjunto de interacciones existentes entre el analito con la matriz y el instrumento con el que se realizará el análisis. Bajo este contexto, debido a las propiedades físicas y químicas del ibuprofeno i.e., baja volatilidad, elevada polaridad y solubilidad en medio acuoso, así como la necesidad de medir concentraciones a nivel de trazas (mgL^{-1}) con una elevada sensibilidad, la Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia acoplada con Espectrometría de Masas (CLAE-EM) es la metodología analítica indicada para realizar este tipo de estudios.

La técnica CLAE-EM es la más eficiente para analizar la degradación de compuestos orgánicos, debido a tres ventajas 1) permite analizar la muestra sin realizar un cambio de fase previo, 2) posibilita la elucidación de la estructura molecular del compuesto de interés mediante la identificación de los iones moleculares característicos y los fragmentos más estables, 3) facilita la aplicación de experimentos de identificación específicos, favoreciendo la reducción de los límites de detección y cuantificación del método. Debido a que monitorear un ion simple (SIM, Single Ion Monitoring por sus siglas en inglés) aumenta la sensibilidad del método, mediante la reducción del ruido de fondo (SIM, Single Ion Monitoring por sus siglas en inglés) (Rouessac *et al*, 2008).

No obstante, el método analítico desarrollado debe cumplir con una serie de criterios que establezcan: 1) las características de desempeño, limitaciones e influencias de operación de este. En otras palabras, es necesario demostrar mediante la presentación y confirmación de evidencias experimentales, que el método analítico es confiable para

cumplir el objetivo por el cual fue desarrollado (Lazos & Hernández, 2004). En este orden de ideas, cuando se realiza un análisis de un analito a nivel de trazas vía CLAE-EM, es necesario cumplir y demostrar los siguientes requisitos: Intervalo lineal y de trabajo, límites de detección y cuantificación, precisión y exactitud o recuperación (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2015).

En el presente trabajo se desarrolló y validó una metodología analítica basada en CLAE-EM para la cuantificación del fármaco ibuprofeno en dos matrices, la primera de ellas es en agua Mili-Q (libre de interferentes) y la segunda es en agua potable corriente (llave). El desarrollo experimental tuvo por objetivo validar un método de cuantificación capaz de medir cambios en la concentración de IBP en concentraciones comprendidas entre los 0.05 y los 50 mgL⁻¹ con valores de precisión y exactitud de CV≤5% y 95%≤R≤105%, respectivamente. Una vez establecido el método, este se utilizará para evaluar la degradación fotocatalítica del IBP como resultado de la aplicación de múltiples catalizadores y fotocatalizadores sintéticos.

En el apartado 1 se describe el desarrollo experimental que permitió cuantificar al ibuprofeno en las dos matrices acuosas mencionadas con antelación. Incluyendo la identificación estructural y selección del ion selectivo por monitorear (SIM), seguido por el establecimiento de las condiciones cromatográficas de análisis y la optimización de los parámetros instrumentales del espectrómetro de masas tanto dependientes de la ionización instrumental como los que dependen de la fase móvil. Asimismo, se detallan las ecuaciones y experimentos utilizados para validar ambos métodos desarrollados para cuantificar el ibuprofeno tanto en agua Mili-Q como en agua de la llave. En el apartado 2 se presentan los resultados obtenidos en cada una de las etapas del desarrollo experimental junto con la evaluación de la aplicabilidad de ambos métodos, a través de la evaluación de la capacidad degradativa del ibuprofeno promovida por un fotocatalizador ZnS/BiOBr (10:90 %m/m).

1. Metodología analítica para la cuantificación del Ibuprofeno

1.1 Establecimiento de las condiciones experimentales y optimización de los parámetros del espectrómetro de masas y de las condiciones cromatográficas para la identificación selectiva del ibuprofeno

La identificación estructural del ibuprofeno se hizo a través de la técnica de espectrometría de masas. Para ello, se prepararon 100 mL de una disolución acuosa de 30 mgL⁻¹ de un estándar analítico de ibuprofeno (>98 %, Sigma-Aldrich). Después, se transfirió una alícuota de 1 mL de la disolución a un vial ámbar de HPLC para su posterior análisis espectrométrico. La identificación estructural del ibuprofeno se realizó en un espectrómetro de masas (Agilent 6420, Agilent Technologies). Posteriormente se establecieron las condiciones cromatográficas que promovieran un incremento de señal analítica y una menor dispersión del pico cromatográfico. Una vez establecidas las condiciones de operación tanto del cromatógrafo como del espectrómetro de masas, estas fueron optimizadas en función de la estructura química del analito y de la composición de la fase móvil. Esta última optimización se realizó utilizando el modo de adquisición de monitoreo de ion simple (SIM) sobre el ion molecular del ibuprofeno [M-H]⁻ 205 m/z.

1.1.1 Identificación estructural del ibuprofeno mediante el barrido de iones fragmento (SCAN)

La identificación estructural de los iones fragmento característicos de la molécula de ibuprofeno se hizo en el espectrómetro de masas al realizar un barrido completo de los iones (full SCAN). Para ello, se prepararon 50 mL de una disolución estándar de ibuprofeno con una concentración de 10 mgL⁻¹. Después, se transfirió una alícuota de 1 mL a un vial de HPLC para inyectar 1 µL de la disolución al espectrómetro de masas. Los análisis de fragmentación fueron conducidos en los modos de ionización positiva y negativa del instrumento, empleando una ventana de adquisición comprendida entre los 70-300 m/z, y las condiciones de operación estándar a saber: Voltaje de fragmentación de 60 V, voltaje capilar de -4000 V (ionización negativa) y 4000 V (ionización positiva), una temperatura y flujo de gas de secado de 200 °C y 8 Lmin⁻¹, respectivamente. Se consideró un modo de ionización aceptable aquel que permitiera obtener una

fragmentación constante y representativa de la masa molecular (ion molecular) del fármaco.

1.1.2 Establecimiento de las condiciones cromatográficas

Una vez identificados los iones fragmento y seleccionado el ion molecular a seguir, se establecieron las condiciones cromatográficas que permitieran alcanzar dos objetivos principalmente: 1) eluir el IBP en un tiempo de retención (t_r) comprendido entre los 3 y los 6 min y 2) producir la mayor intensidad de la señal analítica posible sin comprometer la simetría del pico cromatográfico. En este sentido, se evaluaron tres condiciones cromatográficas, a saber: La composición y el flujo de la fase móvil, así como el volumen de inyección. Estas condiciones fueron evaluadas por triplicado. Mientras que las condiciones que brindaron los mejores resultados fueron evaluadas por heptuplicado, tal como es señalado en la Tabla 1. El análisis cromatográfico se condujo en fase reversa empleando una columna Zorbax SB-C18 (4.6 x 100 mm, 5 μ m de tamaño de partícula).

Condición Cromatográfica	Nivel evaluado	No. de réplicas (n)	Intentos (Exitosos/Fallidos)
Fase móvil (%v/v)	Agua:MeOH (50:50)	3	(3/0)
	Agua:MeOH (10:90)	3	(3/0)
	Agua:MeOH (5:95)	7	(7/0)
Volumen de inyección (μL)	1	3	(3/0)
	3	3	(3/0)
	5	7	(7/0)
Flujo (mLmin ⁻¹)	0.3	3	(3/0)
	0.4	7	(7/0)
	0.5	3	(3/0)

Tabla 1. Condiciones cromatográficas del ibuprofeno

1.1.3 Optimización de los parámetros correspondientes al espectrómetro de masas

El monitoreo de la molécula de ibuprofeno durante su análisis por HPLC-MS se realizó a través del modo de adquisición de monitoreo de ion simple (SIM, por sus siglas en inglés) utilizando al ion molecular del IBP como el ion fragmento a seguir durante la medición. La cantidad e intensidad del fragmento molécula depende tanto de las propiedades físicas y químicas del analito como de la fase móvil utilizada durante el análisis cromatográfico. Debido a ello, la señal analítica está fuertemente vinculada a seis parámetros de adquisición instrumentales; a saber: 1) temperatura (°C), 2) flujo del gas de secado (Lmin⁻¹), 3) presión del nebulizador (psi), 4) voltaje de fragmentación (V), 5) voltaje de aceleración (V) y 6) voltaje capilar (V).

Con el objetivo de incrementar la sensibilidad de la señal analítica (área del pico cromatográfico) dentro del espectrómetro de masas en concentraciones de partes por millón (mgL⁻¹), los parámetros mencionados con antelación fueron optimizados de forma univariante de acuerdo con lo señalado en la Tabla 2. Se consideró como un nivel

instrumental aceptable aquel que aumentará la mayor señal analítica (un máximo de área de pico cromatográfico). Para realizar la optimización de cada factor, se inyectaron 5 μL de una disolución acuosa de 30 mgL^{-1} de ibuprofeno.

Parámetro	Nivel evaluado	No. de réplicas (n)	Intentos (Exitosos/Fallidos)
Temperatura (°C)	200	3	(3/0)
	250	7	(7/0)
	300	3	(3/0)
	325	3	(0/3)
	350	3	(0/3)
Flujo del gas de secado (Lmin^{-1})	8	3	(3/0)
	11	7	(7/0)
	14	3	(3/0)
	17	3	(3/0)
Presión de nebulización (psi)	9	3	(3/0)
	12	3	(3/0)
	15	7	(7/0)
Voltaje de fragmentación (V)	60	7	(7/0)
	75	3	(3/0)
	95	3	(3/0)
	105	3	(3/0)
	135	3	(3/0)
	0	3	(2/1)

Voltaje de aceleración (V)	3	3	(3/0)
	5	3	(3/0)
	7	7	(7/0)
Voltaje capilar (V)	-1000	3	(3/0)
	-4000	7	(7/0)
	-7000	3	(3/0)

Tabla 2. Parámetros instrumentales del espectrómetro de masas optimizados para promover la fragmentación molecular del ibuprofeno

1.2 Validación del método analítico para la cuantificación de ibuprofeno en matriz acuosa

Los parámetros de desempeño típicos para un análisis cromatográfico fueron validados de acuerdo con la guía nacional de validación de la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (CCAYAC-CR-03/1), la cual lleva por nombre “Criterios para la validación interna y confirmación de métodos fisicoquímicos” (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2015) y con la guía internacional Eurolab España & P.P. Morillas y colaboradores, 2016 que lleva por título “La adecuación al uso de los métodos analíticos”. La validación tuvo por objetivo asegurar la calidad de las mediciones de ibuprofeno en dos matrices acuosas, a saber: agua Mili-Q y agua potable de la llave.

1.2.1 Determinación de los parámetros de desempeño del método

Los parámetros de desempeño validados para el presente método fueron los siguientes: Intervalo lineal y de trabajo, límites de decisión (LD), detección (LDD) y cuantificación (LDC), precisión, exactitud y evaluación del efecto matriz.

1.2.1.1 Intervalo lineal y de trabajo

El intervalo lineal y de trabajo se determinaron experimentalmente mediante la construcción de una curva de calibración de ibuprofeno. Para ello, se prepararon 20 disoluciones de un estándar de ibuprofeno con diferentes concentraciones comprendidas en el intervalo de 0.0001-70 mgL⁻¹, las cuales fueron inyectadas al CLAE-MS. Con las áreas obtenidas para cada nivel de concentración se construyó un gráfico de concentración de ibuprofeno (variable X) contra el área obtenida (variable Y). A partir de la cual se evaluó la linealidad del sistema a través de la conjunción y aceptación de tres pruebas, a saber:

- 1) La inspección visual del gráfico obtenido de la relación entre las concentraciones del ibuprofeno y sus áreas asociadas. Donde se consideraron como aceptables a todos aquellos niveles que siguieran una tendencia lineal y se descartaron a los que presentaban desviaciones visuales de la linealidad.
- 2) El cálculo de la ecuación de la recta (ecuación 1) y el coeficiente de correlación de Pearson (r) (ecuación 2), determinados a partir de un análisis de regresión por mínimos

cuadrados sobre la curva de calibración experimental. Se consideró aceptable a la curva de calibración que presentara un coeficiente de correlación (r) superior a 0.98.

$$\text{Área} = m * \text{Concentración [IBP]} - b \quad (1)$$

$$r = \frac{\Sigma(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\Sigma(X_i - \bar{X})^2 \Sigma(Y_i - \bar{Y})^2}} \quad (2)$$

3) El estudio visual de los residuales a lo largo de la curva de calibración. Considerando como un nivel de concentración aceptable, aquel que presentara una distribución aleatoria de sus residuales a un nivel de confianza del 95 % ($\alpha=0.05$) y con una dispersión del 99.7 % ($\bar{X} \pm 2\sigma$).

1.2.1.2 Límites de detección (LDD) y cuantificación (LDC)

Para establecer los límites de detección y cuantificación, primero fue necesario determinar la concentración de ibuprofeno capaz de brindar una señal analítica diferenciable con respecto al ruido de fondo proveniente del blanco de muestra (Límite de decisión). Debido a que el modo de adquisición utilizado en el espectrómetro de masas (SIM) mide selectivamente la masa correspondiente al ion molecular del ibuprofeno, el blanco de muestra utilizado ya sea: agua Mili-A o agua de la llave no presentaron una señal analítica mínima. Por lo que, para determinar la mínima señal analítica medible, fue necesario fortificar los blancos de muestra con concentraciones conocidas de ibuprofeno.

Para ello, Se prepararon tres disoluciones de ibuprofeno por triplicado de forma independiente con las siguientes concentraciones: 0.001, 0.003 y 0.005 mgL⁻¹, después, fueron transferidas a un vial de HPLC de 1 mL e inyectadas al cromatógrafo. Para cada nivel de concentración se analizó un blanco de muestra independiente por triplicado. Las áreas asociadas tanto a los tres niveles de concentración evaluados como a los blancos de muestra fueron utilizadas para calcular la relación entre la señal analítica del analito con respecto al ruido de fondo (SNR) de acuerdo con la ecuación 3. Se consideró como una señal diferenciable con respecto al ruido, al nivel de concentración cuya SNR fuera mayor o igual a 3.

$$SNR = \frac{\text{Área de la señal del analito}}{\text{Área del ruido de fondo}} \geq 3 \quad (3)$$

Una vez identificada la concentración de ibuprofeno que brinda una $SNR \geq 3$, esta se utilizó para calcular los límites de detección (LDD) y cuantificación (LDC) del método. Para alcanzar estos objetivos, se prepararon siete disoluciones independientes de IBP con una concentración de 0.005 mgL^{-1} , las cuales fueron inyectadas al cromatógrafo. Con los resultados de las áreas de cada inyección se calcularon las áreas promedio asociadas al límite de detección (A'_{LDD}) y al límite de cuantificación (A'_{LDC}) de acuerdo con las ecuaciones 4 y 5, respectivamente. En donde Y representa al valor medio de las áreas y σ la desviación estándar.

$$A'_{LDD} = Y + 3\sigma \quad (4)$$

$$A'_{LDC} = Y + 10\sigma \quad (5)$$

Posteriormente, las áreas promedio calculadas para ambos límites (ecuaciones 4 y 5) fueron sustituidas en la ecuación de la recta derivada de los experimentos para la determinación del intervalo lineal (ecuación 1). En donde, al despejar la concentración de ambas ecuaciones, se obtienen los correspondientes límites de detección y cuantificación, ecuaciones 6 y 7, respectivamente.

$$A'_{LDD} = m * \text{Concentración} [IBP]_{LDD} - b \quad (6)$$

$$A'_{LDC} = m * \text{Concentración} [IBP]_{LDC} - b \quad (7)$$

1.2.1.3 Precisión

La precisión del método se determinó para tres niveles de concentración de IBP a lo largo del intervalo de trabajo de la curva de calibración lineal, a saber: 0.05 , 5 y 50 mgL^{-1} . Cada nivel de concentración fue preparado de forma independiente e inyectado por heptuplicado. La precisión de cada nivel se determinó mediante el cálculo del coeficiente de variación (%CV) usando la ecuación 8. Donde, X es el valor medio de las áreas obtenidas para cada nivel y σ es la desviación estándar.

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} * 100 \quad (8)$$

1.2.1.4 Exactitud

La exactitud del método se determinó para tres niveles de concentración de IBP a lo largo del intervalo de la curva de calibración lineal, a saber: 0.5, 10 y 45 mgL⁻¹. Los tres niveles evaluados fueron preparados por heptuplicado de forma independiente y posteriormente inyectados al equipo. La exactitud se calculó a través de experimentos de recuperación (%R), y se calculó tal como lo señala la ecuación 9.

$$\%R = \frac{[Conc. IBP]_{ADICIONADO}}{[Conc. IBP]_{DETERMINADO}} * 100 \quad (9)$$

1.3 Aplicación del método. Evaluación de la actividad de foto degradación de ibuprofeno generada por cinco catalizadores

La aplicabilidad del método se evaluó midiendo la concentración de ibuprofeno en agua Mili-Q y de la llave durante una reacción de degradación utilizando un fotocatalizador ZnS/BiOBr (10:90 %m/m); la evaluación se realizó por triplicado y de forma independiente; con los resultados obtenidos se calcularon los valores medios y las desviaciones estándar para cada punto en cada matriz para evaluar la dispersión de los resultados a lo largo del análisis. Se consideraron como aceptables a todas las desviaciones estándares menores al 5 %.

Para cada reacción se prepararon 250 mL de ibuprofeno con una concentración de 30 mgL⁻¹. La disolución fue transferida a un reactor vidrio de doble cara conectado a un recirculador a una temperatura constante de 25 °C. Durante la reacción se incidieron 100 mLmin⁻¹ de aire de ultra alta pureza (Praxair, 5.0 UAP). Posteriormente se añadieron 125 mg del catalizador bajo agitación constante. Una vez que el experimento fue puesto en marcha, se tomaron 13 muestras de 1 mL en tiempos establecidos a lo largo de la reacción, a saber: 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 y 300 minutos; estas muestras fueron transferidas a un vial ámbar de HPLC para su posterior análisis cromatográfico.

2. Resultados

2.1 Establecimiento de las condiciones experimentales y optimización de los parámetros del espectrómetro de masas y cromatográficos para la identificación selectiva del ibuprofeno

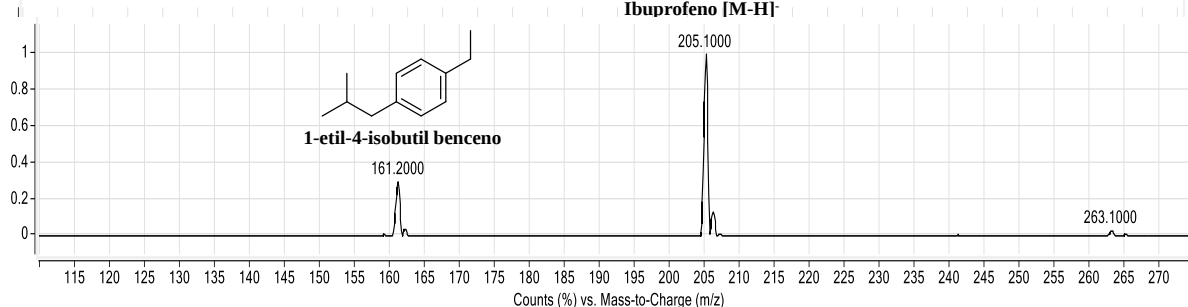
2.1.1 Identificación estructural del ibuprofeno mediante el barrido de iones fragmento (SCAN)

La identificación estructural del IBP empleando los modos de adquisición de ionización negativa y positiva son mostrados en la Figura 1. La ionización en modo negativo (Figura 1a) produce un fragmento de masa específico de la molécula de IBP. En donde el ion $[M-H]^-$ 205.1 m/z corresponde tanto al ion molecular como al pico base del analito. Mientras que, el subproducto de ionización más estable corresponde al compuesto 1-etil-4-isobutil benceno (161.2 m/z).

Entretanto, la ionización producida en el modo positivo (Figura 1b) produjo como ion molecular y pico base al aducto de IBP más dos moléculas de sodio $[M+H+2Na]^+$ (251.1 m/z) y como producto de fragmentación estable el aducto simple de ibuprofeno-sodio $[M+H+Na]^+$ (229.2 m/z).

A pesar de que ambos modos de ionización producen fragmentos identificables, se eligió el modo de adquisición de ionización negativa, ya que este produce al ion molecular como pico base del espectro de masas del ibuprofeno $[M-H]^-$ 205.1 m/z, es decir: este modo de adquisición brinda la selectividad requerida para un seguimiento de degradación. Este ion, ha sido seleccionado previamente por otros autores para cuantificar la degradación de IBP en otros tipos de catalizadores (Cardoso da Silva *et al*, 2014; Wang *et al*, 2017).

a)

X 10³ -ESI TIC Scan Frag=60V

b)

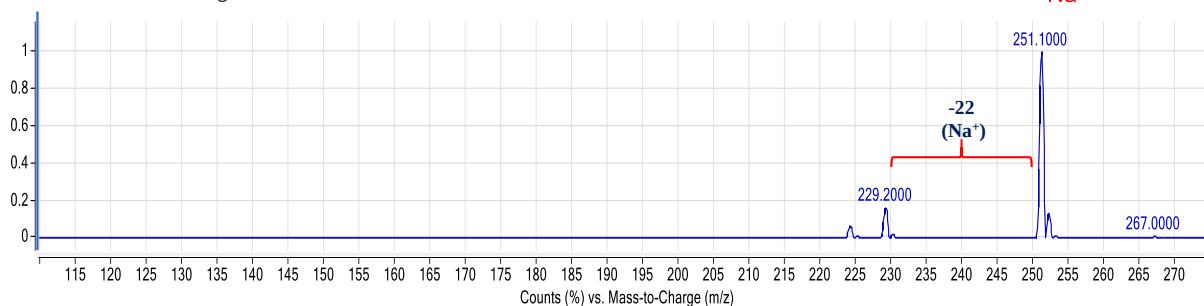
X 10² +ESI TIC Scan Frag=60V

Figura 1. Espectros de masa de ibuprofeno obtenidos en modo SCAN. a) ionización negativa (-ESI), b) ionización positiva (+ESI)

2.1.2 Establecimiento de las condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas óptimas son mostradas en la Figura 2. De las tres condiciones evaluadas, la composición de la fase móvil mostró ser el factor cromatográfico más importante de la optimización. En principio, la composición Agua:MeOH (50:50 %v/v) no permite la elución del IBP dentro del periodo de tiempo requerido (6 min). No obstante, el incremento en la proporción de MeOH (≥ 90 %v/v) permite eluir el pico cromatográfico del IBP dentro del periodo de tiempo requerido, ya que presenta un tiempo de retención de 4.4 minutos y también favorece un incremento sustancial en la señal analítica (Figura 2a). Bajo esta consideración, la proporción Agua:MeOH (5:95 %v/v) fue la composición promotora de las mejores condiciones de un análisis cromatográfico.

Por su parte, el volumen de inyección aumenta el área del pico conforme incrementa el volumen inyectado (Figura 2b) sin ocasionar una dispersión sustancial del área, por lo que se decidió inyectar un volumen de 5 μL .

El flujo de la fase móvil propició importantes diferencias entre el menor flujo evaluado (0.1 mLmin^{-1}) y los dos flujos superiores (0.2 y 0.3 mLmin^{-1}) Figura 2c. En este sentido, en el menor de los flujos se observó un aumento en la señal analítica, sin embargo, dicho aumento fue propiciado por un ensanchamiento del pico cromatográfico. Este fenómeno se debió a la baja velocidad de la fase móvil, ya que, bajo estas condiciones, el IBP tiene un mayor tiempo de contacto con la columna, provocando una lenta elución cromatográfica del compuesto. Este ensanchamiento de la señal analítica no es deseable, ya que representa un aumento en la dispersión tanto del tiempo de retención como en las magnitudes de la señal analítica. Mientras que los flujos 0.2 y 0.3 mLmin^{-1} no presentaron diferencias importantes en cuanto al área y la dispersión del pico cromatográfico. Debido a esto y con el fin de garantizar la baja dispersión de las áreas medidas, se optó por trabajar con un flujo de 0.3 mLmin^{-1} .

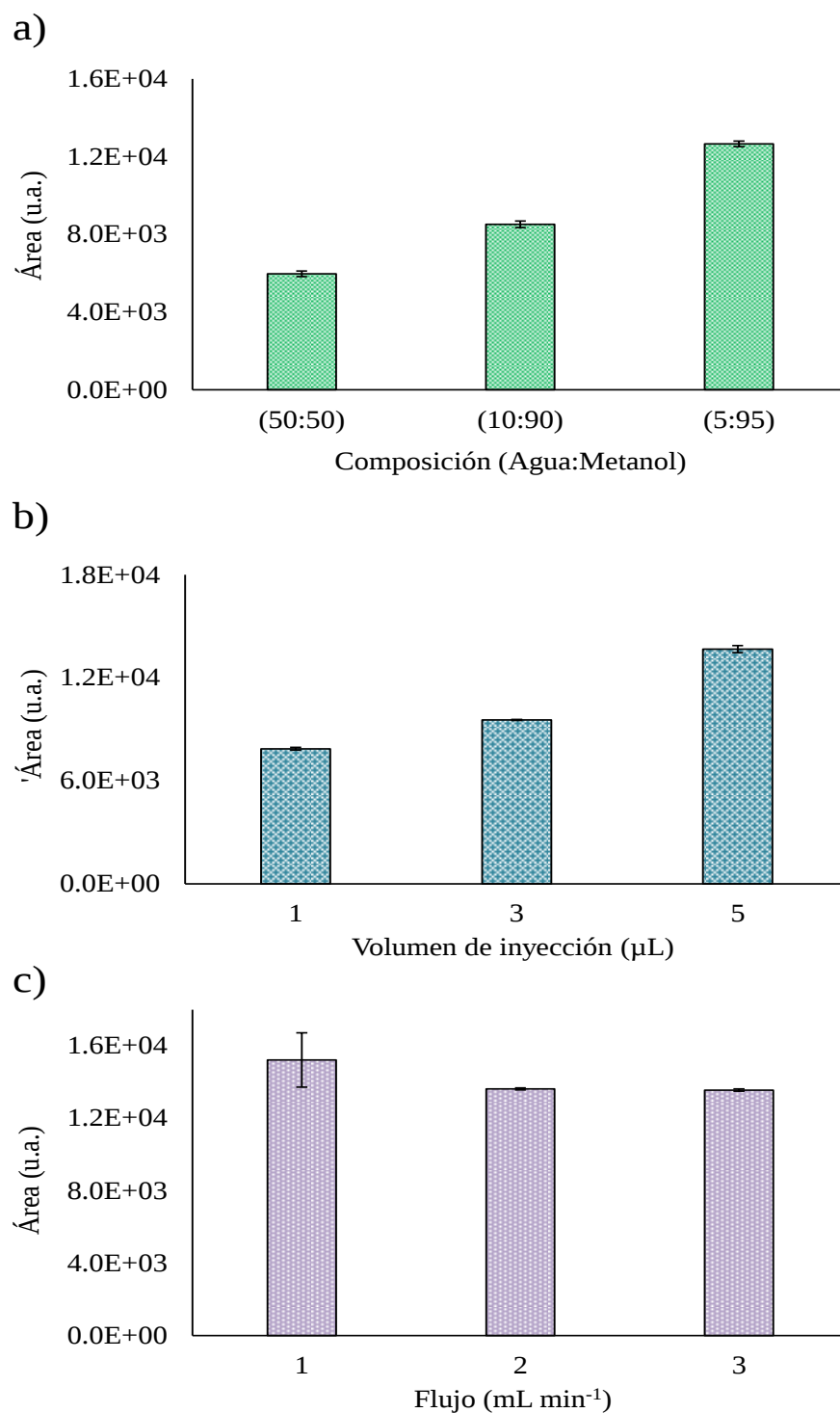


Figura 2. Condiciones cromatográficas optimizadas. a) Composición de la fase móvil, b) Volumen de inyección y c) Flujo de la fase móvil
N.D. No Determinado

2.1.3 Optimización de los parámetros del espectrómetro de masas

Seleccionado el ion fragmento a seguir $[M-H]^-$ 205 m/z y establecidas las condiciones cromatográficas, se optimizaron las condiciones instrumentales del espectro de masas que promueven un máximo en la señal analítica (área de pico), las cuales son mostradas en la Figura 3.

En la Figura 3a se observa que la temperatura de ionización, el voltaje de fragmentación y el voltaje de aceleración, son los factores que afectan en mayor medida la intensidad de la señal analítica, siendo la temperatura el factor más importante. En este sentido, las temperaturas $<250\text{ }^{\circ}\text{C}$ no ofrecen la energía de ionización necesaria para promover la formación del ion molecular de forma eficiente; Mientras que las temperaturas $>250\text{ }^{\circ}\text{C}$ favorecen la degradación del ibuprofeno, ya que este compuesto comienza su proceso de descomposición térmica dentro del intervalo de temperaturas comprendido entre los $180\text{-}300\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tita *et al.*, 2011). Bajo este contexto, la temperatura óptima de ionización que permite obtener un máximo del área de fragmentación con la menor pérdida de IBP a causa de la descomposición térmica fue $250\text{ }^{\circ}\text{C}$.

De forma similar, al aplicar un menor voltaje de fragmentación (60 V), se favorece el aumento de la señal analítica, ya que emplear una menor energía de ionización produce de forma preferente la formación del ion molecular $[M-H]^-$ (Figura 3b). En contraste, es necesario usar el mayor voltaje de aceleración (7 V) para incrementar la señal analítica (Figura 3c); este voltaje permite colimar y transportar el ion molecular de forma más eficiente a través del sistema del acelerador del espectrómetro de masas.

De manera análoga, el flujo del gas de secado, la presión del nebulizador y el voltaje capilar (Figura 3d, 3e y 3f) afectan la intensidad de la señal instrumental, aunque en menor proporción que los factores mencionados con antelación. Bajo este contexto, las condiciones de operación óptimas fueron 2 Lmin^{-1} , 3 psi y -4000 V para el flujo, la presión y el voltaje capilar, respectivamente.

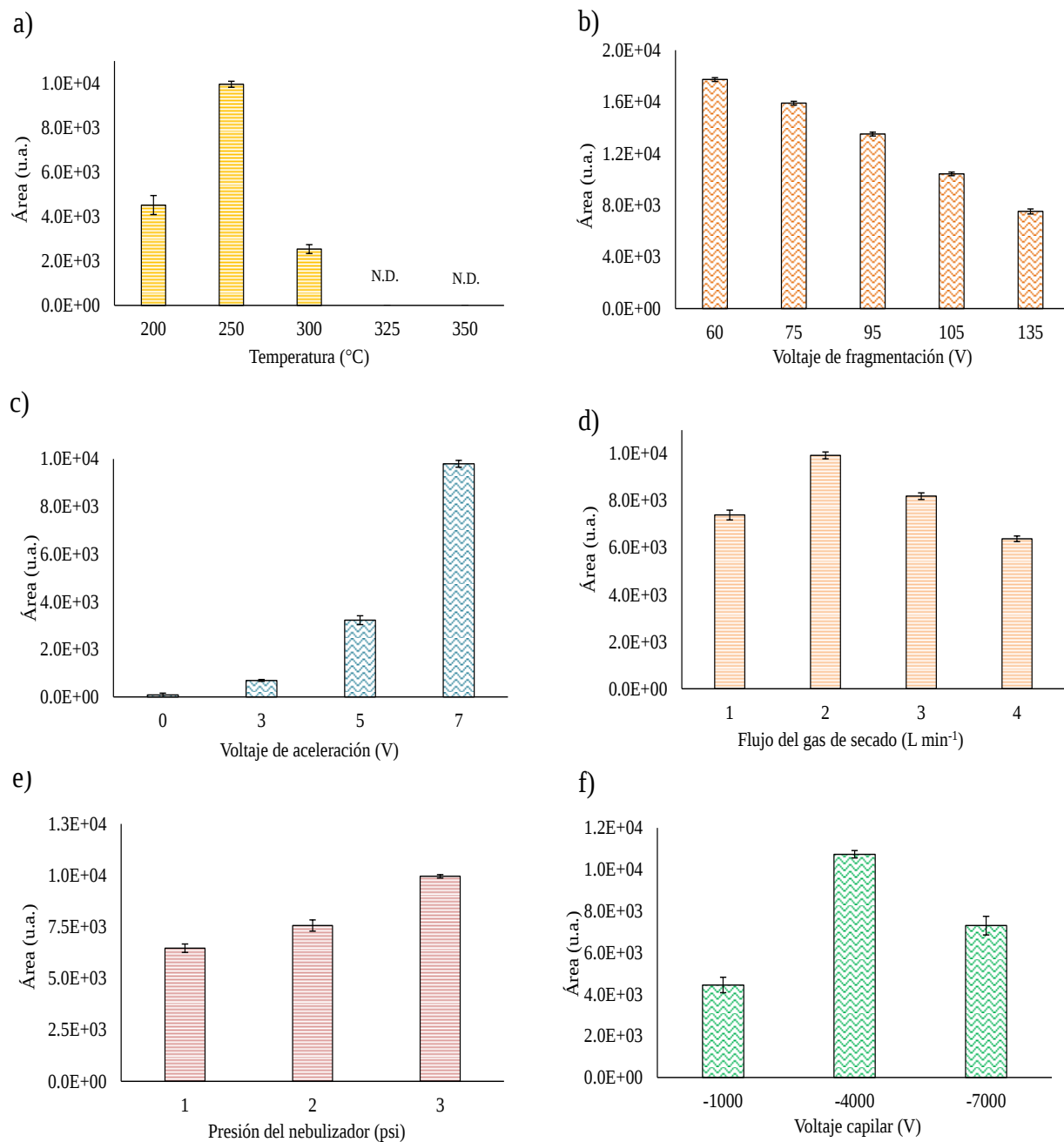


Figura 3. Condiciones de operación óptimas del espectrómetro de masas. a) temperatura, b) voltaje de fragmentación, c) voltaje de aceleración, d) flujo de gas de secado (N₂), e) presión del nebulizador y f) voltaje capilar
N.D. No Determinado

Finalmente, en la Tabla 3 se presenta un resumen de las condiciones de operación óptimas para el análisis HPLC-MS del ibuprofeno.

Parámetros optimizados	Nivel determinado
<i>Espectrómetro de masas (MS)</i>	
Modo de ionización	Negativo (-ESI)
Ion fragmento seleccionado (m/z)	205
Temperatura de ionización (°C)	250
Voltaje de fragmentación (V)	60
Voltaje de aceleración (V)	7
Flujo del gas de secado (Lmin ⁻¹)	2
Presión del nebulizador (psi)	3
Voltaje capilar (V)	-4000
<i>Cromatógrafo (HPLC)</i>	
Composición de la fase móvil (%v/v)	Agua:Metanol (5:95)
Volumen de inyección (μL)	5
Flujo de la fase móvil (mLmin ⁻¹)	0.3

Tabla 3. Parámetros operacionales óptimos del cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia acoplado a espectrometría de masas para la cuantificación de la molécula de ibuprofeno

2.2 Desarrollo y validación de los métodos de cuantificación de ibuprofeno para agua Mili-Q y agua de la llave

Los parámetros de desempeño de los métodos de cuantificación determinados para ambas matrices acuosas (agua Mili-Q y agua de la llave) son mostrados y discutidos por separado en las secciones 4.2.1 y 4.2.2 para el agua Mili-Q y el agua de la llave, respectivamente. En la sección 4.2.3 se presentan los resultados de la evaluación del efecto matriz entre los dos tipos de agua, así como una comparación global entre los métodos (Mili-Q y agua de la llave).

2.2.1 Validación del método para la cuantificación de ibuprofeno en agua Mili-Q

2.2.1.1 Linealidad

Los resultados para determinar el intervalo lineal y de trabajo del método son presentados en la Figura 4. A partir de inspección visual del gráfico de calibración construido (Figura 4a), se observa una pérdida en la linealidad en los niveles de concentración superiores a 50 mgL⁻¹, motivo por el cual, se decidió evaluar el intervalo comprendido entre 0.05 y 50 mgL⁻¹. Al graficar este último se obtuvo un nuevo gráfico, presentado en la Figura 4b, en donde se observa una clara tendencia lineal a lo largo del intervalo; ésta se evaluó calculando el coeficiente de correlación (*r*), empleando la ecuación 1 descrita en la sección 2.1.1, quien presentó un valor de 0.999. Este valor de *r* fue superior a 0.98, que de acuerdo con lo establecido para la guía de validación (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2015); este intervalo está considerado como una correlación lineal.

Adicionalmente, se realizó el gráfico de residuales (Figura 4c) sugerido por la guía internacional EuroLab España & P.P. Morillas y colaboradores, 2016 para evaluar la linealidad. En este gráfico se aprecia una distribución aleatoria de los mensurandos en todos los niveles de concentración evaluados, garantizando así la linealidad del intervalo comprendido entre 0.05-50 mgL⁻¹ y un ajuste al modelo lineal de la ecuación 2 señalada en la sección 2.1.1, la cual se muestra a continuación (Ecuación 10).

$$A = 20188 * \text{Concentración}[IBP] - 28.50 \quad (10)$$

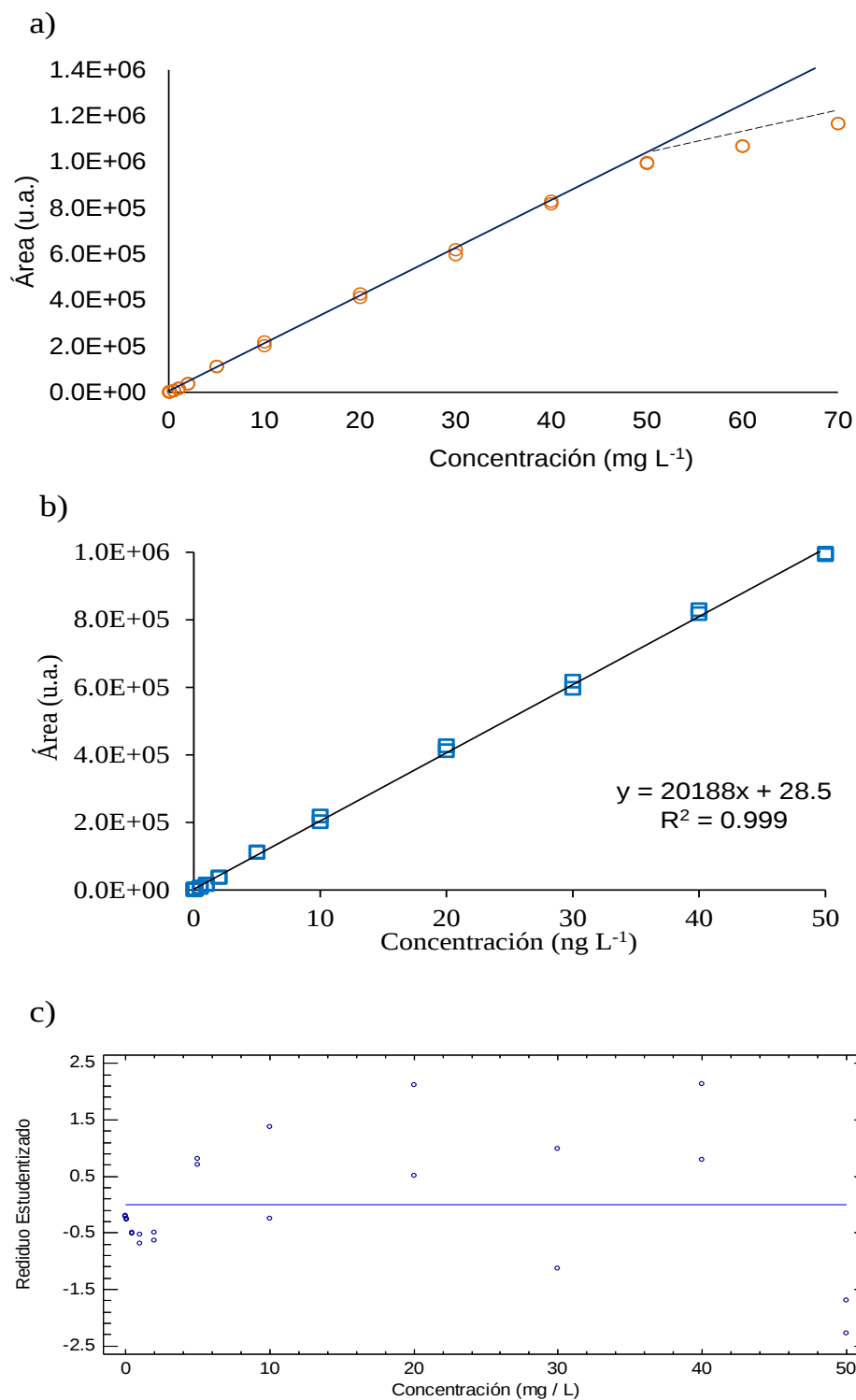


Figura 4. Linealidad de ibuprofeno en agua Mili-Q. a) Gráfico de concentración de IBP vs área en el intervalo 0.05-70 mgL⁻¹, b) Curva de calibración determinada en el intervalo 0.05-50 mgL⁻¹ y c) Gráfico de residuales.

2.2.1.2 Límites de decisión (LD), detección (LDD) y cuantificación (LDC)

Los resultados de las áreas obtenidas y el cálculo de la señal mínima diferenciable de ibuprofeno con respecto al ruido de fondo (SNR) para los niveles 0.001, 0.003 y 0.005 mgL⁻¹ se muestran en la Tabla 4. Las concentraciones 0.001 y 0.003 mgL⁻¹ no exhiben unidades de área superiores a las determinadas para el ruido de fondo (blanco de muestra). En contraste, la concentración 0.005 mgL⁻¹ mostró una señal analítica diferenciable con respecto al ruido (SNR≥3). Razón por la cual, esta última concentración fue seleccionada como el límite de decisión del método (LD) y fue utilizada para calcular los límites de detección y cuantificación del método.

Concentración (mgL ⁻¹)	Área de IBP (u.a.)	Área del blanco (u.a.)	SNR
0.001	99	97	1.02
	93	101	0.92
	107	88	1.22
Valor medio de la relación señal/ruido			1.05
0.003	189	106	1.78
	213	102	2.09
	201	98	2.05
Valor medio de la relación señal/ruido			1.97
0.005	387	91	4.25
	406	109	3.72
	403	105	3.84
Valor medio de la relación señal/ruido			3.94

Tabla 4. Áreas experimentales y relación señal/ruido (SNR) determinadas para calcular el límite de decisión (LD) del ibuprofeno en agua Mili-Q

Con la concentración 0.005 mgL^{-1} se calcularon los LDD y LDC de acuerdo con las ecuaciones 4-7 señaladas en la sección 2.1.2. Los resultados son mostrados en la Tabla 5. De acuerdo con lo calculado, se establecieron las concentraciones de 0.03 y 0.05 mgL^{-1} como los límites de detección y cuantificación, respectivamente.

Concentración (mgL ⁻¹)	Área de IBP (u.a.) (n=7)							Media del área (u.a.)	Desviación estándar (σ)
0.005	345	377	403	312	426	502	388	393	61
Límite de detección (LDD)									
A'LDD (u.a.)			182.6						
Concentración LDD (mgL ⁻¹)			0.03						
Límite de detección (LDC)									
A'LDC (u.a.)			608.5						
Concentración LDC (mgL ⁻¹)			0.05						

Tabla 5. Determinación de los límites de detección y cuantificación de ibuprofeno en agua Mili-Q

2.2.1.3 Precisión y exactitud

Los resultados correspondientes a la precisión y exactitud son señalados en la Tabla 6. Los coeficientes de variación determinados exhiben magnitudes menores al 5%. De manera análoga, las magnitudes de los porcentajes de recuperación están comprendidas entre 98.4-102.8 %. Ambos parámetros mostraron valores de precisión y exactitud aceptables para un nivel de concentración de mgL^{-1} tal como lo señalan Taverniers *et al*, 2004 y la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2015. Estos resultados indican: 1) no existe una dispersión significativa de la señal analítica para cada nivel evaluado y 2) no existe pérdida de analito ni reducción en la señal analítica durante el procedimiento experimental.

Parámetro evaluado	Concentración (mgL⁻¹)		
	0.05	5	50
Precisión (%CV)	2.0	0.4	0.2
	Concentración (mgL⁻¹)		
	0.5	10	40
Exactitud (%R)	98.8-101.1	98.6-102.8	98.4-100.5

Tabla 6. Precisión y exactitud del método de cuantificación de IBP en agua Mili-Q

2.2.2 Validación del método para la cuantificación de ibuprofeno en agua de la llave

2.2.2.1 Linealidad

En la Figura 5 se presentan los gráficos de linealidad contruidos para la determinación de IBP en agua de la llave. De manera similar a las curvas de calibración para agua Mili-Q, mediante la inspección visual del gráfico de calibración contruido dentro del intervalo 0.05-70 mgL⁻¹ (Figura 5a), se observó una pérdida en la linealidad del sistema en las concentraciones superiores a 50 mgL⁻¹. En este contexto, al graficar las áreas obtenidas en el intervalo 0.05-50 mgL⁻¹ (Figura 5b), se observó un comportamiento lineal el cual se ajustó al modelo lineal (Ecuación 11), obteniendo un coeficiente de correlación de Pearson (r) de 0.999 (Calculado de acuerdo con la ecuación 1, sección 2.1.1) y fue superior al establecido por la (Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2015). La linealidad se corroboró al observar una distribución aleatoria de todos los niveles evaluados dentro del gráfico de residuales (Figura 5c), confirmando así su carácter lineal (Eurolab España & P.P. Morillas y colaboradores, 2016).

$$A = 20038 * \text{Concentración}[\text{IBP}] - 115.9 \quad (11)$$

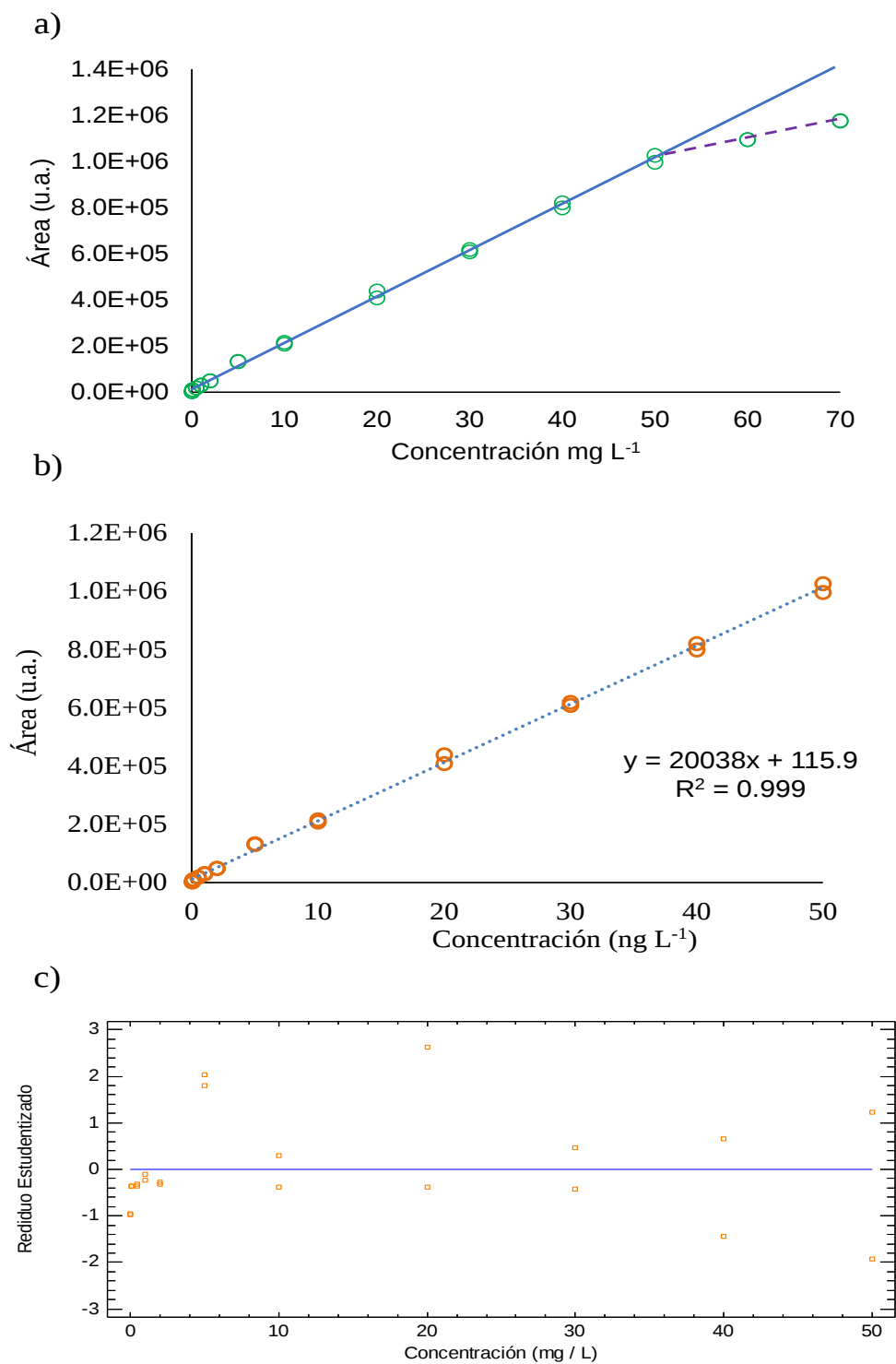


Figura 5. Linealidad de ibuprofeno en agua de la llave. a) Gráfico de concentración de IBP vs área en el intervalo $0.05\text{-}70\text{ mg L}^{-1}$, b) Curva de calibración determinada en el intervalo $0.05\text{-}50\text{ mg L}^{-1}$ y c) Gráfico de residuales.

2.2.2.2 Límites de decisión (LD), detección (LDD) y cuantificación (LDC)

La señal mínima diferenciable de ibuprofeno con respecto al ruido de fondo (blanco de muestra) fue evaluada para los niveles 0.001, 0.003 y 0.005 mgL⁻¹, los cuales son mostrados en la Tabla 7. La concentración de 0.005 mgL⁻¹ fue seleccionada como límite de decisión (LD) al exhibir un valor de relación señal-ruido superior a 3. A causa de ello, se eligió la concentración 0.005 mgL⁻¹ para calcular los límites de detección (LDD) y cuantificación (LDC) del método.

Concentración (mgL ⁻¹)	Área de IBP (u.a.)	Área del blanco (u.a.)	SNR
0.001	87	124	0.70
	96	116	0.83
	90	131	0.69
Valor medio de la relación señal/ruido			0.74
0.003	232	118	1.97
	243	125	1.94
	251	133	1.89
Valor medio de la relación señal/ruido			1.93
0.005	379	120	3.16
	392	129	3.04
	373	115	3.24
Valor medio de la relación señal/ruido			3.15

Tabla 7. Áreas experimentales y relación señal/ruido (SNR) determinadas para calcular el límite de decisión (LD) del ibuprofeno en agua de la llave

Los límites de detección y cuantificación fueron calculados de acuerdo con las ecuaciones 4-7 señaladas en la sección 2.1.2. Con base en los resultados mostrados en la Tabla 8., se determinó como límite de detección a la concentración 0.03 mgL^{-1} y como límite de cuantificación 0.04 mgL^{-1} .

Concentración (mgL ⁻¹)	Área de IBP (u.a.) (n=7)							Media del área (u.a.)	Desviación estándar (σ)
0.005	315	390	413	322	441	474	388	406	50
Límite de detección (LDD)									
A'LDD (u.a.)			556.1						
Concentración LDD (mgL ⁻¹)			0.03						
Límite de detección (LDC)									
A'LDC (u.a.)			906.4						
Concentración LDC (mgL ⁻¹)			0.04						

Tabla 8. Determinación de los límites de detección y cuantificación de ibuprofeno en agua de la llave

2.2.2.3 Precisión y exactitud

Los resultados de precisión y exactitud se presentan en la Tabla 9. La precisión mostró valores del coeficiente de variación menores al 5% siendo la concentración más baja la que presentó un mayor coeficiente de variación de 2.2%. Entretanto, los porcentajes de recuperación oscilan entre 96.9-103.6%. La precisión y la exactitud están en buena concordancia y son aceptables de acuerdo con lo señalado por Taverniers *et al*, 2004 y la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura, 2015. De forma similar al método validado para agua Mili-Q, en el agua de la llave tampoco existen dispersiones significativas de la señal analítica ni pérdida de analito durante el procedimiento experimental.

Parámetro evaluado	Concentración (mgL ⁻¹)		
	0.05	5	50
Precisión (%CV)	2.2	0.7	0.9
	Concentración (mgL ⁻¹)		
	0.5	10	40
Exactitud (%R)	96.9-103.1	100.4-103.6	98.1-102.3

Tabla 9. Precisión y exactitud del método de cuantificación de IBP en agua de la llave

2.2.3 Evaluación del efecto matriz y comparación entre métodos

En la Tabla 10 se muestra un resumen de los parámetros de desempeño evaluados para la validación de cada curva de calibración; en la cual se observa que ambos métodos exhiben parámetros de desempeño con magnitudes similares y aceptables de acuerdo con las guías de validación nacional e internacional.

En este contexto, la similitud de los valores obtenidos para la pendiente de ambas curvas de calibración indica, que las posibles sustancias que componen al agua de la llave y pudieran actuar como interferentes de la medición analítica, no propician un cambio sustancial en la sensibilidad de la señal.

Esto se corrobora al comparar las pendientes de ambos métodos (Figura 6); dónde únicamente, se aprecia una ligera desviación entre las áreas obtenidas en los niveles de concentración más bajos (0.5-2) mgL⁻¹. No obstante, los valores determinados para la precisión y la exactitud sugieren que las mínimas desviaciones de los resultados no afectan sustantivamente a la señal analítica en los niveles más bajos de concentración.

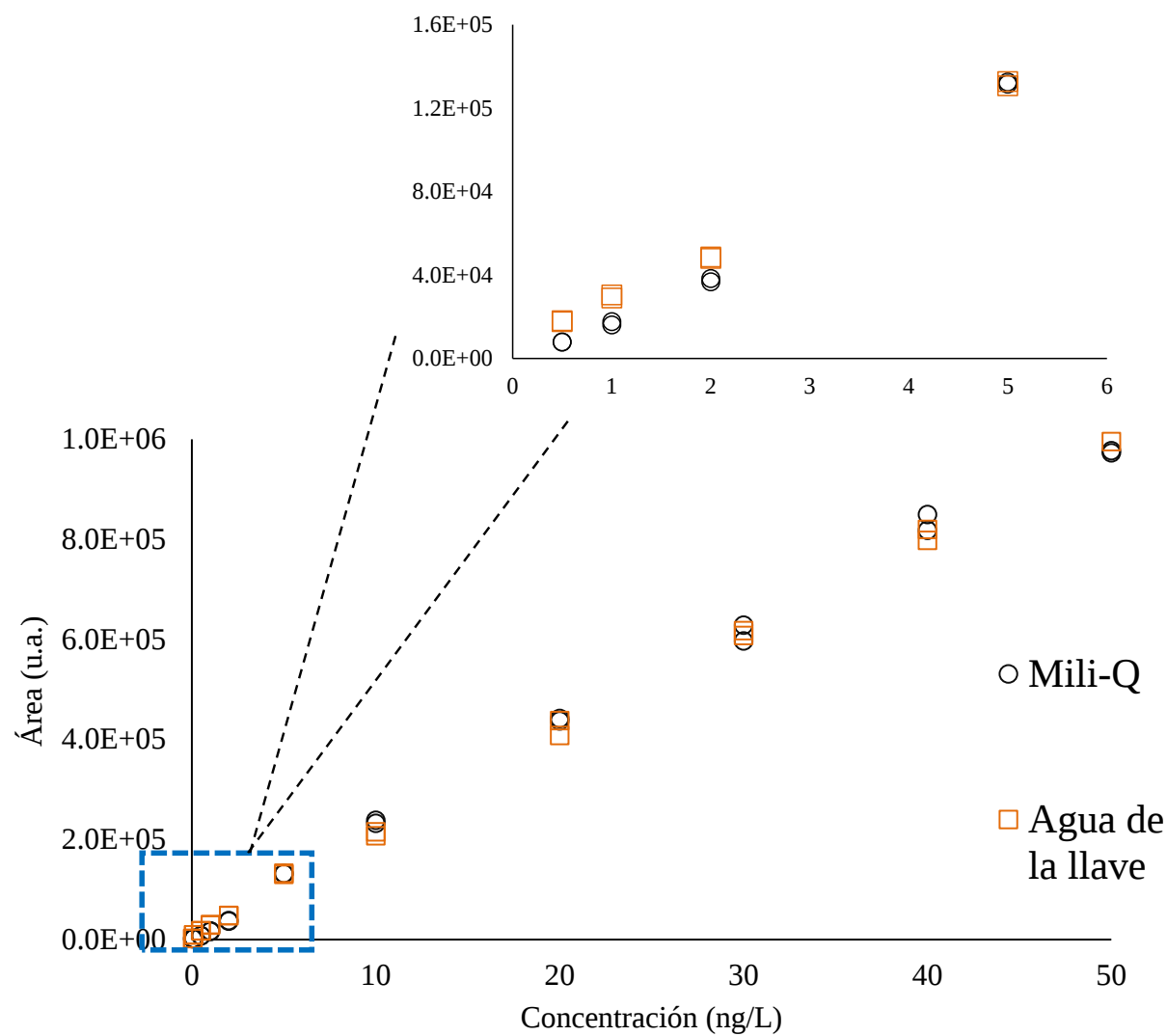


Figura 6. Evaluación del efecto matriz mediante la comparación de las curvas de calibración del agua Mili-Q y de la llave dentro del intervalo de concentraciones comprendido entre 0.05-50 mgL⁻¹

Parámetro	Agua Mili-Q	Agua de la llave	n
Linealidad			
Intervalo de trabajo (mgL ⁻¹)	0.05-50	0.04-50	30
Pendiente (u.a./mgL ⁻¹)	20188±290	20038±302	
Intercepto (u.a.)	28.5±66.0	115.92±69	
Coeficiente de correlación (r)	0.999	0.999	
Precisión (%CV)			
0.05 mgL ⁻¹	2.0	2.2	7
5 mgL ⁻¹	0.4	0.7	
50 mgL ⁻¹	0.2	0.9	
Exactitud (%Recuperación)			
0.5 mgL ⁻¹	98.8-101.1	96.9-103.1	7
10 mgL ⁻¹	98.6-102.8	100.4-103.6	
40 mgL ⁻¹	98.4-100.5	98.1-102.3	
LD (mgL⁻¹)	0.005	0.005	3
LDD (mgL⁻¹)	0.03	0.03	7
LDC (mgL⁻¹)	0.05	0.04	7

Tabla 10. Resumen de los parámetros de desempeño de la validación de los métodos para cuantificar ibuprofeno en agua Mili-Q y de la llave.

2.3 Aplicabilidad de los métodos de cuantificación de ibuprofeno

Los resultados de la degradación fotocatalítica de ibuprofeno para ambos tipos de agua empleando el fotocatalizador ZnS/BiOBr (10:90 %m/m) son mostrados en la Tabla 11. En donde se puede observar que todos los niveles de concentración calculados presentan valores de desviaciones estándar significativamente menores a sus correspondientes valores medios de concentración, demostrando así que el método es robusto para medir cambios en la concentración de ibuprofeno en ambos tipos de agua a lo largo de los tiempos de reacción evaluados.

Tiempo (min)	Agua Mili-Q		Agua de la llave	
	Valor medio de concentración IBP (mgL ⁻¹)	Desviación estándar (σ)	Valor medio de concentración IBP (mgL ⁻¹)	Desviación estándar (σ)
0	29.87	0.23	30.14	0.07
5	26.44	0.15	25.31	0.07
10	21.87	0.26	20.73	0.09
15	15.88	0.18	16.25	0.20
30	10.86	0.20	14.73	0.09
45	7.25	0.17	9.3	0.06
60	2.59	0.14	5.21	0.10
90	0.15	0.02	2.21	0.15
120	0.06	0.01	0.57	0.21
180	<LDD	-----	0.08	0.02
240	<LDD	-----	<LDD	-----
300	<LDD	-----	<LDD	-----

Tabla 11. Cinéticas de degradación de ibuprofeno. a) Agua Mili-Q, b) Agua de la llave. Los resultados están mostrados como los valores promedio $\pm$ desviación estándar ($X \pm \sigma$), LDD. Límite de detección

Conclusiones

Los métodos de cuantificación analíticos desarrollados para agua Mili-Q y de la llave han sido validados satisfactoriamente de acuerdo con la guía nacional CCAYAC-CR-03/1 y la guía internacional Eurachem para medir la concentración de ibuprofeno dentro del intervalo comprendido entre 0.05 y 50 mgL⁻¹.

El método desarrollado es robusto y eficiente para analizar cambios en la concentración de ibuprofeno productos de reacciones de degradación fotocatalítica en los dos tipos de agua examinados.

Agradecimientos

Se agradece al la DGAPA, UNAM por el financiamiento brindado como parte del proyecto PAPIIT IA103818.

Referencias Bibliográficas

Andreozzi, R., Raffaele, M. and Paxéus, N. (2003) 'Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment', 50, pp. 1319–1330.

Cardoso da Silva, Julio César, Reis Teodoro, A. R. *et al.* (2014) 'Photolysis and photocatalysis of ibuprofen in aqueous medium : characterization of by- products via liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry and assessment of their toxicities against *Artemia Salina*', *Journal of Mass Spectrometry*, 49, pp. 145–153. doi: 10.1002/jms.3320.

ChemPub, Bethesda (MD), National Library of Medicine (US), N. C. of B. I. (2004) *No Title*. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3672>.

Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura (2015) *CRITERIOS PARA LA VALIDACIÓN INTERNA Y CONFIRMACIÓN DE MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS*.

Eurolab España and P.P. Morillas y colaboradores (2016) *Guía Eurachem: La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos-Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. 1° ed., Eurachem. 1° ed.

Lazos, R. J. and Hernández, I. (2004) 'La Validación De Métodos : Un Enfoque Práctico', *Cenam*, pp. 1–5. Available at: <https://www.cenam.mx/simposio2004/memorias/TA-090.pdf>.

Rouessac, F., Rouessac, A. and Brooks, S. (2008) *Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques, Seafood and Freshwater Toxins*:

Pharmacology, Physiology, and Detection, Second Edition. doi: doi.org/10.1021/ed085p373.

Taverniers, I., De Loose, M. and Van Bockstaele, E. (2004) 'Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance', *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 23(8), pp. 535–552. doi: 10.1016/j.trac.2004.04.001.

Tita, B. et al. (2011) 'Kinetic Study of Decomposition of Ibuprofen under Isothermal Conditions', *Revista de Chimie*, 62(February), pp. 2016–2021.

Wang, Jiajia et al. (2017) 'Applied Catalysis B : Environmental Atomic scale g-C 3 N 4 / Bi 2 WO 6 2D / 2D heterojunction with enhanced photocatalytic degradation of ibuprofen under visible light irradiation', *Applied Catalysis B, Environmental*, 209, pp. 285–294. doi: 10.1016/j.apcatb.2017.03.019.

Publicación periódica

Carolina Martínez Avelar. (2020), ***Estudio de la actividad fotocatalítica de esquemas Z basados en oxihaluros de bismuto y sulfuros metálicos para la degradación de contaminantes orgánicos en agua***, recurso en línea, noviembre, páginas 143.

(http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/PQ6F5I4T32PTDML4HJXEFYUH1TC9EY7ISUL3HUQ3TSB2X1TJX2-05547?func=full-set-set&set_number=022687&set_entry=000001&format=999)