

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS AMBIENTALES Y BIOTECNOLOGIA



**“NANOMINERAL IMOGOLITA COMO FASE ECOSORBENTE
PARA LA EXTRACCIÓN DE 17 β -ESTRADIOL EN AGUA”**

**Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en
cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Química
Ambiental.**

Por:

CATALINA ORELLANA GARAY

Director de Tesis

Dra. MERCEDES BECERRA HERRERA

Co-Director de Tesis

Dr. NICOLÁS ARANCIBIA MIRANDA

SANTIAGO - CHILE

2020

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TITULO

Se informa a la Escuela de Ciencias ambientales y Biotecnología de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la Srta. Catalina Orellana Garay.

“NANOMINERAL IMOGOLITA COMO FASE ECOSORBENTE PARA LA EXTRACCIÓN DE 17 β -ESTRADIOL EN AGUA”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Química Ambiental.

Director de Tesis:

Dra. Mercedes Becerra Herrera.

Co-Director de Tesis:

Dr. Nicolás Arancibia Miranda.

Comisión Informante:

Dr. _____

Dr. _____

BIOGRAFIA

Catalina Orellana Garay nació un lunes 25 de Julio del año 1994 en la Clínica “Madre e Hijo” en la comuna de Santiago Centro, Chile. Estudio parte de su enseñanza básica en el colegio CEDI, de la comuna de Macul donde estuvo hasta cuarto básico. El año 2005 ingresó al Colegio San Viator donde se mantuvo hasta completar su enseñanza media en el año 2012.

En el año 2013 ingreso a estudiar la carrera de Química Ambiental en la Universidad de Chile donde ha continuado sus estudios hasta el día de hoy.

DEDICATORIA

Dedicado a mi Mamá por su paciencia y apoyo incondicional durante esta etapa de aprendizaje; a mi papá por su preocupación y cariño; a mi hermana Daniela, a mi primas, en especial a la Carito y la Valita; a mi eterna amiga colegiala, Camila, por las risas y sus palabras de aliento en los momentos de estrés; a Filippo, mi compañero de aventuras, por su tiempo, su compañía en los días de estudio, su confianza y su amor incondicional.

A todas mis amigas y amigos del Vive Tus Parques en especial a la Feña, Cote, Nati y la Andre; a mis conocidos del INJUV, que estuvieron dispuestos a escucharme y darme su ánimo; a todos mis compañeros del Laboratorio de Analítica, que son personas de las cuales aprendí mucho y que siempre tuvieron la voluntad de ayudarme. A la Dra. Fallon Nacarrete la cual fue una guía de apoyo en este proceso. Al Dr. Sebastián Salazar por el ánimo y consejos en tiempos de pandemia.

A la Profesora M. Inés Toral y al Dr. Nicolás Arancibia por sus enseñanzas. Finalmente a la Dra. Mercedes Becerra, por su orientación, cariño, confianza y apoyo incondicional en todo el proceso final, la mejor directora de tesis, ya que pese a la distancia, su compromiso y dedicación siempre estuvieron.

En general se los dedico a todos los que confiaron en mí, cuando ni yo misma lo hacía.

“ La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste”.

Marie Curie

ÍNDICE DE MATERIAS

BIOGRAFIA.....	ii
DEDICATORIA	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIACIONES	x
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Química Analítica Verde.....	1
1.2. Nanotecnología para el análisis ambiental.....	2
1.3. Imogolita	4
1.3.1 Composición y estructura.....	5
1.3.2 Propiedades Fisicoquímicas.....	6
1.3.3 Usos y ventajas.....	9
1.4 Adsorción del estrógeno 17 β -estradiol desde matriz acuosa.....	11
1.4.1 Estrógenos como contaminantes emergentes.....	11
1.4.2 Micro-extracción en fase sólida.....	13
1.4.3 Detección por Espectrofluorimetría.....	17
1.5 Objetivo General.....	18
1.5.1 Objetivos Específicos.....	18
PARTE EXPERIMENTAL	19
2.1. Reactivos.....	19
2.2. Materiales.....	19
2.3. Equipos, Instrumentos y <i>Softwares</i>	20
2.4. Procedimientos experimentales.....	20
2.4.1. Selección y preparación de estándar de 17 β -estradiol.....	20
2.4.2. Estudios preliminares espectrales de 17 β -estradiol por Espectrofluorimetría.....	21

2.4.2.1.	Curva de calibración.....	22
2.4.3.	Estudios preliminares.....	22
2.4.3.1.	Estudios con Fase Octadecilo silano C18.	22
2.4.3.2.	Estudio con Imogolita como fase sorbente.....	23
2.4.3.3.	Evaluación del acondicionamiento de la Imogolita.....	24
2.4.4.	Evaluación del efecto pH en la adsorción de 17β-estradiol con imogolita. ...	25
2.4.5.	Evaluación de la eficiencia de imogolita como fase sorbente bajo los efectos de funcionalización y purificación.....	26
2.4.5.1.	Evaluación de Imogolitas funcionalizadas.....	26
2.4.5.2.	Evaluación de Imogolita purificada.	27
2.4.6.	Optimización del método.....	27
2.4.7.	Estudio de la adsorción de 17β- Estradiol en Imogolita.	28
2.4.7.1.	Estudio Cinético.	28
2.4.7.2.	Estudio de Isotermas de adsorción.	30
2.4.7.3.	Análisis IR.....	31
2.4.8.	Validación del método analítico.....	32
2.4.8.1.	Curva de Calibración.....	32
2.4.8.2.	Precisión.....	32
2.4.8.3.	Límite de detección del método.....	33
2.4.8.4.	Límite de cuantificación del método.....	33
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1	Estudios preliminares espectrales de 17β-estradiol por Espectrofluorimetría.....	34
3.1.2	Curva de calibración.....	35
3.2	Comparativa de estudios preliminares de la imogolita con la fase comercial Octadecilo silano C18.	37
3.3	Efecto pH.	41
3.4	Evaluación de la eficiencia de imogolita como fase sorbente bajo efectos de funcionalización y purificación.....	42

3.5	Optimización del método.....	47
3.6	Estudio con la Hormona E3.	50
3.7	Estudio de adsorción de E2 por la imogolita mediante difusión.....	51
3.8.	Determinación del comportamiento de adsorción de 17β-Estradiol en Imogolita. 53	
3.8.1.	Estudio Cinético.	53
3.8.2.	Estudio de Isotermas de adsorción.	55
3.8.3.	Análisis IR.....	57
	CONCLUSIONES.....	61
	BIBLIOGRAFIA.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Matriz de experimentos basada en el diseño Doehlert para dos factores.	28
Tabla 2. Parámetros obtenidos de la curva de calibración, por Espectrofluorimetría.....	36
Tabla 3. Diseño de la superficie de la matriz Doehlert y los resultados para Estradiol.	47
Tabla 4. Parámetros analíticos obtenidos del procedimiento optimizado.	49
Tabla 5. Resultados de los parámetros cinéticos de adsorción para 17β-estradiol con las distintas Fases evaluadas.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración esquemática de la estructura de los nanotubos de imogolita. (Yah et al., 2010)	5
Figura 2. Representación de los tipos poros A, B, C y de la organización hexagonal. (Bonelli et al., 2013).	6
Figura 3. (a) Estructura de la molécula de 17 β -estradiol. (b) Estructura de la molécula de estriol. (c) Estructura de la molécula de estrona.	13
Figura 4. Esquema general de la LLME. (Cortés et al., 2012)	14
Figura 5. Esquema general de la SDME. (Cortés et al., 2012)	14
Figura 6. Esquema general de la MASE. (Cortés et al., 2012).	14
Figura 7. Esquema general del procedimiento de la DLLME. (Pérez et al., 2014).	15
Figura 8. (A) Esquema general usado en cromatografía para SPME. (B) Esquema general de extracciones en solido (SPE). (Santa et al., 2002)	15
Figura 9. Estructura química de fase sorbente Octadecilo silano C18.....	16
Figura 10. Estructura química de la fase sorbente Oasis [®] HLB.	16
Figura 11. Procedimiento experimental general realizado para estudios preliminares.....	24
Figura 12. Barrido en 3D del 17 β -estradiol.	34
Figura 13. Espectros de la curva de calibración de 17 β -estradiol en agua desionizada.....	35
Figura 14. Curva de calibración de 17 β -estradiol en agua desionizada.....	36
Figura 15. (a) Espectros de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con imogolita. (b) Espectros de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con C18.	37
Figura 16. Comparativa de los porcentajes de adsorción de E2 en función del tiempo contacto con imogolita y C18.....	38
Figura 17. Comparación en la adsorción utilizando fases con y sin acondicionamiento.....	39
Figura 18. Comparativa del efecto del pH en la adsorción de E2 por Imogolita, determinado por Espectrofluorimetría.	41
Figura 19. Comparativa del porcentaje de adsorción alcanzado por las distintas fases funcionalizadas e imogolita.	43

Figura 20. Espectros de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con imogolita purificada.	45
Figura 21. Comparativa en base al porcentaje de adsorción de E2 en función del tiempo contacto con imogolita purificada e imogolita sin purificar.	46
Figura 22. Contornos de la superficie de respuesta estimada de deseabilidad de E2.	48
Figura 23. Espectros de E3 en función del tiempo de contacto con imogolita purificada.	50
Figura 24. (a) Espectros de E2 en función del tiempo de contacto por difusión con imogolita purificada. (b) Porcentaje de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto.	51
Figura 25. Modelación cinética de pseudo primer orden (PPO), para las distintas fases evaluadas.	54
Figura 26. Isotherma de adsorción para imogolita.	55
Figura 27. Espectro Infrarrojo de Imogolita.	57
Figura 28. Espectros de infrarrojo de 17 β -estradiol (E2).	58
Figura 29. (a) Espectros de infrarrojo de Imogolita posterior a la adsorción de E2. (b) Espectros infrarrojo de Imogolita en el blanco.	59

LISTA DE ABREVIACIONES

IM	Imogolita
CNT	Nanotubos de carbono
MIPs	Polímeros de impresión molecular
C18	Octadecil Silano
SPME	Microextracción en fase sólida
CE	Contaminante Emergente
E2	17 β -estradiol
E3	Estriol
IF	Intensidad de Fluorescencia
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
%RSD	Precisión
PPO	Pseudo Primer Orden
PSO	Pseudo Segundo Orden

RESUMEN

El creciente interés por el uso de materiales que generen el menor impacto al medio ambiente y que permitan versatilidad en su uso, han hecho que las nanoarcillas sean una opción altamente viable, gracias a sus propiedades químicas y físicas, tales como nanotamaño, potencial catalítico o adsorción.

Nuestro enfoque de investigación fue la nanoarcilla inorgánica Imogolita, que puede encontrarse en la naturaleza o ser sintetizada. Para esta oportunidad se trabajó con imogolita sintetizada en el Centro para el Desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología (CEDENNA).

La imogolita presenta grupos anfóteros de aluminol y silanol que le dan interesantes propiedades ácido-base; combinadas con su estructura porosa y nanotubular, la hacen altamente atractiva como adsorbentes de contaminantes en soluciones acuosas.

En este trabajo se estudió la adsorción de 17β -estradiol desde una solución acuosa verificando el comportamiento adsorbente de la Imogolita, con posterior detección y cuantificación del 17β -estradiol en la solución mediante Espectrofluorimetría.

Se realizaron estudios en batch con microextracción en fase sólida y se ajustaron variables que pudiesen influir en el porcentaje de adsorción (tiempo agitación, pH y masa de imogolita). Las fases de imogolita modificadas estructuralmente con las fases comerciales en los porcentajes 10%, 25% y 50% obtuvieron porcentajes de adsorción de un 58,4%, 60,5% y 71,1 % con C18 respectivamente, y 53,5 % 56,2% y 65,8% con Oasis[®] HLB.

Se obtuvo una adsorción máxima de 95,5%, utilizando imogolita purificada y cuando las condiciones experimentales incluían: pH 7, dosis de adsorbente de 0,017g por 5,0 mL de solución y una agitación a 1250 rpm por 10,0 minutos. La concentración en la solución extraída de 17 β -estradiol correspondió a 350 μ g/L.

Finalmente se realizaron estudios cinéticos e isotérmicos, en los que se observó que los datos cinéticos ajustados bajos los modelos de Pseudo primer orden y Pseudo segundo orden, tuvieron mayor correlación con el modelo de Pseudo primer orden. Por otra parte se encontró que la imogolita no logra la condición de saturación por lo que no fue posible utilizar los modelos propuestos de Langmuir y Freundlich.

ABSTRACT

The growing interest in the use of new ecomaterials environmental friendly and with high versatility has made nano clays a good option, thanks to their chemical and physical properties, such as nano-size, nanotubes, catalytic potential or absorption.

Our research focus was on the inorganic nanoclay Imogolite, which can be found in nature or synthesized. For this opportunity we worked with synthesized imogolite at the Center for the Development of Nanoscience and Nanotechnology (CEDENNA).

Imogolite has amphoteric groups of aluminol and silanol that give it interesting acid-base properties. In addition, this nanomineral has a nanotubular porous structure, making this nanomineral a highly attractive adsorbents for emerging contaminants of aqueous solutions.

In this study the adsorption of 17β -estradiol from an aqueous solution was studied verifying the adsorbent behavior of the Imogolite, with later detection and quantification of 17β -estradiol in the solution by Spectrofluorimetry.

Solid phase microextraction studies were carried out and all variables were adjusted to obtain the best conditions (rotation time, pH and imogolite mass). The imogolite phases modified structurally with the commercial phases in the percentages 10%, 25% and 50% obtained percentages of adsorption of 58.4%, 60.5% and 71.1% with C18 respectively, and 53.5% 56.2% and 65.8% with Oasis® HLB.

A maximum adsorption of 95.5% was obtained, using purified imogolite and when experimental conditions included: pH 7, adsorbent dose of 0.017g per 5.0 mL of solution and an agitation at 1250 rpm for 10.0 minutes. The concentration in the solution extracted from 17 β -estradiol corresponded to 350 μ g/L.

Finally, kinetic and isothermal studies were carried out, in which it was observed that the kinetic data adjusted under the Pseudo First Order and Pseudo Second Order models had a greater correlation with the Pseudo First Order model. On the other hand, imogolite does not achieve the saturation condition, making impossible to use the Langmuir and Freundlich models.

INTRODUCCIÓN

1.1. Química Analítica Verde.

La Química analítica adquiere una importancia relevante cuando hablamos de análisis químico e instrumental, siendo un gran aporte para la química ambiental sostenible y fundamental para aplicar la filosofía de trabajo de la denominada “Química Verde”, cuyo objetivo es optimizar los procesos químicos, eliminando la formación de productos secundarios y estableciendo condiciones de trabajo poco e incluso no contaminantes con el ambiente. (Kirchhoff et al., 2001).

Tanto en la química analítica y como en la química verde se pretende minimizar el número de ensayos de laboratorio, así como optimizar metodologías, que aporten en laboratorios para el análisis de muestras o a escala industrial, como una planta de tratamientos de aguas. (Dosal & Llano et al., 2014)

Es por ello que el concepto de *química analítica verde* incorpora la filosofía de trabajo de ambas líneas, teniendo varios objetivos comunes, tales como: incluir procedimientos en donde se reemplacen reactivos y disolventes tóxicos por otros de menor toxicidad, reducir el consumo de energía, la generación de residuos, la cantidad de muestra, el tiempo de análisis y los costos del proceso. (Mestres et al., 2013)

En la última década, la investigación en el campo analítico ha seguido los principios de la química verde, para poder lograr una sostenibilidad y sustentabilidad de los procesos. Desde esa perspectiva, se ha motivado una tendencia al desarrollo de nuevas técnicas,

tecnologías y metodologías más selectivas, sensibles, económicas, rápidas y ecoeficientes.

1.2. Nanotecnología para el análisis ambiental.

La nanotecnología es hoy en día una de las disciplinas más trabajadas e importante en la ciencia de los materiales, dando la oportunidad a que las áreas científicas puedan integrarse (Tian et al., 2013). Es por ello que su aplicación en el análisis ambiental se ha intensificado en el último tiempo, teniendo como interés, el estudio de materiales ecosorbentes para la descontaminación (Liu et al., 2014).

Se han realizado estudios con nanomateriales y nanopartículas, principalmente por las propiedades que las caracterizan, como su nano-tamaño, conductividad, resistencia mecánica, magnetismo, absorción, potencial catalítico, alta reactividad y gran energía superficial (Basheer et al., 2018; Cáceres et al., 2016; Álvarez et al., 2016). Entre las alternativas más trabajadas en este rubro, podemos encontrar: nanomateriales carbonosos (nanotubos de carbono (CNT), grafeno, fullerenos), Polímeros de impresión molecular (MIPs), nanopartículas magnéticas (MNP), nanopartículas mixtas o metálicas (TiO₂, SiO₂, AuNPs y Ag NPs) y nanomateriales de arcillas (Azzouz et al., 2018). También se ha estudiado la formación de nanotubos con compuestos inorgánicos, en donde sus principales aplicaciones han sido catálisis y procesos de adsorción (Tenne et al., 2014). Las propiedades físicoquímicas de estos materiales han hecho que sean manipulables a nano escala creando varias clases de nuevos nanomateriales en base a ellas, inspirado en el propósito de encontrar nuevas aplicaciones para la remediación ambiental, lo que sería

una gran ventaja (Gilbertson et al., 2015). Sin embargo, la síntesis de algunas de estas alternativas no son procesos sencillos, pueden ser altamente costosos en material, y dañinos para el medio ambiente, lo que genera limitaciones en su aplicación. Un ejemplo son los CNT, los cuáles son difíciles de sintetizar, separar, purificar, y modificar, determinando un precio elevado (Paradise et al., 2007). Dependiendo del nivel de pureza, el método de síntesis y la cantidad en gramos, CNT de Sigma-Aldrich, Inc. el valor puede oscilar entre \$120.000-\$814.000 pesos chilenos.

Los minerales de arcilla tubular nanométrica son una alternativa de fases ecosorbentes, con especial atención en la viabilidad económica y los beneficios medioambientales que pueden tener, en comparación con otros materiales tubulares, como CNT y los nanotubos de óxido metálico. Su desventaja recae principalmente, en una limitación en sus aplicaciones por los altos costos en la preparación y producción de pequeñas cantidades (Yuan et al., 2016).

Dentro de los nanominerales de arcilla tubular, las alternativas más trabajadas han sido zeolita y montmorillonita, alternativas con un amplio espectro de usos, que van desde la agricultura, fabricación de productos industriales, procesos de catálisis, intercambios iónicos y como adsorbentes. La modificación estructural ha permitido aumentar su efectividad, siendo estudiadas como fases ecosorbentes para distintos compuestos contaminantes. (Martín et al., 2019; Del Mar Orta et al., 2019). Otro nanomineral arcilloso interesante, procedente de suelos volcánicos es la imogolita.

Hasta hace unos años, la imogolita era solo enfoque de estudio en la comunidad científica del suelo, pero gracias a los avances en métodos de síntesis y funcionalización, otras

áreas, como las ciencias de los materiales y la fisicoquímica han considerado a la imogolita como un nanomineral potencial por sus características fisicoquímicas, las cuáles la hacen atrayente, inclusive en el campo de la química analítica, como fase adsorbente para contaminantes de soluciones acuosas (Fernández et al., 2016).

1.3. Imogolita

La Imogolita (IM) es un nanomineral tubular que se obtiene en suelos andisoles y espodosoles, descubierto en 1962 en el suelo volcánico de Kyushu, Japón (Yoshinaga & Aomine et al., 1962). Este mineral se puede producir por medio de purificación y síntesis a partir de una solución acuosa de 5 mM de AlCl_3 y ortosilicato de tetraetilo (TEOS) con una relación Al/Si de 2:1. En 1977 se registró la primera síntesis química, la cual ha ido variando a lo largo de los años (Yah et al., 2010).

No se han encontrado diferencias en las propiedades químicas de la imogolita natural y la sintetizada, tales como bajo grado de cristalinidad, alta superficie específica, área y carga superficial dependiente del pH, que son responsables de su alta reactividad química, haciendo a este nanomineral, altamente atractivo para diferentes ramas científicas. (Bonelli et al., 2016).

1.3.1 Composición y estructura.

La estructura característica de la Imogolita, corresponde a nanotubos de aluminosilicato de pared simple con la estequiometría $(OH)_3Al_2O_3SiOH$, por lo que es considerada un mineral hidratado e hidrofílico. Su superficie externa consiste en una lámina de gibsita, la cual está compuesta por grupos del tipo aluminol $Al-OH$ y $Al_2.OH$, mientras que la superficie interna está dominada por grupos silanol $Si-OH$. (Ma W. et al., 2016)(Fig. 1).

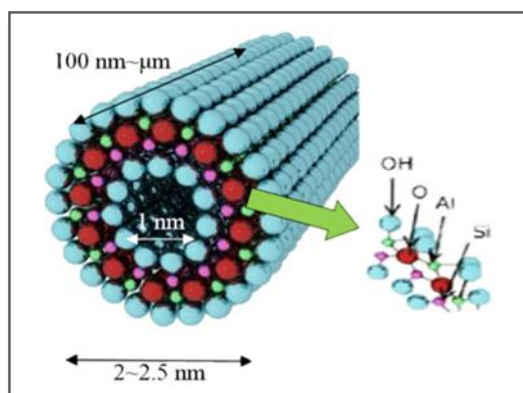


Figura 1. Ilustración esquemática de la estructura de los nanotubos de imogolita. (Yah et al., 2010)

Los nanotubos de IM pueden tener una longitud típica correspondiente a ~ 100 nm, mientras que su diámetro externo e interno corresponden 2.0–2.5 nm y ~ 1.0 nm, respectivamente (Arancibia et al., 2015).

Físicamente, la red de imogolita natural es bastante abierta y en forma de banda, mientras que por síntesis directa, se obtienen estructuras más ordenadas, donde la red de nanotubos está más alineadas y empaquetadas (Ackerman et al., 1993). Dentro de los métodos descritos, para llevar a cabo la síntesis de imogolita, los más fiables son los descritos por Mukherjee y Farmer, por su alta reproducibilidad (Arancibia et al., 2011).

Es importante mencionar que en la síntesis de imogolita, ésta puede obtenerse como gel o polvo de imogolita. En este trabajo, se evaluará la opción en polvo de imogolita como opción para estudiar la sorción de contaminantes.

1.3.2 Propiedades Fisicoquímicas.

Una de las propiedades más importantes de la imogolita es su estructura nanoporosa, que abarca tres tipos de poros y superficies relacionadas. Estas pueden clasificarse en: (i) poro A, de un diámetro interior de 1,0 nm, revestida por grupos SiOH, hidrofílicos; (ii) poro B, aproximadamente 0,3-0,4-nm de ancho, que corresponde a las cavidades entre los nanotubos alineados, siendo inaccesible a las moléculas agua; y (iii) poro C, hendidura mesoporosa, con la presencia de ambos grupos anfóteros SiOH y AlOH. (Bonelli et al., 2013) (Fig 2).

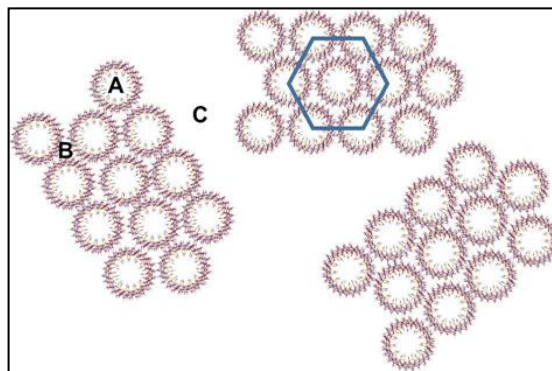
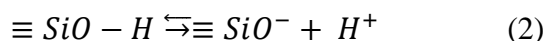
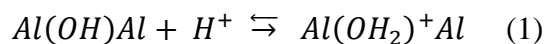


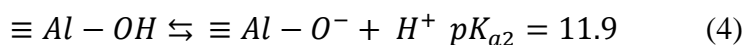
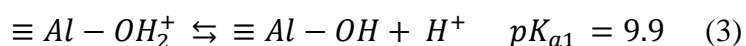
Figura 2. Representación de los tipos poros A, B, C y de la organización hexagonal. (Bonelli et al., 2013).

Dentro de las propiedades químicas, la composición de las superficies de imogolita tiene un efecto importante. A valores de pH neutros en agua, la superficie exterior se carga

positivamente, debido a la protonación de Al-OH-Al, mientras que en el interior Si-OH se disocia parcialmente, de acuerdo con los equilibrios de las ecuaciones (1) y (2) (Gustafsson et al., 2001).



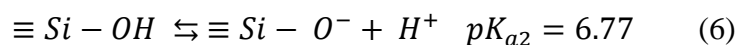
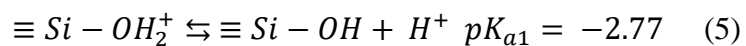
Es importante comprender su comportamiento en agua, ya que nos aporta información sobre la dispersabilidad en agua y precipitación en disolventes orgánicos, característica importante para estudiar su comportamiento como fase sorbente para descontaminación. En vista de que la mayoría de las propiedades únicas de la imogolita están estrechamente relacionadas con su estructura y composición, la presencia de los grupos anfóteros de imogolita origina otra propiedad relevante, las cargas netas superficiales (Sposito et al., 2008). En estas cargas netas, los grupos de superficie se someten a ionización, como se muestra en las ecuaciones (3) y (4).



Los altos valores de pK_{a1} y pK_{a2} dan como resultado una carga superficial positiva en un amplio rango de pH. Lo que implica características electrostáticas favorables al exterior, generando sitios activos adecuados para interacciones aniónicas en la superficie.

En cambio, en la superficie interna de la imogolita, la disociación del hidrogeno en los grupos $\equiv Si-OH$, ocurre a pH 6,8, estará 50 % protonados y bajo este pH los grupos Si-

OH estarán totalmente protonados (ecuaciones 5 y 6). Por lo que se favorecen las interacciones electrostáticas con cationes (Arancibia et al., 2015).



Su comportamiento acido-base peculiar y su estructura porosa hacen de la imogolita un nanomineral interesante para aplicaciones que requieren la presencia de cavidades con diferentes dimensiones, diferentes propiedades químicas y grandes superficies; generando un nanomineral con características adsorbentes.

1.3.3 Usos y ventajas.

Los reactivos y las condiciones de síntesis para la imogolita son fácilmente accesibles y de bajo costo, siendo de gran interés en el contexto de la química analítica y tecnología ambiental. Desde los 80's se han registrado e investigado las aplicaciones de la imogolita, siendo éstas de alta importancia y valor para algunas ramas científicas (Farmer et al., 1983).

La imogolita se ha utilizado como catalizador, esto gracias a las propiedades catalíticas como la baja acidez de la superficie, la ausencia de cationes, su superficie regular, externa e interna, su porosidad definida, y que no requiere de altas temperaturas para su aplicación. (Garrone et al., 2016). También se han estudiado las dispersiones de imogolita, en base a imogolita en gel y que tienen propiedades que sugieren aplicaciones como soporte reversible, para los sólidos en suspensión, controlado por sus características de gel-sol dependientes del pH (Arancibia et al., 2013). Y como en primera instancia el interés científico que recayó en la imogolita fue por sus posibles usos en la eliminación de contaminantes aniónicos y catiónicos, se ha estudiado su capacidad para la remediación ambiental. (Fernández et al., 2016)

Esta aplicación es posible gracias a la alta actividad de la superficie y la capacidad de modificación estructural, generando versatilidad para distintos tipos de tratamientos de contaminación (Arancibia et al., 2015). Es decir, se considera la funcionalización de la imogolita, por ejemplo, la energía superficial de los nanotubos de imogolita puede ser reducida por la introducción de una capa orgánica, y esto puede mejorar enormemente la dispersabilidad de la imogolita en disolventes orgánicos, así como en varias matrices de

polímeros. Una modificación exitosa de la superficie de imogolita a través de la interacción entre Al-OH fue con grupos de aldehídos de benzaldehído. (Shikinaka et al., 2015).

Su estructura y superficie cargada positivamente hacen que la imogolita emerja como una prometedora base para construcción de nanohíbridos orgánico-inorgánicos. Esto siendo una ventaja en distintas disciplinas, incluso en la química analítica, en donde los procesos pueden ser más orientados a la extracción y/o adsorción de contaminantes de interés, potenciando propiedades químicas de este nanomaterial, como lo es su hidrofilia o bien aumentando su hidrofobicidad para compuestos más apolares, los cuales por lo general pueden ser alguno antibióticos, pesticidas o algunos estrógenos.

Teniendo esto en cuenta, se pretende estudiar el comportamiento de la imogolita como fase ecosorbente para la extracción de compuestos orgánicos por primera vez, en este caso, el estrógeno 17β -estradiol.

1.4 Adsorción del estrógeno 17 β -estradiol desde matriz acuosa.

1.4.1 Estrógenos como contaminantes emergentes.

La emisión de contaminantes se ha convertido en un problema medioambiental muy importante, principalmente por los denominados contaminantes emergentes (CE), los cuáles no necesitan ser persistentes para causar efectos negativos, si no que su alta transformación y baja tasa de retiro, puede ser compensada con su introducción continúa al medio ambiente (Ulisse et al., 2014).

Los CE son utilizados diariamente por los seres humanos, incluidos en productos de cuidado personal e industriales, productos farmacéuticos, pesticidas, hormonas, productos químicos industriales, entre otros (Gavrilescu et al., 2015).

Dentro de los CE podemos encontrar alquilfenoles (nonilfenol y octilfenol), clorofenoles (triclosán y metiltriclosán), bisfenol, hormonas esteroides endógenas (17 β -estradiol, estrona y estriol) y sintéticas (17 α -etinilestradiol), los cuales están comúnmente presentes en la industria, la agricultura y los efluentes urbanos (López et al., 2019)

Es importante, además, señalar que algunos CE se han clasificado como químicos disruptores endocrinos (EDC), los cuales pueden ser compuestos capaces de alterar el equilibrio hormonal y el desarrollo embrionario, provocando efectos adversos sobre la salud de un organismo vivo o de su descendencia. (Jugan et al., 2010).

Dentro de este contexto, las hormonas esteroidales tienen gran potencialidad e importancia como disruptores endocrinos, sus efectos adversos en la salud humana incluyen la reducción de espermatozoides, aumento de la incidencia del cáncer de mama,

testículos, próstata y endometriosis. Por otro lado los efectos en el medio ambiente incluyen retrasó en la apertura de los huevos de aves, peces y tortugas; cambio de sexo en los peces, perturbaciones en el sistema reproductivo de peces, reptiles, aves y mamíferos, y cambios en el sistema inmunológico de los mamíferos marinos. (Zarghi et al., 2019)

Estos efectos adversos se han observado en un rango de concentración del orden de los ng/L (Robinson, 2007), significativamente menor a las que se encuentran en las plantas de tratamientos de agua en Chile, en las que se ha medido concentraciones alrededor de los 1.2 $\mu\text{g/L}$ (Corrotea et al., 2016). Esto indica una preocupación a tener en cuenta en nuestras aguas y la necesidad de desarrollar métodos que logren depurar las aguas y disminuir o eliminar dichos contaminantes en ellas (Becerra-Herrera M. et al., 2018).

La hormona esterooidal de interés para esta investigación es la 17β -estradiol o Estradiol (E2), miembro central de una tríada de estrógenos que incluye al Estriol (E3) y Estrona (E1), compuestos estructuralmente similares (Fig.3). El Estradiol junto con la Estrona son los estrógenos más liberados en el ambiente, ya que son excretados por todos los humanos y animales.

El peso molecular del Estradiol es 272,38 g/mol, estructuralmente se puede distinguir ya que tiene dos grupos hidroxilo (OH) (Stillwell et al., 2016), el pKa de su hidroxilo fenólico está en torno a 10,33 y el pKa del hidroxilo en el 17β del ciclopentano es -0.88. Posee un coeficiente de distribución de octanol/agua ($\log K_{ow}$) equivalente a 4,01, siendo un compuesto muy apolar y su solubilidad intrínseca es de 0.028 mg/ml. (Hansch et al., 1998).

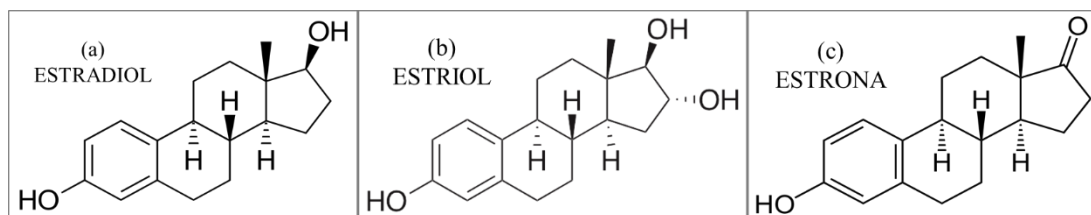


Figura 3. (a) Estructura de la molécula de 17β -estradiol. (b) Estructura de la molécula de estriol. (c) Estructura de la molécula de estrona.

1.4.2 Micro-extracción en fase sólida.

Las plantas de tratamiento convencionales no fueron diseñadas para la remoción ni degradación de contaminantes emergentes como los estrógenos. En consecuencia, los efluentes de las plantas de tratamiento contienen fracciones significantes de éstos, que son descargadas y acumuladas en el ambiente (Ramírez et al., 2015).

La primera vez que se investigó la remoción de estrógenos fue hace 20 años atrás, en donde se encontró que el estradiol era oxidado a estrona y después degradado a etinilestradiol, siendo este persistente (Ternes et al., 1999). Posterior a ello y consecutivamente se han ido estudiando e implementando, técnicas y métodos que incluyen procesos de retención, degradación y/o eliminación de los estrógenos.

Con el fin de orientar la química analítica hacia una química analítica verde, se han descrito otras técnicas en base a la microextracción, dentro de las cuales podemos encontrar:

1. Microextracción líquido-líquido (LLME).

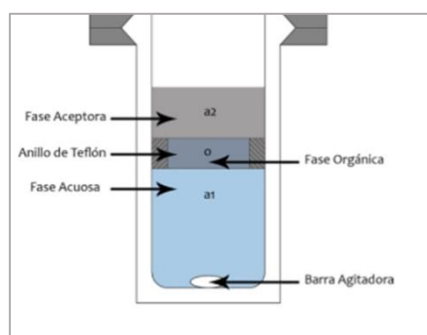


Figura 4. Esquema general de la LLME. (Cortés et al., 2012)

2. Microextracción en una sola gota (SDME).

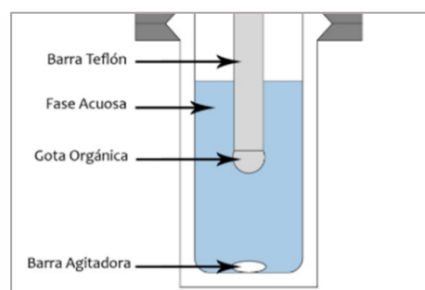


Figura 5. Esquema general de la SDME. (Cortés et al., 2012)

3. Microextracción por membrana (MASE).

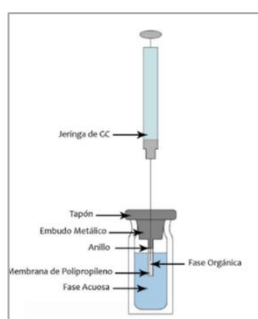


Figura 6. Esquema general de la MASE. (Cortés et al., 2012).

4. Microextracción dispersiva líquido-líquido. (DLLME)

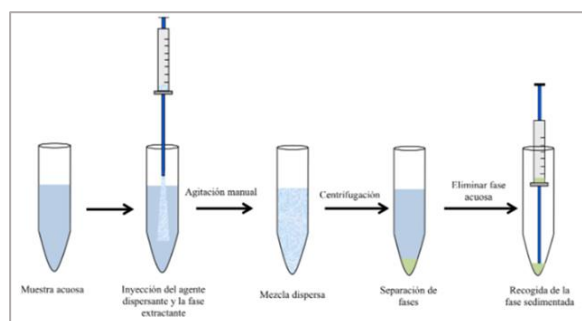


Figura 7. Esquema general del procedimiento de la DLLME. (Pérez et al., 2014).

5. Microextracción en fase sólida. (SPME).

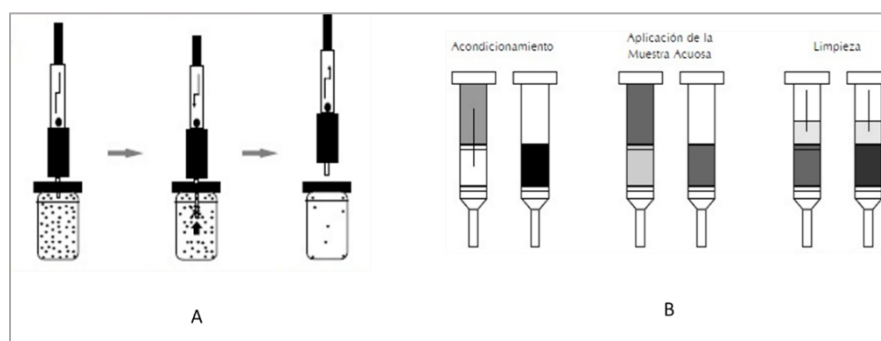


Figura 8. (A) Esquema general usado en cromatografía para SPME. (B) Esquema general de extracciones en sólido (SPE). (Santa et al., 2002)

Debido a la configuración de la imogolita como polvo o como gel, en esta investigación se trabajó en primera instancia en base a la teoría de la SPME. La SPME es una técnica que ha presentado buenos resultados, es altamente demandada, hay una variada gama de sorbentes que son versátiles en su aplicación (Manzo et al., 2015).

Entre las fases más utilizadas para la microextracción de compuestos orgánicos, familiares a los estrógenos, han sido la fase Octadecilo silano C18 (Zuehlke et al., 2005)

y Oasis[®] HLB (Ritcher et al., 2011). La fase C18 SPE es un sorbente hidrofóbico no polar, fabricado con un silano trifuncional y con un extremo para reducir las interacciones secundarias polares asociadas con los grupos de silanol de superficie. Las aplicaciones típicas incluyen analitos de baja polaridad, antibióticos, medicamentos, ácidos grasos, pesticidas, vitaminas, etc.

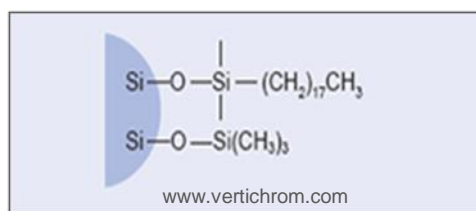


Figura 9. Estructura química de fase sorbente Octadecilo silano C18.

La segunda fase, Oasis[®] HLB, es un sorbente con soporte orgánico que presenta cadenas hidrocarbonadas y anillos bencénicos que le proporciona características lipofílicas, y un grupo lactama que otorga características hidrofílicas al sorbente. Otra de las ventajas de esta fase es que puede extraer por adsorción compuestos apolares y polares, la cual permitiría la extracción de ambos tipos de analitos.

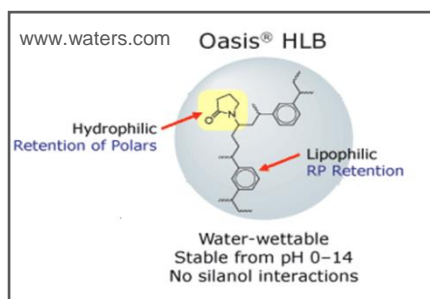


Figura 10. Estructura química de la fase sorbente Oasis[®] HLB.

Por dichas razones, estas fases comerciales son un punto comparativo de cuán eficiente puede ser la imogolita frente la adsorción de 17β -estradiol. Además de ser materiales candidatos para la modificación estructural o funcionalización de la imogolita. Estas funcionalizaciones hacen uso de agentes de acoplamiento, como ácidos organofosfóricos o ácido nítrico. Para el caso de la fase Oasis[®] HLB la modificación puede darse a través de la interacción del grupo lactama y el Al-OH, en la superficie externa, aumentando la hidrofobicidad de la imogolita funcionalizada. Con la fase C18 la interacción también se daría con el grupo Al-OH en la superficie externa, pero no con la cadena octadecil si no con el silano, potenciando también las características hidrofóbicas de la cadena octadecil.

1.4.3 Detección por Espectrofluorimetría.

Para la detección de hormonas en matrices ambientales, se requiere de métodos analíticos de alta sensibilidad debido a sus bajas concentraciones (Jung et al., 2015). Debido al interés por trabajar en aras de la química verde (utilizando técnicas sencillas, poco costosas, libres de solventes, rápidas, entre otras), y gracias a la sensibilidad de las técnicas fluorimétricas, en este trabajo, se utilizará la espectrofluorometría para identificar y cuantificar la hormona 17β -estradiol en solución acuosa .

1.5 Objetivo General.

Estudiar, mediante espectrofluorimetría, el comportamiento de adsorción de la Imogolita como una fase ecosorbente para la extracción de 17β -estradiol desde soluciones acuosas.

1.5.1 Objetivos Específicos.

- ✓ Estudiar la adsorción de 17β -estradiol en imogolita mediante microextracción en fase sólida y detección fluorimétrica.
- ✓ Evaluar los efectos de funcionalización con Octadecilo silano C18 y Oasis® HLB y purificación en la adsorción de 17β -estradiol mediante microextracción en fase sólida y detección fluorimétrica.
- ✓ Determinar las condiciones óptimas de variables fisicoquímicas que influyen en la adsorción de 17β -estradiol mediante microextracción en fase sólida y detección fluorimétrica
- ✓ Evaluar los parámetros analíticos, en la detección fluorimétrica de 17β -estradiol, como curva de calibración, límites de detección y cuantificación, repetitividad, reproducibilidad y porcentaje de eficiencia de adsorción.
- ✓ Estudiar la isoterma de adsorción y la velocidad de adsorción de 17β -estradiol en imogolita ajustando los modelos cinéticos.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Reactivos.

- Hidróxido de sodio 99%, Merck.
- Estándar Estradiol 98%, Sigma-Aldrich.
- Ácido clorhídrico 37% p.a Merck.
- Agua desionizada 18,2 Ω .
- Sorbente sintetizado de Imogolita sólida.
- Sorbente Oasis[®] HLB 30 μ m, Waters
- Sorbente C18-Octadecyl[®].

2.2. Materiales.

- Barras agitadoras magnéticas 15x4.5 mm.
- Celdas o cubeta de cuarzo para Fluorescencia, material Q, paso óptico de 1 mm, Starna[®].
- Matraces de aforo, clase A, de 100 mL.
- Vasos de precipitado, clase A de 25, 50 y 100 mL Duran[®].
- Viales de vidrio ámbar 20 mL con tapa sólida.
- Puntas de pipetas: 100-1000 μ L, 1-10 mL, 0,5 a 10 μ L.
- Guantes de Nitrilo (S) MADEGOM.

2.3. Equipos, Instrumentos y Softwares.

- Balanza analítica Sartorius R200D, precisión 0,01 mg.
- Espectrofotómetro de fluorescencia Hitachi F-2700. *Software* PIN: 4J14110.
- Micropipetas Transferpette® S-Brand (100 -1000 uL y 0,1-5 mL).
- Espectrómetro FT-IR Thermo Scientific™ Nicolet™ iS™5 d.
- OriginPro Lab 8.6.0 (OriginLab Corporation 1991-2012).
- pH-Metro, HANNA HI-111, precisión $\pm 0,01$ pH.
- Mezclador Vortex Vision KMC-1300V.
- Agitador Magnético multiposición JEIO TECH, Modelo MS-52M, Voltaje 100-240 VAC, 50/60 Hz.
- Software Statgraphics Centurion XV para Windows (Manugistics, Rockville, MD, USA).

2.4. Procedimientos experimentales.

2.4.1. Selección y preparación de estándar de 17 β -estradiol.

El 17 β -estradiol o Estradiol (E2), es un estrógeno perteneciente al grupo de las hormonas esteroidales, que en estos últimos años ha llamado la atención de los científicos producto de su frecuente presencia en aguas superficiales y en efluentes de PTAS.

✓ **Estradiol: C₁₈H₂₄O₂: (17 β) estra-1, 3,5 (10)-triene-3,17-diol.**

Se pesaron 0,0078 g de estradiol 98% (Sigma-Aldrich), los cuáles se disolvieron en 10 mL de Metanol, obteniendo una concentración de 7800 mg/L de E2. A partir de esta solución, se preparó un estándar de 100 mg/L en 10 mL, para ello se tomaron 1,28 mL de la solución y se diluyeron en 10 mL de Metanol. A partir de esta solución, se prepararon por dilución los estándares ocupados para el análisis espectral, la curva de calibración y para el enriquecimiento de las muestras en el proceso de extracción del estradiol.

2.4.2. Estudios preliminares espectrales de 17 β -estradiol por Espectrofluorimetría.

Para realizar los estudios preliminares de la conducta espectral del Estradiol, se utilizó un análisis de barrido 3-D, de un estándar de E2 en agua con concentración 550 μ g/L desionizada.

Para el barrido 3D las longitudes de onda de excitación (λ_{exc}), se consideró desde 220 hasta 350 nm con un intervalo de muestreo de 5 nm. Por otro lado, la variación de longitud de onda de emisión (λ_{em}) se consideró desde 220 hasta 600 nm, con un muestreo de emisión de 10 nm. Se utilizaron celdas de cuarzo con un paso óptico de 1 mm, permitiendo de este modo obtener su espectro de emisión y con ello su longitud de onda de excitación para análisis posteriores.

2.4.2.1. Curva de calibración.

Se preparó una curva de calibración, para analizar el comportamiento del estradiol frente al espectrofluorímetro. Para la obtención de la curva de calibración, se preparó un set de estándares, por triplicado, con concentraciones que van entre 50–550 µg/L, considerando el límite instrumental y estimando que dentro de este intervalo de concentraciones, se cuantificarán las muestras a analizar.

2.4.3. Estudios preliminares.

2.4.3.1. Estudios con Fase Octadecilo silano C18.

Sabiendo que esta fase se ha usado para la extracción de hormonas en aguas (Corrotea et.al, 2016) primeramente se realizaron estudios preliminares con la fase comercial Octadecilo silano C18. Esta fase comercial fue seleccionada por su efectivo uso en métodos similares y la afinidad que presenta, debido a su estructura química, con compuestos de baja polaridad como es el caso de la hormona esteroideal E2. Se llevaron a cabo dos procedimientos distintos, el primero incluyó un acondicionamiento de la fase comercial, ya que esta fase requiere de un acondicionamiento para que queden sus sitios activos capaces de captar los contaminantes. Para ello, se preparó un triplicado de viales ámbar de 12 mL con un magneto tubular, y 10 mg de fase C18 cada uno. A cada vial, se le agregaron 5 mL de acetato de etilo y se agitó la mezcla durante 5 minutos en placa

agitadora a 1250 rpm. El procedimiento se repitió dos veces más, pero cambiando el solvente, siguiendo con metanol, y finalmente con agua desionizada.

El segundo experimento también se realizó por triplicado con sus respectivos blancos, para ello se utilizaron viales ámbar de 12 mL, con magnetos tubulares dentro. Se utilizaron 3 viales a los que se les agregó 10 mL de la muestra de agua dopada con E2, y 10 mg C18. Los blancos (n=3) fueron preparados con 10 mL de agua desionizada sin E2 y 10 mg de C18. Las muestras fueron agitadas a 1250 rpm durante un tiempo total de 120 minutos. Se realizó una cinética para la cual se fueron tomando alícuotas de la muestra y analizando en el espectrofluorímetro a los 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos de agitación. Los experimentos se realizaron bajo condiciones ambientales de la matriz (pH del agua y temperatura ambiente).

2.4.3.2. Estudio con Imogolita como fase sorbente.

Los estudios preliminares se llevaron a cabo por SPME dispersiva y se realizaron bajo condiciones ambientales de la matriz (pH del agua y temperatura ambiente). Se utilizó como matriz agua desionizada, la cual fue dopada con una cantidad conocida de 17 β -Estradiol. La muestra se preparó dopando 100 mL de agua desionizada en un matraz, con 350 μ L de 100 mg/L de E2 en agua desionizada, para obtener una concentración conocida de 350 μ g/ L. La solución se midió posteriormente en el Espectrofluorímetro.

Se realizaron pruebas de extracción con la fase sintetizada de imogolita. El experimento se realizó por triplicado con sus respectivos blancos, para ello se utilizaron viales ámbar

de 12 mL, con magnetos tubulares dentro. Se utilizaron 3 viales a los que se les agregó 10 mL de la muestra de agua dopada con E2, y 10 mg de imogolita. Los blancos (n=3) fueron preparados con 10 mL de agua desionizada sin E2 y 10 mg imogolita. Las muestras fueron agitadas a 1250 rpm durante un tiempo total de 120 minutos. Se realizó una cinética para la cual se fueron tomando alícuotas de la muestra y analizando en el espectrofluorímetro a los 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos de agitación.

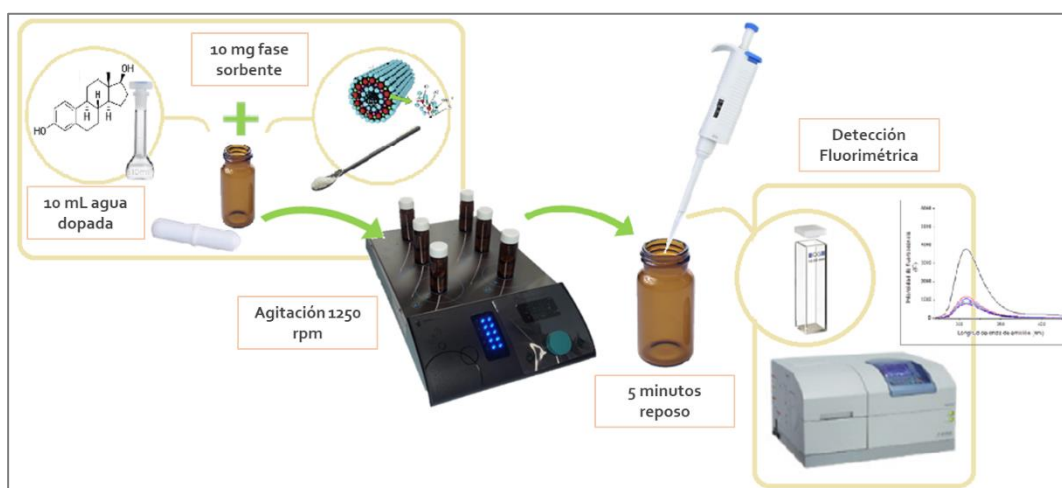


Figura 11. Procedimiento experimental general realizado para estudios preliminares.

2.4.3.3. Evaluación del acondicionamiento de la Imogolita.

Debido a la necesidad de acondicionamiento común de otras fases sorbentes como la mencionada Octadecilo silano C18, se procedió a comprobar si la Imogolita necesitaba también de un acondicionamiento similar y si esto haría que mejorara su capacidad de sorción del contaminante. Así pues, se llevó a cabo un acondicionamiento de la imogolita, el cual fue por triplicado y sus respectivos blancos. Para ello se prepararon viales ámbar

de 12 mL con un magneto tubular, un triplicado con 10 mg de imogolita. A cada vial se le agregaron 5 mL de acetato de etilo y se agitó la mezcla durante 5 minutos en placa agitadora a 1250 rpm. El procedimiento se repitió dos veces más, pero cambiando el solvente, siguiendo con metanol, y finalmente con agua desionizada (es exactamente el mismo procedimiento que se realizó para la C18 (Corrotea et al., 2016). Posterior a ello, se realizó la extracción tal y como se mostró en la figura 11. En este caso, la agitación se realizó en la placa agitadora a 1250 rpm durante dos horas y finalmente el sobrenadante se analizó en el espectrofluorímetro bajo las condiciones establecidas.

2.4.4. Evaluación del efecto pH en la adsorción de 17 β -estradiol con imogolita.

El estudio de pH en la adsorción de E2 se realizó debido a que las hormonas pueden adquirir distinta reactividad química a valores de pH por sobre o bajo sus pKa, la imogolita puede tener distinta afinidad con la hormona por efecto del pH, es por esto que es importante identificar a que pH existe una mayor adsorción. Los pHs de estudio fueron de 3,0; 5,0; 7,0 y 10,0. El pH del agua destilada utilizada para preparar las muestras fue modificado previamente con hidróxido de sodio y ácido clorhídrico (1 M) para valores de pH alcalinos y ácidos, respectivamente. Se prepararon muestras de agua desionizada dopada con 350 μ L de la solución estándar de 100 mg/L de la hormona, teniendo cuatro sets de muestras en total, un set por cada pH, e incluyendo sus respectivos blancos. Se analizó el sobrenadante de cada muestra a tratar en el espectrofluorímetro, en el momento previo y post al procedimiento presentado en la figura 11.

Se midió pH inicial y final de cada muestra para evaluar si las posibles interacciones involucraban un cambio de pH en la solución.

2.4.5. Evaluación de la eficiencia de imogolita como fase sorbente bajo los efectos de funcionalización y purificación.

2.4.5.1. Evaluación de Imogolitas funcionalizadas.

Se evaluó la influencia de la funcionalización de imogolita en la adsorción de 17β -estradiol. La formación de imogolita consta de dos etapas importantes: la coprecipitación y el envejecimiento, siendo en esta última donde se llevó a cabo la funcionalización. Esta etapa se trabaja en condiciones de pH 4.5 (HNO_3 0,1 M), donde la suspensión de imogolita es puesta en contacto con las fases comerciales por un periodo de 24 hrs. Para las funcionalizaciones se utilizaron las fases C18 y Oasis[®] HLB, ambas muy utilizadas para la extracción de contaminantes. Se obtuvo un set de tres fases con C18 en porcentajes de 10%, 25% y 50%, y otro con Oasis[®] HLB utilizando los mismos porcentajes.

Se utilizó agua desionizada, la cual fue dopada con una cantidad de 350 μL de la solución estándar de 100 mg/L de la hormona, la solución se analizó previamente en el espectrofluorímetro.

El procedimiento SPME se realizó por triplicado y sus respectivos blancos, en viales ámbar de 12 mL, con una magneto tubular. Se utilizaron 10 mg de fase funcionalizada y se le agrego una alícuota de 10 mL de agua desionizada dopada, igual que en el resto de extracciones. Los viales fueron agitados a 1250 rpm en placa agitadora durante 90

minutos. Se tomaron alícuotas y se analizaron en el espectrofluorímetro a los 5, 15, 30 y 90 minutos.

2.4.5.2. Evaluación de Imogolita purificada.

La evaluación se llevó a cabo por SPME dispersiva. Se utilizó como matriz agua desionizada, la cual fue dopada con una cantidad conocida de 17β -Estradiol. La muestra de agua se preparó dopando 100 mL de agua desionizada en un matraz, con 350 μ L solución estándar de 100 mg/L de la hormona, para obtener una concentración conocida de 350 μ g/L. La solución se analizó posteriormente en el espectrofluorímetro.

El experimento se realizó por triplicado con sus respectivos blancos, para ello se utilizaron viales ámbar de 12 mL, con magnetos cilíndricos dentro. Se les agregó 10 mL de la muestra de agua dopada y 10 mg de imogolita. Las muestras fueron agitadas en placa agitadora a 1250 rpm. Se fueron tomando alícuotas y analizando en el espectrofluorímetro en los minutos 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 de agitación.

2.4.6. Optimización del método.

Se trabajó en base a la quimiometría para estar en aras de la química verde y reducir el número de experimentos a realizar, para ello se utilizó el Diseño de Doehlert de celda uniforme ($k^2 + k + 1$) la cual considera una matriz de dos factores variables, la masa de imogolita (mg) y el volumen de la solución a tratar (mL). Estableciendo el tiempo constante en 10 minutos para todo el set de experimentos.

Para la optimización se preparó 100 mL de agua desionizada con una concentración de 350 $\mu\text{g/L}$ de 17β - Estradiol, esta solución se analizó en el espectrofluorímetro. Se realizaron un total de ocho experimentos, los cuales fueron preparados en viales ámbar de 12 mL con magneto cilíndrico de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla 1. Matriz de experimentos basada en el diseño Doehlert para dos factores.

<i>Experimentos</i>	<i>Masa adsorbente (mg)</i>	<i>Volumen solución (mL)</i>
1	15	10
2	25	10
3	20	15
4	10	15
5	5	10
6	10	5
7	20	5
8	15	10

Posteriormente los viales fueron agitados en la placa agitadora a 1250 rpm durante los 10 minutos de tiempo establecido, el sobrenadante de cada experimento se analizó en el espectrofluorímetro.

2.4.7. Estudio de la adsorción de 17β - Estradiol en Imogolita.

Para comprender la adsorción de la imogolita frente a la hormona se realizaron dos estudios, un estudio en base a la cinética de adsorción y un estudio isotérmico.

2.4.7.1. Estudio Cinético.

El estudio de la cinética de adsorción nos aporta información en relación con la velocidad de adsorción de la hormona en la imogolita. Para ello se preparó 100 mL de una muestra

de agua desionizada con una concentración de 350 $\mu\text{g/L}$ de 17 β - Estradiol, esta solución se midió previamente en el espectrofluorímetro. El experimento se realizó por triplicado con sus respectivos blancos, para ello se utilizaron viales ámbar de 12 mL, con magnetos cilíndricos dentro. Este experimento se realizó tras el diseño Doehlert y las condiciones usadas fueron 17 mg de imogolita en 5 mL de agua dopada. Las muestras fueron agitadas en placa agitadora a 1250 rpm. Se fueron tomando alícuotas y midiendo en el espectrofluorímetro en los minutos 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 de agitación.

Los datos obtenidos se analizaron usando dos modelos cinéticos. El modelo de Pseudo primer orden que está dado por la ecuación de velocidad para la adsorción en un sistema líquido basado en la capacidad de un sólido:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad \text{Ec. 1}$$

Donde q_e corresponden a la cantidad de soluto adsorbido cuando el sistema alcanza el equilibrio y q_t cantidad en el tiempo t (expresado en ($\mu\text{g mg}^{-1}$)), y k_1 (min^{-1}) constante de velocidad. El modelo de PPO asume que la etapa limitante en un proceso de adsorción es la transferencia de masa del analito desde la solución hacia la superficie del adsorbente. Por otro lado el modelo de Pseudo segundo orden, este modelo postula que la adsorción de solutos ocurre en dos sitios de superficie disponibles del adsorbente y la ecuación de cinética de adsorción está dada por:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{q_e^2 k_2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{Ec. 2}$$

Donde k_2 es la constante de la tasa de adsorción PSO ($\mu \text{ mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

2.4.7.2. Estudio de Isotermas de adsorción.

El estudio de las isotermas de adsorción permite obtener un mayor conocimiento de las interacciones que se presentan entre un sólido, imogolita y la solución; y poder predecir algunos comportamientos del sistema en estudio. Para ello se prepararon siete muestras de agua dopada con 17β - Estradiol de 100 mL, con las siguientes concentraciones 50 – 150 – 250 – 350 – 450 – 550 y 900 $\mu\text{g/L}$. Estas soluciones se analizaron previamente en el espectrofluorímetro.

Se realizó la SPME dispersiva, para cada solución, por duplicado con sus respectivos blancos, para ello se utilizaron viales ámbar de 12 mL, con magnetos cilíndricos dentro. Este experimento se realizó tras el diseño Doehlert y las condiciones usadas fueron 17 mg de imogolita en 5 mL de agua dopada. Las muestras fueron agitadas en placa agitadora a 1250 rpm durante 10 minutos. Una vez finalizado el tiempo establecido, se analizó el sobrenadante en el espectrofluorímetro. Para posteriormente analizar los datos bajo los modelos de Isoterma de Freundlich y Langmüir, en el primero se asume que la superficie del adsorbente es energéticamente heterogénea, conformada por grupos de sitios de adsorción de energías características. También en esta isoterma se considera que no existen interacciones laterales entre las moléculas adsorbidas y que sólo se adsorbe una monocapa. El segundo modelo, Langmüir, todos los centros activos de adsorción son equivalentes y que la capacidad de una molécula para unirse a la superficie es independiente de si hay o no posiciones próximas ocupadas. Además, la adsorción se

restringe a una monocapa y no existen interacciones laterales entre las moléculas del adsorbato. (Lazo et al., 2008)

La cantidad de E2 adsorbida en función de la masa de imogolita se obtuvo de la diferencia entre las concentraciones iniciales y la sobrante cuando el sistema alcanza el equilibrio, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_t)V}{M} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde C_0 es la concentración inicial del analito ($\mu\text{g/L}$), C_t es la concentración en el tiempo t , es decir la concentración de E2 no unido a la imogolita cuando el sistema está en equilibrio, V es el volumen (L), y M es la masa (g) de la imogolita. Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado y el promedio de los resultados se utilizó para el análisis de los datos.

2.4.7.3. Análisis IR

El análisis de espectroscopia infrarroja, es un análisis cualitativo, en base a la detección de la hormona, aporta información sobre la presencia o ausencia de la hormona. Además, permite caracterizar la imogolita en estudio.

Para ello se preparó una muestra de agua desionizada dopada con $900 \mu\text{g/L}$ E2 y su respectivo blanco, se aplicó el procedimiento con los parámetros optimizados para la adsorción. Posteriormente se pipeteo el sobrenadante, tanto de la muestra como el blanco,

dejando solo el sólido de imogolita el cual se dejó secar por 24 hrs. Los sólidos fueron analizados por IR. Además, se incluyeron los estándares de imogolita y E2 en el estudio.

2.4.8. Validación del método analítico.

Para validar el método de determinación de Estradiol en matriz de agua desionizada, es necesario obtener las propiedades analíticas.

2.4.8.1. Curva de Calibración

La curva de calibración fue obtenida a partir de la señal analítica, medida de los estándares preparados en los distintos niveles de concentración, graficando la concentración del analito en función de la intensidad de fluorescencia (IF), se determinó la ecuación de la recta como se muestra la Ecuación 1, donde m y b son los coeficientes de pendiente e intercepto respectivamente.

$$y = mx + b \quad \text{Ec. 4}$$

2.4.8.2. Precisión.

La precisión es expresada como la desviación estándar relativa (RSD) y calculada según la Ecuación 2, donde S = desviación estándar de la serie de mediciones de las muestras, x = porcentaje adsorción media de las muestras.

$$\%RSD = \left(\frac{S}{x}\right) \times 100 \quad \text{Ec. 5}$$

2.4.8.3. Límite de detección del método.

La señal analítica correspondiente al límite de detección se calculó según la Ecuación 4, este valor fue interpolado en la curva de calibración para obtener la concentración del límite de detección.

$$Y_{LD} = \frac{3 \cdot \sigma}{S} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde S es la sensibilidad del método, σ es la desviación estándar de la señal analítica de diez blancos y Y_{LD} la señal analítica correspondiente al límite de detección.

2.4.8.4. Límite de cuantificación del método.

Se calculó de igual forma que el límite de detección, pero la señal analítica correspondiente a la desviación estándar, fue multiplicada por 10, como muestras la Ecuación 4, este valor fue interpolado en la curva de calibración, para obtener la concentración del límite de cuantificación.

$$Y_{LC} = \frac{10 \cdot \sigma}{S} \quad \text{Ec.7}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudios preliminares espectrales de 17β -estradiol por Espectrofluorimetría.

El principal análisis utilizado para evaluar la conducta de fluorescencia y espectral del 17β -estradiol correspondió a un análisis de barrido 3-D. Se registraron diferentes señales entre las longitudes de onda de excitación (λ_{exc}) desde 220 hasta 350 nm. En cuanto a los slit excitación/emisión, se analizaron dos combinaciones: SlitEX/EM 2.5/10 nm/nm y SlitEX/EM 5/10 nm/nm, siendo esta última combinación el parámetro instrumental óptimo, utilizado en los análisis posteriores. De acuerdo con la Figura 12 se aprecia un espectro es más nítido y definido en un rango de longitudes de emisión que está entre 270-370 nm. La longitud de onda de excitación se fijó en 225 nm.

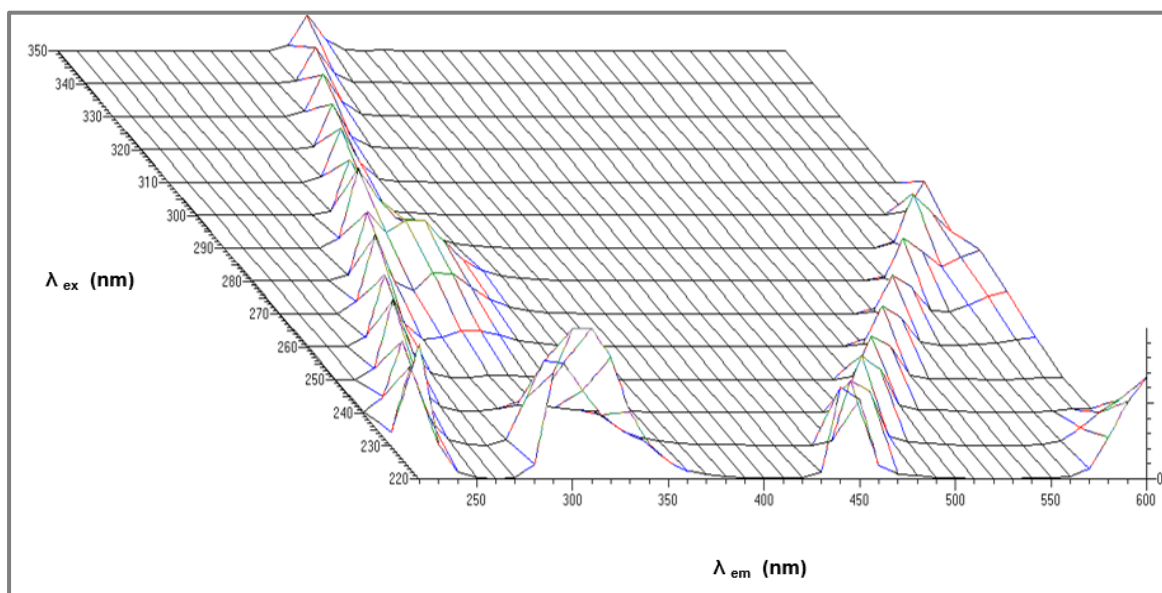


Figura 12. Barrido en 3D del 17β -estradiol.

3.1.2 Curva de calibración.

En la Figura 13 se muestran los espectros correspondientes a las distintas concentraciones de 17β -estradiol en función de la intensidad de fluorescencia (IF), en donde se puede apreciar una relación directamente proporcional.

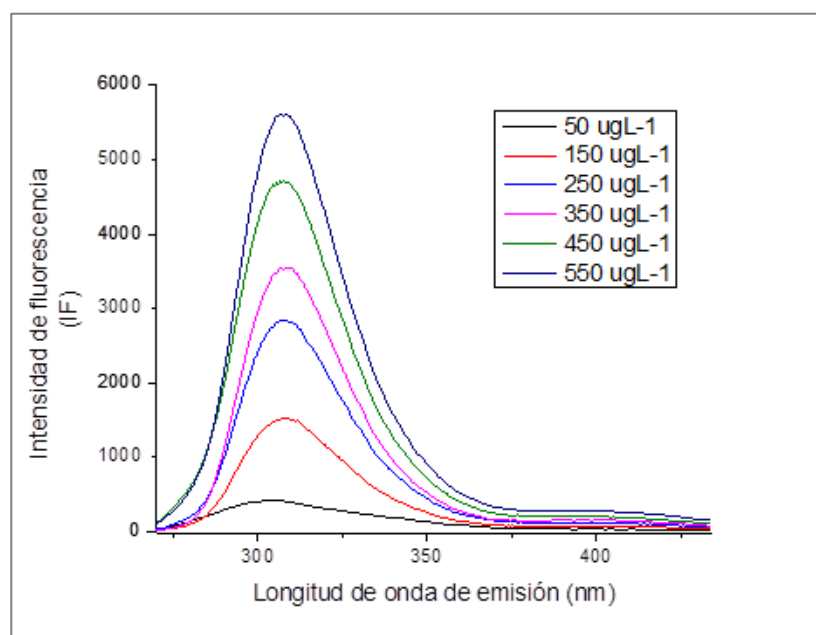


Figura 13. Espectros de la curva de calibración de 17β -estradiol en agua desionizada.

Los valores de concentración utilizados fueron desde $50 \mu\text{g/L}$ hasta $550 \mu\text{g/L}$ esto en función del límite instrumental. En la Figura 14 se muestra la curva de calibración lineal obtenida para la emisión fluorescente de E2 a 225 nm . Se resumen los parámetros obtenidos en la tabla 2.

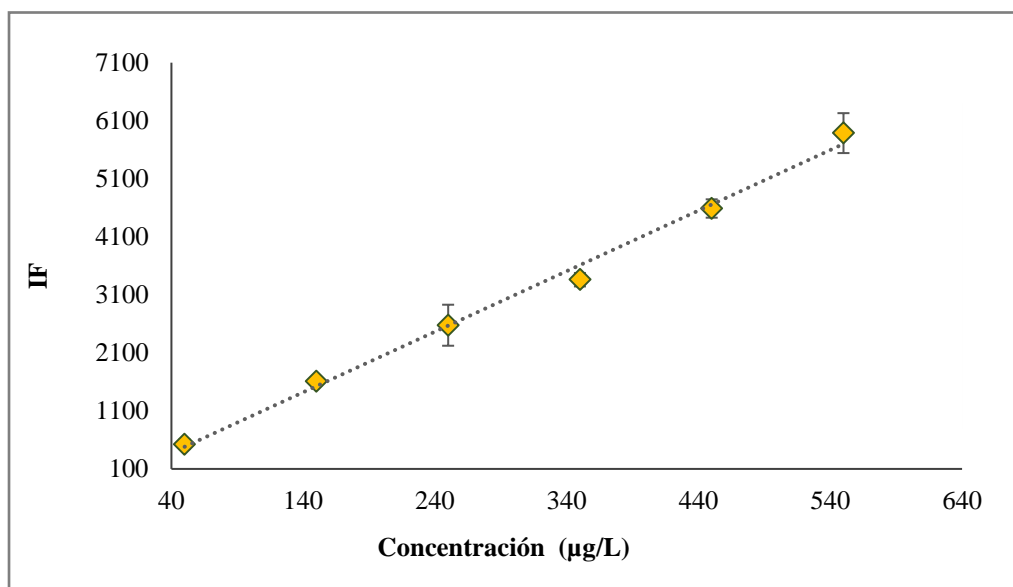


Figura 14. Curva de calibración de 17β-estradiol en agua desionizada.

Tabla 2. Parámetros obtenidos de la curva de calibración, por Espectrofluorimetría.

<i>Analito</i>	<i>Pendiente (sensibilidad) µg/L</i>	<i>R²</i>	<i>Ordenada</i>
17β-estradiol (E2)	10,436	0,9978	-40,467

Podemos observar que el valor R, muestra una buena correlación del analito entre sus concentraciones y la señal obtenida en el Espectrofluorímetro.

3.2 Comparativa de estudios preliminares de la imogolita con la fase comercial Octadecilo silano C18.

En primera instancia se estudió el efecto del tiempo de contacto en el proceso de adsorción de E2 frente a la imogolita y en paralelo se realizaron estudios con la fase comercial C18, sin etapa previa de acondicionamiento. La Figura 15 muestra los espectros de estradiol obtenidos en función del tiempo de contacto con las distintas fases.

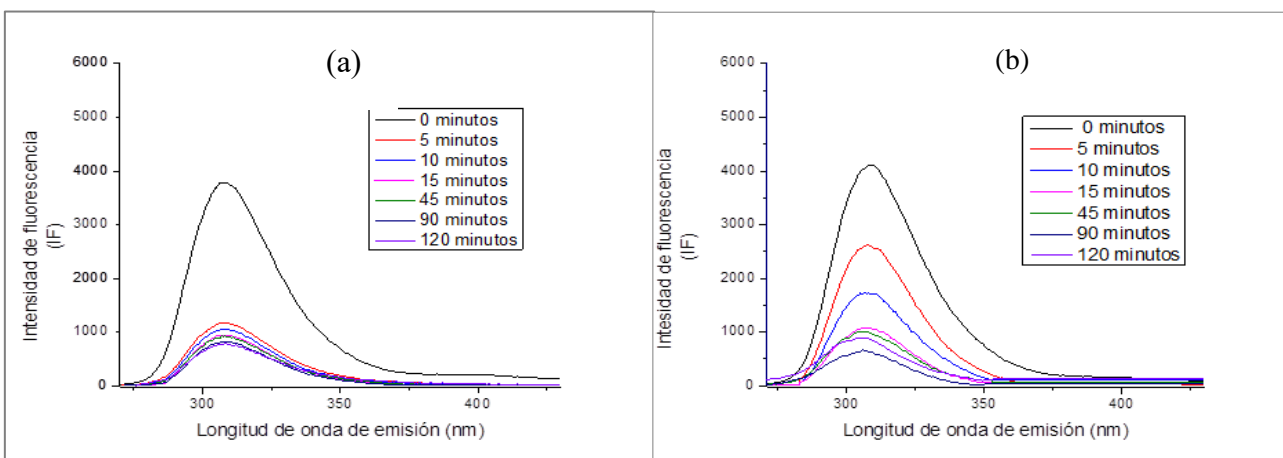


Figura 15. (a) Espectros de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con imogolita. (b) Espectros de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con C18.

El tiempo 0 minutos corresponde a la concentración 350 $\mu\text{g/L}$ de E2, antes de estar en contacto con la fase. Se puede observar una disminución considerable para la experiencia con imogolita, en los primeros 5 minutos de la presencia de E2 en el sobrenadante, la cual se mantiene levemente constante en todos los tiempos posteriores, pudiendo deducir que la imogolita está adsorbiendo a la hormona. En la experiencia con C18, si bien se puede apreciar una disminución considerable de E2, esta toma un mayor tiempo; presentando

valores similares a la adsorción con Imogolita a los 45-90 minutos. La C18 requiere de un mayor tiempo de contacto para llevar a cabo una adsorción eficiente.

Para poder exponer mejor los resultados de la cinética realizada para ambas fases se ha realizado el gráfico que se muestra en la Figura 16, donde se observan los porcentajes de adsorción en función del tiempo de contacto, estos porcentajes se calcularon en base a la intensidad de fluorescencia (IF) inicial y final.

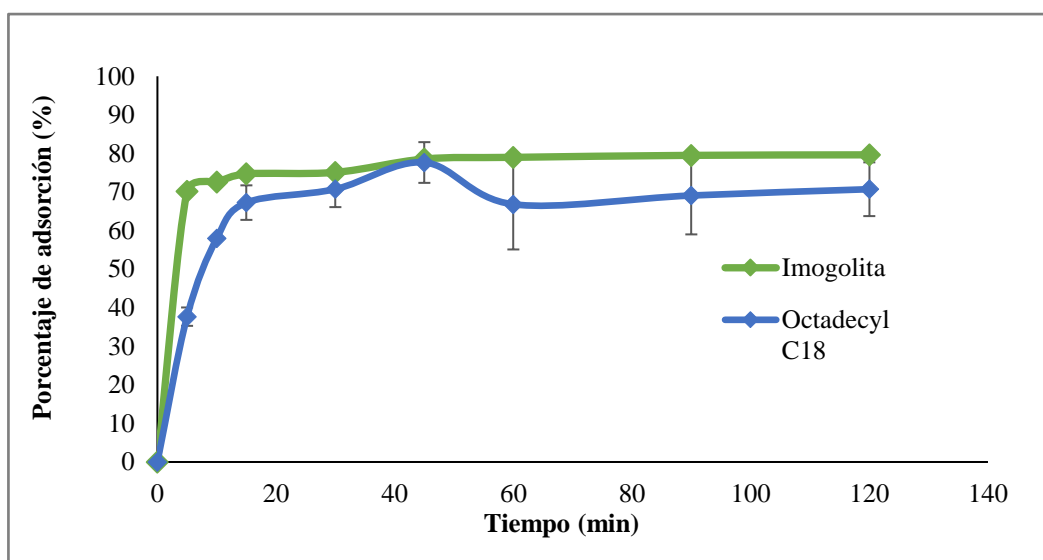


Figura 16. Comparativa de los porcentajes de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con imogolita y C18.

En esta comparativa de las absorciones en función del tiempo, la imogolita presentó mejores resultados que C18 solo en los primeros 5 minutos, en donde se aprecia una adsorción del 70 %, en comparación con la de C18 que es de un 35 %. La imogolita logra un equilibrio prácticamente en los primeros 10 minutos mientras que C18, a los 120 minutos de extracción no ha alcanzado el equilibrio de partición, siendo muy inestable a

lo largo del proceso, evidencia que se aprecia en las barras de error asociadas a las desviaciones estándar relativas de los triplicados, las cuáles se muestran en el gráfico.

Respecto a la precisión del método utilizando C18 o Imogolita, en el caso de C18 los %RSD variaron de 6,3% hasta 14,5%, mientras que los %RSD mostrados cuando se utilizó la Imogolita, variaron de 0,40% hasta 0,49%, reflejando así la eficacia, además de la rapidez, de la Imogolita como fase sorbente de E2.

Este comportamiento observado en C18 puede que se deba a la falta de acondicionamiento. Las fases comerciales por lo general son acondicionadas o ambientadas para activar a la fase (Corrotea et. al, 2016). Esta activación consiste en incorporar grupos polares (hidroxilo y acetilo) que permiten aumentar el carácter hidrofílico de la fase comercial. Así pues, se realizó un segundo experimento acondicionando ambas fases, los resultados obtenidos se resumen en la Figura 17. En este caso, el proceso de adsorción se realizó en 60 minutos.

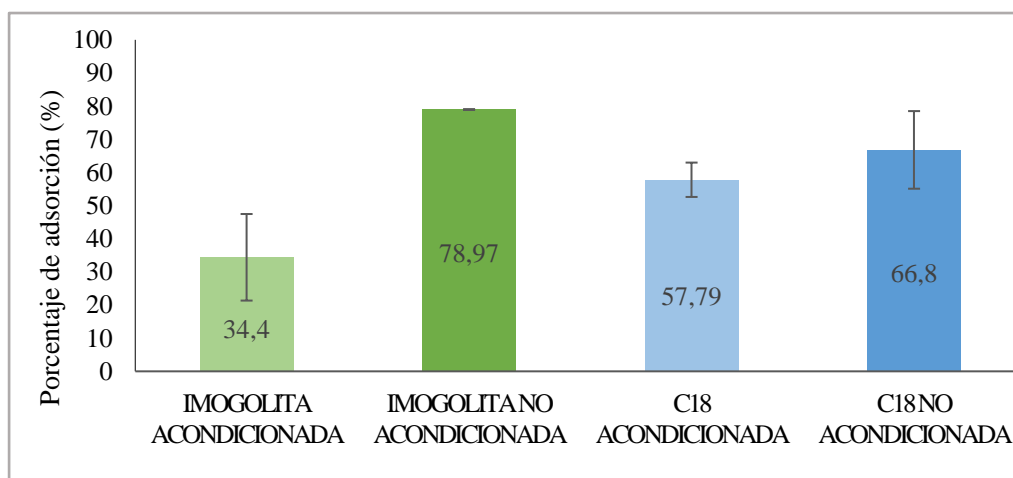


Figura 17. Comparación en la adsorción utilizando fases con y sin acondicionamiento.

La eficiencia de la adsorción con imogolita acondicionada disminuyó más de la mitad con respecto a la imogolita sin acondicionar. Esto puede que se deba a que tanto el metanol como el acetato de etilo estén haciendo uso de sitios activos en la imogolita. Además, presenta un alto error, lo que indica claramente lo perjudicial que es para la imogolita este proceso previo, y demuestra que es totalmente innecesario.

Por otro lado, para la fase comercial C18, el acondicionamiento no mostró resultados muy diferentes frente a la utilización de ésta sin acondicionar, solo logrando disminuir el %RSD de un 14,5% a un 8,9% y aun así su adsorción fue menor. Esto puede que se deba a que la adsorción se llevó a cabo por una hora, lo cual no dio tiempo suficiente para que la C18 alcanzara su adsorción máxima, dejando aún más en evidencia lo lento de su adsorción,

Así pues, podemos deducir que la imogolita sin acondicionar es la mejor fase sorbente, logrando un máximo de adsorción del 78,9% con un mínimo de %RSD del 0,1%. El hecho de que la imogolita no requiera ser ambientada para llevar a cabo la extracción es una gran ventaja, ya que disminuirá la cantidad de reactivos, de tiempo, de costos y de residuos utilizados y generados en este procedimiento, lo que no son procesos recomendados dentro de la química analítica verde.

3.3 Efecto pH.

En el efecto pH aportó información sobre las condiciones óptimas para llevar a cabo la adsorción de E2 en la matriz de estudio utilizando al Imogolita, en la figura 18 se muestran la comparativa de los efectos del pH en la adsorción de E2.

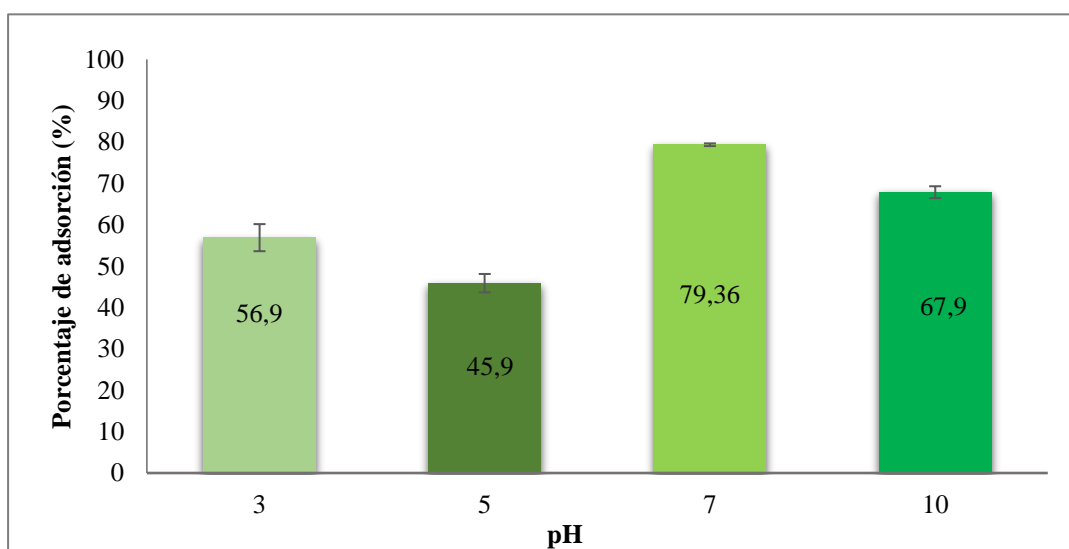


Figura 18. Comparativa del efecto del pH en la adsorción de E2 por Imogolita, determinado por Espectrofluorimetría.

Como se puede ver en la Figura 18, con la imogolita, es posible extraer E2 en un intervalo de pH de 3 y 10, sin embargo, a pH 7 un valor neutro, se favorece la adsorción por sobre los otros pHs. Es importante mencionar que E2 tiene un pKa de 10,33, por lo que en todos los ensayos a los diferentes pHs, la hormona y la imogolita están protonados, sólo a pH 10, la hormona está protonada en un 50%, y el hecho del porque presenta un porcentaje

de adsorción mayor a las experiencias con pH 3 y 5, pero aun así no es más alto que el alcanzado con un pH 7.

A pH 7, la protonación de la imogolita está dada por los grupos de la superficie exterior, los cuales son Al-OH- Al, por otro lado en el interior ocurre una disociación parcial de Si-OH. Es por ello que es difícil establecer que exista una interacción del punto de vista electrostático, aun así puede que haya otras interacciones de mayor energía que lideren la adsorción por fisorción, pero no descartando una adsorción por quimisorción.

Es necesario mencionar que posterior a las extracciones, el pH final medido no presentó variaciones del pH inicial, por lo que se puede deducir que no hay presencia significativa de protones H^+ que pudiese interferir en la adsorción de E2.

3.4 Evaluación de la eficiencia de imogolita como fase sorbente bajo efectos de funcionalización y purificación.

En primer lugar se consideró la capacidad de modificación estructural de la imogolita ya que la hace un material muy versátil, pudiendo orientar su eficiencia como fase sorbente. Esta modificación es un proceso que se realiza durante la síntesis de la misma imogolita, en el proceso de envejecimiento. Para esta oportunidad se evaluó la funcionalización con dos fases comerciales C18 y Oasis[®] HLB.

Se utilizó C18, porque una de las características que se pretendía potenciar era el aumento de la hidrofocidad de la imogolita, con ello la ventaja de una mayor afinidad en la adsorción de E2 al repeler el agua. Por otro lado, con Oasis® HLB, el rango de pH a trabajar podría ampliarse generando mayor estabilidad de la fase en la matriz. Los resultados de las experiencias de imogolita funcionalizadas con diferentes porcentajes y su comparativa con imogolita se resumen en la Figura 19.

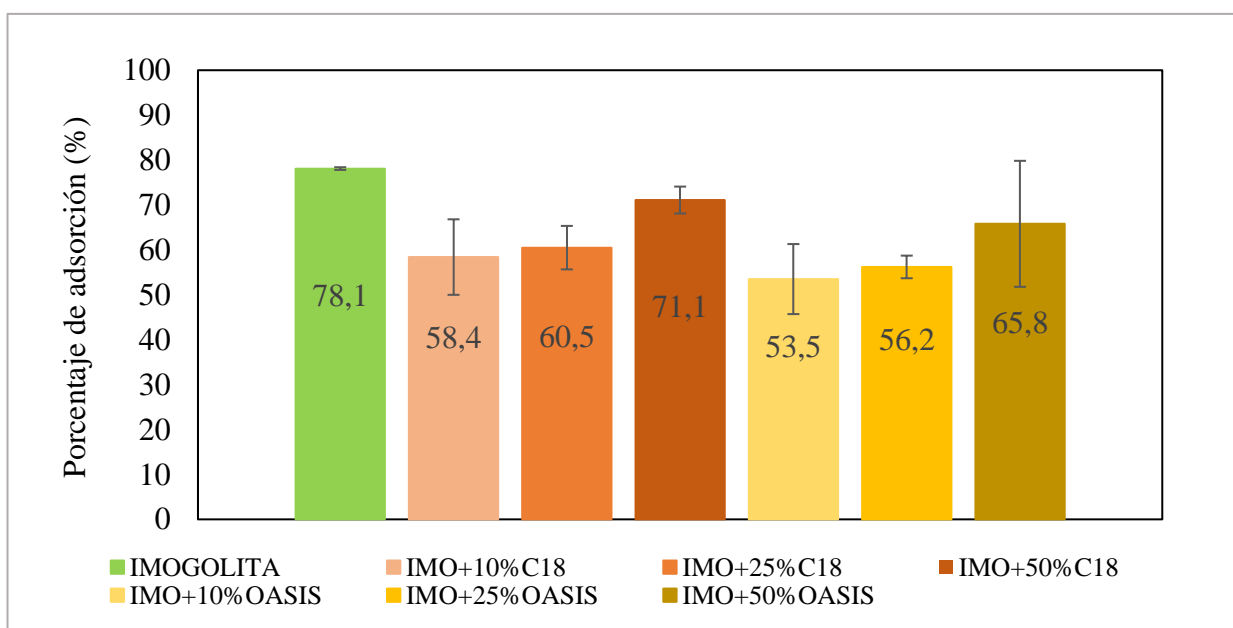


Figura 19. Comparativa del porcentaje de adsorción alcanzado por las distintas fases funcionalizadas e imogolita.

En primer lugar, para las imogolitas que fueron funcionalizadas, los resultados obtenidos no son los esperados en vista de las hipótesis planteadas. Como primer punto, si bien se aprecia una concordancia en la proporcionalidad del aumento en el porcentaje de adsorción con el porcentaje de funcionalización agregado, las fases funcionalizadas presentaron un menor rendimiento de adsorción en comparación a la imogolita sin

funcionalizar, y aumentó el error en los ensayos realizados por triplicado. La Imogolita presenta una mayor adsorción sin ser funcionalizada, y un menor error en sus réplicas, haciendo más robusta la metodología. Si bien no es menor que en ambas experiencias las fases funcionalizadas presenten buenos porcentajes de adsorción, es poco favorable e implica costos extras el utilizar la funcionalización. Por lo que la ventaja en utilizar imogolita sin funcionalizar, está asociado al ahorro de material, al adquirir las fases comerciales y tiempo.

En vista de los resultados obtenidos con la funcionalización, se descarta la aplicación de estas fases como fases sorbentes.

Se procedió entonces a evaluar el efecto de la purificación en la imogolita, este se realiza una vez que el proceso de envejecimiento térmico ha terminado, la imogolita es llevada a pH 8,5 usando una solución 0,1 M de NH_4OH , formándose el hidrogel, pero este posee impurezas (protoimogolita y alofán) las que precipitan a pH ácidos, por lo que el hidrogel es llevado a pH 4,5 usando una mezcla de ácidos (HAc y HNO_3) y se centrifuga descartando el sólido de color blanco. El objetivo de ello es obtener una fase de imogolita 100% pura.

Teniendo en cuenta lo anterior se analizó la capacidad de adsorción como fase sorbente de esta imogolita purificada, con el fin determinar las consecuencias de este procedimiento en su eficiencia.

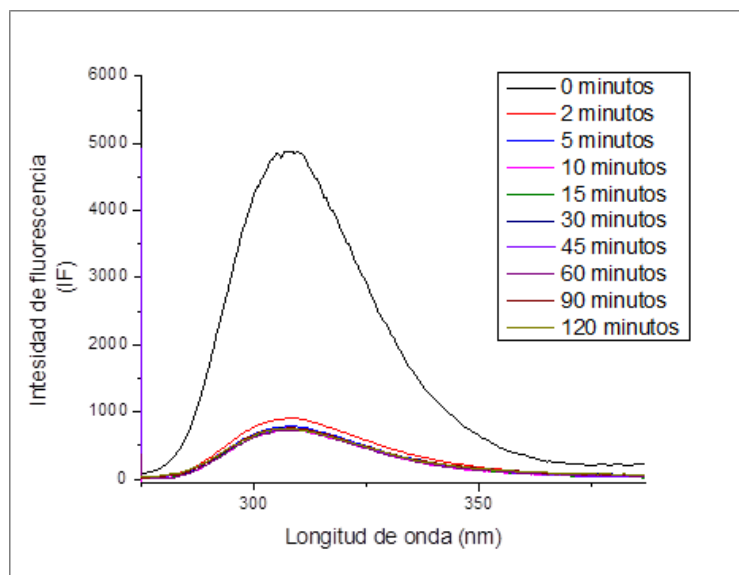


Figura 20. Espectros de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto con imogolita purificada.

En la Figura 20, se pueden observar los espectros de los resultados obtenidos para el estudio del tiempo de contacto, el tiempo 0 minutos corresponde a la concentración 350 $\mu\text{g/L}$ de E2, antes de estar en contacto con la fase, en los primeros 2 minutos hay disminución considerable de la presencia de E2 en el sobrenadante, la cual después de los 5 minutos la señal se mantiene constante. Al igual que en la experiencia anterior se obtuvieron los porcentajes de adsorción en función del tiempo de contacto. En la Figura 21 se muestran los resultados obtenidos comparando la imogolita sin purificar, y la purificada.

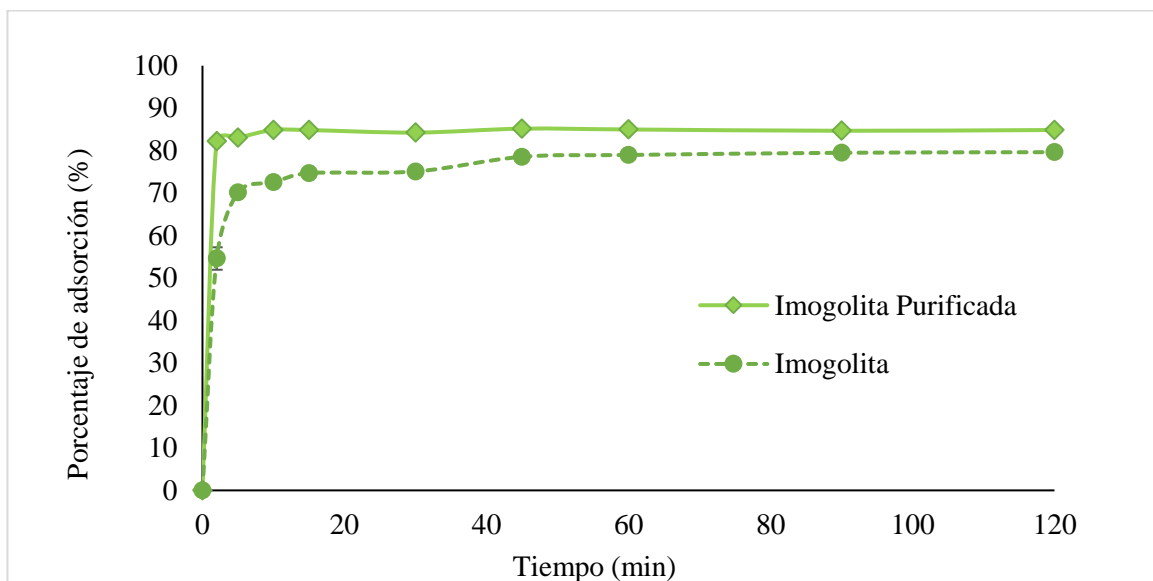


Figura 21. Comparativa en base al porcentaje de adsorción de E2 en función del tiempo contacto con imogolita purificada e imogolita sin purificar.

La imogolita purificada presentó mayor rapidez de adsorción de E2 que la imogolita sin purificar, en solo los primeros 2 minutos de contacto en donde se aprecia un 80% de adsorción mientras que la imogolita sin purificar, un 55%. Además, se puede apreciar que la imogolita purificada requiere de menor tiempo para alcanzar el equilibrio de partición, puesto que tras los 10 minutos se mantiene constante, llegando a su máxima de capacidad adsorptiva cercana al 85%. El %RSD asociado en ambas experiencias es bajo, pero para la imogolita purificada es prácticamente nulo 0,05%, por lo que no hay variación significativa entre los tres experimentos.

La imogolita purificada, frente a todas las otras fases trabajadas, fue la que presentó la mejor adsorción, además, la comparativa entre las cinéticas de ambas Imogolitas evaluadas permitió la reafirmación de su eficiencia de adsorción frente a la hormona E2.

Es por ello por lo que finalmente se decidió seguir trabajando con esta imogolita como fase sorbente principal para a optimización del método y los análisis posteriores.

3.5 Optimización del método.

En la química analítica verde se trata de reducir el número de experimentos a realizar, reduciendo así el consumo de tiempo, reactivos, generación de residuos y costos. Una de las ramas de ciencias que adquiere relevancia por su aporte en este objetivo es la quimiometría. Esta técnica permitió extraer información del sistema químico mediante el tratamiento estadístico de los datos y considerando la relación existente entre dos de los parámetros más influyentes en el sistema de adsorción, los cuales correspondían al volumen de la solución y a la masa de imogolita.

Los resultados obtenidos de la prueba ANOVA para el Diseño de Doehlert se ilustran en la Tabla 3, y se muestra un gráfico de deseabilidad en la Figura 22.

Tabla 3. Diseño de la superficie de la matriz Doehlert y los resultados para Estradiol.

<i>Experimentos</i>	<i>Valores de Código</i>		<i>Valores Naturales</i>		<i>IF</i>
	X1	X2	Masa sorbente (mg)	Volumen solución (mL)	
1	0	0	15	10	414,6
2	1	0	25	10	233,4
3	0,5	0,866	20	15	501,5
4	-0,5	0,866	10	15	1190
5	-1	0	5	10	1518
6	-0,5	-0,866	10	5	351,8
7	0,5	-0,866	20	5	106,1
8	0	0	15	10	392,4

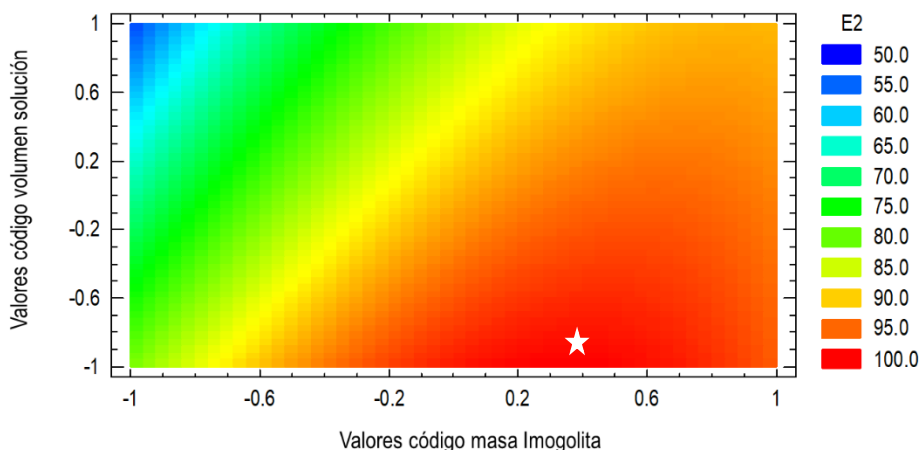


Figura 22. Contornos de la superficie de respuesta estimada de deseabilidad de E2.

Se realizó ajuste en la prueba ANOVA, el valor p obtenido para E2 fue 0,2, siendo un valor mayor a 0,05, lo que indica que el modelo es adecuado. Los valores óptimos fueron los siguientes: 17 miligramos de Imogolita y 5 ml de muestra. En cuanto al tiempo de agitación se seleccionó con respecto al momento en que se logra el equilibrio, el cual se estimó en 10 minutos.

No se consideraron variables hidrodinámicas como la velocidad de agitación para la experimentación, esta se seleccionó en base a investigaciones previas, la cual se fijó en 1250 rpm. (Manzo et al., 2015)

Variables químicas como la fuerza iónica o el efecto de la adición de metanol, que pudiesen afectar el proceso de extracción, tampoco fueron significativas para el estudio. Por lo general para estudiar la fuerza iónica, se adiciona una sal inerte, como el cloruro de sodio, la cual busca aumentar la fuerza iónica en la solución, haciendo que los compuestos sean menos solubles y más atractivos para la fase.

Para el caso de analitos más hidrofóbicos como lo es E2 ($\log K_{ow}$ 4,01) la adición de una sal reduce la eficiencia en la adsorción, siendo unas de las principales razones por la que se descartó (Kalra et al., 2001).

En el caso de la adición del metanol, como el estándar fue preparado en metanol, el efecto ya está incorporado porque la muestra lleva un 3,5 % de Metanol al prepararse en agua, puesto en el caso de analitos apolares, tienden a adherirse al vial, dificultando el proceso. Por lo que si este método se utilizara para tratar muestras reales si se debiese considerar metanol como modificador orgánico.

Los parámetros analíticos del procedimiento optimizado de adsorción usando imogolita para E2 se muestran en la Tabla 5. Tales parámetros se evaluaron en agua desionizada con pH 7 y una concentración de 350 $\mu\text{g/L}$ de E2. Además, se registró la medición de 10 blancos a 225 nm, se calculó la desviación estándar y con ello se obtuvo los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) del método en un orden de $\mu\text{g/L}$.

Tabla 4. Parámetros analíticos obtenidos del procedimiento optimizado.

<i>Analito</i>	<i>Eficiencia de Adsorción (%)</i>	<i>Precisión (% RSD, n= 6) (%)</i>	<i>LD ($\mu\text{g/L}$)</i>	<i>LC ($\mu\text{g/L}$)</i>	<i>Linealidad (R^2)</i>
E2	95,8	0,121	26,01	77,66	0,998

La precisión obtenida da cuenta de la alta reproducibilidad del método implementado, obteniendo porcentaje de adsorción de E2 de un 95% aproximadamente. El coeficiente de correlación igual a 0,998, indica una relación muy fuerte entre las variables.

3.6 Estudio con la Hormona E3.

Validando el método, se procedió a evaluar el comportamiento de adsorción de la imogolita frente a otro analito familiar de E2, el cual corresponde a Estriol o E3. Los espectros de los resultados obtenidos se presentan a continuación:

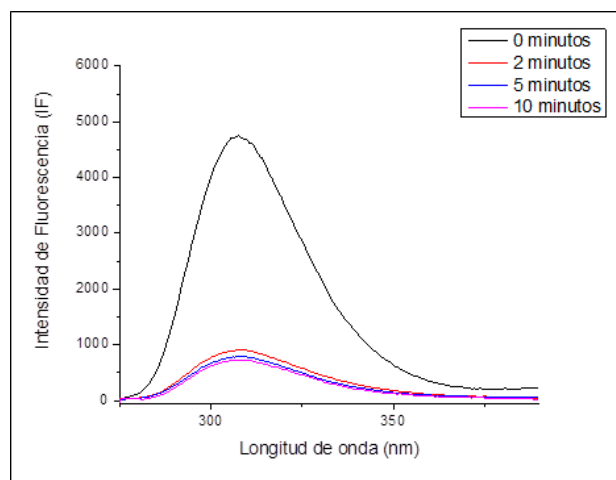


Figura 23. Espectros de E3 en función del tiempo de contacto con imogolita purificada.

El tiempo 0 minutos corresponde a la concentración 350 $\mu\text{g/L}$ de E2, antes de estar en contacto con la fase. Como se puede apreciar, la señal de E3 es muy similar a E2, por lo que realizar una adsorción y posteriormente determinación simultánea por espectrofluorimetría era complejo, aun así, el método logra ser factible para llevar a cabo la adsorción de E3, dejando en evidencia la eficiencia de la imogolita frente a hormonas de familias similares.

3.7 Estudio de adsorción de E2 por la imogolita mediante difusión.

En vista de que la imogolita purificada demostró ser rápida en su adsorción con poco tiempo de agitación para ambas hormonas, se quiso estudiar de forma complementaria el tiempo de contacto con dependencia solo de la velocidad de difusión de E2 en el sistema. Se aplicó el procedimiento con las variables optimizadas y teniendo en consideración la misma concentración de analito, pero sin aplicar ningún tipo de agitación. En la Figura 24 se muestran los resultados obtenidos.

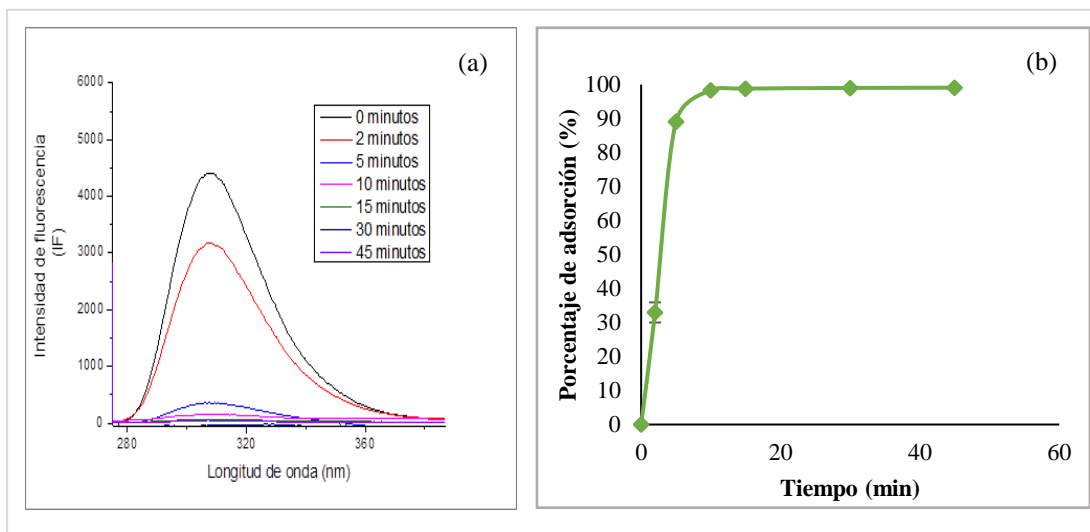


Figura 24. (a) Espectros de E2 en función del tiempo de contacto por difusión con imogolita purificada. (b) Porcentaje de adsorción de E2 en función del tiempo de contacto.

En la Figura 24a el tiempo 0 minutos corresponde a la concentración 350 $\mu\text{g/L}$ de E2, antes de estar en contacto con la fase. A los 5 minutos aún se puede aún apreciar señal

para E2 en el sobrenadante, posterior a ello y pasado los 45 minutos, la señal es imperceptible.

La difusión presentó tiempos de adsorción cortos, esto se puede apreciar en la Figura 24b en donde a los 5 minutos, el porcentaje de adsorción es cercano al 90% y de los 10 minutos en adelante logra el equilibrio alcanzando una adsorción máxima de un 98% aproximadamente. Las fases comerciales, por lo general necesitan ayuda de un dispositivo para su agitación, de no ser así los tiempos para lograr un equilibrio serían considerablemente largos. Por lo que la imogolita purificada demuestra que además de ser rápida, no requeriría de un dispositivo para llevar a cabo su función como fase sorbente para E2, lo que la hace única respecto al resto de fases sorbentes comerciales y naturales. Esta ventaja de llevar a cabo procesos por difusión recae en el ahorro del uso de equipos, por ejemplo, el agitador magnético multiposición, útil para el tratamiento de varias muestras a la vez, puede alcanzar costos cercano a los 2 millones de pesos chilenos y uno individual doscientos mil pesos chilenos.

Considerando el no uso de estos equipos se pueden generar un gran ahorro instrumental y evitar el impacto ambiental asociado a su fabricación. Desde otro punto de vista, otras de las ventajas asociadas recaen en la posibilidad de su aplicación en las plantas de tratamiento de aguas o bien como filtros de botellas.

3.8.Determinación del comportamiento de adsorción de 17 β -Estradiol en Imogolita.

Para comprender la interacción entre el analito y la fase sorbente se realizaron análisis cinéticos e isotérmicos, complementándose finalmente con análisis IR del estándar E2 y las muestras tratadas.

3.8.1. Estudio Cinético.

Se ajustaron los datos obtenidos de las distintas curvas en las experiencias del tiempo de contacto con las distintas fases evaluadas, a dos de los modelos cinéticos más trabajados: el modelo de pseudo primer orden (PPO) y el modelo de pseudo segundo (PSO). La aplicación de estos modelos cinéticos a los datos experimentales de la adsorción de E2 en función del tiempo, se realizó para evaluar cuál de los modelos propuestos es el que mejor describe la cinética y el paso limitante en la adsorción de E2 en la imogolita. Pero el modelo de pseudo segundo orden no logró converger, la razón de esto, es que la adsorción es demasiado rápida por lo que las condiciones de borde del modelo limitan su comportamiento, lo que tiene sentido, ya que en estudio similares con E2 está también presente un mejor ajuste con PPO (Maldonado, 2016).

Es por ello que en la Figura 25 se muestran los resultados del ajuste al modelo PPO y en la Tabla 5, los parámetros cinéticos.

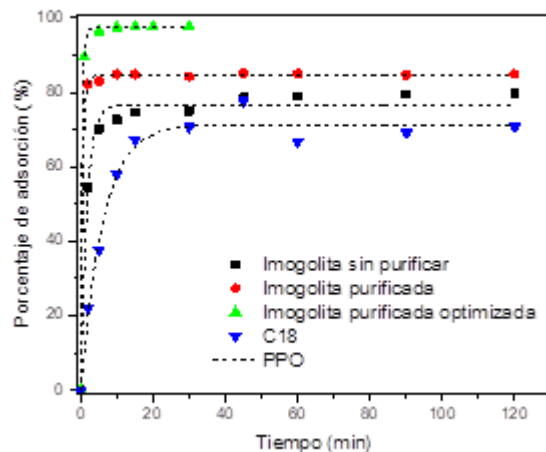


Figura 25. Modelación cinética de pseudo primer orden (PPO), para las distintas fases evaluadas.

Tabla 5. Resultados de los parámetros cinéticos de adsorción para 17β-estradiol con las distintas Fases evaluadas.

Fase Sorbente	Pseudo Primer Orden	
	Variable	Valor
Imogolita Sin purificar	q_e	76,7986
	k_1	0,59183
Imogolita Purificada	q_e	84,5922
	k_1	1,7849
Imogolita Purificada Optimizada	q_e	97,3657
	k_1	2,5218
C18	q_e	71,2956
	k_1	0,16613

Sabiendo que k_1 (min^{-1}) es la constante de velocidad y q_e ($\mu\text{g mg}^{-1}$) es la cantidad de adsorbato adsorbida cuando el sistema alcanza el equilibrio. Al comparar las constantes de velocidad entre C18 y la imogolita sin purificar, esta nos indica claramente que la adsorción es más rápida en la imogolita, pero es finalmente la imogolita purificada es la

que logra un mejor rendimiento de adsorción entre las tres, al tener k_1 más alta. Los resultados de la imogolita purificada optimizada, reafirman lo mencionado y la optimización llevada a cabo.

Por otro lado, si comparamos las cantidades de adsorbato en el equilibrio, estos valores nos confirman nuevamente la capacidad eficiente de adsorción de la imogolita purificada frente a la E2 adsorbida. Además se puede concluir que en todas las experiencias con imogolita, la etapa determinante y controlante en la reacción global no sería la adsorción, y si no más bien la transferencia de masa.

El modelo cinético aplicado nos da cuenta de una parte del mecanismo por el cual se lleva a cabo la adsorción de E2 por lo que un modelo de difusión intrapartícula hubiese ayudado a complementar este propósito.

3.8.2. Estudio de Isotermas de adsorción.

Se realizaron estudios de la isoterma de adsorción de E2 en imogolita, los resultados se muestran en la Figura 26.

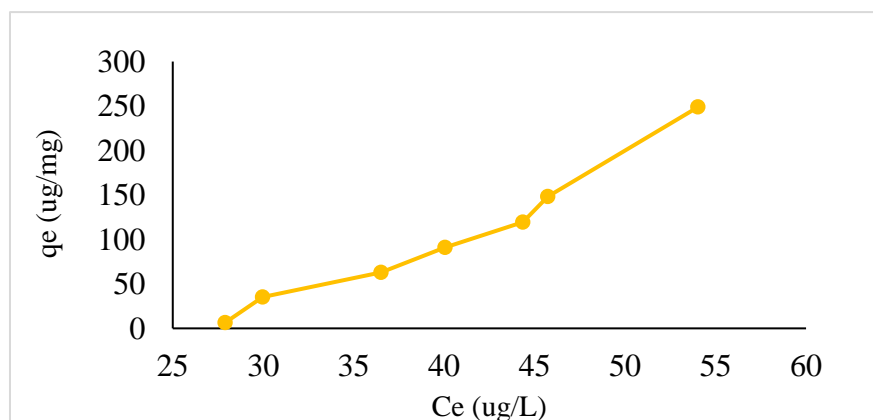


Figura 26. Isoterma de adsorción para imogolita.

Como se exhibe en la figura 26, se tiene una isoterma de tipo lineal, lo que indicaría que el mecanismo predominante en la interacción adsorbente-adsorbato es un mecanismo de partición no competitivo, el cual implicaría la formación de una fase orgánica en la superficie de la imogolita, donde las moléculas de E2 quedarían retenidas por fisisorción. Esto según el tipo de isoterma, es porque las moléculas de E2 no encuentran aisladas una de otras, lo que les posibilita formar esta fase de partición, actuando de esta manera como centros de adsorción dependientes y que a pequeñas concentraciones de E2 la afinidad de la imogolita es baja, condición que cambia cuando se incrementa la concentración de analito.

Otro punto importante, es que según el sistema de clasificación de isotermas, el tipo que se ve representado por los resultados obtenidos correspondería a una del tipo C, debido a la pronunciada pendiente que se muestra, lo que se da por microporosidad de la fase sorbente (Giles et al., 1974). Además, esto significaría que la relación entre la concentración de la hormona en la solución y lo adsorbido en la imogolita es la misma en cualquier concentración. Esta relación es definida como "coeficiente de distribución" (Lemosín et al., 2007).

Finalmente es importante mencionar que la imogolita no se satura, es decir, que aún hay sitios de unión para ser ocupados completamente. Por lo que una prueba de saturación podría haber ayudado de forma complementaria sobre la eficiencia y capacidad de adsorbato de la imogolita. Aun cuando podría implicar utilizar niveles de concentración de analitos demasiados irreales, existiendo además la posibilidad que este material no se

sature. Por dichas razones los modelos de Langmuir y Freundlich propuestos no se llevaron a cabo.

3.8.3. Análisis IR.

Se analizaron estándares en sólido de Imogolita purificada sin utilizar, estándar estradiol, e imogolita después de la adsorción de E2. En la Figura 27, se muestra el espectro de infrarrojo de imogolita en el que se identificaron los principales grupos funcionales correspondientes a su estructura.

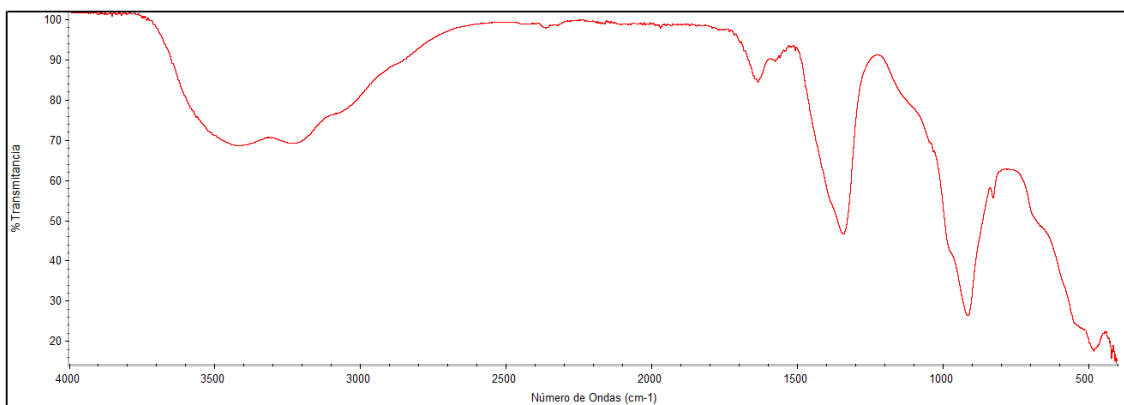


Figura 27. Espectro Infrarrojo de Imogolita.

Los espectros IR de imogolita muestran picos de absorbancia característicos entre 500-400 cm^{-1} , los cuáles son particulares de las diversas vibraciones Al – O. Las bandas cercanas a los 900 cm^{-1} corresponden al Si-O, específicas de estiramiento de vibraciones de estructuras tubulares. La región hidroxilo de los espectros tiene dos leves picos bajo los 3200 cm^{-1} y 3400 cm^{-1} aproximadamente, correspondientes a los grupos hidroxilo asociados con Al y Si ($\equiv\text{AlOH}$, $\equiv\text{Al}_2\text{OH}$ y $\equiv\text{Si-OH}$), respectivamente. La región de los

1400-1300 cm^{-1} , corresponde al OH de O_3SiOH , y finalmente la pequeña señal entre los 1500-1600 cm^{-1} corresponde al $\text{H}_2\text{O}_\delta$. (Thill et al., 2016)

En la figura 28 se muestra el espectro de infrarrojo de E2 en el que se identificaron los principales grupos funcionales que corresponden a este compuesto.

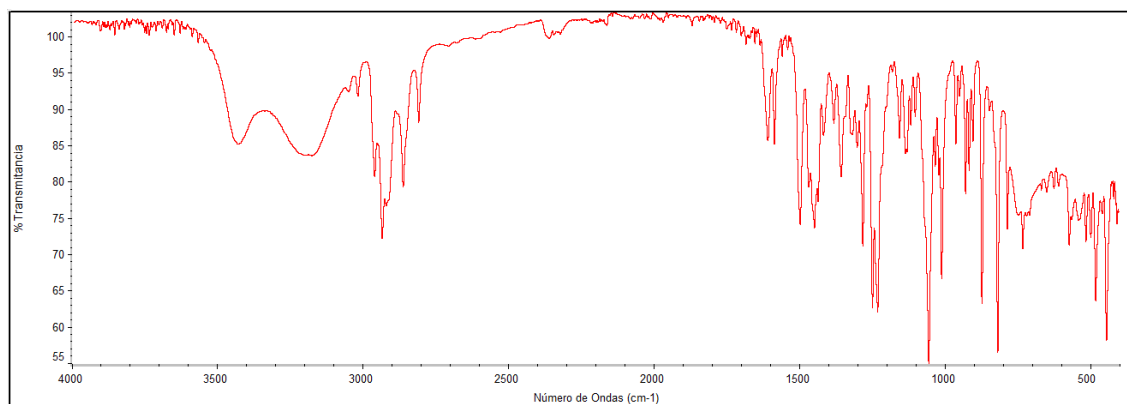


Figura 28. Espectros de infrarrojo de 17β-estradiol (E2).

Se muestran picos característicos del ión hidroxilo (OH) entre los 3500 y 3100 cm^{-1} los metilos y metilenos (CH_3 y CH_2) en los picos de los 2900-2800 cm^{-1} , y el grupo arilo, los cuales fueron identificados de acuerdo con el número de onda característico en la región de los 1600-1500 cm^{-1} y entre los 1000-600 cm^{-1} .

Ahora, para ver lo cambios en los espectros cuando entran en contacto la Imogolita con la E2, y los estudios de blancos (Imogolita en agua), se muestra la Figura 29, donde está el espectro de infrarrojo de Imogolita posterior a la adsorción de E2 (a) y el espectros infrarrojo de Imogolita en el blanco (b).

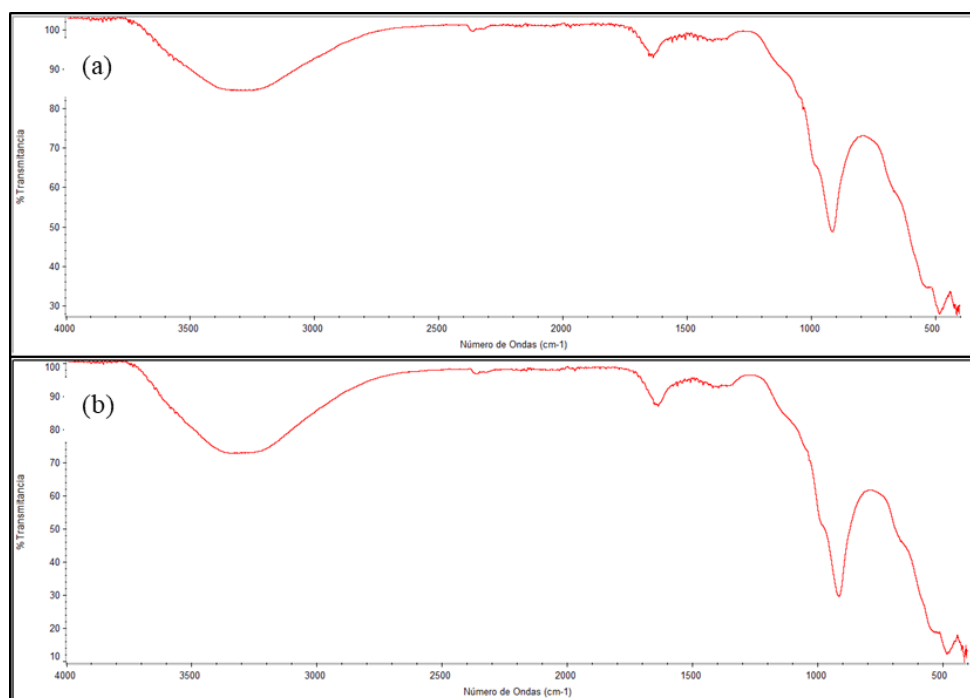


Figura 29. (a) Espectros de infrarrojo de Imogolita posterior a la adsorción de E2. (b) Espectros infrarrojo de Imogolita en el blanco.

En ambos espectros las bandas presentes en el rango de 3000 a 3500 cm^{-1} siguen siendo debido a la presencia de del grupo hidroxilo ($\sim\text{OH}$). Las bandas a 900 cm^{-1} indican que se mantiene el estiramiento específico de Si-O. Las señales que se perciben son muy similares al estándar de imogolita pero de menor intensidad, y con la diferencia de que en la región de los 1400 - 1300 cm^{-1} que correspondía al OH del O_3SiOH , éstas bandas ya no se perciben, pudiendo existir la disociación parcial que sufre este grupo en agua, ya que sucede tanto en la muestra de Imogolita tras la adsorción de E2, como en el blanco. Respecto a la región hidroxilo, deja de haber 2 bandas para mostrar una única banda.

Como puede observarse, los espectros de la Figura 29 son prácticamente idénticos, quizás demostrando que el único cambio estructural que sufre la imogolita es la disociación de hidrógenos, reflejando también de este modo que la interacción entre la E2 y la Imogolita no es por quimisorción ya que no se evidencia la formación de ningún enlace químico y por ende no hay intercambio de electrones entre el adsorbato y el adsorbente. Por lo que podemos confirmar que la interacción entre la imogolita y E2 es una fisisorción.

CONCLUSIONES

La Nanotecnología es un aliado poderoso para que la química analítica alcance sus objetivos, así como para la simplificación de los procesos analíticos. En esta oportunidad, el nanomineral sintético de Imogolita se presenta como alternativa ecoamigable para la adsorción del estrógeno E2 en aguas, presentando resultados que pueden ser muy prometedores en la industria de tratamiento y purificación de aguas debido a la rapidez de sus procesos de adsorción.

Por lo general, los compuestos orgánicos en la fase líquida presentan mejor retención cuando se tienen fases hidrofóbicas, sin embargo, la imogolita funcionalizada con las fases sorbentes comerciales no obtuvo mejores rendimientos. Este resultado apoya la idea que la adsorción no es dependiente de la hidrofilia de la imogolita.

Por lo que la imogolita podría funcionar eficientemente en la adsorción de otros compuestos orgánicos, como compuestos farmacéuticos, y en un futuro ser de ayuda en la descontaminación ambiental.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten confirmar, que la adsorción de E2 tiene comportamiento de Pseudo primer orden, es decir que la etapa determinante y controlante en la reacción global no es la adsorción, y si no más bien la transferencia de masa.

Este fenómeno no ha sido reportado antes usando como fase sorbente imogolita, por lo que es información útil y complementaria para próximas investigaciones con imogolita.

Finalmente dentro de las proyecciones de la investigación está el evaluar condiciones que favorezcan la adsorción de otro tipo de contaminantes emergentes con imogolita permitiendo pronosticar su uso en remediación ambiental.

BIBLIOGRAFIA

- Ackerman W.C., Smith D.M., Huling J.C., Kim Y.W., Bailey J.K., Brinker C.J., (1993). "Gas/vapor adsorption in imogolite: a microporous tubular aluminosilicate", *Langmuir* (9), 1051-1057
- Álvarez Méndez, J. (2016). Nanotubos de carbono. Empleo como material adsorbente para la determinación de metales. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Química., 253-266.
- Arancibia-Miranda, N., Escudey, M., Molina, M., & García-González, M. T. (2011). "Use of isoelectric point and pH to evaluate the synthesis of a nanotubular aluminosilicate". *Journal of non-crystalline solids*, 357(7), 1750-1756
- Arancibia-Miranda N., Lillo S., Escudey M. (2013). "Nanotubular aluminosilicates: a case study for science and industry". *Journal of Chilean Chemical Society* 58(4), 2061-2066.
- Arancibia-Miranda N., Silva-Yumi J., Escudey M. (2015). "Effect of Cations in the Background Electrolyte on the Adsorption Kinetics of Copper and Cadmium and the Isoelectric Point of Imogolite" *Journal Hazard Mater.* (299), 675-684.
- Azzouz A., Kumar Kailasa S., Soo Lee S., Rascón A.J., Ballesteros E., Zhang M., Kime K. (2018). "Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples". *TrAC Trends in Analytical Chemistry* (118), 347-369.
- Basheer, A.A. (2018). "New generation nano-adsorbents for the removal of emerging contaminants in water". *Journal of Molecular Liquids.* (261), 583-593.
- Becerra-Herrera M., Miranda V., Arismendi D., Richter P. (2018). Chemometric optimization of the extraction and derivatization of parabens for their determination in water samples by rotating-disk sorptive extraction and gas chromatography mass spectrometry. *Talanta* (176), 551-557.
- Bonelli B. (2016). "Chapter 12 - Surface Chemical Modifications of Imogolite" . *Clay science vol 7*, 279–307.

- Bonelli B., Armandi M., Garrone E. (2013). "Surface Properties of Alumino-Silicate Single-Walled Nanotubes of the Imogolite Type". *Physical Chemical* 15(32), 13381-13390.
- Cáceres Fuentes C. (2016). "Síntesis de polímeros impresos molecularmente (MIPs) en formato micro y nano métrico, para preconcentrar difenilamina y para ser utilizados como receptores en el test de ELISA". Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química, 69-148.
- Corrotea Y., Aguilera N., Honda L., Richter P.(2016). "Determination of Hormones in Wastewater Using Rotating Disk Sorptive Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry". *Analytical Letters*; 49 (9), 1344-1358.
- Cortada-Cortés, C. (2012) "Nuevas Metodologías y Aplicaciones de las Técnicas de Microextracción Líquido-Líquido para la Determinación de Contaminantes Orgánicos". Tesis Doctoral, Universidad de Alicante.
- Del Mar Orta, M., Martín, J., Medina-Carrasco, S., Santos, J. L., Aparicio, I., & Alonso, E. (2019). Adsorption of propranolol onto montmorillonite: kinetic, isotherm and pH studies. *Applied Clay Science*, (173), 107-114.
- Dosal, M. A., & Llano, M. G. (2014). El papel de la química analítica en las ciencias ambientales. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 5(3), 103-108.
- Garrone, E., & Bonelli, B. (2016). "Imogolite for Catalysis and Adsorption". In *Developments in Clay Science (Vol. 7)*. Elsevier, 672-707.
- Farmer V.C., Adams M.J., Fraser A.R., Palmieri F., (1983) "Synthetic imogolite: properties, synthesis and possible applications", *Clay Miner.* (18), 459-472.
- Fernández-Martínez, A. y Michot, LJ (2016). Propiedades fisicoquímicas de la imogolita. *Developments in Clay Science (Vol. 7)*. Elsevier, 202-222.
- Gavrilescu M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., & Fava, F. (2015). "Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation". *New biotechnology*, 32(1), 147-156.
- Gilbertson, L. M., Zimmerman, J. B., Plata, D. L., Hutchison, J. E., & Anastas, P. T. (2015). "Designing nanomaterials to maximize performance and minimize undesirable implications guided by the Principles of Green Chemistry". *Chemical Society Reviews*, 44(16), 5758-5777.
- Giles, C. H., Smith, D., & Huitson, A. (1974). "A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical". *Journal of colloid and interface science*, 47(3), 755-765.

- Gustafsson, J. (2001). "The chemistry of the imogolite surface". *Arcilla Miner*, 49 (1), 73-80.
- Hansch, C. L. (1998). "Hydrophobic, electronic and aesthetic constants". *DC: American Chemical Society*, 158-160.
- Jugan, M. L., Levi, Y., & Blondeau, J. P. (2010). "Endocrine disruptors and thyroid hormone physiology". *Biochemical pharmacology*, 79(7), 939-947.
- Jung, C., Son, A., Her, N., Zoh, K. D., Cho, J., & Yoon, Y. (2015). "Removal of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in water using carbon nanotubes". *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*; (27);, 1-11.
- Kalra, A., Tugcu, N., Cramer, S. M., & Garde, S. (2001). "Salting-in and salting-out of hydrophobic solutes in aqueous salt solutions". *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(27), 6380-6386.
- Kirchhoff M.M. (2001). "Topics on Green Chemistry". *J. Chem. Ed.*, (78), 1577.
- Lazo, J. C., Navarro, A. E., Sun-Kou, M. R., & Llanos, B. P. (2008). Síntesis y caracterización de arcillas organofílicas y su aplicación como adsorbentes del fenol. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(1), 3-19.
- Limousin, G., Gaudet, J. P., Charlet, L., Szenknect, S., Barthes, V., & Krimissa, M. (2007). Sorption isotherms: a review on physical bases, modeling and measurement. *Applied geochemistry*, 22(2), 249-275.
- Liu, Q., Zhou, Q., & Jiang, G. (2014). "Nanomaterials for analysis and monitoring of emerging chemical pollutants". *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, (58), 10-22.
- López-Pacheco, IY, Silva-Núñez, A., Salinas-Salazar, C., Arévalo-Gallegos, A., Lizarazo-Holguin, LA, Barceló, D. y Parra-Saldívar, R. (2019). "Anthropogenic contaminants of high concern: Existence in water resources and their adverse effects". *Science of The Total Environment*, 690, 1068-1088.
- Ma, W., Higaki, Y. y Takahara, A. (2016). "Imogolite polymer nanocomposites". *Developments in Clay Science (Vol. 7)*. Elsevier, 628-671.
- Maldonado Domínguez, S. M. (2016). "Remoción de 17- β Estradiol en medio acuoso con una zeolite modificada con HDTMA". *Universidad Autónoma del Estado de México*. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/65125>

- Manzo Sandoval, V. (2015). "Microextracción por sorción con disco rotatorio (RSDE) de fármacos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) desde muestras acuosas." . Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/136843>, 49-51.
- Manzo, Sandoval V. (2015). Microextracción por sorción con disco rotatorio (RSDE) de fármacos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs) desde muestras acuosas. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/136843>., 41-48.
- Martín, J., del Mar Orta, M., Medina-Carrasco, S., Santos, J. L., Aparicio, I., & Alonso, E. (2019). "Evaluation of a modified mica and montmorillonite for the adsorption of ibuprofen from aqueous media". *Applied Clay Science*, (171), 29-37.
- Mestres, R. (2013). Química Sostenible: Naturaleza, fines y ámbito. *Educación química* (24), 103-112.
- Paradise, M., & Goswami, T. (2007). "Carbon nanotubes—production and industrial applications". *Materials & Design*, 28(5), 1477-1489.
- Pérez, J. M. (2014). "Determinación de antioxidantes mediante microextracción líquida dispersiva y cromatografía de líquidos: Optimización del Método de extracción". *Universidad Alicante*.
- Psillakis, E., & Kalogerakis, N. (2003). "Developments in liquid-phase microextraction". *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(9), 565-574.
- Ramírez-Sánchez, I. M., Martínez-Austria, P., Quiroz-Alfaro, M. A., & Bandala, E. R. (2015). "Efectos de los estrógenos como contaminantes emergentes en la salud y el ambiente". *Tecnología y ciencias del agua*, 6(5), 31-42.
- Richter P., Cañas A., Muñoz C., Leiva C., Ahumada I. (2011). "Rotating disk sorbent extraction for pre-concentration of chromogenic organic compounds and direct determination by solid phase spectrophotometry". *Anal. Chim. Acta*; (695); 73 76.
- Robinson, I.; Junqua, G.; Coillie, R.V. y Thomas, O.(2007) "Trends in the detection of pharmaceutical products, and their impact and mitigation in water and wastewater in North America. " *Analytical and Bioanalytical Chemistry*; 387 (4), 1143-1151.
- Santa, J. R., Serrano, M., & Stashenko, E. (2002). "Análisis comparativo de diferentes métodos de extracción de hidrocarburos presentes en aguas residuales industriales". *CT&F-Ciencia, Tecnología y Futuro*, 2(3), 49-60.
- Shikinaka, K., Abe, A., Shigehara, K., (2015). "Nanohybrid film consisted of hydrophobidized imogolita and various aliphatic polyesters". *Polymer* 68, 1279–1283.
- Sposito, G. (2008). *The chemistry of soils*. Oxford university press.

- Stillwell, W. (2016). Chapter 20-Bioactive Lipids. An Introduction to Biological Membranes . *Elsevier Inc.*, 453-478.
- Tenne, R. (2014). "Recent advances in the research of inorganic nanotubes and fullerene-like nanoparticles". *Frontiers of Physics*, 9(3), 370-377.
- Ternes, T. A., Stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R. D., & Servos, M. (1999). "Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants—I. Investigations in Germany, Canada and Brazil". *Science of the Total Environment*, 225(1-2), 81-90.
- Tian, J., Xu, J., Zhu, F., Lu, T., Su, C., & Ouyang, G. (2013). Application of nanomaterials in sample preparation. *Journal of Chromatography A*, (1300), 2-16.
- Thill, A. (2016). "Characterisation of imogolite by microscopic and spectroscopic methods". In *Developments in Clay Science (Vol. 7)*, Elsevier, 223-253.
- Ulisse Ulisse, K. (2014). Microextracción de fármacos antiinflamatorios no esteroidales desde matrices acuosas usando polímero de impresión molecular inmovilizado en un sistema de disco rotatorio. *Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/1172>*, 1-4.
- Yah, W. O., Yamamoto, K., Jiravanichanun, N., Otsuka, H., & Takahara, A. (2010). "Imogolite reinforced nanocomposites: multifaceted green materials". *Materials*, 3(3), 1709-1745.
- Yoshinaga, N., & Aomine, S. (1962). "Imogolite in some Ando soils". *Soil Science and Plant Nutrition*, 8(3), 22-29.
- Yuan, P., Thill, A., & Bergaya, F. (2016). "Nanosized tubular clay minerals: Halloysite and Imogolite". *Elsevier*.
- Zarghi M. H., Roudbari A., Jorfi S. & Jaafarzadeh N. (2019) " Removal of Estrogen Hormones (17 β -Estradiol and Estrone) from Aqueous Solutions Using Rice Husk Silica" .*Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 3 (2), 281-293.
- Zuehlke, S., Duennbier, U., & Heberer, T. (2005). Determination of estrogenic steroids in surface water and wastewater by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of separation science*, 28(1), 52-58.

