

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***CARBÓN ACTIVADO MAGNÉTICO DE SEMILLA DE
PALTA COMO FASE SORBENTE PARA
MICROEXTRACCIÓN SORTIVA DISPERSIVA EN
DISCO ROTATORIO (RDSDE).***

**Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de
Magíster en Química y Memoria para optar al Título de Químico por:**

NICOLÁS ALEJANDRO MORALES CORTÍNEZ

Director de Tesis: Dr. Pablo Richter Duk

SANTIAGO - CHILE 2024

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Dirección de la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

NICOLÁS ALEJANDRO MORALES CORTÍNEZ

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Química y Título de Químico.

Director de Tesis:

Dr. Pablo Richter Duk

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dr. Pablo Fuentealba

Dra. Sandra Orellana

Dr. Daniel Arismendi

*“No te rindas que la vida es eso, continuar el viaje, perseguir tus sueños,
destrabar el tiempo, correr los escombros y destapar el cielo”.*

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, por siempre estar a mi lado y apoyarme en cada momento, tanto en los estudios como en los problemas personales. Gracias por soportar mi mal genio durante los momentos de estrés y por consentirme con mi comida favorita. Por enseñarme a ser perseverante y a no desanimarme cuando las cosas no salen como esperaba. A mi familia, que siempre me ha demostrado su orgullo por mis logros, en especial mi abuela y mi mamá, ustedes han sido mi soporte, aunque pareciera que he hecho todo por mi cuenta. Su alegría y humildad me inspiran a ser una mejor persona cada día.

A mis perros, por ser mi compañía constante en mis celebraciones y tristezas, en el trabajo y el descanso. Su cariño incondicional siempre será algo que agradeceré profundamente.

A mis amigos, a quienes considero como mi familia. Gracias por estar ahí, por escucharme y permitirme desahogar mis angustias y compartir mis buenas noticias. A mis compañeros de generación, en especial a Ronald y Bastián, con quienes compartí la mayoría de los trabajos en grupo. A pesar de los obstáculos como los paros, el estallido social y la pandemia, logramos mantenernos unidos y en contacto.

Al profesor Pablo, por su enseñanza y guía en el mundo académico, y por brindarme su apoyo y dedicación cuando lo necesité, además de los buenos momentos compartidos en los asados en su casa. A los integrantes del laboratorio de ambiental, quienes me guiaron cuando recién llegué, especialmente a la Ale y Vale. A Betza, por sus consejos y por revivir el GC-MS, lo que me permitió finalizar mis experimentos. A Inma y Daniel, por mantener siempre el buen humor y la alegría en el laboratorio.

A la gente de Veterquímica, por recibirme con calidez y brindarme su apoyo durante mi desarrollo de tesis, creando buenos momentos, especialmente en las partidas de ping-pong (en especial cuando le ganaba al Ale). A los profesores miembros de la comisión evaluadora, por sus críticas constructivas e ideas para mejorar mi tesis.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, por su gran apoyo al otorgarme la beca interna de arancel durante estos dos años de Magíster. Finalmente, agradezco al proyecto FONDECYT 1220225 y a la empresa Veterquímica S.A. por el financiamiento otorgado a esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ESQUEMAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
ÍNDICE DE TABLAS.....	14
GLOSARIO.....	16
RESUMEN.....	17
ABSTRACT	19
1. INTRODUCCIÓN.....	20
1.1 Antecedentes generales.	20
1.2 Antecedentes específicos.....	24
1.2.1 Sorbentes utilizados en la microextracción.	24
1.2.2 Sorbentes naturales.....	25
1.2.3 Sorbentes naturales modificados.	25
1.2.4 Carbón activo de semilla de palta como fase adsorbente de CEs.....	26
1.2.5 Magnetización de carbón activo para lograr procedimientos de microextracción más rápidos.	27
1.2.6 Microextracción Dispersiva Sortiva con barra de agitación (SBSDME) y con Disco Rotatorio (RDSDE).	28

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	31
2.1 Hipótesis.....	31
2.2 Objetivos Generales.	31
2.3 Objetivos Específicos.....	31
3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.....	33
3.1 Reactivos.....	33
3.2 Materiales.....	34
3.3 Equipos laboratorio.....	35
4. METODOLOGIA.....	37
4.1 Analitos y sorbentes seleccionados.....	37
4.2 Síntesis de Carbón Activo Magnético (CAM).....	37
4.2.1 Obtención de carbón activo a partir de semilla de palta.....	37
4.2.2 Modificación magnética del carbón activado.....	38
4.3 Caracterización de sorbentes (CA y CAM).....	39
4.3.1 Espectroscopía FTIR-ATR.....	39
4.3.2 Vibrating-Sample Magnetometer (VSM).....	39
4.3.3 Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-ray (SEM-EDX).....	39
4.3.4 Isotermas de adsorción de nitrógeno.....	40

4.4 Optimizaciones Cromatográficas (GC-MS y UHPLC-DAD).....	40
4.4.1 Optimización cromatográfica por GC-MS.	40
4.4.2 Optimización cromatográfica por UHPLC-DAD.....	40
4.5 Optimización de los métodos RDSE para muestras dopadas con los analitos en estudio.	41
4.6 Optimización de los métodos RDSDE para muestras dopadas con los analitos en estudio. ...	41
4.7 Validación de los métodos RDSDE optimizados.	42
4.7.1 Selectividad.	42
4.7.2 Linealidad del sistema: Curva de estándares.....	43
4.7.3 Linealidad del método.....	43
4.7.4 Límites de Cuantificación y Detección.	43
4.7.5 Precisión.....	44
4.7.6 Precisión intermedia.....	45
4.7.7 Exactitud.....	45
4.4.8 Comparación entre el método RDSE y RDSDE.	46
5. RESULTADOS.	47
5.1 Síntesis de Carbón Activo Magnético (CAM).	47
5.1.1 Obtención de carbón activo a partir de semilla de palta.....	47
5.1.2 Modificación magnética del carbón activado.....	47

5.2 Caracterización de sorbentes (CA y CAM).....	48
5.2.1 Espectroscopía FT-IR con un accesorio ATR.....	48
5.2.2 Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-ray.....	49
5.2.3 Vibrating-Sample Magnetometer (VSM).....	54
5.2.4 Isotermas de adsorción y desorción de nitrógeno.	55
5.3 Desarrollo metodológico para la determinación de Contaminantes Emergentes en muestras acuosas.	57
5.3.1 Optimización GC-MS para la determinación de CEs en agua.	57
5.3.2 Optimización del método RDSDE para muestras acuosas dopadas con CEs.	59
5.3.3 Optimización método RDSE para extraer CEs en muestras acuosas.	63
5.3.4 Validación metodología RDSDE/GC-MS para determinar CEs en muestras acuosas.	67
5.3.5 Comparación respecto a eficiencia de los métodos optimizados para extraer CEs en muestras acuosas.	71
5.3.6 Comparación Cinética de los métodos RDSDE y RDSE para extraer CEs en muestras acuosas.	73
5.4 Desarrollo metodológico para la determinación de florfenicol en plasma de cerdo.	75
5.4.1 Optimización UHPLC-DAD para determinar florfenicol en plasma de cerdo.	75

5.4.2 Optimización del método RDSDE para muestras de plasma de cerdo dopadas con florfenicol.....	76
5.4.3 Optimización método RDSE para extraer Florfenicol en plasma de cerdo.....	83
5.4.4 Validación metodología RDSDE/UHPLC-DAD para determinar florfenicol en plasma de cerdo.....	86
5.4.5 Comparación respecto a eficiencia de los métodos optimizados para extraer florfenicol en plasma de cerdo.....	92
5.4.6 Comparación Cinética de los métodos RDSDE y RDSE para extraer florfenicol en plasma de cerdo.....	93
6. CONCLUSIONES.....	98
7. BIBLIOGRAFÍA.....	100

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Resumen de los mecanismos propuestos para la adsorción de contaminantes orgánicos en biocarbón y carbón activado [42].	27
Esquema 2. Métodos RDSDE y RDSE.	29
Esquema 3. Procedimiento de síntesis carbón activo magnético [47].	39
Esquema 4. Procedimiento de RDSE con carbón activado. 1) Ensamblaje del disco (a. Camisa de teflón, b. filtro de fibra de vidrio, c. fase de CA, d. disco rotatorio con barra magnética), 2) Acondicionamiento del disco, 3) Extracción de los analitos desde la muestra de agua, 4) Desorción de los analitos [50].	41
Esquema 5. Procedimiento de RDSDE con carbón activado magnético. 1) disco rotatorio con barra magnética con fase de CAM, 2) Agitación a 2000 rpm y extracción dispersiva de los analitos desde la muestra acuosa, 3) Detención del disco, captación del sorbente apoyado de un imán de neodimio y descarte del sobrenadante 4) Desorción de los analitos.	42
Esquema 6. Metodología RDSDE optimizada para determinar CEs en muestras acuosas.	63
Esquema 7. Método RDSE Optimizado para determinar CEs en muestras acuosas.	67
Esquema 8. Métodos RDSDE y RDSE optimizados para extraer CEs en muestras acuosas.	71
Esquema 9. Método RDSDE Optimizado para determinar florfenicol en plasma de cerdo.	83
Esquema 10. Método RDSE Optimizado para determinar florfenicol en plasma de cerdo.	86
Esquema 11. Métodos RDSDE y RDSE optimizados para extraer florfenicol en plasma de cerdo.	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso RDSE 1) Matraz de muestreo 2) Muestra 3) Fase de sorción inmovilizada 4) Dispositivo de disco rotatorio magnético 5) Agitadores magnéticos [7].	21
Figura 2. Clasificación de Contaminantes emergentes.	23
Figura 3. Sorbentes sintéticos utilizados en RDSE. a) S-DVB; b) HLB (OASIS TM).	24
Figura 4. Etapas de la síntesis del carbón activo a) Molienda b) Activación c) Pirólisis d) Lavado.	38
Figura 5. Carbón activado crudo.	47
Figura 6. Espectro ATR-FTIR de CA y CAM.	48
Figura 7. Imágenes SEM del CA ampliada X400, X800, X3000 y X6000.	50
Figura 8. Imágenes SEM-EDX del CA (X800;10 keV).	51
Figura 9. Imágenes SEM del CAM ampliadas X200, X 4000, X 18000 y X30000.	52
Figura 10. Imágenes SEM-EDX del CAM (X15000; 10 KeV).	53
Figura 11. Curva de histéresis del CAM.	54
Figura 12. Isotermas de adsorción y desorción de N ₂ del CA.	55
Figura 13. Isotermas de adsorción y desorción de N ₂ del CAM.	56
Figura 14. Cromatograma estándar de los CE en estudio a 1 mg/L.	58
Figura 15. Cromatograma TIC y iones m/z utilizados para cuantificar IBU, 1OHIBU, TCS y BPA.	59
Figura 16. Optimización cantidad sorbente CAM en RDSDE (CEs).	60
Figura 17. Optimización tiempo de extracción en RDSDE (CEs).	60
Figura 18. Optimización solvente desorción en RDSDE (CEs).	61

Figura 19. Optimización tiempo desorción en RDSDE (CEs).....	62
Figura 20. Optimización pH en RDSDE (CEs).....	62
Figura 21. Optimización cantidad de sorbente CA en RDSE (CEs).	64
Figura 22. Optimización tiempo de extracción en RDSE (CEs).....	65
Figura 23. Optimización solvente de desorción en RDSE (CEs).....	65
Figura 24. Optimización tiempo de desorción en RDSE (CEs).	66
Figura 25. Recuperaciones de los analitos IBU, 1OHIBU, TCS y BPA de los métodos RDSE y RDSDE optimizados y RDSDE utilizando magnetita como sorbente.	72
Figura 26. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para IBU.	73
Figura 27. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para 1OHIBU.	74
Figura 28. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para TCS.....	74
Figura 29. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para BPA.	75
Figura 30. Cromatograma estándar de florfenicol a 5 mg/L.	76
Figura 31. Curva de calibración estándar de florfenicol (0,25-20 mg/L).....	77
Figura 32. Optimización volumen de medio dispersante en RDSDE (FF en plasma).	78
Figura 33. Optimización pH de extracción en RDSDE (FF en plasma).	79
Figura 34. Distribución microespecies de florfenicol respecto al pH del medio acuoso.	79
Figura 35. Optimización tiempo de extracción en RDSDE (FF en plasma).	80
Figura 36. Optimización cantidad de sorbente CAM en RDSDE (FF en plasma).....	80
Figura 37. Optimización solvente de desorción en RDSDE (FF en plasma).	81
Figura 38. Optimización tiempo de desorción en RDSDE (FF en plasma).	82

Figura 39. Optimización volumen de desorción en RDSDE (FF en plasma).	82
Figura 40. Optimización cantidad de CA en RDSE (FF en plasma).....	83
Figura 41. Optimización tiempo de extracción en RDSE (FF en plasma).	84
Figura 42. Optimización solvente de desorción en RDSE (FF en plasma).	85
Figura 43. Optimización tiempo de desorción en RDSE (FF en plasma).	85
Figura 44. Cromatograma muestra blanco de plasma de cerdo.....	87
Figura 45. Cromatograma de muestra plasma dopada a 0,25 mg/L de florfenicol.	87
Figura 46. Curva de calibración estándar de florfenicol (0,25-20 mg/L).....	88
Figura 47. Curva de calibración de florfenicol en plasma de cerdo (0,5-10 mg/L).	89
Figura 48. Curva calibración de florfenicol en plasma de cerdo (0,25-2,5 mg/L).	89
Figura 49. Comparación de las recuperaciones absolutas de florfenicol en las metodologías RDSDE y RDSE optimizadas.	93
Figura 50. Comparación Cinética de los métodos RDSDE y RDSE para extraer Florfenicol en plasma de cerdo.....	94
Figura 51. Dispositivos de microextracción a) Fase confinada (RDSE) b) Fase dispersiva (RDSDE).	95
Figura 52. Mecanismo de sorción en un sorbente poroso. [62].....	96

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunas técnicas de microextracción (con fecha de su primera publicación).	20
Tabla 2. Metodologías que utilizan RDSE con sus respectivas condiciones optimizadas [7].	22
Tabla 3. Procedimiento de síntesis del carbón activo magnético [45].	28
Tabla 4. Características fisicoquímicas de analitos en estudio (Chemicalize).	30
Tabla 5. Condiciones de co-precipitación para la síntesis de CAM y cantidad de producto obtenido.	47
Tabla 6. Composición elemental superficial del CA y CAM sintetizado.	53
Tabla 7. Área superficial volumen y tamaño promedio de poro de CA y CAM.	56
Tabla 8. Parámetros óptimos GC-MS para determinar CEs.	57
Tabla 9. Tiempos de retención y iones m/z para la cuantificación y cualificación de los CEs en estudio.	58
Tabla 10. Resultados linealidad del sistema GC-MS de los CEs en estudio.	67
Tabla 11. Resultados linealidad del método RDSDE/GC-MS para los CEs en estudio.	68
Tabla 12. Resultados límites de detección y cuantificación de los CEs en estudio.	68
Tabla 13. Resultados de precisión de la metodología RDSDE/GC-MS para determinar CEs.	69
Tabla 14. Resultados de precisión intermedia (3 días) de la metodología RDSDE/GC-MS para determinar CEs.	69
Tabla 15. Resultados de exactitud del método RDSDE/GC-MS para la determinación de CEs	70
Tabla 16. Condiciones óptimas UHPLC-DAD para la determinación de florfenicol en plasma de cerdo.	76

Tabla 17. Condiciones preliminares en RDSDE para extraer florfenicol en plasma de cerdo. _____	77
Tabla 18. Resultados de precisión del método RDSDE/UHPLC-DAD en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo. _____	90
Tabla 19. Resultados de precisión intermedia (3 días) del método RDSDE/UHPLC-DAD en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo _____	90
Tabla 20. Resultados de exactitud del método RDSDE/UHPLC-DAD en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo. _____	91
Tabla 21. Resultados de la robustez del método RDSDE/UHPLC-DAD respecto al cambio de lote del sorbente (CAM). _____	91
Tabla 22. Resultados de la robustez del método RDSDE/UHPLC-DAD respecto a la integridad de dilución. _____	92

GLOSARIO

*MeCN:	Acetonitrilo.	*SPME:	Microextracción en fase sólida.
*AcOEt:	Acetato de Etilo.	*SBSE:	Microextracción con barra agitadora magnética.
*ATR:	Attenuated Total Reflectance.	*SBSDME:	Microextracción sortiva dispersiva en barra magnética
*BET:	Brunauer, Emmett y Teller..	*MSTFA:	N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida.
*BPA:	Bisfenol-A.	*NCM:	Nivel Curva en Matriz
*PCBs:	Bisfenilos Policlorados.	*R _{abs} :	Recuperación Absoluta
*CA:	Carbón Activo.	*R _{Rel} :	Recuperación Relativa.
*CAM:	Carbón Activo Magnético.	*TCS:	Triclosán.
*CEs:	Contaminantes Emergentes.	*TCS-D ₃ :	Triclosán deuterado.
*UHPLC:	Cromatografía Líquida a alta presión.	*VSM	Vibrating Magnetometer Sample.
*GC:	Cromatografía Gaseosa.		
*DAD:	Detector de Arreglo de Diodos		
*S-DVB:	Copolímero Divinil Benceno.		
*EDX:	Energy Dispersive X-ray.		
*MS:	Espectrómetro de Masas.		
*FF:	Florfenicol.		
*GC:	Cromatografía de Gases.		
*1OHIBU:	1-Hidroxibuprofeno.		
*IBU:	Ibuprofeno.		
*IBU-D ₃ :	Ibuprofeno deuterado.		
*LD:	Límite de Detección.		
*LC:	Límite de Cuantificación.		
*MeOH:	Metanol.		
*RDSE:	Microextracción en disco rotatorio.		
*RDSDE:	Microextracción dispersiva en disco rotatorio.		

RESUMEN

En esta investigación se realizó la magnetización de un carbón activado de semilla de palta (CA) mediante la reacción de co-precipitación debido a su simpleza y control de características específicas necesarias para utilizar éste sorbente en microextracción dispersiva. Se caracterizó el carbón activo magnético (CAM) mediante Espectroscopía IR, SEM-EDX, VSM y BET, los cuales fueron comparados con la fase sorbente sin magnetizar. De acuerdo con los resultados de la caracterización se obtuvo exitosamente un carbón activo magnético. El mapeo SEM-EDX indicó una distribución homogénea de la magnetita en la superficie del carbón activo, De acuerdo con la curva de histéresis el carbón activado magnético (CAM) revela un comportamiento característico de un material ferromagnético blando. Este material presentó un campo coercitivo de 46,5 Oe y una magnetización remanente de 3,8 emu/g, junto con una magnetización de saturación de aproximadamente 40 emu/g. Mediante el análisis de las isothermas de adsorción y desorción de nitrógeno, se determinaron las dimensiones superficiales del sorbente, obteniéndose un área superficial específica de 754 m²/g, un volumen total de poro de 0,48 cm³/g y un tamaño promedio de poro de 2,55 nm. Para la aplicación del CAM se hizo uso de la novedosa tecnología de microextracción basada en la extracción sortiva/dispersiva en disco rotatorio (RDSDE) la cual fue optimizada y validada para la determinación de analitos en dos matrices. La metodología RDSDE/GC-MS fue optimizada y validada para determinar los contaminantes emergentes Ibuprofeno, 1-Hidroxiibuprofeno, Triclosán y Bisfenol-A en agua, utilizando 20 mL de muestra y 10 mg de CAM a un tiempo de extracción de 20 min. Las recuperaciones relativas se determinaron utilizando un estándar interno, con valores que oscilaron entre el 71% y el 100%, y desviaciones estándar relativas (%RSD) entre el 3% y el 7%. Por su parte, la metodología RDSDE/UHPLC-DAD fue optimizada y validada para determinar el antibiótico Florfenicol en plasma de cerdo, utilizando 500 µL de muestra diluida en 10 mL de agua y 20 mg de CAM a un tiempo de extracción de 20 min. La recuperación absoluta fue de 86 % y se obtuvo un RSD de 3 %. Se compararon la eficiencia y rapidez de la tecnología RDSDE con su homóloga, la extracción por sorción en disco rotatorio (RDSE), en las matrices correspondientes. La comparación cinética entre ambas tecnologías se realizó utilizando la misma cantidad de fase sorbente (CAM), pero confinada en la cavidad del disco en el caso de la tecnología RDSE. Respecto a los perfiles de extracción, el equilibrio se logró a los 20 minutos en la modalidad dispersiva en los 5 analitos en estudio y en la modalidad confinada se alcanzó después de 18 horas. Respecto a la eficiencia metodológica, se optimizó el método RDSE utilizando CA como fase sorbente. En la metodología RDSE/GC-MS el tiempo de extracción fue de 60 minutos utilizando 20 mL de muestra con 50 mg de CA obteniendo recuperaciones absolutas semejantes al método RDSDE (65 - 90%). Los resultados demuestran una gran diferencia en los tiempos de extracción en todos los analitos en la modalidad

dispersiva respecto a la confinada, en conjunto de ser más eficientes como tecnologías de microextracción.

ABSTRACT

In this research, the magnetization of activated carbon derived from avocado seeds (AC) was achieved through a co-precipitation reaction due to its simplicity and ability to control specific characteristics necessary for using this sorbent in dispersive microextraction. The magnetic activated carbon (MAC) was characterized using IR spectroscopy, SEM-EDX, VSM, and BET analyses, which were compared with the non-magnetized sorbent phase. The characterization results confirmed the successful synthesis of magnetic activated carbon. SEM-EDX mapping revealed a homogeneous distribution of magnetite on the activated carbon surface. The hysteresis curve indicated that the magnetic activated carbon (MAC) exhibits the behavior characteristic of a soft ferromagnetic material. This material displayed a coercive field of 46.5 Oe, a remanent magnetization of 3.8 emu/g, and a saturation magnetization of approximately 40 emu/g. Using nitrogen adsorption-desorption isotherms, the surface dimensions of the sorbent were determined, yielding a specific surface area of 754 m²/g, a total pore volume of 0.48 cm³/g, and an average pore size of 2.55 nm. For the application of MAC, the innovative technology of disk-based dispersive sorptive microextraction (RDSDE) was employed, optimized, and validated for the determination of analytes in two matrices. The RDSDE/GC-MS methodology was optimized and validated for determining the emerging contaminants ibuprofen, 1-hydroxyibuprofen, triclosan, and bisphenol-A in water, using 20 mL of sample and 10 mg of MAC with an extraction time of 20 minutes. Relative recoveries were determined using an internal standard, with values ranging from 71% to 100% and relative standard deviations (%RSD) between 3% and 7%. Similarly, the RDSDE/UHPLC-DAD methodology was optimized and validated for the determination of the antibiotic florfenicol in pig plasma, using 500 µL of sample diluted in 10 mL of water and 20 mg of MAC with an extraction time of 20 minutes. Absolute recovery was 86%, with an RSD of 3%. The efficiency and speed of the RDSDE technology were compared with its counterpart, rotating disk sorptive extraction (RDSE), in the corresponding matrices. A kinetic comparison between the two technologies was conducted using the same amount of sorbent phase (MAC), which was confined within the disk cavity in the case of RDSE technology. Regarding extraction profiles, equilibrium was reached at 20 minutes in the dispersive mode for all five analytes studied, while in the confined mode, equilibrium was achieved after 18 hours. In terms of methodological efficiency, the RDSE method was optimized using AC as the sorbent phase. In the RDSE/GC-MS methodology, an extraction time of 60 minutes was used with 20 mL of sample and 50 mg of AC, achieving absolute recoveries like the RDSDE method (65 – 90%). The results demonstrate a significant difference in extraction times for all analytes between the dispersive and confined modes, with the dispersive modality being faster and more efficient as a microextraction technology.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes generales.

Los avances tecnológicos en el ámbito científico e industrial han generado un auge considerable en la química analítica [1-3], lo que ha generado la necesidad de métodos analíticos de alta calidad que permitan la detección, cuantificación y seguimiento de compuestos que estén presentes en concentraciones muy bajas (del orden de $\mu\text{g/L}$ a sub-ng/L) y en diversas matrices complejas.

Actualmente existe instrumentación de detección avanzada como la espectrometría de masas (MS) en todas sus variantes, que en algunos casos permite la determinación directa de analitos, sin embargo, cuando se analizan matrices más complejas, como aguas residuales (afluentes/efluentes), fluidos biológicos o alimentos, la determinación de analitos se vuelve más difícil, debido al efecto matriz que puede afectar tanto los procesos de separación (extracción/cromatografía) como la ionización y detección instrumental.

En general, cuando los analitos están muy diluidos o cuando la matriz en la que están presentes es compleja, se requieren etapas obligatorias de preparación de muestras. Estas etapas nos permiten extraer y concentrar el analito antes de la determinación instrumental, evitando tanto efectos de matriz elevados como interferencias severas, además de alcanzar la sensibilidad adecuada debido a la concentración del analito.

En el caso específico de la determinación de analitos en matrices acuosas ambientales, biológicas y alimentarias, la preparación de muestras mediante técnicas de microextracción se encuentra en etapa de desarrollo, compitiendo con tecnologías más tradicionales (en formatos convencionales) (Tabla 1), como la extracción líquido-líquido (LLE) y extracción en fase sólida (SPE).

En ese contexto las tecnologías de microextracción surgieron como una alternativa atractiva y ecoeficiente en la preparación de muestras con el advenimiento de la microextracción en fase sólida (SPME) en 1989 [4].

Tabla 1. *Algunas técnicas de microextracción (con fecha de su primera publicación).*

Técnica de microextracción	Descripción	Referencia
SPME	Fibra de sílice recubierta con una micro cantidad de fase sorbente inmovilizada. (1989)	[4]

SBSE	Barra de agitación magnética recubierta con la fase sorbente. (1999)	[5]
RDSE	Pequeño disco (1,5 mm de diámetro) que tiene insertada una barra magnética en miniatura. (2009)	[6]

La sensibilidad y precisión de las metodologías basadas en microextracción están mejorando debido a la facilidad de preconcentración y la capacidad de automatización que brindan, respectivamente. Por otro lado, la miniaturización y la ecoeficiencia también se han mejorado considerablemente al utilizar menos espacio y evitar el uso de reactivos tóxicos y altos volúmenes de disolventes orgánicos.

Entre las técnicas de microextracción, está la microextracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) la cual fue propuesta en 2009 [6] y recientemente revisada considerando todos sus avances y aplicaciones [7]. Esta innovadora técnica de microextracción está basada en el equilibrio en lugar de involucrar procesos de extracción exhaustivos (Figura 1), como en SPE. En RDSE dos aspectos son importantes para favorecer termodinámicamente la recuperación de la extracción: i) la constante de partición del analito entre la fase sorbente y la líquida (muestra) y ii) la cantidad de la fase en el dispositivo de extracción [7].

Desde un punto de vista cinético, el paso determinante de la velocidad de extracción corresponde cuando el analito cruza la capa límite de agua inmovilizada en la superficie del sorbente. Aunque esta capa siempre está presente, se puede adelgazar con una convección eficiente, alcanzando el equilibrio de partición más rápido.

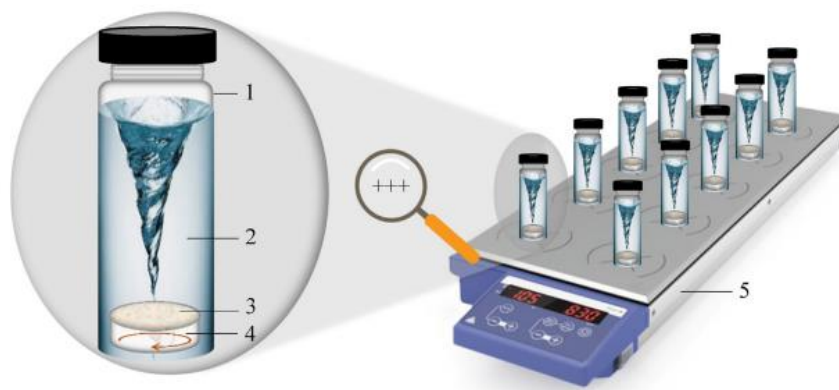


Figura 1. Proceso RDSE 1) Matraz de muestreo 2) Muestra 3) Fase de sorción inmovilizada 4) Dispositivo de disco rotatorio magnético 5) Agitadores magnéticos [7].

La técnica RDSE se ha utilizado para determinar una gran variedad de analitos (Tabla 2) en diversas matrices debido a su versatilidad y rapidez para llegar al equilibrio en extracción.

Tabla 2. Metodologías que utilizan RDSE con sus respectivas condiciones optimizadas [7].

Fase sorbente	Analito	Tiempo extracción, (min)	Volumen Muestra, (mL)	Condición desorción / Volumen final	Ref.
Oasis HLB	Florfenicol	90	25	8 mL Acetona, 60 min / 2mL	[8]
Oasis HLB	NSAIDs	90-100	50	5 ml MeOH, 10 min / 500 uL	[9]
Oasis HLB	NSAIDS	60	25	5 ml MeOH, 10 min / 500 uL	[10]
Oasis HLB	Hormonas	60	25	4,5 ml MeOH, 15 min / 100 uL	[11]
Oasis HLB	Triclabendazoles	90	40	8 mL Acetona, 60 min / 2mL	[12]
Oasis HLB	Pesticidas	50	50	3 mL MeOH, 60 min / 400 uL	[13]
Oasis HLB	Parabenos	70	20	5 mL MeOH, 10 min / 100 uL	[14]
Oasis HLB	Ftalatos	90	20	10 mL MeOH, 20 min /200 uL	[15]
Oasis HLB	Contaminantes Emergentes	60	20	10 mL MeOH, 10 min /120 uL	[16]
Oasis HLB	Hormonas y Triclosán	60	20	10 mL AcOEt/100 uL	[17]
Oasis HLB	Parabenos	70	20	5 mL MeOH, 10 min/500 uL	[18]
S-DVB	Antibióticos veterinarios	90	8	8 mL MeOH, 30 min/2 mL	[19]
Corcho y MMT-IL	Parabenos	30	25	3 mL NH ₄ OH, 10 min/3 mL	[20]
MMT-IL	PCBs	30	5	5 mL MeOH, 10 min/100 uL	[21]

En el ámbito industrial, por ejemplo, se ha utilizado RDSE para determinar florfenicol en plasma de cerdo con la finalidad de hacer estudios de farmacocinética del antibiótico [8], destacando su recuperación y tiempo de equilibrio en la extracción.

En el ámbito ambiental se ha utilizado también esta tecnología de microextracción para determinar contaminantes emergentes (CEs) en muestras acuosas, con la finalidad de monitorear estos compuestos, ya que los tratamientos convencionales solo permiten su remoción parcial, contaminando finalmente las aguas naturales y el medio ambiente [23]. Los contaminantes emergentes (CEs) son un grupo de compuestos químicos no regulados que, tras su uso continuado en humanos y animales, están presentes en los seres vivos y en el medio ambiente junto con sus metabolitos [24-25]. Los contaminantes emergentes se presentan, entre otros, en formulaciones farmacéuticas, en productos para el cuidado personal, compuestos industriales y comerciales, formulaciones de pesticidas y hormonas (Figura 2).

En el caso de la extracción de CEs en RDSE se ha estimado que el proceso de extracción va de un rango de 30 a 100 minutos [7]. Si bien los tiempos de extracción son abordables, es necesario innovar en tratamientos de muestras más eficientes y rápidas para aumentar la reproducibilidad en el proceso de extracción.



Figura 2. Clasificación de Contaminantes emergentes.

1.2 Antecedentes específicos.

1.2.1 Sorbentes utilizados en la microextracción.

En todos los casos, independientemente del dispositivo de microextracción, el corazón de todas las tecnologías de microextracción está en la naturaleza de la fase adsorbente.

En el contexto de los adsorbentes sólidos, según su origen, se pueden clasificar como adsorbentes sintéticos o naturales. El cual la mayoría de los adsorbentes sintéticos comerciales están disponibles para la extracción en fase sólida (SPE).

En el caso específico de RDSE en la extracción de analitos orgánicos, se han utilizado sorbentes sintéticos como por ejemplo el copolímero de divinilbenceno y HLB(Oasis™) (Figura 3) el cual se han utilizado principalmente por su balance hidrofílico/lipofílico que permite diversas interacciones de sorción. Entre ellos, las interacciones hidrofóbicas ocurren a través del apilamiento y las interacciones polares a través de puentes de hidrógeno [26].

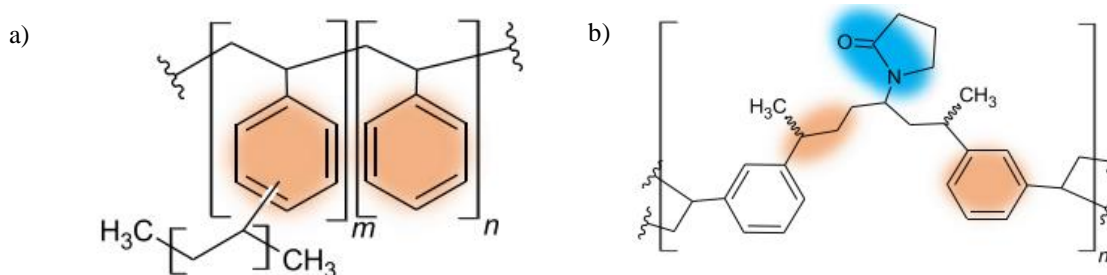


Figura 3. Sorbentes sintéticos utilizados en RDSE. a) S-DVB; b) HLB (OASIS™).

Actualmente se están reivindicando nuevas tendencias en el diseño de sorbentes sólidos considerando nuevos materiales sintéticos. En este contexto, se han probado micro y nanomateriales, como los nanotubos de carbono (CNT), el grafeno y los fullerenos con la función de aumentar el área superficial del sorbente [27-28]. Las interacciones a través de electrones deslocalizados son especialmente importantes para las moléculas que contienen anillos aromáticos [27], como en el caso de los CE.

Se han descrito algunos problemas [28] con respecto a la obtención de bajas eficiencias de extracción para estos materiales. Además, la preparación de estos materiales es difícil debido a los procedimientos de síntesis necesarios, tediosos, costosos y perjudiciales para el medio ambiente [28].

1.2.2 Sorbentes naturales.

Hoy en día es un desafío en la química analítica enfatizar en el uso de procesos analíticos ecoeficientes o verdes, manteniendo los parámetros de sensibilidad y selectividad de la medición. Como se mencionó anteriormente, la tecnología de microextracción es verde en sí misma dada la minimización del consumo de solventes orgánicos en la etapa de preparación de la muestra. Sin embargo, se logra un nivel aún mayor de ecoeficiencia analítica cuando la fase sorbente utilizada es de origen natural; De esta forma, el uso de materiales naturales está directamente relacionado con el cambio del paradigma de los modelos típicos de producción (tomar-hacer-desechar) hacia un modelo circular de reutilización de residuos [29].

En este contexto se ha propuesto un número significativo de sorbentes orgánicos de origen vegetal como materiales ecoeficientes y de bajo costo para tratamiento de agua [30], que permiten la remoción de metales pesados y contaminantes orgánicos. Entre ellos, los desechos agrícolas y domésticos han sido de gran interés en estas tecnologías [30] y los principales constituyentes de estos materiales, como hemicelulosas, lignina, lípidos, proteínas, azúcares simples, agua, hidrocarburos y almidón, contienen una variedad de grupos funcionales para la posible adsorción de diversos contaminantes. Por ejemplo, la literatura contiene descripciones del uso de diferentes cáscaras de frutas como almendra, avellana, lenteja, granada, patata, arroz, nuez, coco, pomelo, mango, ajo, melón, plátano, naranja y albaricoque [30]. Además, algunas semillas, como el hueso de aceituna [31] y el de palta [32] y algunas maderas, como el pino [33] y el corcho [34], se han aplicado como adsorbentes para el tratamiento de aguas.

Estos materiales orgánicos se pueden utilizar directamente como adsorbentes o realizando modificaciones físicas o químicas sobre ellos [30-35].

1.2.3 Sorbentes naturales modificados.

Se han investigado diversas modificaciones a las fases sorbentes naturales con el fin de mejorar su efectividad de extracción. Estas se basan en reacciones conocidas de funcionalización (oxidación selectiva, esterificación, reticulación y copolimerización, etc.) que refuerzan el potencial del grupo funcional y el número de sitios activos del material de sorción [36].

En el caso de tratamiento de aguas un sorbente natural modificado muy utilizado es el biochar [37]. El biochar es el resultado de la pirólisis (combustión sin presencia de oxígeno) del sorbente natural. Modificación que descompone térmicamente el material orgánico, con la finalidad de expandir su porosidad y composición [37].

Las funcionalidades típicas presentes en la superficie del biochar incluyen restos de hidroxilo, carboxílico, lactona, amina y amida, así como la condensación aromática y la aromaticidad, que son la clave de sus propiedades de adsorción [37] y la retención de contaminantes de diferentes naturalezas que los hacen adsorbentes interesantes para su aplicación en la microextracción. Con el mismo propósito, a partir de estos materiales naturales también se puede generar carbón activado a un costo significativamente menor que el mismo sustrato comercial.

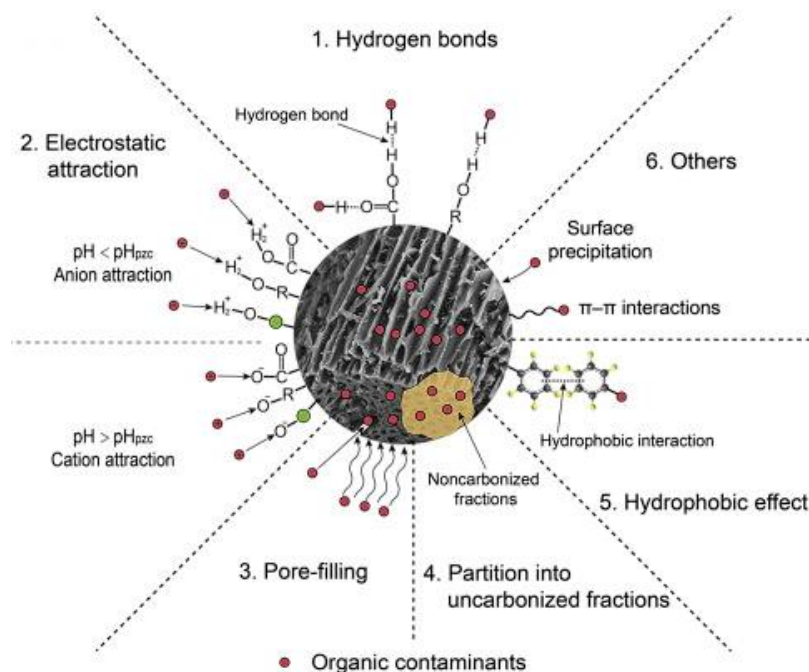
El proceso de pirólisis en el rango de temperatura de 300 a 900 °C produce carbón activo con la porosidad requerida asociada con un alto contenido de carbono. El paso de activación luego proporciona un material con un área de superficie más alta, generando porosidad adicional y permite el ajuste de la superficie química para tener características únicas [38-39]. Aunque un procedimiento para modificar los adsorbentes naturales, como la pirólisis o alguna modificación química, tendería a reducir la ecoeficiencia de la tecnología de microextracción en comparación con el uso directo de materiales naturales, la ecoeficiencia general sigue siendo mayor que el uso de materiales poliméricos sintéticos [40].

El estado del arte en esta materia puede visualizarse como espacios muy amplios donde enfocar nuevos diseños de fases naturales alternativas para la microextracción de compuestos orgánicos.

1.2.4 Carbón activo de semilla de palta como fase adsorbente de CEs.

La semilla de palta es uno de los pocos residuos que se ha propuesto como adsorbente eficaz para el tratamiento de agua [32-33], específicamente para CEs y compuestos fenólicos. La caracterización de la superficie ha revelado que los carbones activados de semilla de palta tienen superficies hidrofílicas con grupos predominantemente ácidos en su superficie. Los grupos funcionales más importantes incluyen (i) O-H, probablemente de alcoholes y fenoles, (ii) anillos aromáticos, (iii) C=O, probablemente de ácidos carboxílicos y ésteres y (iv) C-H de compuestos aromáticos y alifáticos. Estas funcionalidades proporcionan un balance hidrofílico-lipofílico que nos permite suponer que será un excelente sorbente en la microextracción de CEs.

Según los autores [32], la adsorción de CEs sobre el carbón activado derivado de las semillas de palta se produce no sólo a través de interacciones π - π entre los π -electrones presentes en los anillos aromáticos de los analitos y los del sorbente, sino también mediante la formación de un complejo donante-aceptor entre los aceptores (carbonilos) y los anillos aromáticos que actúan como electrodonantes [42].



Esquema 1. Resumen de los mecanismos propuestos para la adsorción de contaminantes orgánicos en biocarbón y carbón activado [42].

1.2.5 Magnetización de carbón activo para lograr procedimientos de microextracción más rápidos.

Para aprovechar al máximo el potencial de las fases sorbentes (a través de su uso directo o de biocarbón y/o carbón activado preparado a partir del material original), existe una modificación que puede mejorar sus características en microextracción, particularmente desde un punto de vista cinético.

Esta modificación consiste en la magnetización del material mediante técnicas estandarizadas, utilizando metales de transición o sus óxidos transformando el material en un adsorbente magnético [43]. Debido a la característica magnética adquirida, el sorbente puede dispersarse en la muestra produciendo una extracción mucho más rápida debido al aumento del área superficial para luego atraer el carbón magnético usando un imán [44]. En general, se utiliza la técnica de pirólisis en conjunto de la coprecipitación (Tabla 3) para producir carbón activo magnético de alta calidad y alto rendimiento [45].

Tabla 3. *Procedimiento de síntesis del carbón activo magnético [45].*

Etapa	Descripción
1) Pirólisis	Proceso químico y térmico de descomposición de un material orgánico a una temperatura entre 400°C y 800°C en ausencia de oxígeno con presencia de sales de magnesio, zinc o hierro.
2) Coprecipitación	Proceso químico donde el carbón activo se introduce a una solución de metales ferrosos y sales férricas, donde se forma magnetita (Fe_3O_4) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) mediante precipitación en la superficie del carbón activo a pH entre 8 y 14 en un entorno no oxidante.

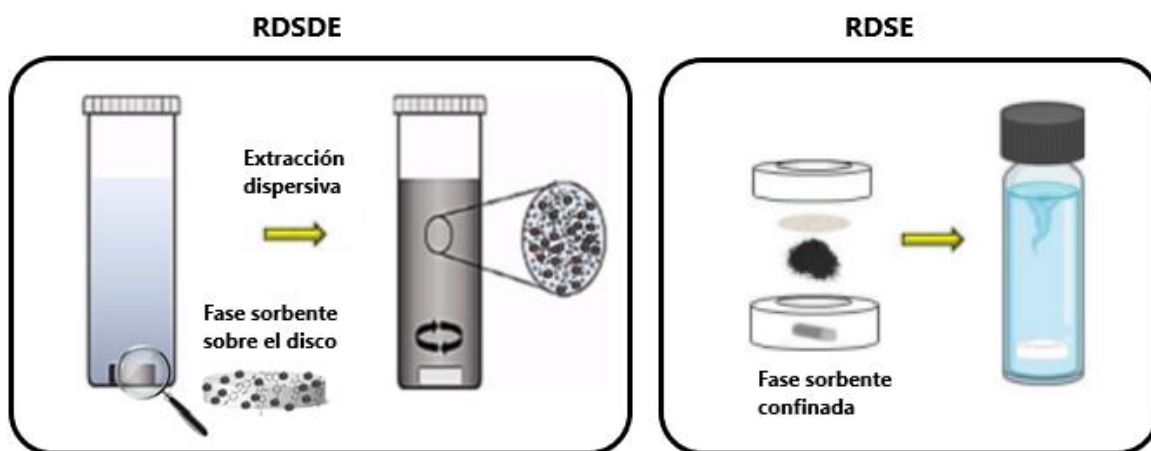
En esta investigación de tesis proponemos el desarrollo de un sorbente ecoeficiente para la microextracción de compuestos orgánicos, aprovechando el uso de un residuo natural (semilla de palta). Residuo que una vez modificado tendrá características beneficiosas para extraer de forma eficaz y rápida compuestos orgánicos (Tabla 4) desde matrices acuosas. Sorbente que será implementado en un innovador método de microextracción “RDSDE” que se propone como una posible alternativa más eficiente y rápida que el método convencional RDSE.

1.2.6 Microextracción Dispersiva Sortiva con barra de agitación (SBSDME) y con Disco Rotatorio (RDSDE).

En este contexto y con base en la ingeniosa tecnología de microextracción sortiva-dispersiva en barra agitadora (SBSDME) reportada por Vállez y col. [46] que ha ampliado los beneficios de SBSE, se implementará una tecnología equivalente basada en el método RDSE, dado que con el dispositivo utilizado en SBSE no se puede demostrar cuantitativamente la ventaja cinética que provee la modalidad dispersiva en estas técnicas.

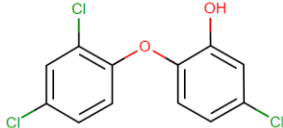
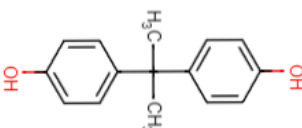
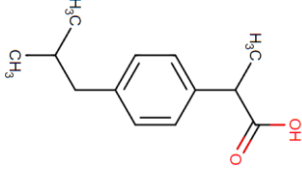
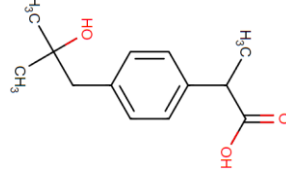
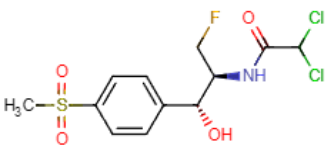
Este nuevo método a diferencia del convencional RDSE el sorbente no se ubicará dentro del disco por lo que no se inmoviliza permanentemente. En este modo, el sorbente magnético permanecerá inmovilizado en el disco antes de la extracción por las fuerzas magnéticas ejercidas por el imán insertado en el disco. Sin embargo, cuando el disco gira en contacto con la muestra, el sorbente se desprende del disco magnetizado a altas velocidades de rotación por la fuerza centrífuga, produciendo la extracción en modo dispersivo. Después de un tiempo determinado de extracción, la velocidad de rotación se reduce y el material magnético se inmoviliza nuevamente en la superficie del disco por fuerza magnética, haciéndolo disponible para la elución de los analitos.

Este modo acortaría significativamente el tiempo de microextracción porque la transferencia de masa mejora mucho en el modo dispersivo debido al aumento del área superficial del sorbente, alcanzando más rápidamente el equilibrio de extracción. De esta forma, el tiempo de extracción se reduciría significativamente en comparación al método convencional RDSE debido a que el transporte masivo se ve altamente favorecido en el modo dispersivo. Teniendo en cuenta el acrónimo RDSE, el nombre para esta técnica será microextracción dispersiva sortiva de disco rotatorio (RDSDE). Para demostrar cuantitativamente esta ventaja cinética, se comparará la extracción en esta modalidad con la convencional RDSE donde la misma cantidad de fase se va a confinar en la cavidad del dispositivo (Esquema 2).



Esquema 2. Métodos RDSDE y RDSE.

Tabla 4. Características fisicoquímicas de analitos en estudio (Chemicalize).

Analitos	pK _a	Log P	Estructura
Triclosán Agente antimicrobiano incorporado a una gran variedad a productos de cuidado personal.	7,68	4,98	
Bisfenol-A Esteroides sintético que interfiere en el sistema endocrino reproductivo de los peces.	9,78	4,04	
Ibuprofeno Antiinflamatorio No esteroideal (AINES).	4,85	3,84	
1-Hidroxiibuprofeno Metabolito del Ibuprofeno.	4,23	2,37	
Florfenicol Antibiótico sintético de amplio espectro	10,68	0,67	

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

2.1 Hipótesis.

“La técnica analítica de microextracción dispersiva sortiva de disco rotatorio RDSDE es más eficiente y rápida que la microextracción con disco rotatorio convencional RDSE para extraer analitos desde muestras acuosas”

2.2 Objetivos Generales.

Desarrollar metodologías analíticas basadas en RDSDE para la extracción de analitos desde muestras acuosas.

- La primera metodología tendrá un enfoque ambiental, donde se realizará la extracción de contaminantes emergentes (CEs) presentes en aguas y su posterior cuantificación mediante cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas (GC-MS) con la finalidad de monitorear estos compuestos.
- La segunda metodología analítica tendrá un enfoque de la industria fármaco-veterinaria, donde se realizará la extracción del antibiótico florfenicol (FF) en plasma de cerdo y su posterior cuantificación mediante cromatografía líquida de ultra alta presión acoplado a detector arreglo de diodos (UHPLC-DAD) para hacer estudios de farmacocinética del antibiótico.

En ambos casos se cuantificarán mediante los perfiles de extracción, la ventaja cinética de los métodos dispersivos frente a la metodología tradicional RDSE.

2.3 Objetivos Específicos.

- Sintetizar y caracterizar carbón activo magnético con el objetivo de adaptar el sorbente para su aplicación en RDSDE.
- Optimizar la metodología GC-MS para cuantificar CEs en muestras acuosas.
- Optimizar el método RDSDE para extraer CEs en muestras acuosas.
- Validar el método analítico de RDSDE en matrices acuosas enriquecidas con CEs, determinando las propiedades analíticas del método.
- Optimizar la metodología UHPLC-DAD para cuantificar Florfenicol en muestras de plasma de cerdo.
- Optimizar el método RDSDE para extraer Florfenicol en plasma de cerdo.

- Validar el método analítico de RDSDE en plasma de cerdo enriquecido con Florfenicol, determinando las propiedades analíticas del método.
- Comparar la efectividad y rapidez entre el método RDSDE y microextracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) en la extracción de analitos desde fase acuosa.

3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.

3.1 Reactivos.

- $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ Sigma-Aldrich 99%.
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ Sigma-Aldrich 98-102%.
- HCl fumante MERCK de calidad p.a. al 37%.
- ZnCl_2 Sigma-Aldrich 98%.
- Etilendiamina. Sigma-Aldrich 99%.
- Nitrógeno extra puro $\geq 99,995\%$ (Linde).
- Helio extra puro $\geq 99,9999\%$
- Ácido fosfórico, grado técnico.
- Fosfato monopotásico, grado técnico.
- Fosfato dipotásico, grado técnico.
- Ácido acético, grado técnico.
- Acetato de amonio, grado técnico.
- Acetonitrilo, grado HPLC.
- Etanol anhidro, 99,5 %.
- Metanol, grado HPLC.
- Acetona, grado HPLC.
- Agua desionizada obtenida de un equipo Millipak ® Express 20 Filter (Merck).
- N-metil-N-trimetilsilil-trifluoro-acetamida (MSTFA, Merck)
- Estándar Florfenicol, grado analítico (Sigma-Aldrich).
- Estándar Ibuprofeno, grado analítico (Sigma-Aldrich).

- Estándar 1-Hidroxi Ibuprofeno, grado analítico (Sigma-Aldrich).
- Estándar Bisfenol-A, grado analítico (Sigma-Aldrich).
- Estándar Triclosán, grado analítico (Sigma-Aldrich).
- Estándar Triclosán Deuterado. (Merck)
- Estándar Ibuprofeno Deuterado. (Merck)

3.2 Materiales.

- Columna UHPLC, XB-C18 (100 mm x 4,6 mm x 5 μ m).
- Columna cromatográfica capilar RTX-5MS (30 mx 0,25 mm x 0,25 μ m)
- Filtros de jeringa PVDF de 0,22 μ m.
- Disco de teflón con barra magnética (1,5 cm de diámetro).
- Disco de teflón con camisa y cavidad con barra magnética (1,5 cm de diámetro).
- Botellas Schott de vidrio de 250, 500 y 1000 mL.
- Viales de vidrio ámbar de 20 mL.
- Semillas de palta Hass (Mercado, Chile).
- Matraces aforados de vidrio de 2, 5 y 10 mL color ámbar, clase A.
- Espátulas de diferentes tamaños y capacidades.
- Pipeta automática de 20-100 μ L y 100-1000 μ L.
- Puntas de 200 y 1000 μ L.
- Vasos precipitados 500 y 1000 mL
- Viales ámbar de 2,0 mL con septa ranurada.
- Jeringas desechables de 3 y 5 mL.
- Pipetas Pasteur (Hirschmann ®).
- Matraz Kitasato y embudo Büchner.

- Ependorf de 1,5 mL.
- Insertos vidrio 250 μ L.
- Imán de neodimio de 5000 Gauss.
- Hélices de doble anillo de sílice.
- Tubos ranurados de vidrio 10 mL.
- Balón de vidrio desmontable de 5 bocas.
- Crisoles de porcelana.

3.3 Equipos laboratorio.

- Incubadora con agitación orbital. New Brunswick Scientific, Model classic C24.
- Mufla Heraeus Termicom P.
- Agitador Mecánico Modelo Heidolph RZR 2050 Electronic.
- Placa calefactora Modelo Heidolph MR 3002.
- Termómetro digital. Traceable VWR. 50-260°C
- Tamices.
- Balanza analítica de precisión de 0,1 mg.
- Baño de ultrasonido.
- Baño termorregulado.
- Agitador de tubos Multi Reax.
- Microcentrífuga modelo M-6 Boe 8074100 MundoLab.
- Evaporador Biotage VWR.
- Espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) Nicolet iS5, Thermo Scientific acoplado a un accesorio de muestreo inteligente de reflectancia total atenuada (ATR) iTX-iD7 con cristal de diamante.

- Equipo de Cromatografía UHPLC acoplado a detector UV-Visible con arreglo de diodos. (Vanquish, Thermo Scientific).
- Equipo de Cromatografía GC acoplado a un detector de espectrómetro de masas (MS) con analizador de cuadrupolo (Thermo Fisher Scientific ISQ).

4. METODOLOGIA.

4.1 Analitos y sorbentes seleccionados.

Los analitos seleccionados son compuestos de diferentes polaridades tales como triclosán (TCS), Bisfenol-A (BPA), Ibuprofeno (IBU) y su metabolito 1-Hidroxi Ibuprofeno (1-IBU) los cuales serán determinados simultáneamente en matriz acuosa y el Florfenicol (FF) que será determinado en plasma de cerdo (Tabla 4). En cuanto al sorbente, se ha seleccionado el carbón activo de semilla de palta como materia prima para el diseño de la fase sorbente magnética debido a su eficiencia en la extracción de contaminantes emergentes y compuestos fenólicos [32-33].

4.2 Síntesis de Carbón Activo Magnético (CAM).

4.2.1 Obtención de carbón activo a partir de semilla de palta.

Inicialmente la semilla de palta se molió a granel y se dejó en un horno a 80°C durante 3 días para eliminar el agua. Para la activación se trituro la semilla de palta seca en un mortero y se vertió en crisoles (5 gr c/u). Se vertió a cada crisol 20 mL de una solución al 20% de ZnCl₂ y se colocaron en una incubadora con agitador orbital en el rango de 150-170 rpm a 60°C hasta sequedad y se almacenó en un horno a 40 °C.

Para la pirólisis de la fase natural se utilizó un horno de mufla dónde se calibró el programa de temperatura el día anterior. Primeramente, se colocaron los crisoles tapados en la mufla y se purgó con nitrógeno durante 20 minutos. Posteriormente se encendió la mufla con una temperatura inicial de 25°C, con una rampa de temperatura de 10 °C/min hasta 600 °C y se mantuvo esta temperatura durante 30 minutos. Finalmente se dejó enfriar hasta 200 °C en el horno y se colocó en una cámara de vacío.

Para la limpieza del carbón activado obtenido éste se vertió en un vaso precipitado con agua destilada y se agitó durante 1 hora para facilitar su trituración en mortero. Posteriormente se filtró al vacío y se dejó secar a 60°C durante 15 min. Se vertió el carbón activo en 500 mL de una solución de 5 M de HCl y se dejó agitando durante un día. Concurrido el tiempo de lavado, se filtró el carbón activo al vacío y se lavó exhaustivamente con agua destilada hasta que el pH del agua residual sea cercano a 6 y se colocó en el horno a 40 °C para mantener seco (Figura 4).



Figura 4. Etapas de la síntesis del carbón activo a) Molienda b) Activación c) Pirólisis d) Lavado.

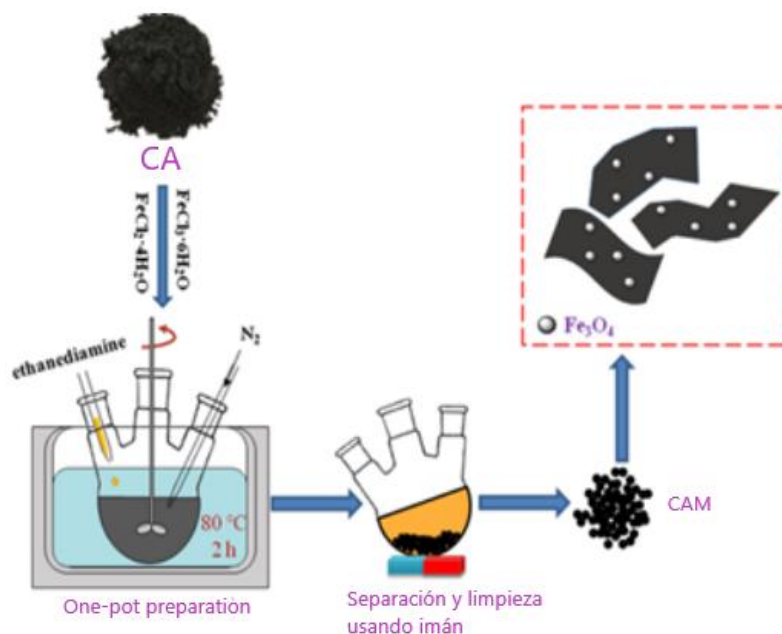
4.2.2 Modificación magnética del carbón activado.

El carbón activado se modificó magnéticamente mediante la reacción de co-precipitación de la magnetita [47-49].

En la reacción se utilizaron las sales de hierro $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (10,8 y 4,0 gr respectivamente), estas se disolvieron en 200 mL de agua ultrapura facilitado ultrasonicamente junto con 2,0 g del carbón activo, con un tamaño de partícula 38-75 μm tamizado previamente.

La solución se vertió en un balón desmontable de 3 bocas equipado con un agitador mecánico con hélices de sílica con doble anillo, un condensador de reflujo, termómetro digital, entrada de nitrógeno y un embudo de adición. Inicialmente se agita a 300 rpm mientras se calienta la solución a unos 75°C, se adicionan gota a gota 20 mL de etilendiamina y enseguida se aumenta la agitación en 500 rpm a 75°C durante 2 horas.

Terminada la reacción el CAM se separó del medio mediante aplicación de un campo magnético externo generado por un imán de neodimio de 5000 gauss (Esquema 3) y se lavó con agua destilada y metanol. Finalmente, el sorbente magnetizado se secó en un horno a 70°C durante 8 horas.



Esquema 3. Procedimiento de síntesis carbón activo magnético [47].

4.3 Caracterización de sorbentes (CA y CAM).

4.3.1 Espectroscopía FTIR-ATR.

Los espectros infrarrojos fueron determinados mediante un espectrofotómetro FTIR Thermo scientific Nicolet IS5, ID7-ATR. Los espectros fueron monitoreados a través del software Thermo/Essential FTIR.

4.3.2 Vibrating-Sample Magnetometer (VSM).

La curva de magnetismo de la muestra de CAM fue obtenida con un magnetómetro de muestra vibrante (VSM) Cryogenic, miniVSM, mediante la obtención de las curvas de histéresis considerando la aplicación de un campo magnético entre -15000 y 15000 Oe que fueron estandarizadas con el peso de cada muestra. Previamente, la muestra se mantuvo seca y se pesó en una balanza analítica, dado que las curvas de histéresis se estandarizan en función de la masa considerada.

4.3.3 Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-ray (SEM-EDX).

La composición y morfología del CAM fueron realizados utilizando el análisis de rayos X de dispersión de energía (EDX) adjunto con un microscopio electrónico de barrido FEI modelo Inspect F50. Se obtuvo el patrón de difracción (EDX) del CAM utilizando un difractor de rayos X Bruker modelo Compact Qq TOF Bench-top con una radiación de 10 keV .

4.3.4 Isotermas de adsorción de nitrógeno.

La distribución del tamaño de poro y el área de superficie específica se determinaron mediante adsorción de nitrógeno a 77K en un analizador de sorción de gas, cuantificando el área de superficie, volumen y tamaño de poro mediante el método Brunauer-Emmett-Teller (BET).

4.4 Optimizaciones Cromatográficas (GC-MS y UHPLC-DAD).

Las optimizaciones cromatográficas se realizaron con la finalidad de obtener la mejor eficiencia en la separación cromatográfica y mayor sensibilidad instrumental.

4.4.1 Optimización cromatográfica por GC-MS.

Los analitos TCS, BFA, IBU y 1-IBU se determinaron mediante GC-MS en un cromatógrafo de gases Thermo Scientific TRACE 1300 (Milán, Italia) acoplado a un detector selectivo de masas Thermo Fisher Scientific ISQ (Austin, TX, Estados Unidos) para las determinaciones de GC-MS. Se utilizó una columna cromatográfica RTX-5MS (30 mx 0,25 mm x 0,25 μ m).

En primera instancia se prepararon estándares concentrados para cada uno de los analitos y a partir de estas soluciones, se preparó por dilución un multiestándar de 0,5 mg/L de IBU;1OH-IBU y un multiestándar de 5 mg/L de TCS y BPA. Se preparó un estándar subrogante de ibuprofeno (IBU-D₃) en una concentración de 2 mg/L y un estándar subrogante de triclosán (TCS-D₃) a una concentración de 0,7 mg/L.

Para la derivatización de los analitos, se añadió 100 μ L en un vial de 10 mL de un multiestándar de IBU, 1OH-IBU, TCS y BPA a una concentración de 1,0 mg/L y se evaporó a sequedad bajo una corriente de N₂. Luego, se añadió 50 μ L de MSTFA (agente derivatizante) junto a 50 μ L de AcOEt, se agitó previamente en vortex y se colocaron los viales en una placa derivatizante a 60°C durante 20 minutos.

4.4.2 Optimización cromatográfica por UHPLC-DAD.

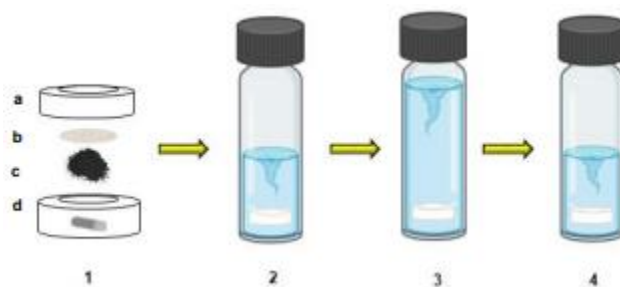
El analito florfenicol (FF) se determinó mediante UHPLC-DAD en un cromatógrafo líquido de alta resolución Thermo Scientific Vanquish Flex (Alemania) acoplado a un detector de arreglo de diodos FG Thermo Scientific Vanquish (Alemania) para las determinaciones UHPLC-DAD. Se utilizó una columna cromatográfica XB-C18 (100 mm x 4,6 mm x 5 μ m).

Se preparó una estándar de FF a una concentración de 2000 mg/L, para aquello se pesó en una balanza analítica aproximadamente 20 mg del estándar, se llevó a un matraz aforado de 10 mL y se aforó con acetonitrilo, se homogeneizó y almacenó en un tubo falcón de 15 mL a -20°C.

A partir del estándar de 2000 mg/L se preparó un estándar intermedio de florfenicol de 50 mg/L y 5 mg/L.

4.5 Optimización de los métodos RDSE para muestras dopadas con los analitos en estudio.

El método RDSE consiste en 3 etapas: Inicialmente se realizó el acondicionamiento del disco con el CA, en un vial de vidrio con 5 mL de AcOEt, 5 mL de MeOH y 5 mL de agua desionizada durante 5 min. Posterior a la etapa de acondicionamiento se adicionó la muestra acuosa al vial y se realiza la extracción. Finalizado el proceso de extracción el disco se cambia de vial y se realiza la desorción con el solvente adecuado (Esquema 4). Se realizó la optimización univariable de los factores: Tiempo de extracción, cantidad de sorbente, tiempo de desorción, solvente de desorción y respecto al porcentaje de recuperación de los analitos.

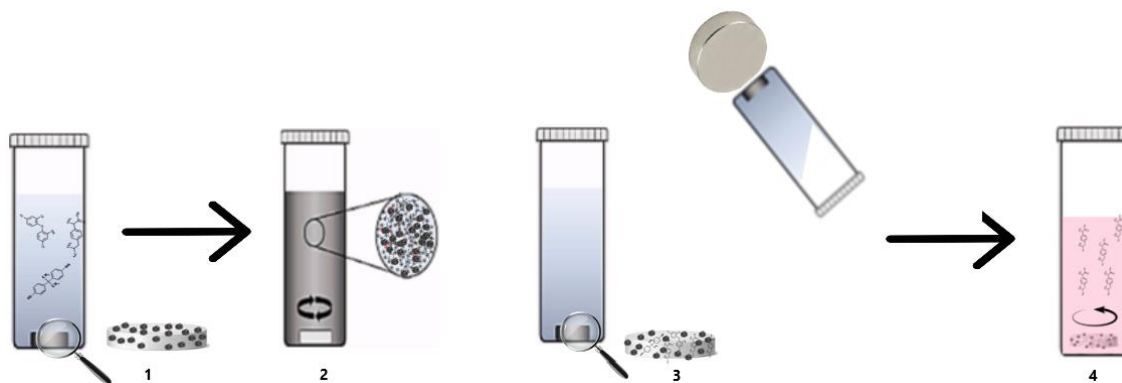


Esquema 4. Procedimiento de RDSE con carbón activado. 1) Ensamblaje del disco (a. Camisa de teflón, b. filtro de fibra de vidrio, c. fase de CA, d. disco rotatorio con barra magnética), 2) Acondicionamiento del disco, 3) Extracción de los analitos desde la muestra de agua, 4) Desorción de los analitos [50].

4.6 Optimización de los métodos RDSDE para muestras dopadas con los analitos en estudio.

El método RDSDE consiste en 2 etapas: Inicialmente se vertió la fase sorbente CAM al vial con el disco, seguidamente se adicionó la muestra acuosa al vial y se realiza la extracción a 2000 rpm. Posterior al proceso de extracción se capta el sorbente junto con el disco mediante un imán de neodimio, se descarta el sobrenadante y se agrega el solvente orgánico para realizar la desorción (Esquema 5).

Se realizó la optimización univariable de los factores: Tiempo de extracción, cantidad de sorbente, tiempo de desorción, solvente de desorción y pH respecto al porcentaje de recuperación de los analitos.



Esquema 5. Procedimiento de RDSDE con carbón activado magnético. 1) disco rotatorio con barra magnética con fase de CAM, 2) Agitación a 2000 rpm y extracción dispersiva de los analitos desde la muestra acuosa, 3) Detención del disco, captación del sorbente apoyado de un imán de neodimio y descarte del sobrenadante 4) Desorción de los analitos.

4.7 Validación de los métodos RDSDE optimizados.

Mediante el análisis de muestras blanco-reales enriquecidas con concentraciones conocidas de analitos, se determinó las características analíticas de cada método, incluyendo la selectividad, exactitud (recuperación), precisión (repetibilidad y reproducibilidad), y límites de detección y cuantificación de los métodos propuestos.

4.7.1 Selectividad.

Este parámetro expresa la capacidad del método bio-analítico para medir y diferenciar entre el analito de interés y otros componentes endógenos o metabolitos secundarios del medicamento que podrían estar presentes en la muestra.

4.7.1.1 Selectividad en la determinación de Florfenicol en plasma de cerdo.

Para determinar la selectividad del método se midió 10 fuentes individuales de plasma blanco (B_p) junto a un fortificado a nivel del límite inferior (A_{fi}) de cuantificación (0,25 mg/L) en triplicado. Se realizó la razón de sus áreas para determinar la selectividad acorde a la Ecuación 1.

$$\frac{\text{Área } B_p}{\text{Área } A_{fi}} \cdot 100\% < 20\% \quad (1)$$

4.7.2 Linealidad del sistema: Curva de estándares.

Este parámetro expresa la capacidad del sistema (detector, inyector, etc.) de entregar una señal (área del peak) que sea directamente proporcional a la concentración del analito dentro de un rango determinado. Para determinar la linealidad del sistema se realizó una curva de calibración estándar en el rango de concentraciones a estudiar en triplicado en cada nivel de concentración. Para la gráfica de cada una de las rectas, se utilizó el promedio de las 3 inyecciones por nivel de concentración.

4.7.2.1 Curva de calibración estándar de Florfenicol.

La curva estándar de FF se realizó en las concentraciones de 1,0; 5,0; 10,0; 15 y 20 mg/L.

4.7.2.2 Curva de calibración estándar de CEs.

La curva estándar de IBU y 1OH-IBU se realizó en las concentraciones de 0,10; 0,20; 0,50; 1,00 y 1,50 mg/L. La curva estándar de TCS y BPA en las concentraciones de 1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00 mg/L.

4.7.3 Linealidad del método.

Este parámetro expresa la linealidad entre la respuesta de la concentración del analito en presencia de la matriz en cada una de las concentraciones del rango de linealidad. El rango debe cubrir la concentración esperada en las muestras.

Para determinar la linealidad de cada método se realizó la inyección por triplicado en cada nivel de concentración y se graficó el área de la señal cromatográfica vs la concentración del analito, determinando la ecuación de recta y el coeficiente de regresión lineal (R^2).

4.7.3.1 Curva de calibración de Florfenicol en plasma de cerdo.

En cada muestra se utilizó 500 uL de plasma de cerdo las cuales se enriquecieron en cinco niveles de concentración de FF (0,5; 2,5; 5,0; 7,5 y 10 mg/L).

4.7.3.2 Curva de calibración de CEs en agua potable.

En cada muestra se utilizó 20 mL de agua potable las cuales se enriquecieron en cinco niveles de concentración de IBU y 1OH-IBU (0,5; 1,0; 2,5; 5,0 y 7,5 $\mu\text{g/L}$); TCS y BPA (5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0 $\mu\text{g/L}$).

4.7.4 Límites de Cuantificación y Detección.

El Límite de Cuantificación (LC) expresa la menor concentración del analito presente en la matriz que puede ser cuantificada con exactitud y precisión. El Límite de Detección (LD) expresa la menor

concentración de analito presente en la matriz que puede ser detectado, pero no necesariamente cuantificado con exactitud y precisión.

4.7.4.1 LC y LD en la determinación de Florfenicol en plasma de cerdo.

Para determinar los límites LD y LC se utilizó una curva de calibrado en un rango cercano al límite de detección observable, se diseñó una curva de calibración de fortificados en triplicado para un rango que incluya al menos un punto inferior para el analito que su respectivo rango lineal (0,25; 0,5; 1,0; 1,75; 2,5 mg/L) y se calculó la desviación estándar residual del intercepto de la curva obtenida (SD_{curva}). El Límite de cuantificación y detección en $\mu\text{g/mL}$ se determinó acorde a los datos obtenidos de la curva utilizando las Ecuaciones 2 y 3:

$$LC = 10 \cdot \frac{10 \cdot SD_{curva}}{\text{Pendiente de la curva}} \quad (2) \quad LD = 3,3 \cdot \frac{10 \cdot SD_{curva}}{\text{Pendiente de la curva}} \quad (3)$$

4.7.4.2 LC y LD en la determinación de CEs en muestras acuosas.

Los límites LC y LD del método se realizó de acuerdo con lo establecido por la IUPAC. Para ello, se analizaron 10 muestras blanco. El Límite de cuantificación y de detección expresados en $\mu\text{g/L}$ se determinó acorde ecuaciones 4 y 5, donde X_{bl} y SD_{bl} corresponden, respectivamente, al promedio y la desviación estándar de la respuesta instrumental de los blancos, y m_{cs} a la pendiente de la curva de calibración del analito a concentraciones bajas.

$$LD = \frac{X_{bl} + 3SD_{bl}}{m_{cs}} \quad (4) \quad LC = \frac{X_{bl} + 10SD_{bl}}{m_{cs}} \quad (5)$$

4.7.5 Precisión.

Este parámetro expresa el grado de dispersión de una serie de medidas realizadas en distintas corridas de muestras bajo las mismas condiciones de operación.

Para determinar la precisión de los métodos se cuantificó en un mismo día 3 muestras de fortificado en matriz a un nivel bajo, 3 muestras al nivel medio y 3 a un nivel alto y se calculó la desviación estándar relativa (RSD) para cada nivel de concentración (Ecuación 6).

$$RSD = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100\% \quad (6)$$

4.7.6 Precisión intermedia.

Este parámetro expresa el grado de dispersión de una serie de medidas realizadas en distintos sets de muestras, analizadas en distintas sesiones cromatográficas, en las mismas condiciones de operación. Para determinar la precisión intermedia se cuantificó 3 muestras de fortificado en matriz a un nivel bajo, 3 muestras a un nivel intermedio y 3 a un nivel alto en tres días distintos. Calculando la desviación estándar relativa (RSD) para cada nivel de concentración entre los 3 días de mediciones (Ecuación 6).

4.7.7 Exactitud.

Este parámetro expresa el grado de concordancia entre el valor aceptado como verdadero (concentración teórica) y el valor medido experimentalmente (concentración experimental). La Exactitud se relaciona con el error sistemático del procedimiento experimental y la recuperación del análisis de interés.

4.7.7.1 Exactitud en la determinación de Florfenicol en plasma de cerdo.

La exactitud del método se determinó en base a la recuperación absoluta (% R_{abs}) de florfenicol, para ello se aplicó el método en triplicado al nivel bajo, intermedio y alto de los fortificados en plasma, determinando el porcentaje de recuperación en cada nivel, que se calculó realizando la razón entre la diferencia del Área del fortificado (A_f) y el Área promedio de las muestras blanco (A_b) con el Área correspondiente a la concentración estándar del respectivo fortificado (A_{st}) (Ecuación 7).

$$R_{abs}\% = \frac{A_f - A_b}{A_{st}} \cdot 100\% \quad (7)$$

4.7.7.2 Exactitud en la determinación de CEs en muestras acuosas.

La exactitud de este método se determinó mediante recuperación relativa ($R_{Relativa}$ %) de los analitos respecto a los estándares subrogantes de ibuprofeno y triclosán. Se aplicó el método de extracción optimizado y se calculó a través de la razón entre la diferencia entre las áreas promedio ($n= 6$) de muestras fortificadas al nivel intermedio de la curva en matriz de cada analito, en conjunto con los

estándares subrogantes de IBU-D₃ y TCS-D₃ a una concentración de 5 µg/L (Af₃) y el promedio de muestras blancos (n=10) con muestras fortificadas (n=6) con los respectivos estándares (multiestándar a concentración intermedia de los analitos y estándares subrogantes a una concentración 5 µg/L) previo al paso de derivatización A_{std} (Ecuación 8).

$$Rrel\% = \frac{A_{f3} - A_b}{A_{std}} \cdot 100\% \quad (8)$$

4.4.8 Comparación entre el método RDSE y RDSDE.

La comparación de las tecnologías de microextracción se realizó respecto a la eficiencia del método y la rapidez en la extracción de los analitos en estudio. Primero se compararon las tecnologías RDSE y RDSDE utilizando CA y CAM como sorbente, respectivamente, cada una en sus condiciones óptimas. La comparación se realizó sobre: i) cantidad de pasos; ii) tiempo total en el procedimiento de microextracción y iii) rendimiento del sorbente respecto a la cantidad óptima y la recuperación absoluta de los analitos.

Por otra parte, se comparó la rapidez y eficiencia de extracción de las tecnologías de microextracción a través de los perfiles de extracción de los analitos, usando la misma cantidad de sorbente CAM en ambas tecnologías, confinada en RDSE y dispersa en RDSDE.

5. RESULTADOS.

5.1 Síntesis de Carbón Activo Magnético (CAM).

5.1.1 Obtención de carbón activo a partir de semilla de palta.

El carbón activo de palta (CA) es la base para obtener el CAM, dónde se espera que se mantengan las propiedades de adsorción después de ser magnetizada. El producto crudo del proceso de pirólisis se puede apreciar en la Figura 5 el cual se caracteriza por su dureza. Una de las prioridades en esta investigación es obtener la mayor cantidad de CA contemplando los procesos de lavados exhaustivos que se realizan para eliminar los iones Zn^{2+} y H^+ , lo que provoca una gran pérdida de sorbente. A consecuencia del proceso de lavado se obtuvieron 7,4 g de CA obteniendo un rendimiento del 18,5%.



Figura 5. Carbón activado crudo.

5.1.2 Modificación magnética del carbón activado.

La síntesis de CAM se realizó mediante la reacción de co-precipitación. Las condiciones a la cual se realizó la reacción (Velocidad agitación, temperatura, proporción estequiométrica de sales de Fe, pH y tamaño de partícula de CA) se realizaron acorde a lo informado por Huang [47] dónde se obtuvieron 6,12 g de CAM después del lavado y secado del sorbente (Tabla 5).

Tabla 5. Condiciones de co-precipitación para la síntesis de CAM y cantidad de producto obtenido.

Muestra	Velocidad de agitación, (rpm)	T° C	Fe (II) [M]/ Fe(III) [M]	pH	Tamaño partícula CA, (μ m)	Cantidad CA, (g)	CAM obtenido, (g)
CAM	500	75	1: 2	9	75-38	2,0	6,12

5.2 Caracterización de sorbentes (CA y CAM).

5.2.1 Espectroscopía FT-IR con un accesorio ATR.

Los espectros FTIR de CA y CAM se muestran en la Figura 6. Se puede apreciar un pico característico del Carbón activo de palta en 1556 cm^{-1} lo que corresponde a la vibración del enlace C=C provenientes de los grupos aromáticos formados [51-53], dónde podemos encontrar esta señal tanto en el espectro del CA y CAM sintetizados. Sin embargo, se puede apreciar la aparición del pico en 540 cm^{-1} en CAM correspondiente a la señal Fe-O [54] acorde a la presencia de magnetita en la muestra. Esto nos indicaría preliminarmente la precipitación de la magnetita en la superficie del CA sin presenciar una modificación en los grupos funcionales de su superficie.

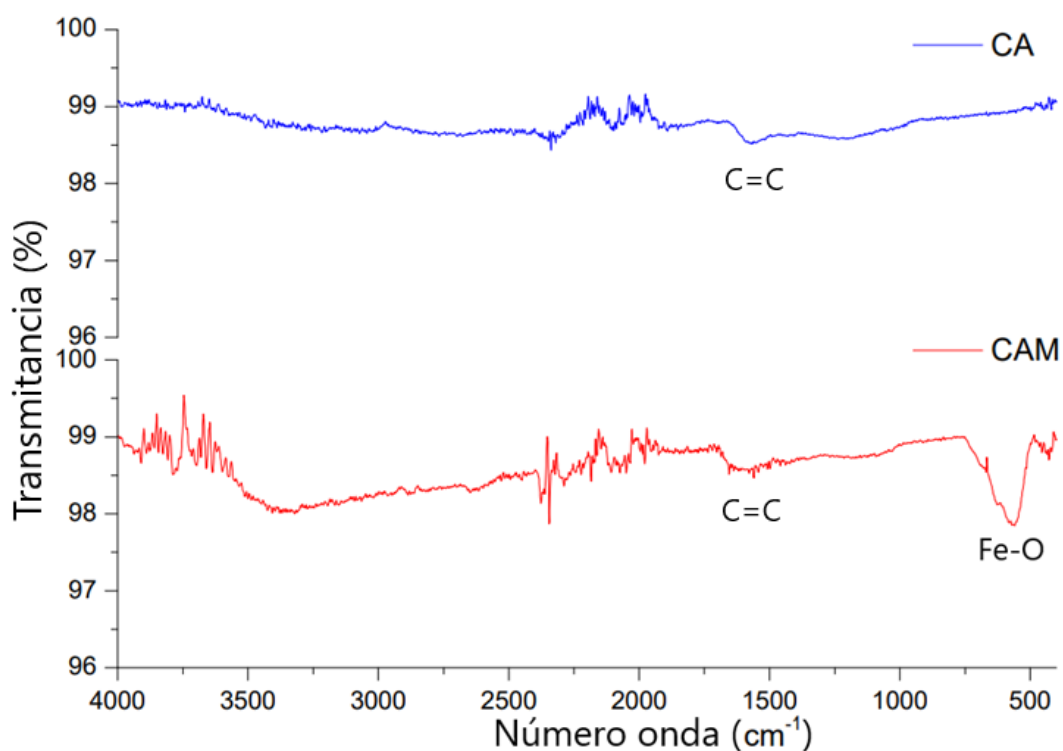


Figura 6. Espectro ATR-FTIR de CA y CAM.

5.2.2 Scanning Electron Microscope - Energy Dispersive X-ray.

Se emplearon técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM) y con espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (SEM-EDX) para caracterizar el carbón activado (CA) antes y después de la reacción de coprecipitación, con el fin de monitorear los cambios en el tamaño de partícula, la morfología y la composición elemental de la superficie. En la Figura 7 se presentan las imágenes SEM del CA, donde se observó una morfología rugosa y porosa característica de este tipo de sorbente [53-54]. En la Figura 8 se obtuvo el mapeo SEM-EDX del CA, donde se destacó una alta presencia de carbono y oxígeno en la superficie del sorbente.

En cuanto a los resultados SEM del CA magnetizado (CAM) (Figura 9), se mantuvo la morfología rugosa y porosa observada en el CA, aunque se apreció una disminución de estas características debido a la presencia de magnetita en la superficie. Los tamaños promedio de las partículas oscilan entre 75 y 38 μm , indicando que la distribución de diámetros no varió significativamente después de la magnetización, lo que sugiere que las partículas de Fe_3O_4 formaron agregados de tamaño nanométrico.

En la Figura 10 se observó un aumento considerable en la presencia de átomos de hierro en la superficie del CA después de la reacción de coprecipitación, lo que se relacionó directamente con la formación de Fe_3O_4 . El mapeo SEM-EDX (Figura 10) reveló que la distribución de los átomos de hierro es uniforme, lo que indica una dispersión homogénea de las nanopartículas de Fe_3O_4 sobre la superficie del CA.

Finalmente, la Tabla 6 muestra los cambios en la composición elemental superficial del CA antes y después de la magnetización, donde se destacó una disminución en la proporción de carbono en el CAM debido a la incorporación de Fe_3O_4 .

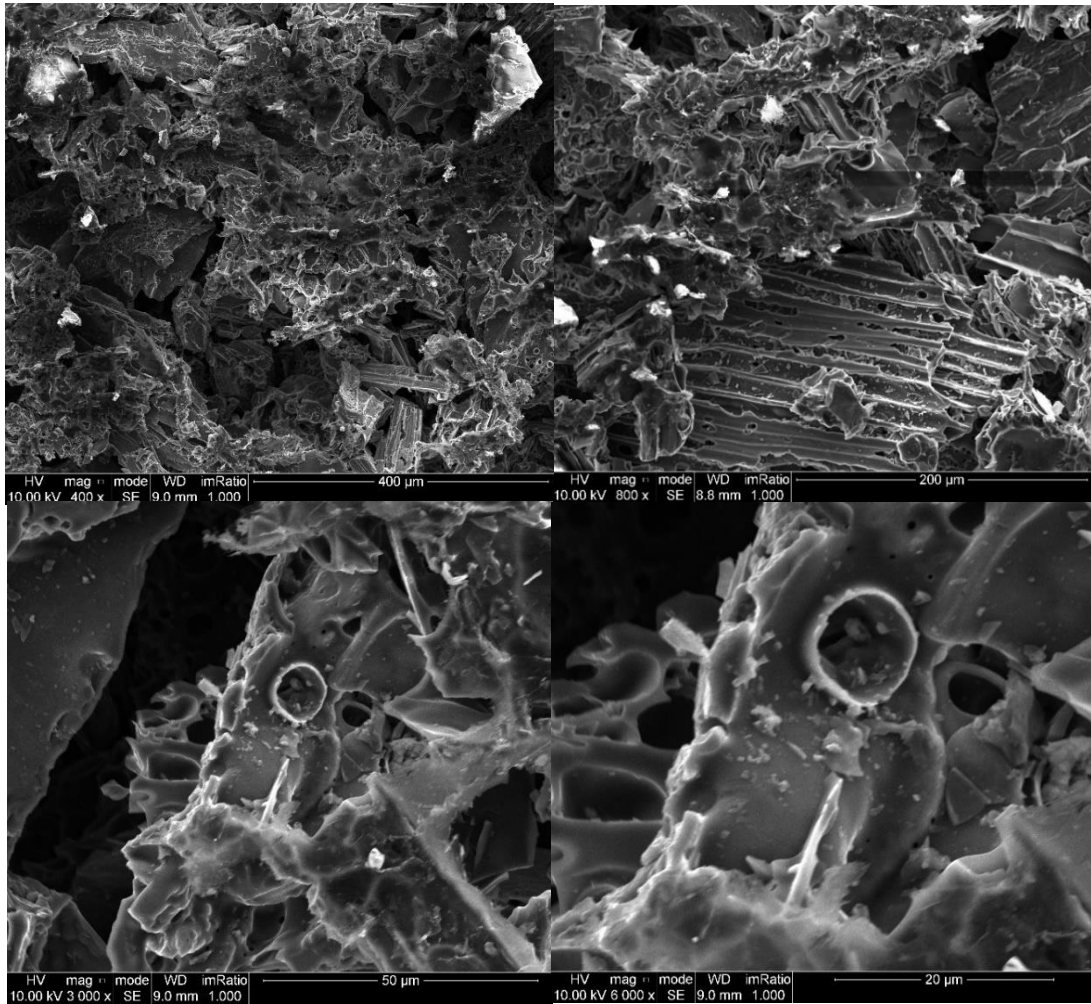


Figura 7. Imágenes SEM del CA amplificada X400, X800, X3000 y X6000.

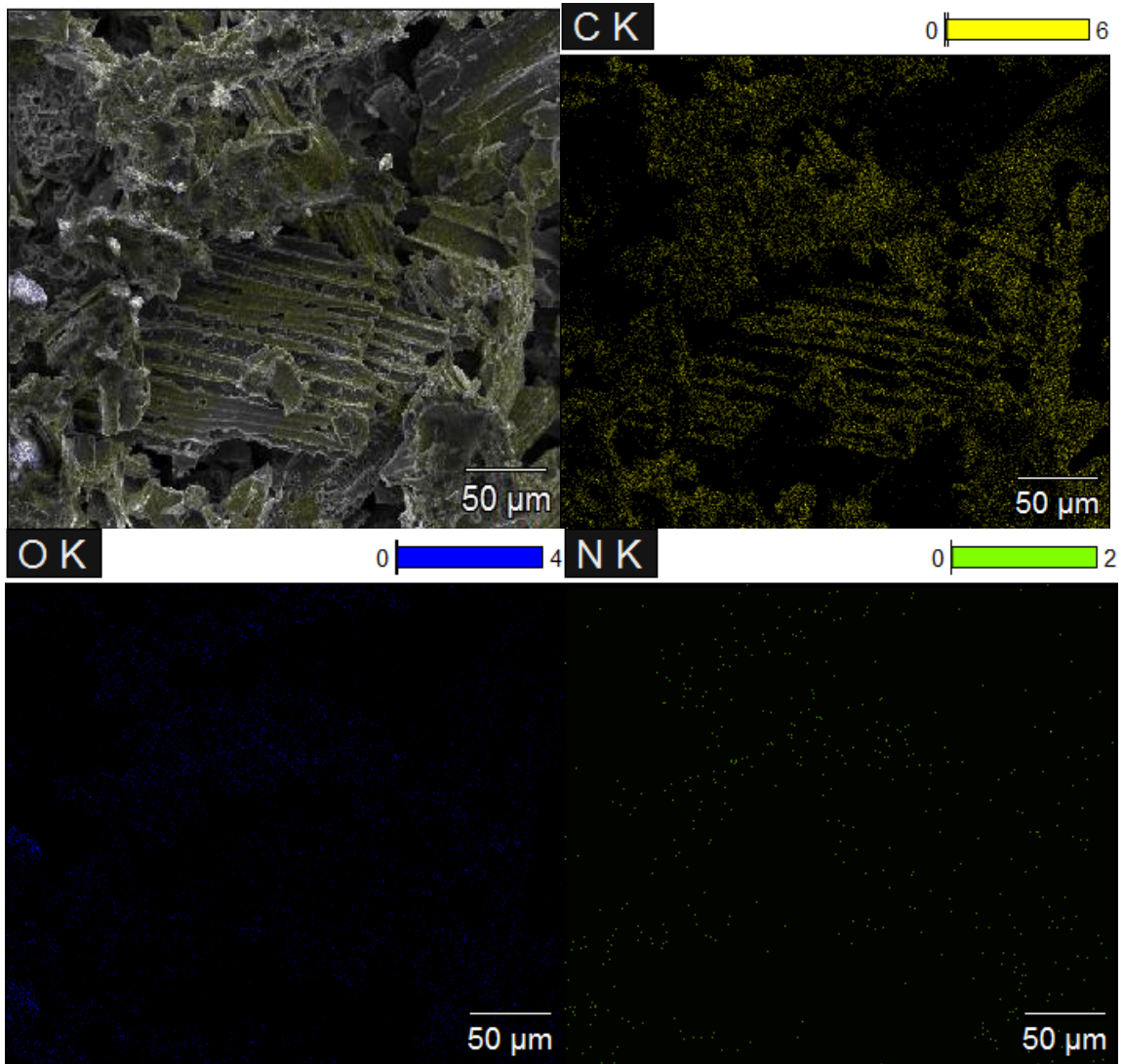


Figura 8. Imágenes SEM-EDX del CA (X800;10 keV).

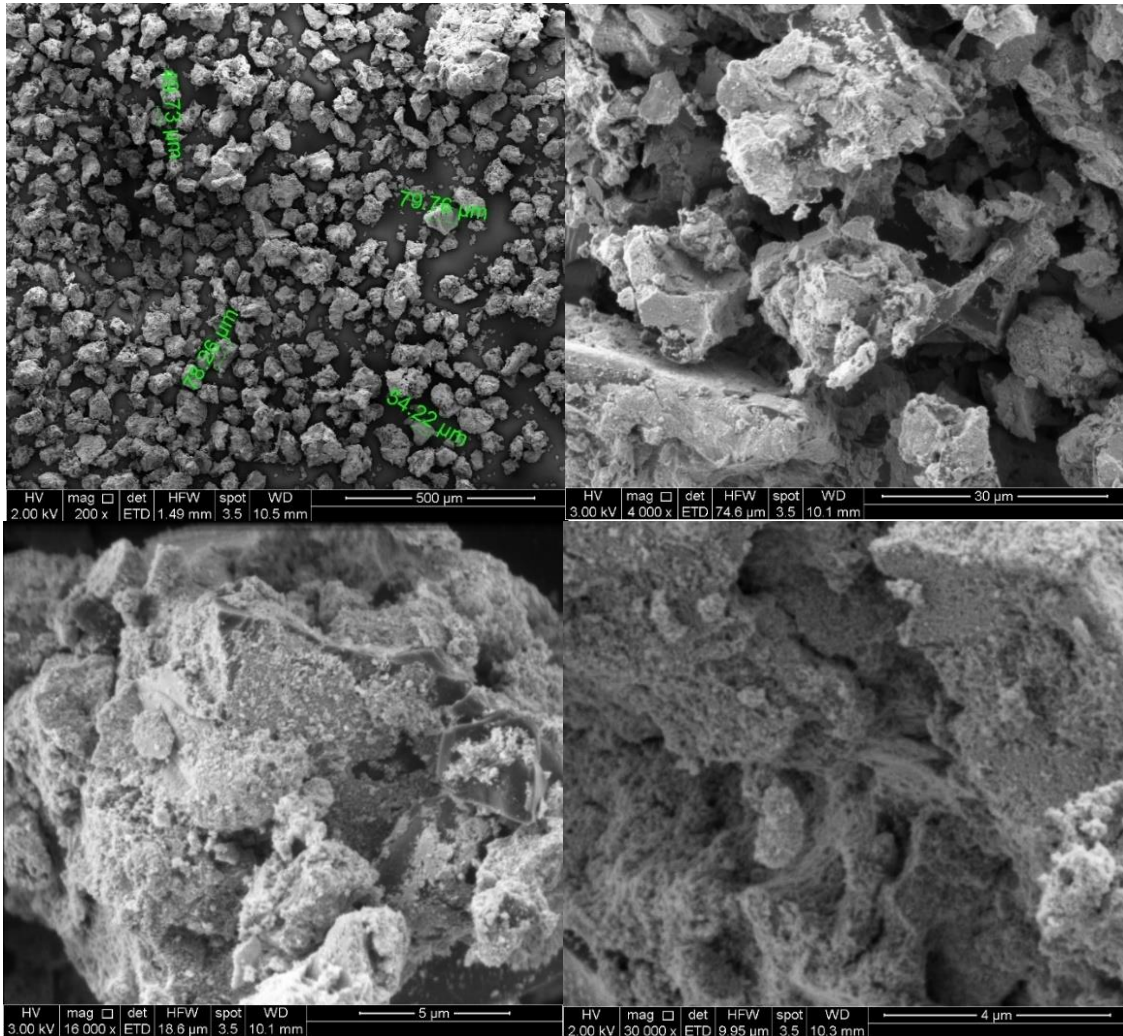


Figura 9. Imágenes SEM del CAM amplificadas X200, X 4000, X 18000 y X30000.

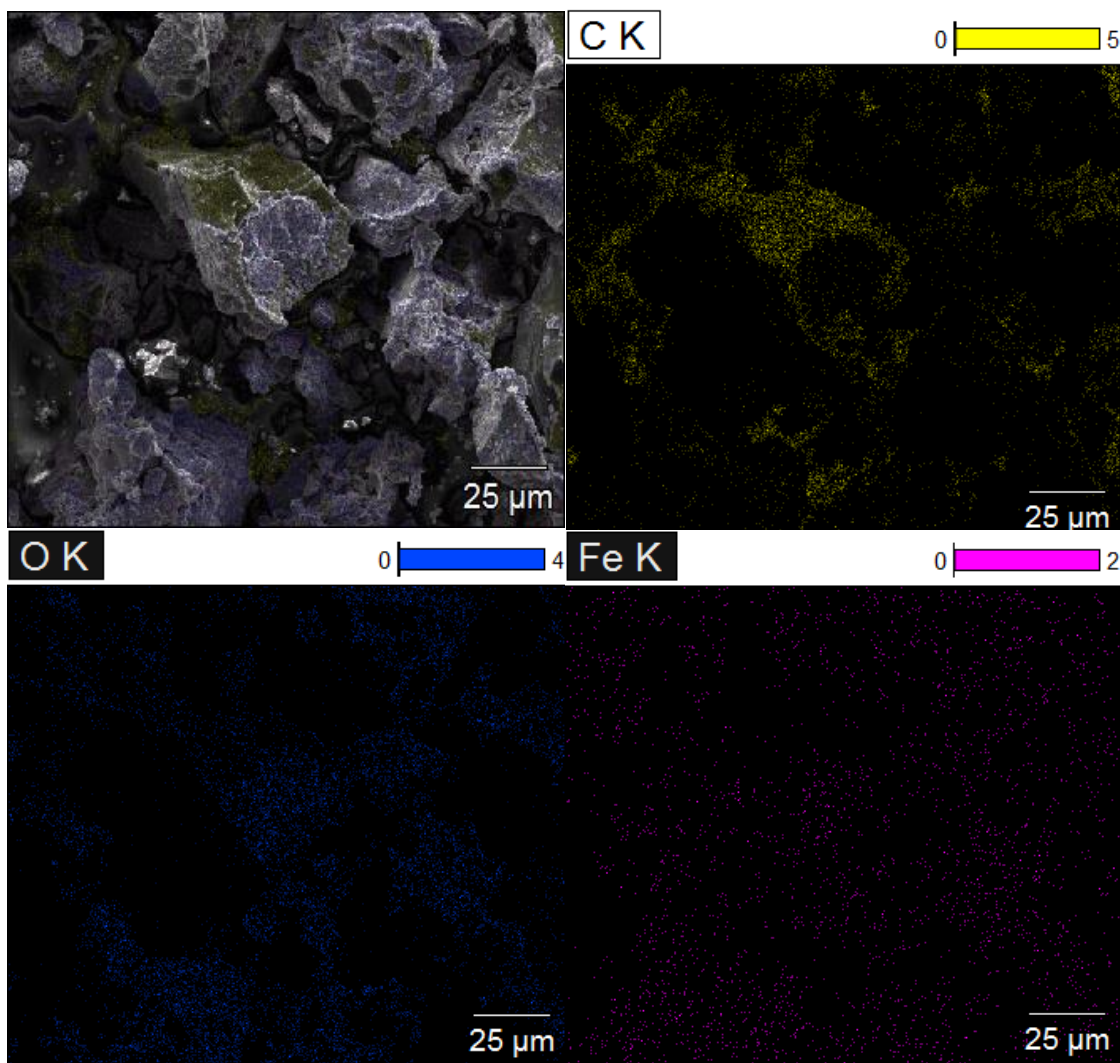


Figura 10. Imágenes SEM-EDX del CAM (X15000; 10 KeV).

Tabla 6. *Composición elemental superficial del CA y CAM sintetizado.*

Muestra	Carbón (C), (%)	Hierro (Fe), (%)	Oxígeno (O), (%)	Nitrógeno (N), (%)
CA	60,9	-	28,1	8,7
CAM	30,3	24,9	41,0	3,3

5.2.3 Vibrating-Sample Magnetometer (VSM).

Para examinar en mayor profundidad las propiedades magnéticas del CAM, se empleó un magnetómetro de muestra vibrante (VSM). Como se muestra en la Figura 11, la muestra CAM presentó una fuerte atracción magnética, con una saturación magnética de aproximadamente 40 emu/g. La baja coercitividad, de 46,5 Oe, sugiere que el material se puede magnetizar y desmagnetizar fácilmente mediante campos magnéticos externos.

La magnetización obtenida reflejó una notable capacidad de respuesta magnética, lo que indica que el CAM podría separarse fácilmente de una solución utilizando una fuerza magnética externa. Además, su remanencia dio un valor de 3,8 emu/g, lo que evidencia un comportamiento ferromagnético blando. Por lo tanto, se determinó que el CAM fue sintetizado exitosamente, logrando propiedades magnéticas similares a las reportadas por la literatura [55-57], propiedades que permitirán su recuperación del medio acuoso tras aplicar un campo magnético.

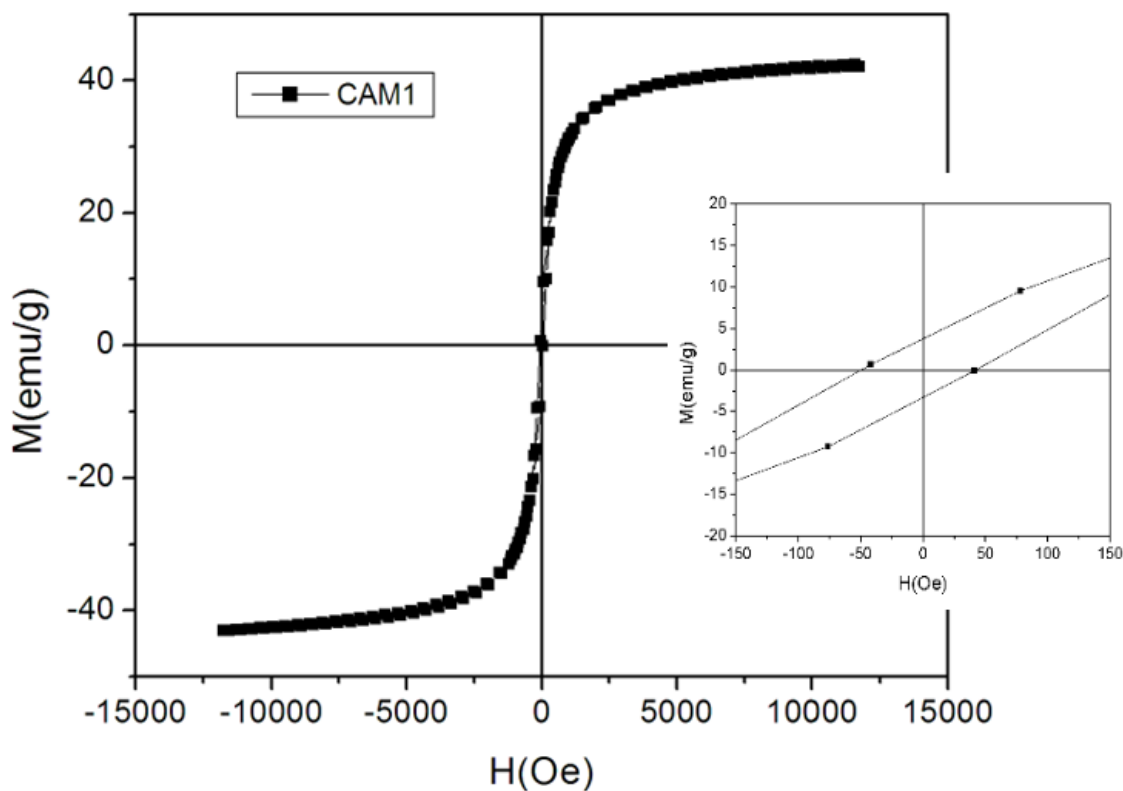


Figura 11. Curva de histéresis del CAM.

5.2.4 Isotermas de adsorción y desorción de nitrógeno.

Para caracterizar las dimensiones superficiales de los sorbentes CA y CAM, se realizaron isotermas de adsorción y desorción de N_2 . Las isotermas de N_2 para el CA (Figura 12) muestran un comportamiento tipo I, asociado con sólidos microporosos que poseen superficies externas relativamente pequeñas, como el carbón activado, las zeolitas moleculares y ciertos tipos de óxidos. En cuanto a las isotermas del CAM (Figura 13), estas muestran un comportamiento tipo II. Este tipo de isoterma representa un proceso de adsorción de monocapa y multicapa, donde se observa la formación completa de una monocapa y el inicio de la adsorción en múltiples capas [58-59].

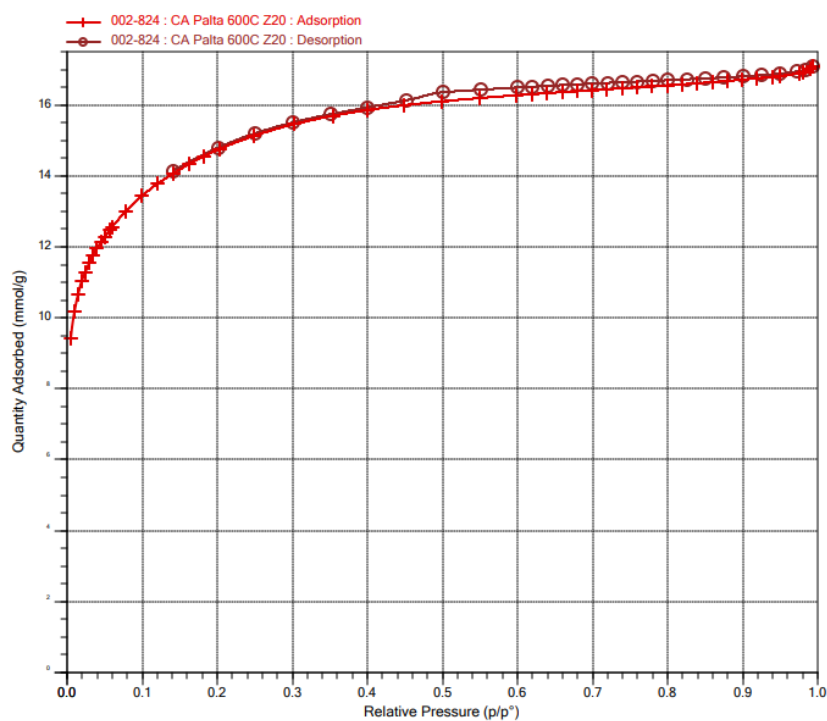


Figura 12. Isotermas de adsorción y desorción de N_2 del CA.

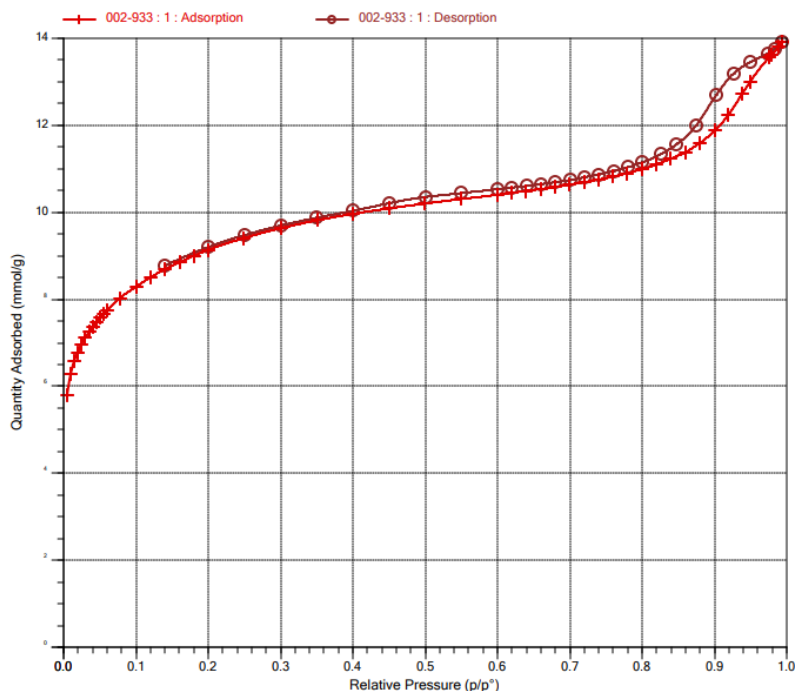


Figura 13. Isothermas de adsorción y desorción de N₂ del CAM.

En la Tabla 7 se detallan las dimensiones superficiales de las muestras en estudio. Los resultados del análisis BET de las isothermas revelan una reducción en el área superficial del CAM en comparación con la materia prima CA. Esto es coherente con los reportes previos en la literatura [48-49], que indican una disminución de aproximadamente la mitad en el área superficial de los carbones activados tras su magnetización mediante coprecipitación. Este fenómeno se atribuye a la adsorción y formación de magnetita en los poros del CA, lo cual también explica la disminución del volumen promedio de los poros en el CAM.

En cuanto al tamaño promedio de los poros, ambos sorbentes presentan tamaños en el rango de microporos. Aunque la reducción en el área superficial y el volumen de poro debido al bloqueo por Fe₃O₄ podría disminuir la capacidad de adsorción del sorbente magnético, este aún conserva una alta área superficial, lo que, junto con la ventaja de su fácil extracción mediante un mecanismo dispersivo, lo hace un material útil y eficiente.

Tabla 7. Área superficial volumen y tamaño promedio de poro de CA y CAM.

Muestra	Área superficial, (m ² /g)	Volumen de poro total, (cm ³ /g)	Tamaño de poro promedio, (nm)
CA	1223	0,59	1,93
CAM	754	0,48	2,55

5.3 Desarrollo metodológico para la determinación de Contaminantes Emergentes en muestras acuosas.

5.3.1 Optimización GC-MS para la determinación de CEs en agua.

Este método cromatográfico acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) permitió la determinación y cuantificación de BPA, TCS, IBU y 1OH-IBU. En la Tabla 8 se presentan los parámetros de la metodología GC-MS, y en la Figura 14 se muestra el cromatograma obtenido para los analitos en estudio. Se observa que el IBU tiene el tiempo de retención más corto (12,67 min), lo cual se debe a su menor afinidad con la columna C18, atribuida a su polaridad tras la derivatización. Por otro lado, el BPA presenta el tiempo de retención más largo (20,25 min), debido a su mayor afinidad con la fase estacionaria de la columna.

Tabla 8. *Parámetros óptimos GC-MS para determinar CEs.*

Parámetro	Condición Óptima
Flujo	1 (mL/min).
T° Inyección	200°C
Modo Inyección	Splitless
Gas Carrier	Helio
Volumen de inyección	1 µL.
Rampa de temperatura	R ₀ : 75°C (2 min) R ₁ : 75-150 20°C/min (5 min) R ₂ : 150-300 10°C/min (5 min)
Columna Analítica	Columna capilar RTX-5MS (30 mx 0,25 mm x 0,25µm)
Tiempo de Corrida	30 minutos.
Espectrómetro de masas	Tipo fuente: Impacto Electrónico (EI). Analizador: Cuadrupolo simple. T° Línea transferencia: 300°C. T° Fuente: 250°C.

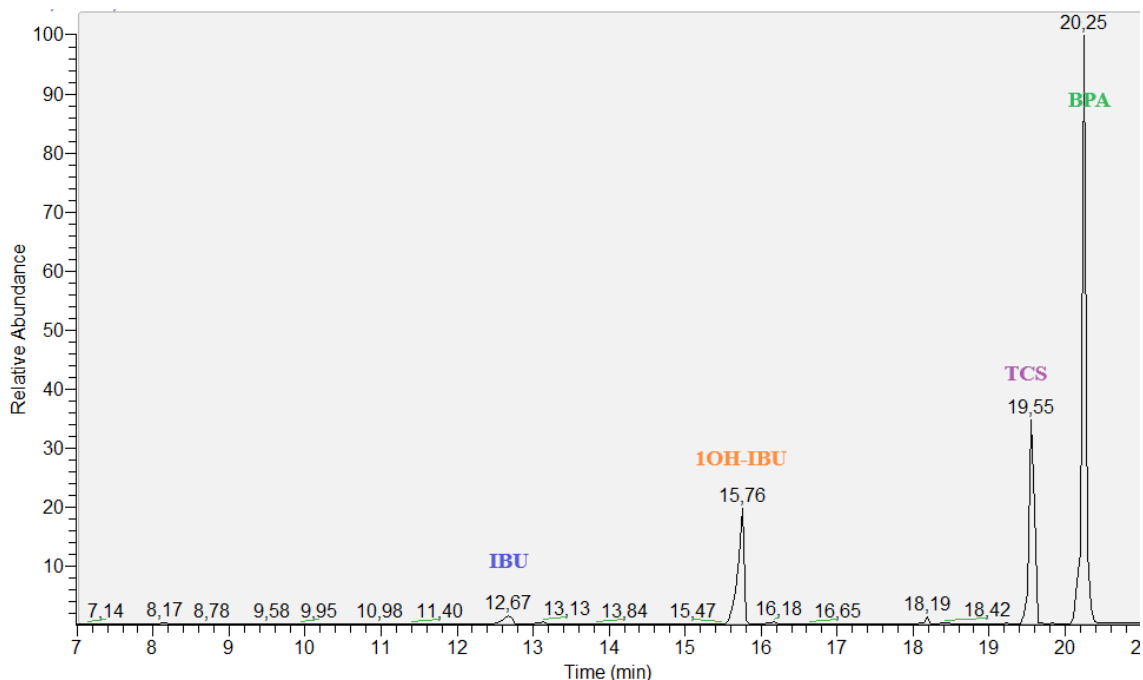


Figura 14. Cromatograma estándar de los CE en estudio a 1 mg/L.

En la Tabla 9 se detallan los iones m/z utilizados para la cuantificación y cualificación de los analitos en estudio, con el objetivo de lograr una mayor sensibilidad y reducir la presencia de posibles interferentes (Figura 15).

Cabe mencionar que esta metodología se utiliza para determinar un conjunto más amplio de contaminantes emergentes (CEs) [60], lo que la hace adecuada para la determinación de CE en muestras acuosas ambientales.

Tabla 9. *Tiempos de retención y iones m/z para la cuantificación y cualificación de los CE en estudio.*

Analito	Tiempo de retención, (min)	Ion m/z Cuantificador	Ion m/z Cualificador
IBU	12,67	234	278
1OH-IBU	15,56	323	324
TCS	19,55	345	360
BPA	20,25	357	358

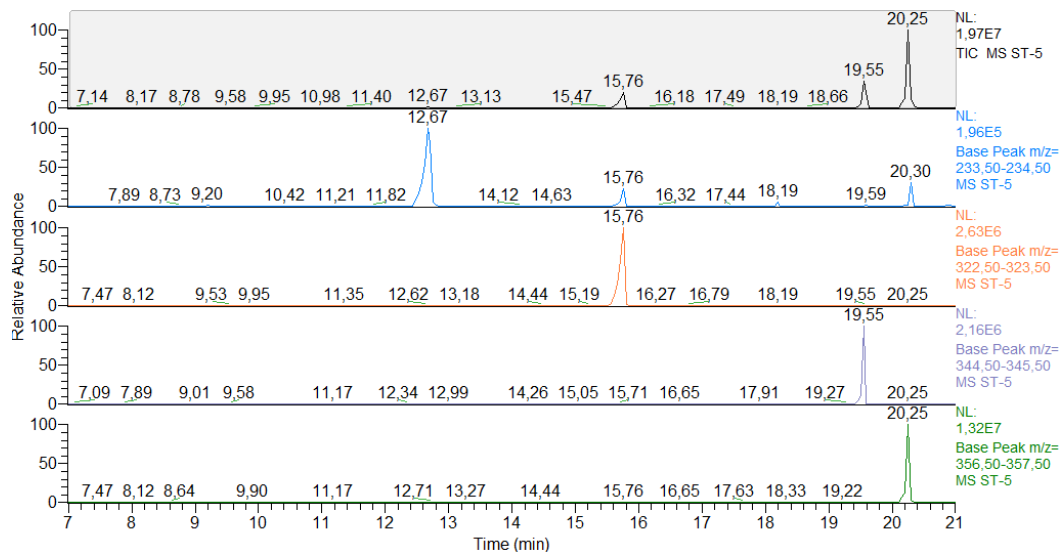


Figura 15. Cromatograma TIC y iones m/z utilizados para cuantificar IBU, 1OHIBU, TCS y BPA.

5.3.2 Optimización del método RDSDE para muestras acuosas dopadas con CEs.

5.3.2.1 Cantidad de Sorbente (CAM).

Inicialmente, se realizó un estudio para determinar la cantidad óptima de fase sorbente de semilla de palta magnética (CAM), evaluando 5, 10, 20 y 30 mg de CAM en relación con el porcentaje de recuperación de los contaminantes emergentes (CEs) en estudio. El experimento se llevó a cabo utilizando un tiempo de extracción de 30 minutos, a pH neutro, y 5 mL de acetona como solvente de desorción durante 10 minutos.

Los resultados presentados en la Figura 16 indican que la mayor recuperación de CEs se obtuvo al emplear 10 mg de CAM. No se observaron diferencias significativas en las medias de recuperación al utilizar 20 y 30 mg de CAM ($p > 0,05$), lo cual sugiere que 10 mg de CAM es una cantidad adecuada para lograr una extracción eficiente sin necesidad de incrementar la cantidad de sorbente, optimizando así los recursos y los costos del proceso.

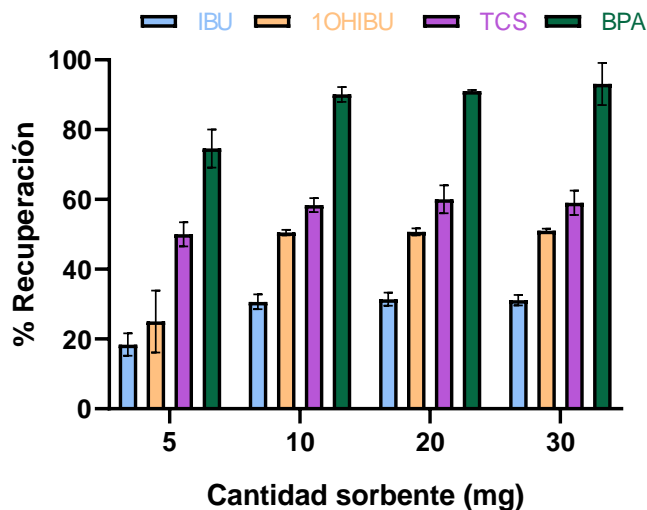


Figura 16. Optimización cantidad sorbente CAM en RDSDE (CEs).

5.3.2.2 Tiempo de extracción.

Para determinar el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de extracción en la técnica RDSDE, se realizó un estudio evaluando un rango de tiempo de 5 a 40 minutos. En estos experimentos se utilizó una cantidad de 10 mg de carbón activado magnético (CAM) a pH neutro, mientras que para la desorción se emplearon 5 mL de acetona durante 10 minutos. Según los resultados presentados en la Figura 17, se observó que el equilibrio de extracción se alcanzó a los 20 minutos, ya que no se encontraron diferencias significativas en las medias de recuperación de los analitos más allá de este tiempo ($p > 0,05$). Estos resultados sugieren que 20 minutos es el tiempo óptimo de extracción, garantizando una máxima eficiencia sin prolongar innecesariamente el proceso experimental.

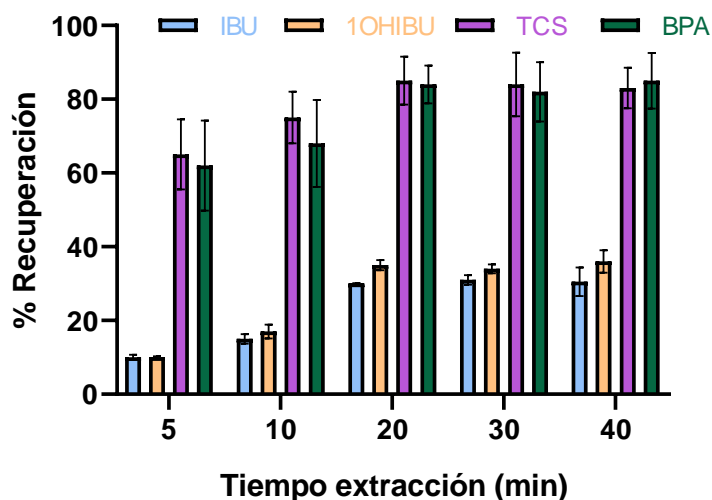


Figura 17. Optimización tiempo de extracción en RDSDE (CEs).

5.3.2.3 Solvente desorción.

Tras la optimización de las variables tiempo de extracción (20 min) y cantidad de carbón activado magnético (CAM) (10 mg), se procedió a evaluar el solvente más adecuado para la desorción de los contaminantes emergentes (CEs) desde el CAM. Se consideraron cuatro solventes: metanol (MeOH), acetato de etilo (AcOEt), acetonitrilo (MeCN) y acetona. Los experimentos se realizaron por triplicado (n=3), utilizando 5 mL de cada solvente durante 10 minutos de desorción.

De acuerdo con los resultados mostrados en la Figura 18, las mayores recuperaciones de CEs se lograron al utilizar acetona y AcOEt, sin diferencias significativas en las medias de recuperación entre ambos solventes ($p > 0,05$). No obstante, se determinó que la acetona es el solvente más adecuado debido a su menor variabilidad en los resultados y su ventaja de un menor tiempo de secado, lo cual facilita la preparación de las muestras y mejora la eficiencia del método.

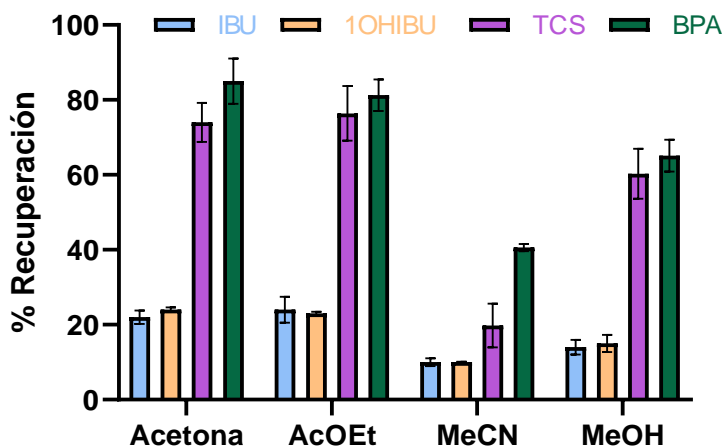


Figura 18. Optimización solvente desorción en RDSDE (CEs).

5.3.2.4 Tiempo desorción.

Para optimizar el tiempo de desorción, se evaluó el porcentaje de extracción de contaminantes emergentes (CEs) durante 2, 5, 10 y 20 minutos, empleando 5 mL de acetona como solvente de desorción. Según los datos presentados en la Figura 19, se observó que el mayor porcentaje de desorción de los CEs extraídos por el carbón activado magnético (CAM) se alcanzó en 10 minutos. Además, no se encontraron diferencias significativas entre las medias obtenidas a 10 y 20 minutos de desorción ($p > 0,05$). Estos resultados indican que un tiempo de 10 minutos es suficiente para lograr una desorción eficiente, optimizando así el proceso sin incrementar innecesariamente el tiempo de tratamiento.

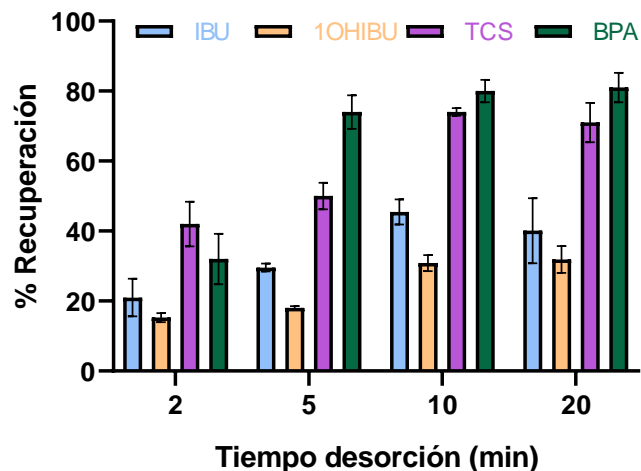


Figura 19. Optimización tiempo desorción en RDSDE (CEs).

5.3.2.5 Optimización pH del medio de extracción.

Finalmente, se llevó a cabo un estudio para determinar el pH óptimo que permitiera maximizar la recuperación de los contaminantes emergentes (CEs) en estudio. Se evaluaron los valores de pH 2, 4, 6 y 8. Según los resultados mostrados en la Figura 20, la mayor recuperación de los analitos se logró al ajustar el pH a 2. Este comportamiento es consistente con lo esperado, ya que a este pH los CEs se encuentran mayoritariamente en su forma neutra, lo cual favorece su interacción con la fase sorbente. Estos resultados destacan la relevancia del pH como un factor clave en la extracción de analitos que pueden adoptar diferentes estados de ionización dependiendo del medio, lo que impacta significativamente en la eficiencia de extracción.

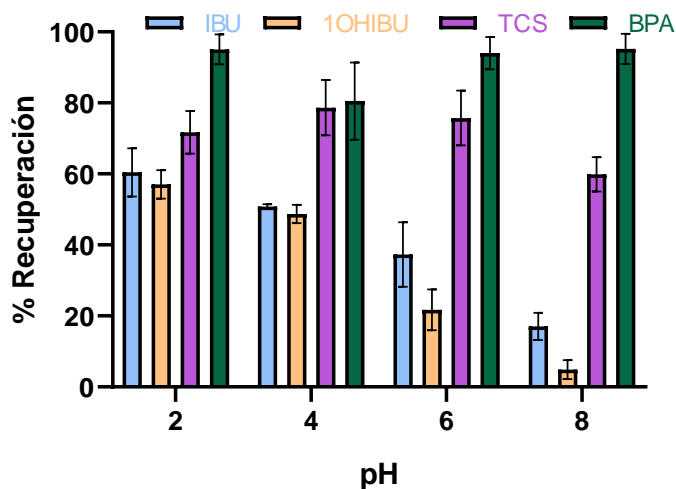
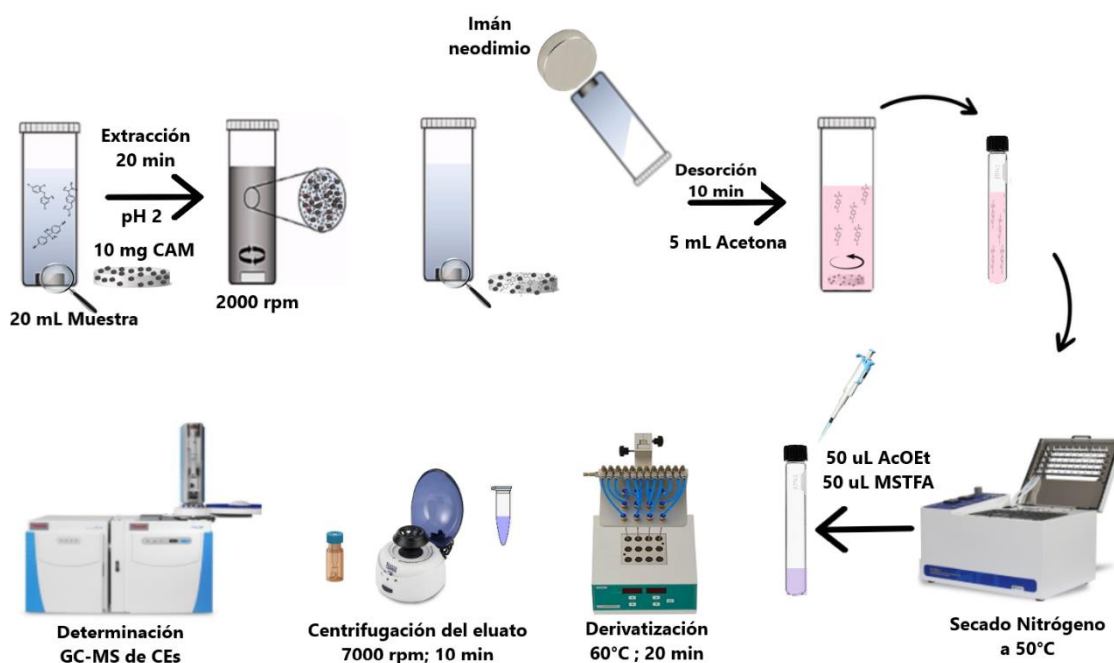


Figura 20. Optimización pH en RDSDE (CEs).

En el Esquema 6 se ilustra la metodología optimizada de microextracción sortiva dispersiva en disco rotatorio (RDSDE) para la determinación de CE en muestras acuosas. Los parámetros optimizados incluyen una cantidad de 10 mg de sorbente de carbón activado magnético (CAM), un tiempo de extracción de 20 minutos ajustado a pH 2, y un volumen de 5 mL de acetona para la desorción, realizada durante 10 minutos.



Esquema 6. Metodología RDSDE optimizada para determinar CE en muestras acuosas.

5.3.3 Optimización método RDSE para extraer CE en muestras acuosas.

5.3.3.1 Cantidad de Fase (CA).

Inicialmente, se llevó a cabo un estudio para determinar la cantidad óptima de fase sorbente de semilla de palta (CA) aplicada en la técnica de microextracción sortiva dispersiva en disco rotatorio (RDSE). Se evaluaron cantidades de 10, 20, 30, 50 y 60 mg de CA en relación con el porcentaje de recuperación de los contaminantes emergentes (CE) en estudio. El experimento se desarrolló con un tiempo de extracción de 60 minutos a un pH de 2, utilizando 10 mL de metanol (MeOH) como solvente de desorción durante 10 minutos.

Según los resultados presentados en la Figura 21, la mayor recuperación de los CE se obtuvo utilizando 50 mg de CA, sin encontrarse diferencias significativas en la media de recuperación al incrementar la cantidad de sorbente a 60 mg para todos los analitos evaluados ($p > 0,05$). Esto indica

que 50 mg de CA es la cantidad óptima para alcanzar una extracción eficiente, maximizando la recuperación de los analitos sin necesidad de utilizar mayores cantidades de sorbente.

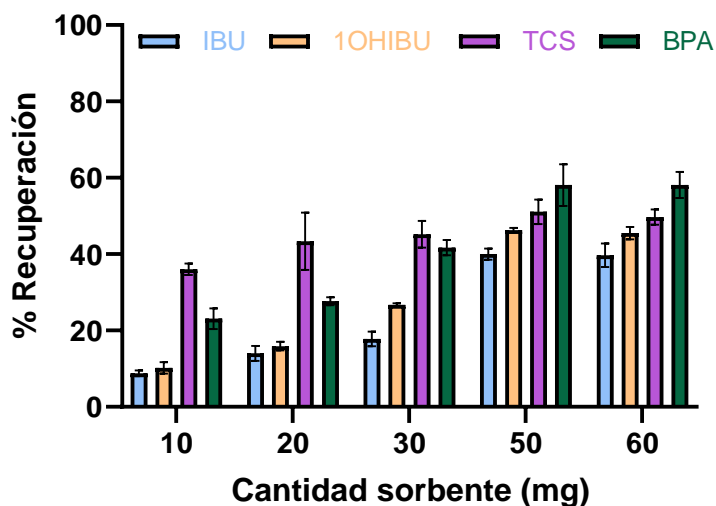


Figura 21. Optimización cantidad de sorbente CA en RDSE (CEs).

5.3.3.2 Tiempo de extracción.

Para determinar el tiempo óptimo de extracción en la técnica de microextracción sortiva dispersiva en disco rotatorio (RDSE), se llevó a cabo un estudio en un rango de 20 a 120 minutos. En el experimento se utilizó una cantidad de 50 mg de fase sorbente de semilla de palta (CA), ajustando el pH a 2, y empleando 10 mL de metanol (MeOH) como solvente para la desorción durante 10 minutos.

Los resultados, presentados en la Figura 22, mostraron que el equilibrio de extracción se alcanzó a los 60 minutos, sin observarse diferencias significativas en las recuperaciones obtenidas a los 90 y 120 minutos ($p > 0,05$) para todos los analitos estudiados. Estos hallazgos indican que 60 minutos es el tiempo óptimo para una extracción eficiente, evitando prolongar el proceso innecesariamente.

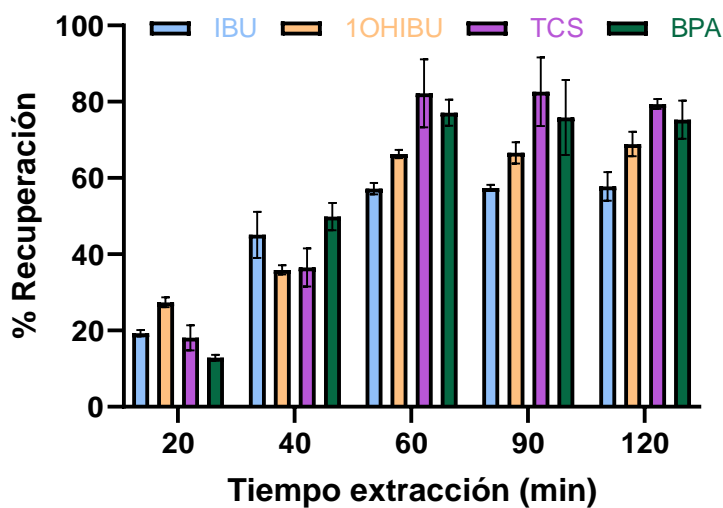


Figura 22. Optimización tiempo de extracción en RDSE (CEs).

5.3.3.3 Solvente de desorción.

Tras optimizar las variables de tiempo de extracción (60 min) y cantidad de fase sorbente (50 mg de CA) en el método RDSE, se procedió a seleccionar el solvente más adecuado para la desorción de los analitos desde el sorbente CA. Se evaluó cuatro solventes: metanol (MeOH), acetato de etilo (AcOEt), acetonitrilo (MeCN) y acetona, utilizando 10 mL de cada uno durante 10 minutos de desorción.

Respecto a los resultados mostrados en la Figura 23, las mayores recuperaciones de los analitos se obtuvieron al utilizar acetona como solvente de desorción, lo que permitió identificarla como la opción más adecuada para esta técnica.

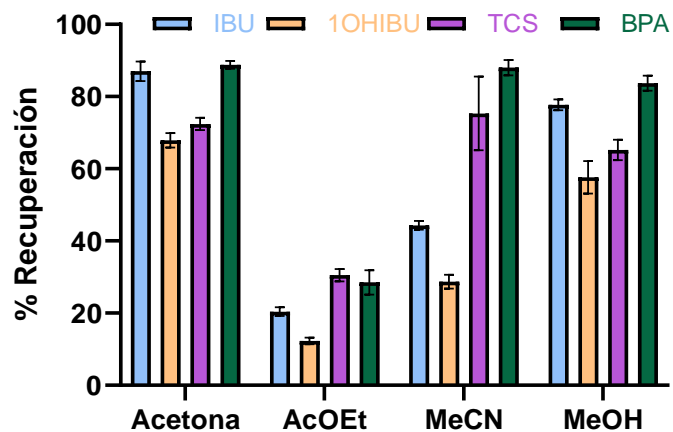


Figura 23. Optimización solvente de desorción en RDSE (CEs).

5.3.3.4 Tiempo de desorción.

Para el estudio del tiempo de desorción en la técnica RDSE, se evaluó el porcentaje de extracción de contaminantes emergentes (CEs) en intervalos de 2, 5, 10 y 20 minutos, utilizando 10 mL de acetona como solvente de desorción. Los resultados mostrados en la Figura 24 indicaron que la mayor desorción de CEs se logra a los 10 minutos, sin diferencias significativas en las medias de recuperación entre los 10 y 20 minutos de desorción ($p > 0,05$). Es importante destacar que no fue posible optimizar el volumen de desorción debido a las limitaciones hidrodinámicas presentes en la tecnología RDSE, lo que subraya la importancia de seleccionar parámetros adecuados en función de estas restricciones.

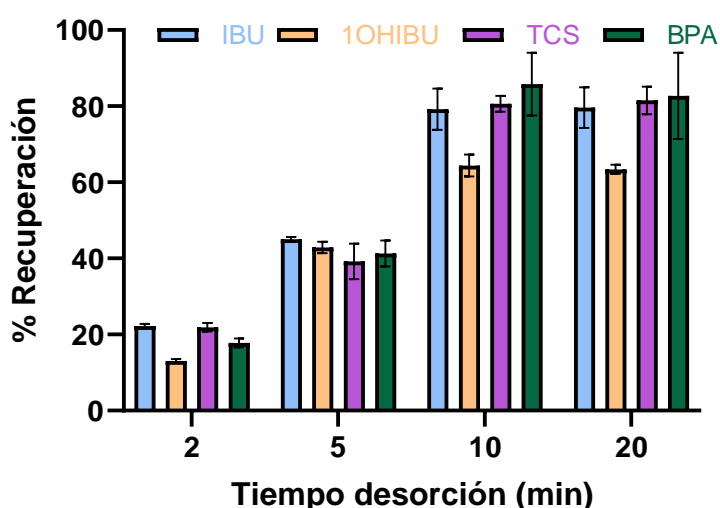
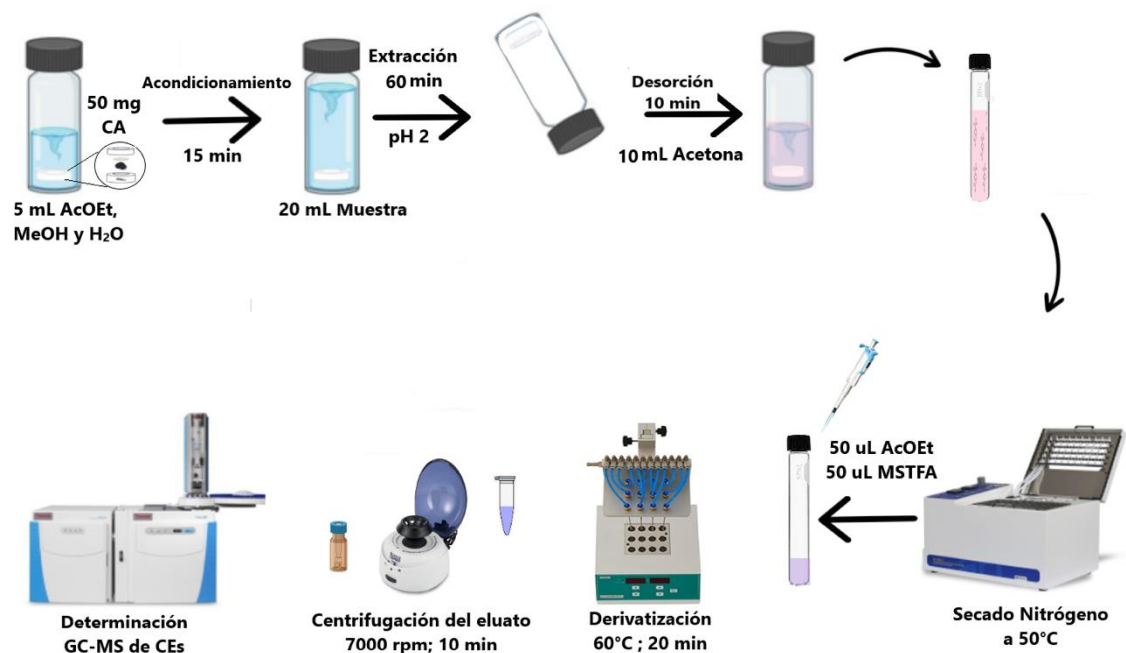


Figura 24. Optimización tiempo de desorción en RDSE (CEs).

En el Esquema 7 se presenta la metodología optimizada de RDSE para la determinación de los contaminantes emergentes (CEs) en estudio. Esta metodología utiliza 50 mg de fase sorbente de semilla de palta (CA), un tiempo de extracción de 60 minutos ajustado a un pH de 2, y 10 mL de acetona como solvente para la desorción durante 10 minutos. Estos parámetros optimizados garantizan una extracción eficiente de los CEs, maximizando la recuperación de los analitos en condiciones controladas.



Esquema 7. Método RDSE Optimizado para determinar CEs en muestras acuosas.

5.3.4 Validación metodología RDSDE/GC-MS para determinar CEs en muestras acuosas.

5.3.4.1 Linealidad del sistema.

La linealidad del sistema se evaluó mediante la función respuesta, tal como se muestra en la Tabla 9. Los resultados indicaron que el sistema, compuesto por el equipo, el inyector y el detector, presentó señales lineales para los 4 analitos con coeficientes de determinación (R^2) en el rango de 0,9926 a 0,9975 dentro del intervalo de concentraciones estudiado. Además, se observó una sensibilidad significativa ($m / L\mu g^{-1}$) distinta de 0 ($p < 0,05$) para todos los contaminantes emergentes (CEs), lo cual confirma la capacidad del sistema para detectar variaciones en la concentración de estos analitos.

Tabla 10. Resultados linealidad del sistema GC-MS de los CEs en estudio.

Analito	Rango, (mg/L)	R^2	Ecuación de la recta
IBU	0,1-1,5	0,9975	$Y = 227692 * X - 113417$
1OHIBU	0,1-1,5	0,9946	$Y = 2194185 * X - 1462585$
TCS	1,0-3,0	0,9961	$Y = 487302 * X - 1492657$
BPA	1,0-3,0	0,9926	$Y = 5649240 * X - 22783722$

5.3.4.2 Linealidad del método.

La linealidad del método se determinó mediante la realización de una curva de calibración en agua potable. Según la información de la Tabla 10, se obtuvieron buenos coeficientes de correlación lineal (R^2 entre 0,9916 y 0,9939) para los 4 analitos en estudio, lo que indica que el método analítico ofrece señales lineales en el rango de concentración ensayado para cada uno de ellos. En cuanto a la sensibilidad, se observó que las pendientes ($m / L\mu g^{-1}$) de los analitos ibuprofeno (IBU), 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU), triclosán (TCS) y bisfenol-A (BPA) son significativamente distintas de 0 ($p < 0,05$), lo cual confirma la capacidad del método para detectar variaciones en la concentración de los analitos.

Tabla 11. Resultados linealidad del método RDSDE/GC-MS para los CEs en estudio.

Analito	Rango, ($\mu g/L$)	R^2	Ecuación de la recta
IBU	0,5-7,5*	0,9932	$Y = 259915 * X - 159364$
1OHIBU	0,5-7,5*	0,9939	$Y = 2143226 * X - 845287$
TCS	5,0-15,0*	0,9916	$Y = 676863 * X - 2909546$
BPA	5,0-15,0*	0,9935	$Y = 6905859 * X - 19703913$

* Factor de concentración de 200.

5.3.4.3 Límite de detección y cuantificación.

En la Tabla 11 se pueden apreciar los valores obtenidos para la interpolación y los respectivos valores de LD y LC de cada analito en estudio, donde los valores de LD y LC son más bajos que el primer nivel de fortificado en matriz en todos los analitos; por lo tanto, las calibraciones están en un intervalo de concentraciones válido.

Tabla 12. Resultados límites de detección y cuantificación de los CEs en estudio.

Analito	LD, ($\mu g/L$)	LC, ($\mu g/L$)
IBU	0,064	0,125
1OHIBU	0,029	0,059
TCS	0,083	0,184
BPA	0,033	0,062

5.3.4.4 Precisión.

En la Tabla 12 se presentan los resultados de la precisión del método en los niveles de concentración de 0,5 (NCM₁), 2,5 (NCM₂) y 7,5 µg/L (NCM₃) para ibuprofeno (IBU) y 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU), y de 5,0, 10 y 15 µg/L para triclosán (TCS) y bisfenol-A (BPA) en agua potable. Los resultados muestran que el criterio de aceptación de la desviación estándar relativa (RSD) se cumplió para todos los analitos en los tres niveles de concentración fortificados. Aunque algunos RSD fueron elevados (por ejemplo, BPA NCM₁ con 10%), considerando las concentraciones de trabajo, estos valores se consideran aceptables. En base a estos resultados, se puede concluir que el método es preciso para cuantificar IBU, 1OHIBU, TCS y BPA en agua potable en sus respectivos rangos de concentración.

Tabla 13. Resultados de precisión de la metodología RDSDE/GC-MS para determinar CEs.

Analito	NCM* 1/ RSD, %	NCM* 3/ RSD, %	NCM* 5/ RSD, %
IBU	4	3	9
1OHIBU	10	7	8
TCS	4	6	2
BPA	10	3	4

*NMC: Nivel curva en matriz

La precisión intermedia se evaluó en los mismos niveles de concentración (NCM 1, 3 y 5) en tres días diferentes, como se muestra en la Tabla 13. Los resultados indicaron que se cumplió el criterio de aceptación de $RSD \leq 20\%$ para los cuatro contaminantes emergentes (CEs) en estudio [61], en los tres niveles de concentración. Estos hallazgos confirman que el método es preciso para cuantificar ibuprofeno (IBU), 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU), triclosán (TCS) y bisfenol-A (BPA) en agua potable a lo largo de tres días de análisis.

Tabla 14. Resultados de precisión intermedia (3 días) de la metodología RDSDE/GC-MS para determinar CEs.

Analito	NCM* 1/ RSD, (%)	NCM* 3/ RSD, (%)	NCM* 5/ RSD, (%)
IBU	4	6	1
1OHIBU	6	4	1
TCS	10	11	7
BPA	5	4	8

*NMC: Nivel curva en matriz.

5.3.4.5 Exactitud.

La exactitud del método se evaluó mediante la recuperación absoluta y relativa de los analitos ibuprofeno (IBU) y 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU) a 2,5 µg/L, así como triclosán (TCS) y bisfenol-A (BPA) a 10 µg/L en agua potable. Según los resultados presentados en la Tabla 14, se lograron altas recuperaciones absolutas para IBU, TCS y BPA, con valores que oscilan entre 86 y 90 %. Sin embargo, la recuperación absoluta de 1OHIBU fue inferior, lo cual puede relacionarse con una menor afinidad de este analito hacia el carbón activado magnético (CAM) en comparación con los otros analitos, lo que es coherente con su polaridad.

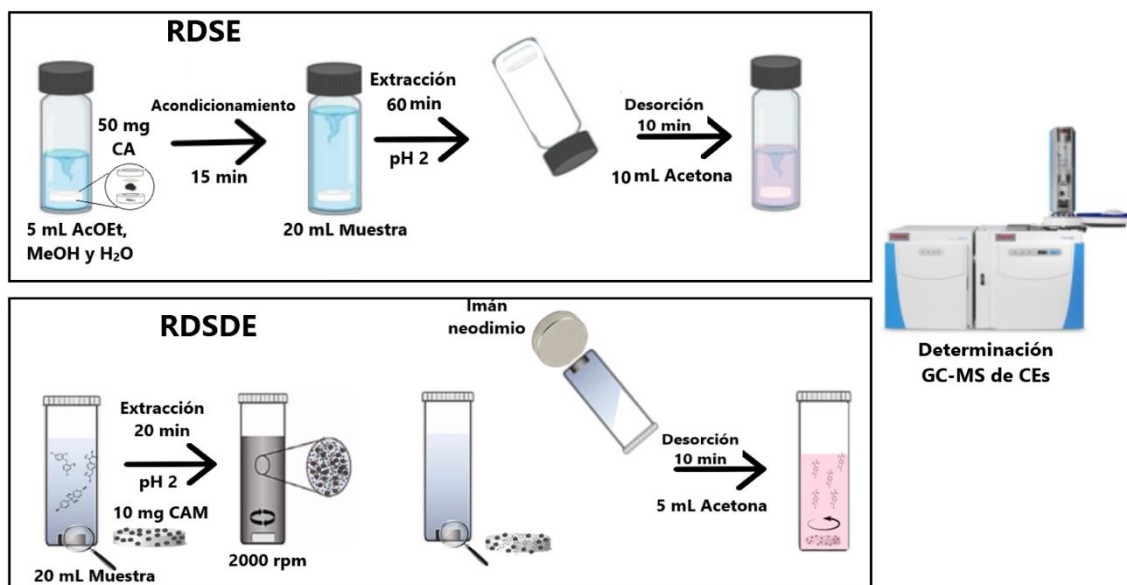
En cuanto a las recuperaciones relativas, se observó una notable mejora en IBU y TCS, alcanzando valores entre 98 y 100 %. Esto se debe al uso de estándares deuterados para la determinación de la recuperación relativa, lo que implica un comportamiento similar en la metodología aplicada. Para 1OHIBU y BPA, se registró una leve mejora en los valores de recuperación relativa en comparación con la recuperación absoluta.

En resumen, el método se considera exacto para cuantificar los cuatro contaminantes emergentes (CEs) en sus respectivos rangos de concentración en agua potable, mostrando buenos valores de recuperación tanto absoluta como relativa para IBU, TCS y BPA.

Tabla 15. *Resultados de exactitud del método RDSDE/GC-MS para la determinación de CEs*

Analito	R _{Abs} (%)	R _{Rel} (%)
IBU	86 ± 4	98 ± 1
1OHIBU	64 ± 6	71 ± 4
TCS	90 ± 2	100 ± 2
BPA	87 ± 6	89 ± 7

5.3.5 Comparación respecto a eficiencia de los métodos optimizados para extraer CE en muestras acuosas.



Esquema 8. Métodos RDSDE y RDSE optimizados para extraer CE en muestras acuosas.

En el Esquema 8 se ilustran los pasos involucrados en los métodos RDSDE (2) y RDSE (3), junto con la cantidad de solvente empleada para la extracción de los contaminantes emergentes (CE) de muestras acuosas. Es notable que la técnica RDSDE requiere una menor cantidad de solvente (5 mL) en comparación con el método RDSE.

En cuanto al rendimiento del sorbente en los métodos optimizados, no se encontraron diferencias significativas en los valores de recuperación para los analitos ibuprofeno (IBU), 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU) y bisfenol-A (BPA). Sin embargo, se observó un porcentaje de recuperación superior para el triclosán (TCS) en el método RDSDE, alcanzando un 90 % frente al 82 % en el método RDSE.

Adicionalmente, el método RDSDE utiliza solo 10 mg de sorbente, lo que representa cinco veces menos que los 50 mg requeridos en el método RDSE. Este aspecto es relevante, ya que el RDSDE también logra alcanzar el equilibrio en un tiempo menor (20 minutos), obteniendo resultados de recuperación comparables. Estos hallazgos subrayan la eficiencia del método RDSDE en la extracción de contaminantes emergentes de muestras acuosas.

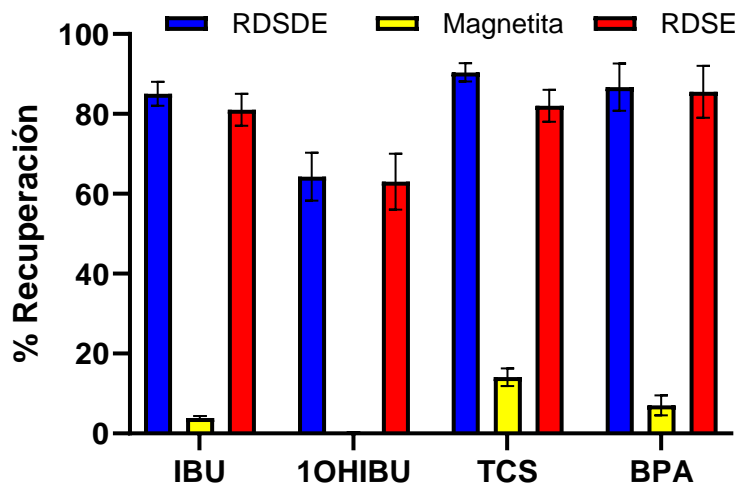


Figura 25. Recuperaciones de los analitos IBU, 1OHIBU, TCS y BPA de los métodos RDSE y RDSDE optimizados y RDSDE utilizando magnetita como sorbente.

En relación con la aplicación del método RDSDE optimizado, utilizando como sorbente 10 mg de magnetita (Figura 25), se observó que no se logró recuperar el analito 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU). Este hallazgo sugiere que la presencia de magnetita en la superficie del carbón activo (CA) contribuye principalmente a otorgar propiedades magnéticas al sorbente, facilitando la extracción del analito mediante un mecanismo dispersivo.

Por otro lado, se registraron porcentajes de recuperación del 4%, 7%, y 14% para los analitos ibuprofeno (IBU), bisfenol-A (BPA) y triclosán (TCS), respectivamente. Estos resultados indican que la magnetita tiene cierta capacidad para sorber estos compuestos. La capacidad de adsorción se atribuye a la baja afinidad de estos analitos con el agua, debido a su baja polaridad. Esto permite que la magnetita, en combinación con el carbón activo, funcione como un sorbente compuesto.

Este fenómeno concuerda con la mayor recuperación del triclosán en el método RDSDE en comparación con el método RDSE, evidenciando así la eficacia de la combinación de sorbentes en la extracción de contaminantes emergentes.

Al comparar el tiempo total de cada método de extracción optimizado para la determinación de ibuprofeno (IBU), 1-hidroxibuprofeno (1OHIBU), triclosán (TCS) y bisfenol-A (BPA) en muestras acuosas, se evidencia una notable diferencia entre los métodos RDSDE y RDSE. El método RDSDE requiere un tiempo total de 30 minutos, mientras que el método RDSE requiere 85 minutos. Esto implica que el tiempo utilizado en el método RDSE es 2,8 veces mayor que el del método RDSDE.

Con base en este análisis, se concluyó que la tecnología de extracción RDSDE es más eficiente para la determinación de IBU, 1OHIBU, TCS y BPA en muestras acuosas en comparación con la tecnología RDSE. A pesar de esta diferencia en tiempo, ambos métodos son aptos para la determinación de estos analitos, resaltando la eficiencia metodológica en RDSDE en el contexto de la extracción de contaminantes emergentes.

5.3.6 Comparación Cinética de los métodos RDSDE y RDSE para extraer CEs en muestras acuosas.

Para comparar la cinética de los métodos RDSDE y RDSE, se empleó la cantidad optimizada de CAM (20 mg) y se amplió el tiempo de extracción en el método RDSE hasta 260 minutos, incluyendo un triplicado de muestras mantenidas durante 18 horas. En las Figuras 26, 27, 28 y 29, los perfiles de extracción muestran el porcentaje de recuperación de los analitos IBU, 1OHIBU, TCS y BPA en ambos métodos. Este enfoque permite analizar las diferencias en la capacidad de extracción y la eficiencia de cada método, comparando la velocidad y el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de extracción en cada caso.

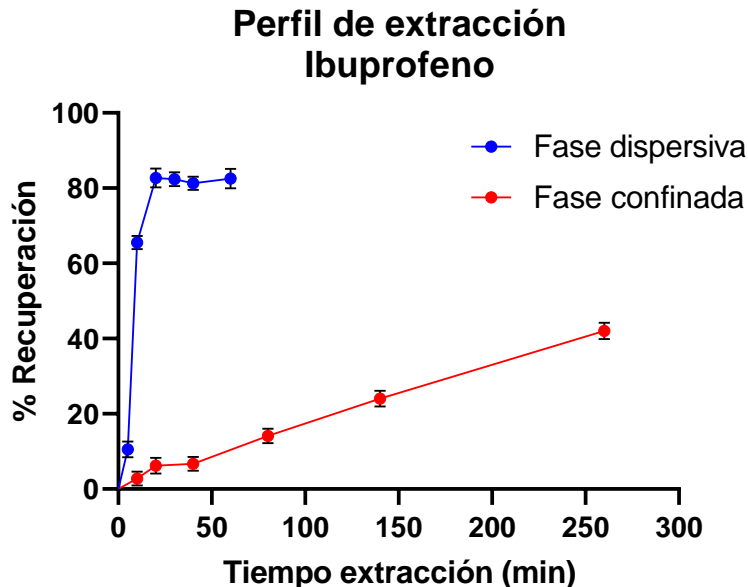


Figura 26. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para IBU.

Perfil de extracción 1-hidroxi-Ibuprofeno

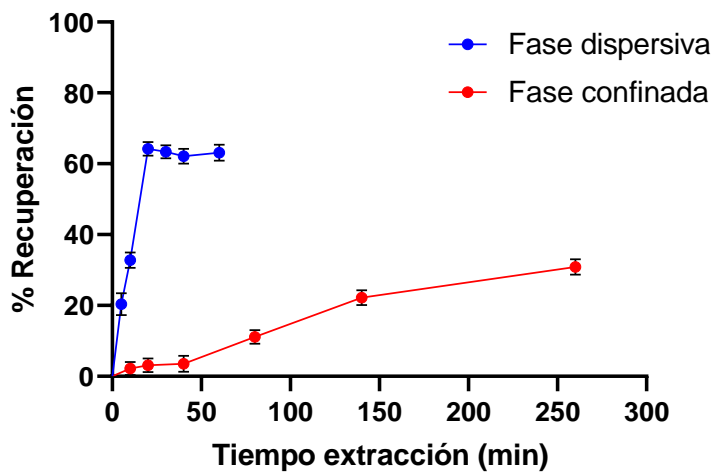


Figura 27. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para 1OHIBU.

Perfil de extracción Triclosán

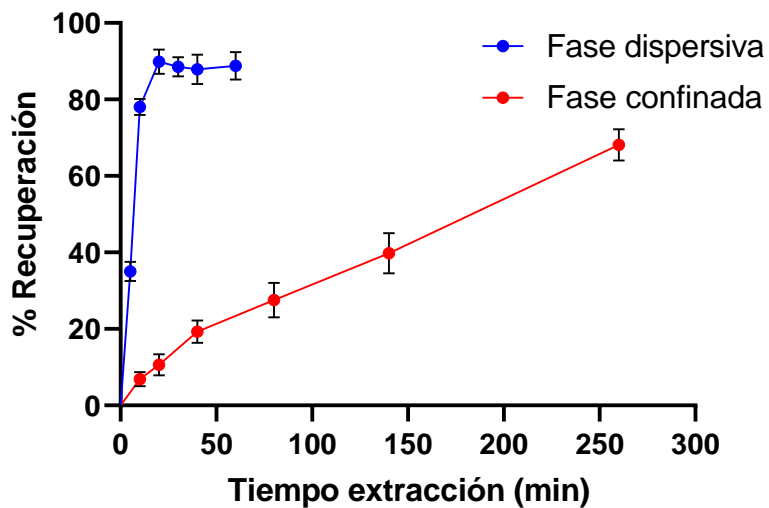


Figura 28. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para TCS.

Perfil de extracción Bisfenol-A

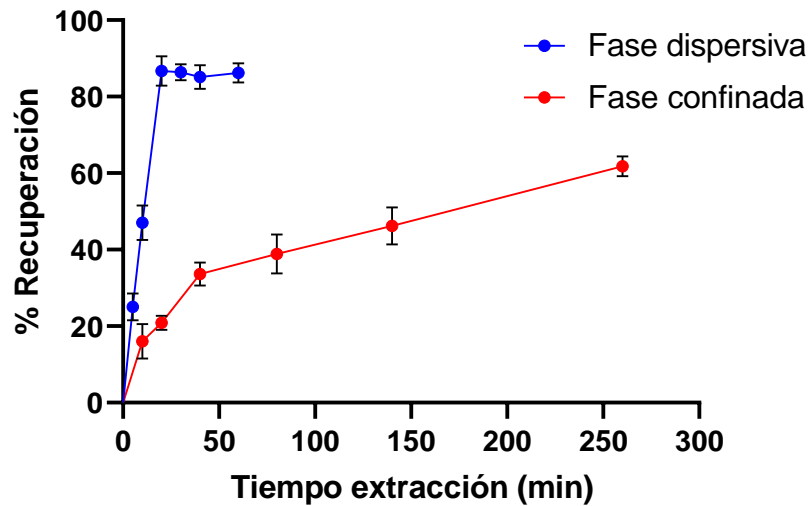


Figura 29. Comparación cinética en la extracción de CEs en RDSDE y RDSE para BPA.

La comparación cinética entre los métodos RDSDE y RDSE muestra claramente que el método RDSDE es más eficiente debido a su rápida capacidad para alcanzar el equilibrio de extracción. En este caso, el mecanismo dispersivo juega un papel fundamental para lograr una extracción rápida de los analitos, lo cual se evidencia por la pronunciada pendiente en los perfiles de extracción de RDSDE, en contraste con el perfil más lento del método RDSE. Esto refuerza la ventaja de la tecnología RDSDE para la determinación de los analitos IBU, 1OHIBU, TCS y BPA en muestras acuosas, al ser un método no solo más rápido, sino también eficiente en términos de extracción.

5.4 Desarrollo metodológico para la determinación de florfenicol en plasma de cerdo.

5.4.1 Optimización UHPLC-DAD para determinar florfenicol en plasma de cerdo.

En el método cromatográfico optimizado, se utilizó una columna XB-C18 (100 mm x 4,6 mm x 5 μ m) que mejoró la resolución en plasma de cerdo para la cuantificación de FF. La modificación del método descrito en la literatura [8] permitió ajustar las condiciones cromatográficas, optimizando la separación y cuantificación del analito objetivo mediante UHPLC-DAD. La combinación de esta columna y los ajustes realizados permitió obtener un cromatograma más eficiente, con picos bien definidos y sin interferencias significativas de la matriz compleja del plasma (Figura 30).

Tabla 16. Condiciones óptimas UHPLC-DAD para la determinación de florfenicol en plasma de cerdo.

Parámetro	Condición Óptima
Flujo	1 mL/min.
Longitud de cuantificación UV florfenicol	228 nm
Fase Móvil	H ₂ O/ MeCN (68:32)
Volumen de inyección	1 µL.
Horno Columna	40 °C.
Columna Analítica	XB-C18 (100 mm x 4,6 mm x 5 µm).
Tiempo de retención florfenicol	3,077 minutos
Tiempo de Corrida	10 minutos

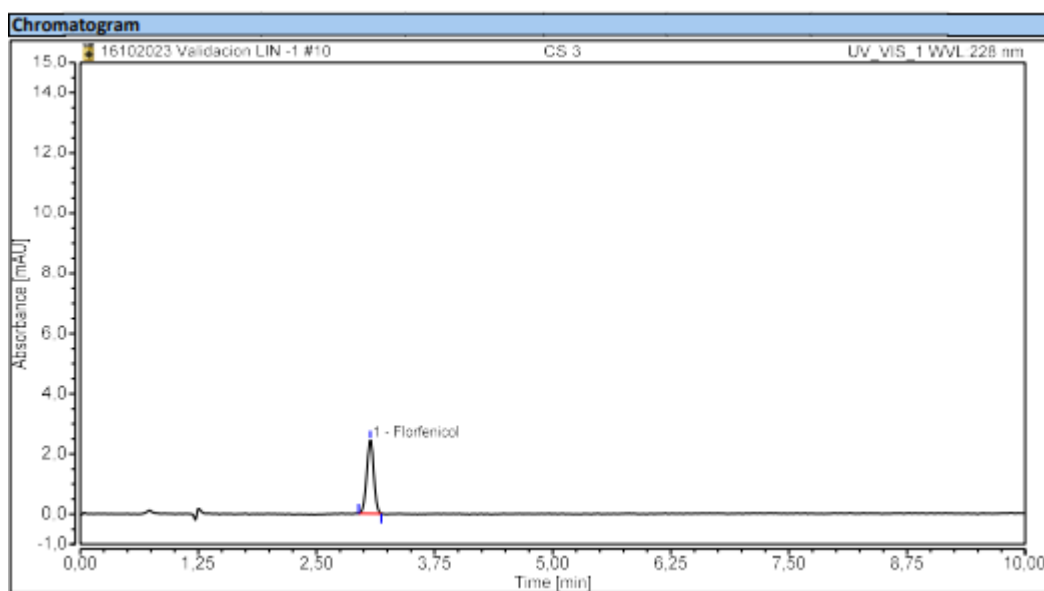


Figura 30. Cromatograma estándar de florfenicol a 5 mg/L.

5.4.2 Optimización del método RDSDE para muestras de plasma de cerdo dopadas con florfenicol.

Se llevó a cabo experimentos preliminares para optimizar el método RDSDE, evaluando de manera simultánea la cantidad de plasma de cerdo y el volumen de reconstitución, con el fin de alcanzar una concentración adecuada para la sensibilidad instrumental. En la Figura 37, se observa que la linealidad del florfenicol (FF) en un rango de concentración de 0,25 a 20 mg/L abarca el rango determinado en

plasma de cerdo según estudios previos de la farmacocinética de este antibiótico (0,5-15 mg/L) realizados en Veterinaria, obteniendo un coeficiente de determinación $R^2 = 0,999$.

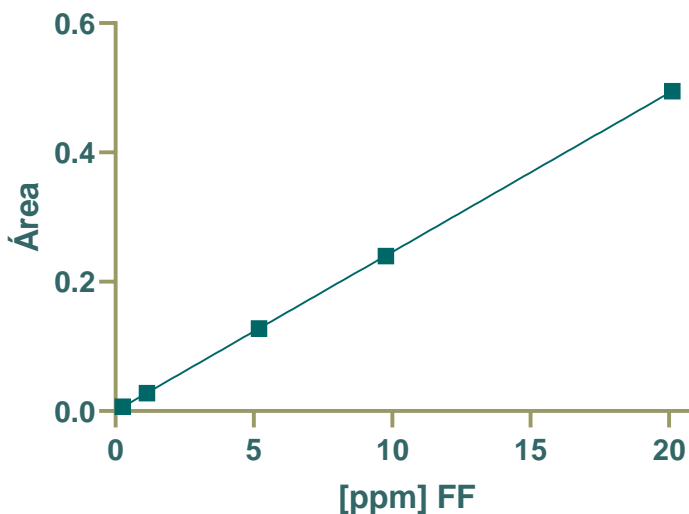


Figura 31. Curva de calibración estándar de florfenicol (0,25-20 mg/L).

En el estudio preliminar, se utilizó 500 μL de plasma de cerdo a una concentración de 5 mg/L de florfenicol (FF), diluido en 10 mL de agua Milli-Q para generar el medio de extracción. Las condiciones de la metodología RDSDE preliminar se detallan en la Tabla 16, obteniendo una recuperación absoluta del 51% de FF ($n=3$). Con base en este resultado, se ajustó el volumen de reconstitución a 250 μL , logrando un factor de concentración de 2.

Tabla 17. Condiciones preliminares en RDSDE para extraer florfenicol en plasma de cerdo.

Condiciones RDSDE	
Tiempo extracción	20 min
Cantidad CAM	10 mg
Tiempo elusión	10 min
Solvente elusión	Acetona
Cantidad de plasma	500 μL
Volumen reconstitución	250 μL

En el estudio para determinar el volumen óptimo de agua como medio dispersante, se comparó las recuperaciones utilizando 10 y 20 mL de agua para disolver la muestra de plasma. De acuerdo con

los resultados presentados en la Figura 32, se concluyó que el volumen óptimo de agua para el medio de extracción dispersiva es de 10 mL.

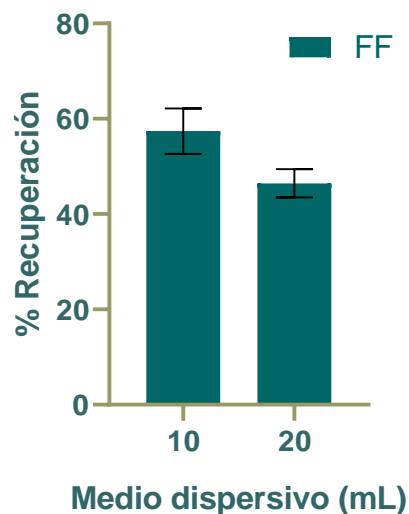


Figura 32. Optimización volumen de medio dispersante en RDSDE (FF en plasma).

5.4.2.1 Optimización pH del medio de extracción.

En la optimización del pH del medio dispersivo, se evalúa el porcentaje de recuperación de florfenicol ajustando el pH a 3, 5, 7 y sin ajuste (7,5) de la muestra, utilizando las condiciones descritas en la Tabla 16. De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 33, no se observan diferencias significativas en las medias de recuperación en el rango de pH de 3 a 7,5 ($p > 0,05$). Esto es coherente con el rango de pH en el que la molécula de florfenicol se encuentra en su forma neutra, como se ilustra en la Figura 34. Por lo tanto, se decide no ajustar el pH y mantenerlo en 7,5 para realizar la extracción.

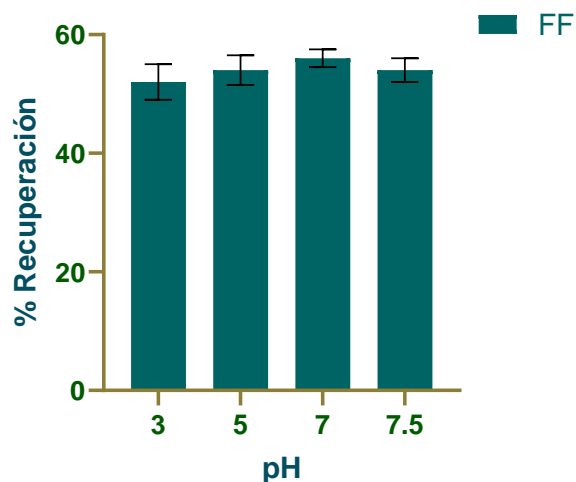


Figura 33. Optimización pH de extracción en RDSDE (FF en plasma).

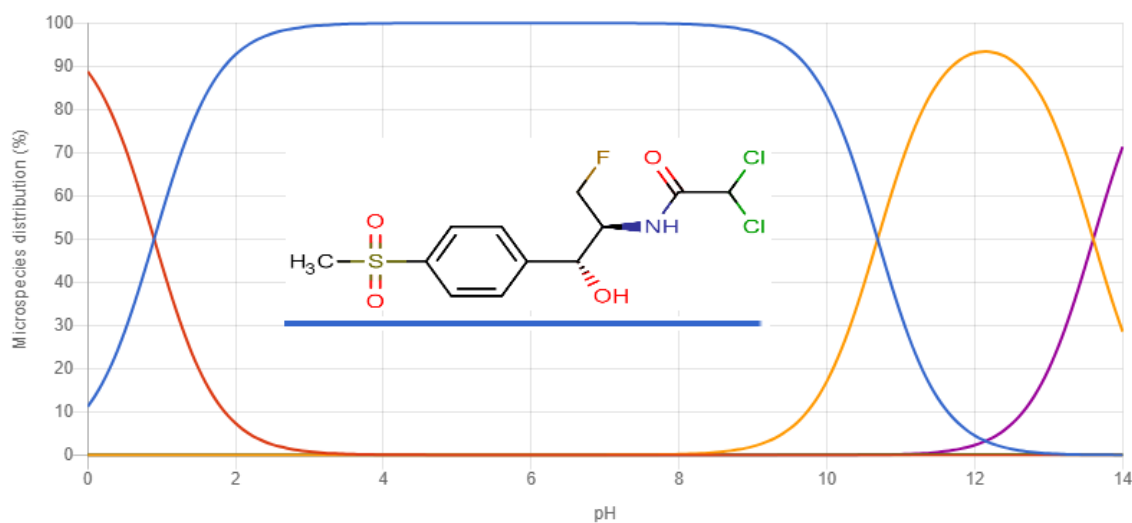


Figura 34. Distribución microespecies de florfenicol respecto al pH del medio acuoso.

5.4.2.2 Tiempo de Extracción.

Se analizó el perfil de extracción de florfenicol (FF), utilizando tiempos de 1, 5, 10, 20 y 30 minutos bajo las condiciones descritas en la Tabla 16. De acuerdo con los resultados presentados en la Figura 35, el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio es de 20 minutos, ya que no se observaron diferencias significativas entre las medias de recuperación entre los 20 y 30 minutos de extracción ($p > 0,05$), logrando una recuperación cercana al 60% de FF.

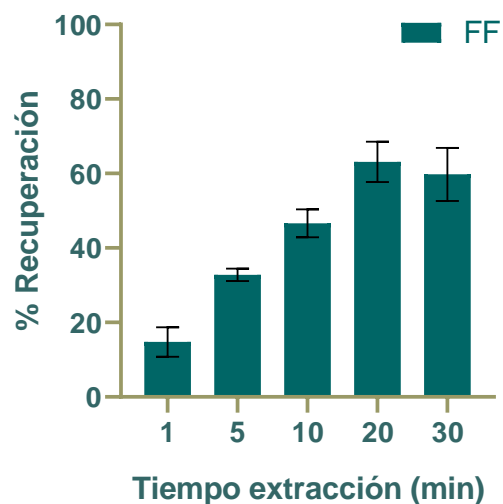


Figura 35. Optimización tiempo de extracción en RDSDE (FF en plasma).

5.4.2.3 Cantidad de Fase (CAM).

En el estudio de la cantidad de fase sorbente CAM, se evaluaron cantidades de 5, 10, 20 y 30 mg respecto al porcentaje de recuperación de florfenicol (FF). Se utilizó un tiempo de extracción de 20 minutos, a pH neutro, y acetona como solvente para la desorción durante 10 minutos. De acuerdo con los resultados (Figura 36), se observó que la mayor recuperación de FF se obtiene con 30 mg de CAM. Sin embargo, dado que no se presentan diferencias significativas entre las medias de recuperación obtenidas con 20 y 30 mg ($p > 0,05$), se determinó que la cantidad óptima de fase sorbente es de 20 mg.

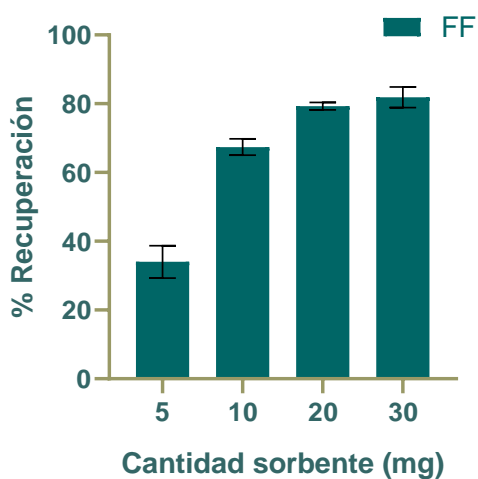


Figura 36. Optimización cantidad de sorbente CAM en RDSDE (FF en plasma).

5.4.2.4 Solvente desorción

Después de optimizar las variables de equilibrio, tiempo de extracción (20 minutos) y la cantidad de fase sorbente (CAM) (20 mg), se procedió a optimizar el solvente más adecuado para la desorción del florfenicol desde el CAM. Para ello, se estudió los solventes metanol (MeOH), etanol (EtOH), acetato de etilo (AcOEt), acetonitrilo (MeCN) y acetona. El experimento se realizó utilizando 10 mL de los respectivos solventes durante 10 minutos en desorción. Según los resultados obtenidos, la mayor recuperación se obtuvo al llevar a cabo la desorción con acetona, por lo que se determinó que este solvente más adecuado para la desorción del florfenicol desde el CAM.

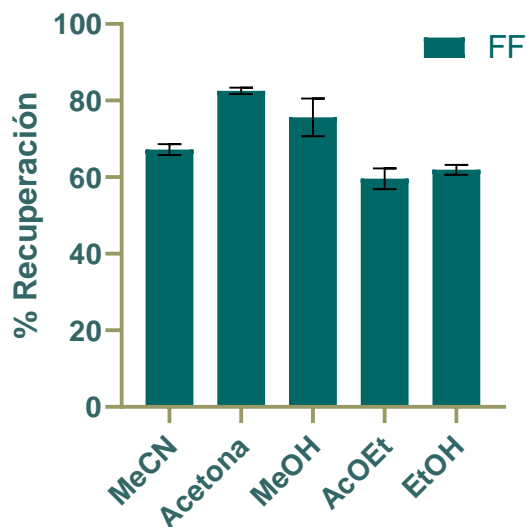


Figura 37. Optimización solvente de desorción en RDSDE (FF en plasma).

5.4.2.5 Tiempo de desorción.

Se optimizó el tiempo necesario para desorber el florfenicol extraído desde el carbón activo magnético (CAM). En el estudio del tiempo de desorción, se comparó la recuperación durante 1, 3, 5, 10 y 20 minutos utilizando 10 mL de acetona. Según se observa en la Figura 38, se aprecia una rápida desorción del analito, obteniéndose la mayor recuperación a los 5 minutos.

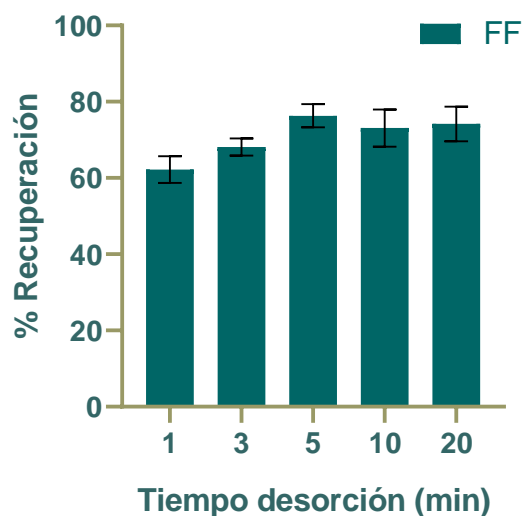


Figura 38. Optimización tiempo de desorción en RDSDE (FF en plasma).

Finalmente, se realizó un estudio para determinar el volumen necesario de solvente para la desorción, comparando el porcentaje de recuperación utilizando 10, 5 y 3 mL de acetona.

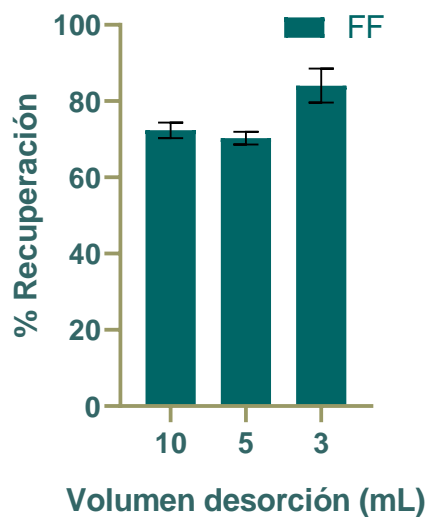
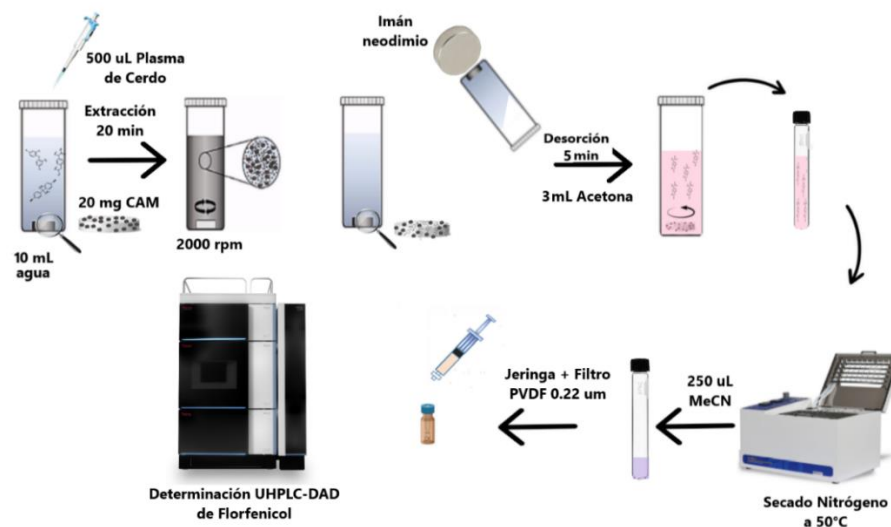


Figura 39. Optimización volumen de desorción en RDSDE (FF en plasma).

Respecto a la Figura 39, se obtuvo una mejor recuperación al utilizar 3 mL de acetona para la desorción. Esto se asocia al bajo volumen empleado para la reconstitución (250 μ L), lo que provoca que parte del analito se quede adherido a las paredes del vial. Esta optimización resultó ser muy

ventajosa, ya que el uso de un menor volumen de solvente para la desorción disminuye el tiempo de secado con nitrógeno (N₂) y aumenta la sostenibilidad de la metodología (Esquema 9).



Esquema 9. Método RDSDE Optimizado para determinar florfenicol en plasma de cerdo.

5.4.3 Optimización método RDSE para extraer Florfenicol en plasma de cerdo.

5.4.3.1 Cantidad de Fase (CA).

Se estudió la cantidad de fase de la semilla de palta en polvo, dónde se evaluaron 10, 20, 30, 40 y 50 mg de CA como fase sorbente respecto al porcentaje de recuperación de FF. El tiempo de extracción utilizado fue de 60 minutos, a pH neutro y utilizando Acetona como solvente en la desorción durante 10 minutos. De acuerdo con la Figura 40 se obtuvo una mayor recuperación a los 40 mg, no presentándose diferencias significativas en los 50 mg, acorde al análisis ANOVA de las medias obtenidas ($p > 0,05$).

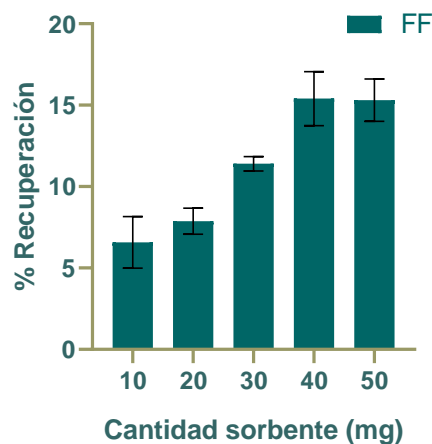


Figura 40. Optimización cantidad de CA en RDSE (FF en plasma).

5.4.3.2 Tiempo de extracción.

Posterior a la optimización de la cantidad de carbón activo (CA), se llevó a cabo la optimización del tiempo de extracción en el método RDSE, evaluando tiempos que varían desde 10 hasta 90 minutos. Se utilizó una cantidad de 40 mg de CA, manteniendo el pH en condiciones neutras y acetona como solvente para la desorción durante 10 minutos. Respecto a la Figura 41, el tiempo óptimo de extracción en RDSE para extraer florfenicol (FF) del plasma de cerdo es de 60 minutos, sin presentar diferencias significativas en la media de recuperación al comparar con el tiempo de extracción de 90 minutos ($p > 0,05$).

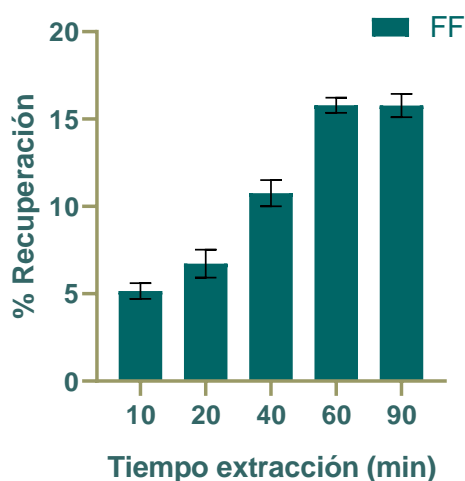


Figura 41. Optimización tiempo de extracción en RDSE (FF en plasma).

5.4.3.3 Solvente de desorción.

Una vez optimizadas las variables de equilibrio, como el tiempo de extracción (60 min) y la cantidad de carbón activo (CA) (40 mg), se procedió a la optimización del solvente más adecuado para la desorción del florfenicol (FF) desde el CA. Para ello, se estudiaron los solventes metanol (MeOH), acetato de etilo (AcOEt), acetonitrilo (MeCN) y acetona.

El experimento se llevó a cabo utilizando 10 mL de los respectivos solventes durante 10 minutos. Según se observa en la Figura 42, la mayor recuperación se obtuvo al realizar la desorción con acetona, donde se comparó su media con la desorción utilizando MeCN, evidenciándose diferencias significativas entre las medias ($p < 0,05$). Por lo tanto, se determinó que la acetona es el solvente más adecuado para la desorción del FF desde el CA.

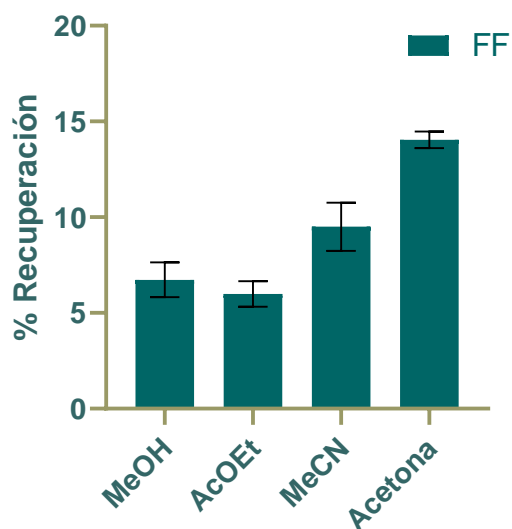


Figura 42. Optimización solvente de desorción en RDSE (FF en plasma).

5.4.3.4 Tiempo de desorción.

Finalmente, se optimizó el tiempo requerido para desorber el florfenicol (FF) del carbón activo (CA). Para ello, se comparó el porcentaje de extracción durante 2, 5, 10 y 20 minutos de desorción utilizando 10 mL de acetona. Según se observa en la Figura 43, se infiere que a los 10 minutos se logró desorber la mayor cantidad de florfenicol.

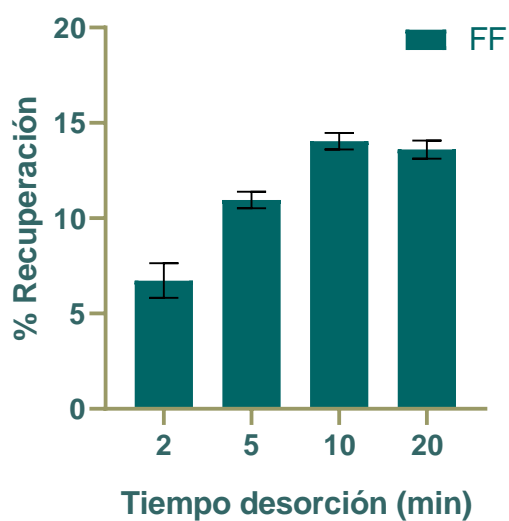
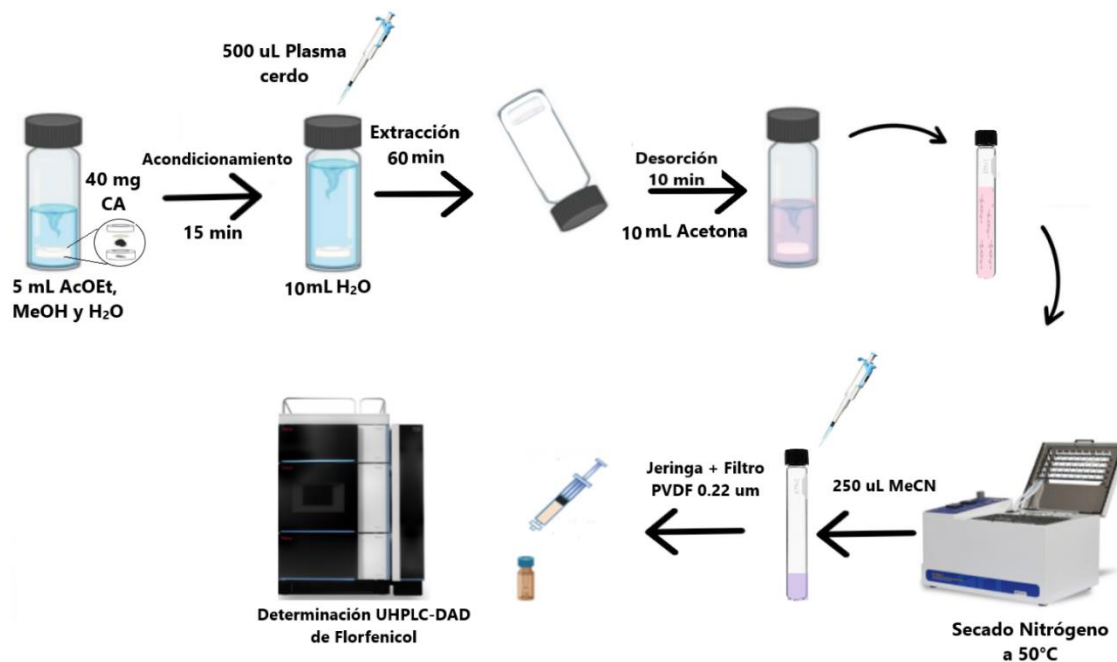


Figura 43. Optimización tiempo de desorción en RDSE (FF en plasma).

En el Esquema 10 se aprecia la metodología RDSE optimizada para determinar el florfenicol (FF) en plasma de cerdo. Esta metodología utiliza 40 mg de carbón activo (CA) y 10 mL de solvente orgánico por cada muestra, con un tiempo total aproximado de 85 minutos en el tratamiento de muestra.



Esquema 10. Método RDSE Optimizado para determinar florfenicol en plasma de cerdo.

5.4.4 Validación metodología RDSDE/UHPLC-DAD para determinar florfenicol en plasma de cerdo.

5.4.4.1 Selectividad.

La selectividad es un parámetro importante al validar una metodología bioanalítica, en este caso, la determinación de florfenicol en plasma de cerdo. Al inyectar las muestras de plasma blanco, se observó que no había presencia de interferentes en el tiempo de retención del florfenicol (3,08 min) (Figura 44).

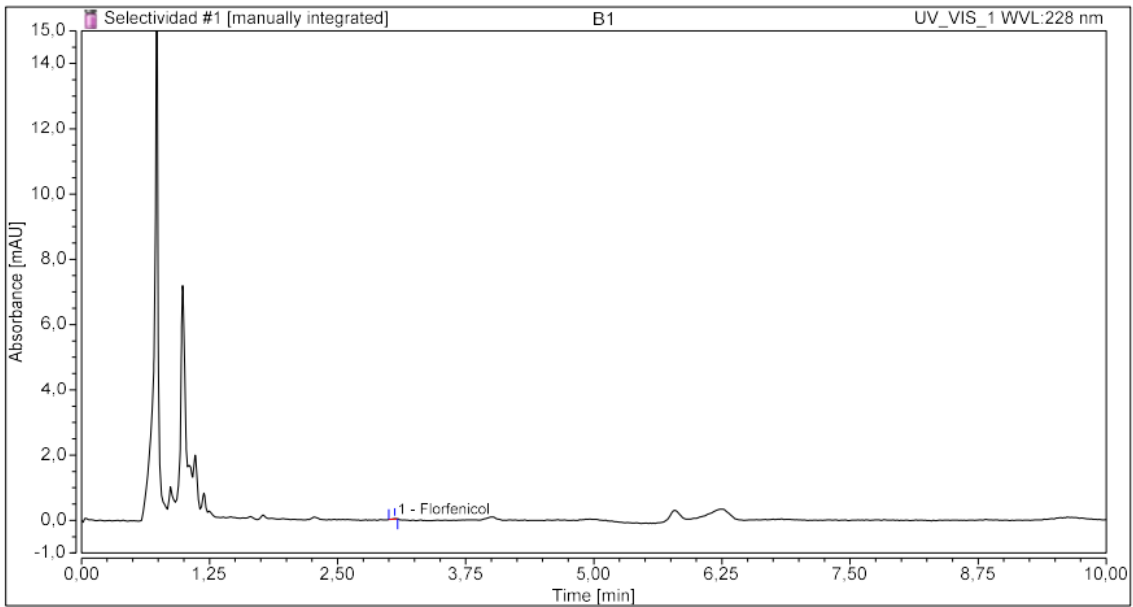


Figura 44. Cromatograma muestra blanco de plasma de cerdo.

Después de calcular la razón entre el área promedio de los blancos (n=10) y el área promedio del fortificado en plasma (n=3) a una concentración baja (0,25 mg/L) (Figura 45), se obtuvo un valor de 3,5%. Este valor se está dentro del rango considerado válido, lo que indica que el método es específico y selectivo para cuantificar florfenicol en plasma de cerdo.

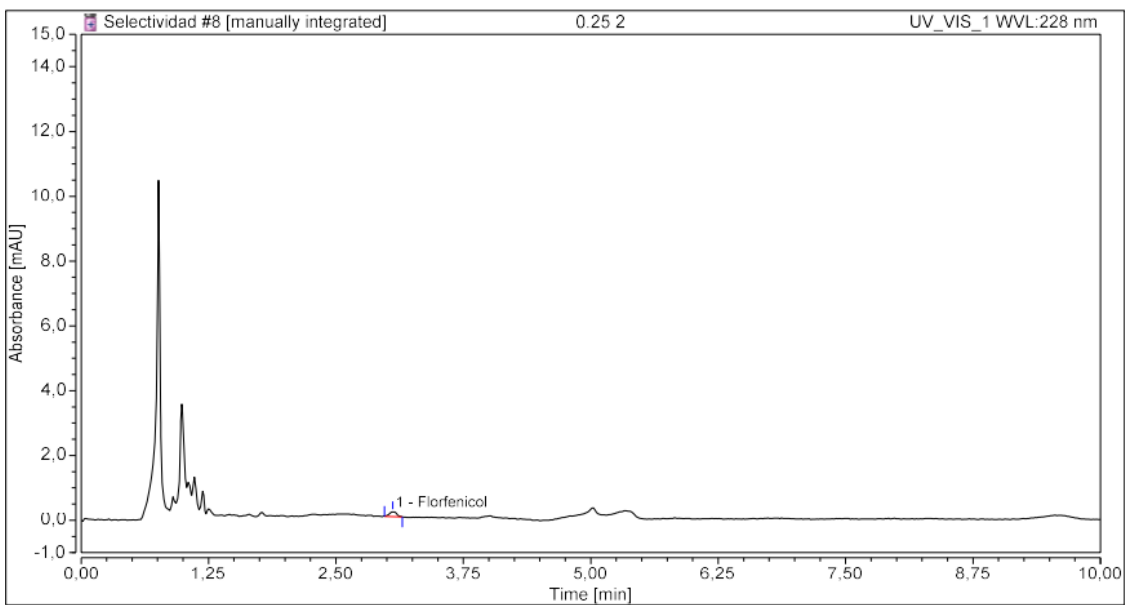


Figura 45. Cromatograma de muestra plasma dopada a 0,25 mg/L de florfenicol.

5.4.4.2 Linealidad del sistema.

La linealidad del sistema se evaluó mediante la función respuesta. De acuerdo con el gráfico respuesta instrumental y concentración estándar de florfenicol (Figura 52) el sistema (Equipo, inyector, detector) entrega señales lineales (R^2 0,9998) para florfenicol en el rango ensayado (0,25-20 mg/L).

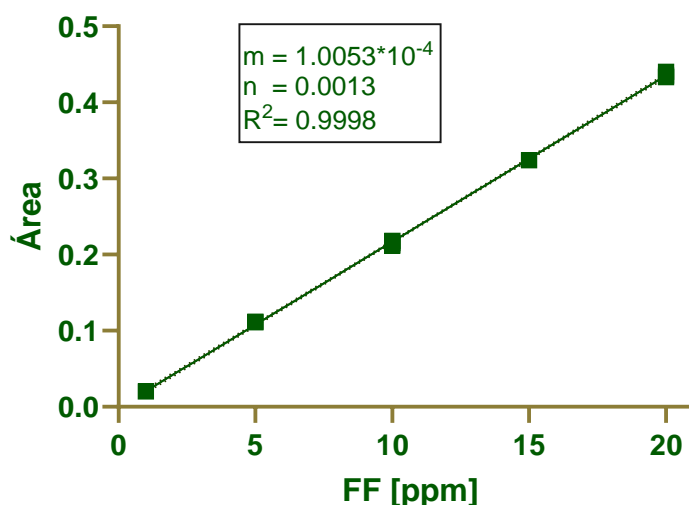


Figura 46. Curva de calibración estándar de florfenicol (0,25-20 mg/L).

5.4.4.3 Linealidad del método.

La linealidad del método se determinó realizando una curva de calibración en matriz (plasma de cerdo) de acuerdo con las concentraciones de florfenicol que se estiman en los estudios de farmacocinética en plasma. Respecto a la Figura 47 se determinó que el método analítico aplicado a florfenicol en plasma entrega señales lineales (R^2 0,9967) en el rango ensayado (0,5 -10 mg/L).

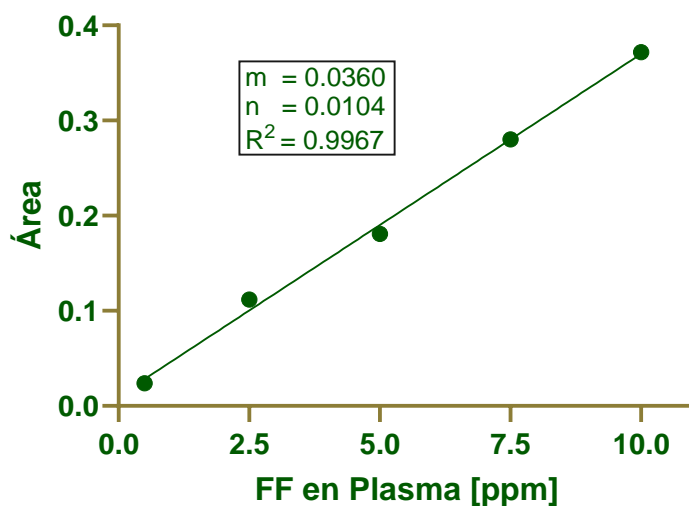


Figura 47. Curva de calibración de florfenicol en plasma de cerdo (0,5-10 mg/L).

5.4.4.4 Límite de detección y cuantificación.

Los límites LD y LC del método analítico se determinaron a través del error de intercepto de la curva en matriz en el rango de concentración de florfenicol cercano al primer nivel de la curva en matriz trabajada en el método (0,5 mg/L). Respecto a la curva para determinar los límites (Figura 54) presenta un comportamiento lineal (R^2 0,9984) donde los límites LD y LC del método analítico respectivamente son 0,111 y 0,347 mg/L en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo. Estos valores de LC y LD son adecuados para el método, considerando el rango de concentraciones en el que se trabaja.

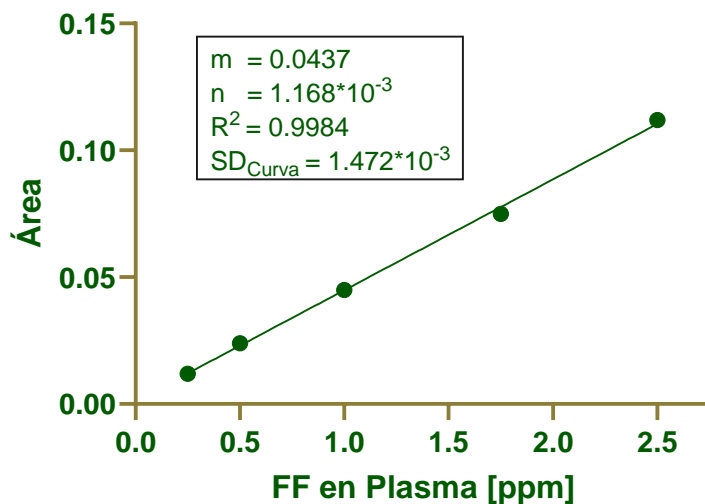


Figura 48. Curva calibración de florfenicol en plasma de cerdo (0,25-2,5 mg/L).

5.4.4.5 Precisión.

En la Tabla 17 se presentan los resultados obtenidos para determinar la precisión del método en los niveles de concentración de 0,5, 5,0 y 10 mg/L de florfenicol en plasma de cerdo (n=3). Se observa que se cumple el criterio de aceptación [61] de RSD en los tres niveles de la curva (7 - 1%), lo que indica que el método es preciso para cuantificar florfenicol en plasma de cerdo en un rango de 0,5 a 10 mg/L.

Tabla 18. *Resultados de precisión del método RDSDE/UHPLC-DAD en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo.*

Fortificado en plasma, (mg/L)	RSD, (%)
0,5	7
5,0	3
10,0	1

Se evaluó la precisión intermedia en los mismos niveles de concentración durante tres días distintos. Respecto a los resultados obtenidos (Tabla 18) se obtuvieron buenos valores de RSD, cumpliendo el criterio de aceptación en los tres niveles (6 - 2%), lo que indica que el método es preciso para cuantificar florfenicol en plasma de cerdo en un rango de 0,5 a 10 mg/L entre los tres días de análisis.

Tabla 19. *Resultados de precisión intermedia (3 días) del método RDSDE/UHPLC-DAD en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo*

Florfenicol en plasma, (mg/L)	RSD, (%)
0,5	6
5,0	5
10,0	2

5.4.4.6 Exactitud.

La exactitud del método se evaluó en función de la recuperación absoluta a las concentraciones de 0,5, 5,0 y 10 mg/L de florfenicol en plasma. Según los resultados de la Tabla 19, se obtuvieron recuperaciones que oscilaron entre 106% y 84%, todos dentro del rango considerado aceptable [61]. Por lo tanto, se concluye que el método es exacto para cuantificar florfenicol en plasma de cerdo en un rango de 0,5 a 10 mg/L.

Tabla 20. Resultados de exactitud del método RDSDE/UHPLC-DAD en la determinación de florfenicol en plasma de cerdo.

Fortificado en plasma, (mg/L)	R _{Abs} , (%)
0,5	106 ± 1
5,0	84 ± 1
10,0	86 ± 1

5.4.4.7 Robustez.

Sorbente

La robustez del método ante el cambio de lote del sorbente CAM se evaluó en el nivel intermedio de concentración de florfenicol en plasma (5,0 mg/L). Respecto a la Tabla 20 se obtuvo un bajo RSD (1%) y una recuperación absoluta de 82 %, por lo que se considera que el método es robusto al utilizar un lote de sorbente diferente manteniendo resultados exactos y precisos.

Tabla 21. Resultados de la robustez del método RDSDE/UHPLC-DAD respecto al cambio de lote del sorbente (CAM).

Florfenicol en plasma, (mg/L)	RSD, (%)	R _{Abs} , (%)
5,0	1	82 ± 1

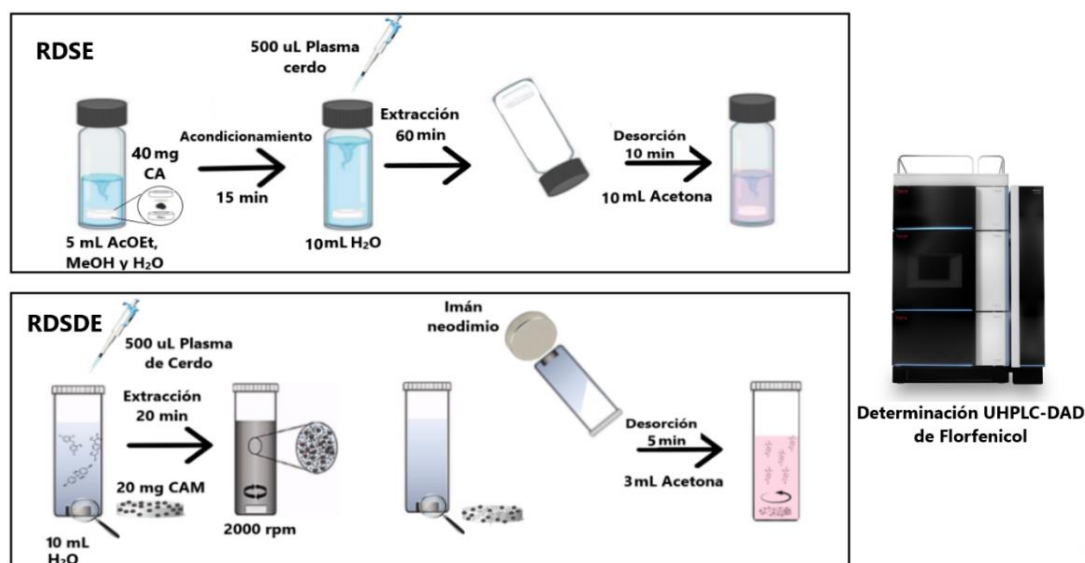
Integridad de dilución.

La robustez del método ante el cambio de dilución de muestras que estén a concentraciones más altas que el rango validado se evaluó a la concentración de 15 y 20 mg/L de florfenicol en plasma. De acuerdo con la Tabla 21 en ambas concentraciones se obtuvieron bajos RSD (2 - 4%) los cuales son acordes al criterio de aceptación [61], sin embargo, sólo en el fortificado en plasma de 15 mg/L de florfenicol se obtuvo una recuperación absoluta aceptable. Por lo tanto, el método es integro a la dilución de concentración hasta 15 mg/L de florfenicol en plasma manteniendo resultados exactos y precisos.

Tabla 22. Resultados de la robustez del método RDSDE/UHPLC-DAD respecto a la integridad de dilución.

Florfenicol en plasma, (mg/L)	RSD, (%)	R _{abs} , (%)
15	2	81 ± 1
20,0	4	78 ± 1

5.4.5 Comparación respecto a eficiencia de los métodos optimizados para extraer florfenicol en plasma de cerdo.



Esquema 11. Métodos RDSDE y RDSE optimizados para extraer florfenicol en plasma de cerdo.

En el Esquema 11 se representan las tecnologías optimizadas de RDSE y RDSDE para determinar florfenicol en plasma. En cuanto al parámetro de eficiencia, se observa que la técnica de RDSDE no requiere el paso de acondicionamiento y utiliza una menor cantidad de solvente (3 mL) para la desorción. Esto es posible gracias a la interacción directa entre el sorbente (CAM) y el entorno, lo que facilita el mecanismo dispersivo durante la extracción y desorción.

En cuanto a las recuperaciones de florfenicol, se observó una notable diferencia entre los rangos de tiempo de extracción estudiados. En la técnica RDSDE, utilizando 20 mg de CAM, se logró una recuperación del 86%, mientras que en RDSE, empleando 40 mg de CA, la recuperación fue de solo un 15%. Estos resultados evidencian la alta eficiencia de la técnica RDSDE para extraer florfenicol en un rango de tiempo reducido.

Por otro lado, en el estudio de sorción utilizando magnetita como sorbente (10 mg) con la técnica RDSDE, no se logró recuperación de florfenicol. Esto indica que la presencia de magnetita en la superficie del CA únicamente confiere propiedades magnéticas al sorbente, facilitando su aplicación a través del mecanismo dispersivo (Figura 49).

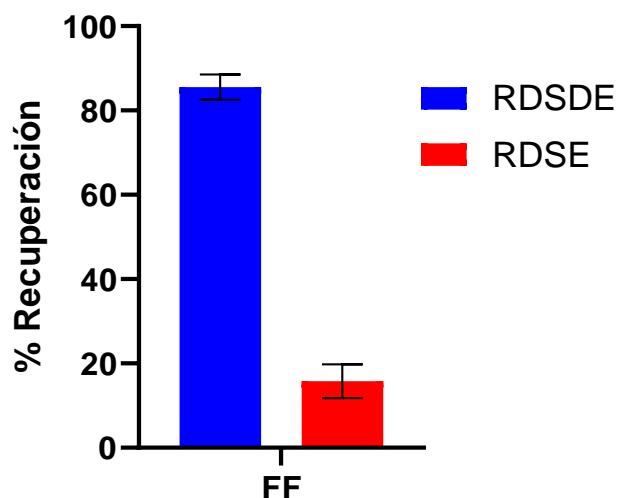


Figura 49. Comparación de las recuperaciones absolutas de florfenicol en las metodologías RDSDE y RDSE optimizadas.

Respecto al tiempo total de cada método para la extracción y desorción del florfenicol en plasma, se evidenció una diferencia significativa entre los métodos optimizados de RDSDE y RDSE, con tiempos totales de 25 y 85 minutos, respectivamente. Esto implica que el tiempo utilizado en RDSE es 3,4 veces mayor que en el método RDSDE. Cabe mencionar que el método RDSE optimizado no podría ser empleado para determinar florfenicol en plasma, ya que, no logra una recuperación adecuada del analito en un tiempo prudente de extracción, resultando en una sensibilidad insuficiente para la detección instrumental en el rango de concentraciones requerido.

En base a lo anterior, se concluyó que la tecnología de extracción RDSDE es más eficiente para determinar florfenicol en plasma en comparación con la tecnología RDSE.

5.4.6 Comparación Cinética de los métodos RDSDE y RDSE para extraer florfenicol en plasma de cerdo.

Para realizar la comparación cinética de los métodos RDSDE y RDSE, se utilizó 20 mg de CAM en ambos procedimientos. En la Figura 50, se pueden apreciar los perfiles de extracción respecto al porcentaje de recuperación de florfenicol en los métodos respectivos. En el método RDSDE, se observa una pronunciada pendiente hasta alcanzar el equilibrio a los 20 minutos, mientras que en

RDSE se muestra una pendiente bastante baja en el rango de tiempo del experimento, evidenciando la lentitud en la extracción del analito. Esto indica que el porcentaje de recuperación obtenido en el equilibrio en RDSDE se alcanza en un tiempo de extracción significativamente mayor RDSE, demostrándose que la extracción de florfenicol en el método RDSDE es mucho más rápida.

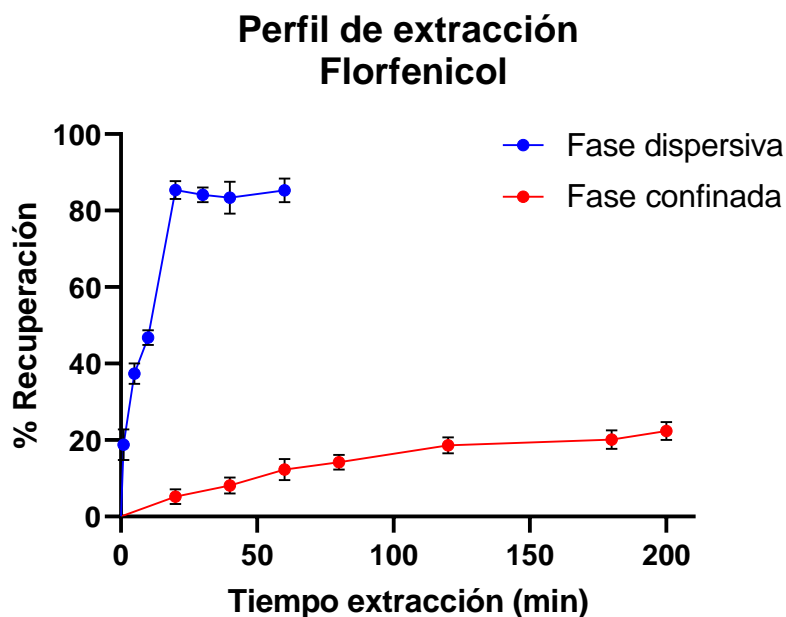


Figura 50. Comparación Cinética de los métodos RDSDE y RDSE para extraer Florfenicol en plasma de cerdo.

En términos generales, al comparar las tecnologías RDSDE y RDSE en la extracción de CEs y FF, se observa que la modalidad dispersiva presenta ventajas notables en cuanto a eficiencia y rapidez (Esquemas 8 y 10). La mayor eficiencia metodológica de la modalidad dispersiva se atribuye principalmente al tipo de dispositivo de extracción utilizado (Figura 51). En esta modalidad, el sorbente no está confinado dentro de un disco, lo que elimina la necesidad de una etapa de acondicionamiento. Además, se requiere un volumen menor de solvente orgánico para asegurar el contacto con el sorbente durante la desorción, lo que reduce el uso de insumos en el proceso de extracción/desorción.

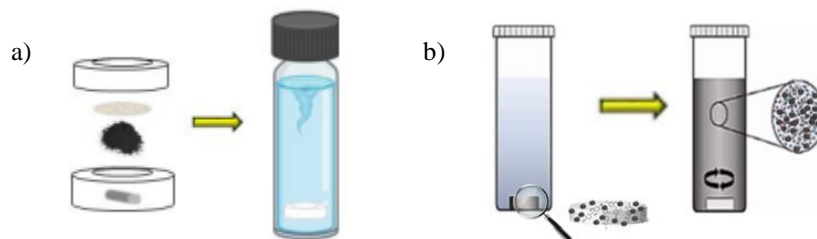


Figura 51. Dispositivos de microextracción a) Fase confinada (RDSE) b) Fase dispersiva (RDSDE).

Por otro lado, la eficiencia también está vinculada al mecanismo de extracción en las tecnologías de microextracción. En la modalidad dispersiva, se observa una reducción notable en los tiempos de extracción y desorción en las metodologías optimizadas. En los experimentos de comparación cinética (Figuras 26, 27, 28, 29 y 52), la modalidad dispersiva (RDSDE) alcanzó el equilibrio de extracción de los analitos en un tiempo considerablemente menor que la modalidad confinada (RDSE), donde los tiempos de equilibrio se obtienen en tiempos mucho mayores.

Esta mayor rapidez en el proceso de sorción en la modalidad dispersiva se debe a que se obtiene una mayor área superficial efectiva en comparación con la modalidad confinada, donde la interferencia entre las partículas del sorbente afecta directamente el proceso de transferencia de masa del adsorbato. Este proceso implica la difusión del adsorbato desde la fase fluida a través de la película límite de fluido hasta la superficie externa del sorbente (Figura 52). Además, en la modalidad dispersiva, la difusión intrapartícula del adsorbato se ve favorecida por la turbulencia generada en la fase acuosa, lo que permite que el analito llegue más rápidamente al sitio activo para ser adsorbido, reduciendo significativamente el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de extracción [62-66].

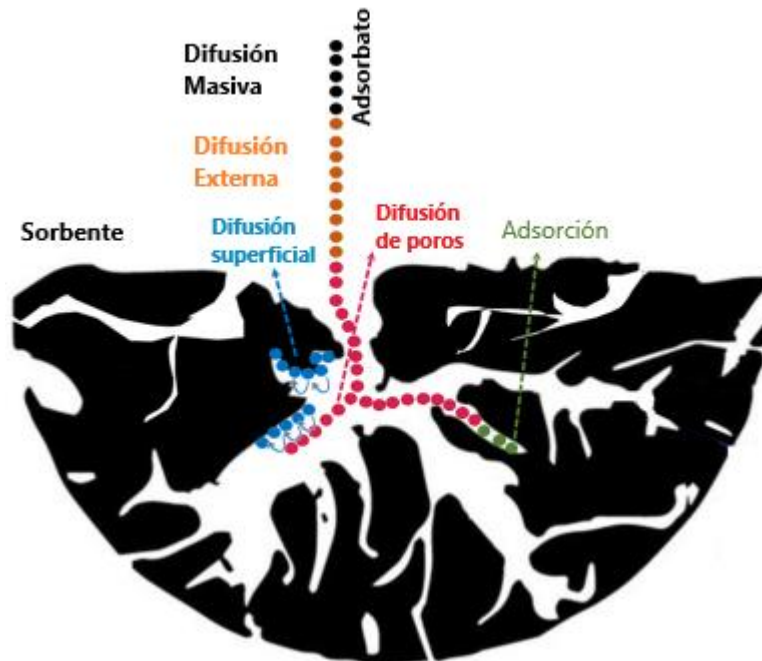


Figura 52. Mecanismo de sorción en un sorbente poroso. [62]

En cuanto a la modalidad confinada (RDSE), el proceso de transferencia de masa se ve favorecido por la disminución de la capa límite entre el sorbente y la fase acuosa, al girar el disco a altas velocidades. No obstante, este mecanismo se ve limitado por la correcta formación del vórtice, cuya función es reducir la capa límite entre el sorbente y el adsorbato.

En RDSE se observó una tendencia relacionada con la polaridad de los analitos. Dónde a medida que los analitos son más apolares, se incrementa la razón de cambio entre analito extraído y tiempo de extracción (Figuras 26, 27, 28, 29 y 52). Esto se debe a que, cuanto menor es la afinidad de los analitos con el medio acuoso, se facilita la interacción del adsorbato con el sorbente, una vez que este se ha difundido dentro de los poros. Este factor sugiere una fuerte dependencia de la afinidad entre el sorbente y el adsorbato para reducir los tiempos de extracción en el caso de RDSE, comportamiento que no se logra evidenciar en la modalidad dispersiva debido a la rapidez en que se realiza la transferencia de masa hacia el sorbente.

En los últimos años, se han desarrollado diversas metodologías innovadoras que aplican la magnetización del carbón activado, aprovechando su alta capacidad de adsorción y la posibilidad de recuperar rápidamente el sorbente. Esta técnica permite realizar procesos de extracción de manera más eficiente, alineándose con las prácticas de reciclaje de desechos orgánicos, lo que se traduce en tiempos de extracción reducidos y una alta recuperación de los analitos estudiados [67-72].

Además, se ha investigado la funcionalización de la magnetita para mejorar la selectividad y efectividad de la extracción, especialmente cuando el tamaño de partícula del sorbente se encuentra en la escala nanométrica. En esta escala, se ha reportado una mejora en las características de sorción, lo que proporciona una mayor eficiencia en los procesos de extracción, tanto en aplicaciones analíticas como industriales [73-76]. Esto sugiere un potencial significativo para futuras investigaciones sobre la aplicación del carbón activado en la escala nanométrica.

Los hallazgos de esta investigación evidencian que la modificación magnética del sorbente es efectiva para su aplicación en metodologías analíticas. Este enfoque no solo aporta comparaciones valiosas, sino que también sienta las bases para la innovación en metodologías ya existentes, con el objetivo de mejorar su rendimiento.

6. CONCLUSIONES

En esta tesis se desarrolló y validó una nueva metodología de microextracción sortiva dispersiva en disco rotatorio (RDSDE) para la extracción de analitos en muestras acuosas, utilizando un carbón activado magnético (CAM) sintetizado a partir de semilla de palta como fase sorbente. A partir de los resultados obtenidos, se pueden concluir los siguientes puntos clave:

Desarrollo de un sorbente a partir de un residuo orgánico: Se logró sintetizar un CAM a partir de semilla de palta, cuya caracterización confirmó su idoneidad para aplicaciones de microextracción. La presencia de propiedades magnéticas permitió una manipulación eficiente del sorbente en la metodología RDSDE, optimizando la interacción entre el sorbente y los analitos.

Optimización y validación de la metodología RDSDE: Se optimizaron y validaron dos metodologías RDSDE para la extracción de contaminantes emergentes (CEs) en muestras acuosas y para la extracción de florfenicol en plasma de cerdo, obteniendo resultados satisfactorios en los parámetros de desempeño analítico. La validación incluyó la evaluación de linealidad, precisión, exactitud y límites de detección y cuantificación, evidenciando que la técnica es robusta y precisa para la cuantificación de los analitos estudiados.

Comparación cinética entre tecnologías RDSDE y RDSE: Al comparar la tecnología RDSDE con la modalidad confinada (RDSE), se observó una mayor eficiencia y rapidez en la extracción mediante la modalidad dispersiva, alcanzando el equilibrio de extracción en tiempos significativamente menores. Esto se atribuye a la interacción directa entre el sorbente y el entorno, que elimina la necesidad de un acondicionamiento previo y facilita la desorción con menor cantidad de solvente.

Ventajas de la tecnología RDSDE: La modalidad dispersiva (RDSDE) demostró ser una alternativa eficaz y eficiente a la modalidad confinada (RDSE), al reducir los tiempos de extracción y desorción, y requerir menores volúmenes de solventes. Esto implica una disminución en el uso de insumos y una mayor sostenibilidad del proceso.

Aplicabilidad y proyecciones futuras: La metodología RDSDE, utilizando CAM derivado de semilla de palta, presenta un enfoque innovador y sostenible para la extracción de analitos en muestras acuosas. La efectividad de la técnica sugiere su potencial para futuras aplicaciones en el análisis de otros contaminantes emergentes y matrices complejas.

En resumen, la implementación de la metodología RDSDE representa un avance significativo en el campo de la microextracción, al ofrecer un enfoque más rápido, eficiente y sustentable. Estos

resultados abren nuevas oportunidades para la optimización de técnicas de extracción aplicadas al monitoreo ambiental y de calidad de fármacos.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Eum, W., & Lee, J.-D. (2022). The co-evolution of production and technological capabilities during industrial development. *Structural Change and Economic Dynamics*, 63, 454–469.
- [2] Gryczka, M. (2023). Industrial automation: Understanding the potential disappointment behind recent global advancements. *Procedia Computer Science*, 225, 635–644.
- [3] Farmacia Automation Market Size. (2023). Global Market Insights Inc. <https://www.gminsights.com/es/industry-analysis/pharmacy-automation-market>.
- [4] Belardi. R.P, Pawliszyn. J.B. (1989). The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns. *Water Qual. Res. J.* 24 179-191.
- [5] Baltussen. E, Sandra. P, David. F, Cramers. C. (1999). Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles.
- [6] P, Leiva. C, Choque. C, Giordano. A, Sepúlveda. B. (2009). Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples. *Journal of Chromatography A*, 1216(49), 8598–8602.
- [7] Richter, P., Arismendi, D., & Becerra-Herrera, M. (2021). The fundamentals, chemistry and applications of rotating-disk sorptive extraction. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 137(116209), 116209. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116209>
- [8] Cañas. A, Valdebenito. S, Richter. P. (2014). A new rotating-disk sorptive extraction mode, with a copolymer of divinylbenzene and N-vinylpyrrolidone trapped in the cavity of the disk, used for determination of florfenicol residues in porcine plasma. *Anal. Bioanal. Chem.* 406. 2205–2210.
- [9] Manzo. V, Honda. L, Navarro. O, Ascar. L, Richter. P. (2014). Microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from wastewater samples by rotating-disk sorptive extraction. *Talanta* 128, 486–492.
- [10] Becerra-Herrera M, Honda. L, Richter P. (2015). Ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight high resolution mass spectrometry to quantify acidic drugs in wastewater, *J. Chromatogr. A* 1423, 96e103.
- [11] Corrotea. Y, Aguilera.N, Honda.L, Richter.P. (2016). Determination of hormones in wastewater using rotating disk sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Lett.* 49, 1344e1358.
- [12] Cañas-Müller. A, Del Campo.M. V, Richter.P, (2016). Determination of triclabendazole ~in cattle plasma as its sulphoxide and sulphone metabolites by rotating disk sorptive extraction combined with high-performance liquid chromatography and its application to pharmacokinetic studies, *J. Chil. Chem. Soc.* 61, 3195e3200.
- [13] Donato. F.F, Bandeira. N.M.G, G.C. dos Santos, O.D. Prestes, M.B. Adaime, R. Zanella. (2017). Evaluation of the rotating disk sorptive extraction technique with polymeric sorbent for multiresidue determination of pesticides in water by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1516 54e63.

- [14] 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* 17, 551e557.
- [15] Manzo. V, Becerra-Herrera. M, Arismendi. D, Molina-Balmaceda. A, Caraballo. M.A, Richter. P. (2019). Rotating-disk sorptive extraction coupled to gas chromatography mass spectrometry for the determination of phthalates in bottled water, *Anal. Methods* 11, 6111e6118.
- [16] Arismendi. D, Becerra-Herrera. M, Cerrato. I, Richter. P. (2019). Simultaneous determination of multiresidue and multiclass emerging contaminants in waters by rotating-disk sorptive extraction-derivatization-gas chromatography/mass spectrometry, *Talanta* 201, 480e489.
- [17] Arismendi. D, Díaz. K, Aguilera-Marabolí. N, Sepúlveda. B, Richter. P. (2020). Rotating disk sorptive extraction for the determination of sex hormones and triclosán in urine by gas chromatography-mass spectrometry: clean-up integrated steps and improved derivatization, *Microchem. J.* 158, 105149.
- [18] Becerra-Herrera. M, Miranda. V, Richter. P. (2020). Rapid determination of parabens in water samples by ultra-high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry, *Anal. Sci.* 36, 675e679.
- [19] Castillo-Aguirre. A, Canas. A, Honda. L, Richter. P. (2021). Determination of veterinary ~antibiotics in cow milk using rotating-disk sorptive extraction and liquid chromatography, *Microchem. J.* 162, 105851.
- [20] J.U. Ha, M. (2011). Xanthos, Sequential modification of cationic and anionic nanoclays with ionic liquids, *Green Chem. Lett. Rev.* 4, 103e107.
- [21] Fiscal-Ladino. J.A, M. Obando-Ceballos. M, M. Rosero-Moreano, D.F. Montano, ~ W. Cardona, L.F. Giraldo, P. Richter. (2017). Ionic liquids intercalated in montmorillonite as the sorptive phase for the extraction of low-polarity organic compounds from water by rotating-disk sorptive extraction, *Anal. Chim. Acta* 953, 23e31.
- [22] Vieira C, Mazurkiewicz. M, Calvo. A, Debatin. V, Micke. G, Richter. P, Rosero-Moreano. M, Rocha. E. (2018). Exploiting green sorbents in rotating-disk sorptive extraction for the determination of parabens by high-performance liquid chromatography with tandem electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry, *J. Separ. Sci.* 41, 4047e4054.
- [23] Wilkinson. J, Hooda P. S, Barker. J, Barton. S, Swinden J. (2017). Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: An overarching review of the field. *Environ. Pollut.* 231 954e970.
- [24] Tang. Y, Zhong. Y, Li. H, Huang. Y, Guo. X, Yang. F, Wu. Y. (2020). Contaminants of emerging concern in aquatic environment: Occurrence, monitoring, fate, and risk assessment. *Water Environ. Res.* 92 1811–1817.
- [25] Dimpe K. M, Nomngongo P. N. (2016). Current sample preparation methodologies for analysis of emerging pollutants in different environmental matrices. *TrAC Trends Anal. Chem.* 82 199-207.
- [26] Donato F.F, Bandeira N.M.G, dos Santos. G.C, Prestes O.D, Adaime M.B, Zanella.R. (2017). Evaluation of the rotating disk sorptive extraction technique with polymeric sorbent for multiresidue

determination of pesticides in water by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1516. 54-63.

[27] Vasconcelos. E, Maciel. S, Mejía-Carmona. K, Jordan-Sinisterra. M, da Silva L.F, Vargas-Med. D.A na, Lanças. F.M. (2020). The Current Role of Graphene-Based Nanomaterials in the Sample Preparation Arena. *Front. Chem.* 8.664.

[28] Maya. F, Palomino-Cabello. C, Ghani. M, Turnes-Palomino. G, Cerdà. V. (2018). Emerging materials for sample preparation. *J. Sep. Sci.* 41. 262–287.

[29] Mafra. G, García-Valverde. M. T, J. Millán-Santiago, E. Carasek, R. Lucena, S. Cárdenas. (2020). Returning to Nature for the Design of Sorptive Phases in Solid-Phase Microextraction. *Separations* 7 2.

[30] De Gisi, Lofrano. G, M. Grassi, Notarnicola. M. (2016). Characteristics and adsorption capacities of low-cost sorbents for wastewater treatment: A review. *Sustainable Materials and Technologies* 9. 10–40.

[31] Carbone. M, Garofalo. G, Nigro. G, Piro. P. (2014). Hydraulic Performance of Olive Stone Filtration Systems. *Adv. Mat. Res.* 941-944 970-974.

[32] Leite A.B, Saucier. C, Lima E.C, dos Reis G.S, Umpierrez C.S, Mello B.L, Shirmardi. M, Días. S, C. H. Sampaio. C.H. (2018). Activated carbons from avocado seed: optimisation and application for removal of several emerging organic compounds. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25:7647–766.

[33] Molina-Balmaceda, A., Rojas-Candia, V., Arismendi, D., & Richter, P. (2024). Activated carbon from avocado seed as sorbent phase for microextraction technologies: activation, characterization, and analytical performance. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 416(10), 2399–2409.

[34] De Aguiar jr T. R., Guimaraes J. A. Neto, Sen. U, Pereira H. (2019). Study of two cork species as natural biosorbents for five selected pesticides in water. *Heliyon* 5 e01189.

[35] Bhatnagar. A, Sillanpää. M. (2010). Utilization of agro-industrial and municipal waste materials as potential adsorbents for water treatment. *Chem. Eng. J.* 157, 277–296.

[36] Ahmad, F. A. (2023). The use of agro-waste-based adsorbents as sustainable, renewable, and low-cost alternatives for the removal of ibuprofen and carbamazepine from water. *Heliyon*, 9(6), e16449.

[37] Yaashikaa, P.R. Senthil Kumara. P, Varjanic. S, Saravanan. (2020). A. A critical review on the biochar production techniques, characterization, stability and applications for circular bioeconomy. *Biotechnol. Rep.* 28 e00570.

[38] Gao. Y, Yue. Q, Gao. B, Li. A. (2020). Insight into activated carbon from different kinds of chemical activating agents: A review. *Sci. Total Environ.* 746 141094.

[39] Ayinla. R.T, Dennis. J.O, Zaid. H.M, Sanusi. Y.K, Usman. F, Adebayo. LL. (2019). A review of technical advances of recent palm bio-waste conversion to activated carbon for energy storage. *J. Clean. Prod.* 229 1427–1442.

- [40] Godage, N.H, Gionfriddo, E. (2020). Use of natural sorbents as alternative and green extractive materials: A critical review. *Anal. Chim. Acta* 1125 187-200).
- [41] Oueslati, K., Sakly, A., Lima, E. C., Ayachi, F., & Ben Lamine, A. (2022). Statistical physics modeling of the removal of Resorcinol from aqueous effluents by activated carbon from avocado seeds. *Journal of Molecular Liquids*, 360(119386), 119386.
- [42] Tan, X., Liu, Y., Zeng, G., Wang, X., Hu, X., Gu, Y., & Yang, Z. (2015). Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions. *Chemosphere*, 125, 70–85.
- [43] Yi, Z. Huang, B. Lu, J. Xian, E.P. Tsang, W. Cheng, J. Fang, Z. (2019). Fang. Magnetic biochar for environmental remediation: A review. *Bioresour. Technol.* 298 122468.
- [44] Costa, L.A.M. Ruotolo, Ribeiro L.S, Pereira M.C, Camargo E.R, Nogueira F.G.E. (2021). Low-cost magnetic activated carbon with excellent capacity for organic adsorption obtained by a novel synthesis route. *J. Environ. Chem. Eng.* 9 105061.
- [45] Thines, K. R., Abdullah, E. C., Mubarak, N. M., & Ruthiraan, M. (2017). Synthesis of magnetic biochar from agricultural waste biomass to enhancing route for wastewater and polymer application: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 67, 257–276.
- [46] Vázquez-Gomis, V, Grau, J, Benedé, J.L, Giokas, D.L, Chisvert, A, Salvador, A. (2021). Fundamentals and applications of stir bar sorptive dispersive microextraction: A tutorial review. *Anal. Chim. Acta* 1153 338271.
- [47] Huang, J, Peng, X, Huang, X. (2018). One-pot preparation of magnetic carbon adsorbent derived from pomelo peel for magnetic solid-phase extraction of pollutants in environmental waters. *J. Chromatogr. A* 1546. 28–35.
- [48] Shan, D., Deng, S., Zhao, T., Wang, B., Wang, Y., Huang, J., Yu, G., Winglee, J., & Wiesner, M. R. (2016). Preparation of ultrafine magnetic biochar and activated carbon for pharmaceutical adsorption and subsequent degradation by ball milling. *Journal of Hazardous Materials*, 305, 156–163.
- [49] Zhu, X, Liu, Y, Qian, F, Zhou, C, Zhang, S, Chen, J. (2014). Preparation of magnetic porous carbon from waste hydrochar by simultaneous activation and magnetization for tetracycline removal. *Bioresource Technology*, 154, 209–214.
- [50] Rojas, V. (2023). Determinación de ibuprofeno y sus metabolitos en muestras acuosas utilizando fases naturales en técnicas de microextracción y GC-MS [Universidad de Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/192280/Determinación-de-ibuprofeno-y-sus-metabolitos.pdf?seque>
- [51] Atiyah, Z. Y., Muallah, S. K., & Abbar, A. H. (2024). Removal of COD from petroleum refinery wastewater by adsorption using activated carbon derived from avocado plant. *South African Journal of Chemical Engineering*, 48, 467–483.
- [52] Bharath Balji, G., & Senthil Kumar, P. (2022). Adsorptive removal of alizarin red S onto sulfuric acid-modified avocado seeds: Kinetics, equilibrium, and thermodynamic studies. *Adsorption Science & Technology: Interface Science for Advanced Materials & Technologies*, 2022.

- [53] Jun, K. C., Abdul Raman, A. A., & Buthiyappan, A. (2020). Treatment of oil refinery effluent using bio-adsorbent developed from activated palm kernel shell and zeolite. *RSC Advances*, 10(40), 24079–24094.
- [52] Wan Fatimah Khairunisa Wan Nor., Siti Kamilah Che Soh., Alyza Azzura Abd Rahman Azmi., Mohd Sukeri Mohd Yusof., Mustaffa Shamsuddin. (2018) SYNTHESIS AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF MAGNETITE NANOPARTICLES (Fe₃O₄) AS POTENTIAL SOLID SUPPORT FOR HOMOGENEOUS CATALYSTS. *Malaysian Journal of Analytical Science*, 22(5).
- [53] Atiyah, Z. Y., Muallah, S. K., & Abbar, A. H. (2024). Removal of COD from petroleum refinery wastewater by adsorption using activated carbon derived from avocado plant. *South African Journal of Chemical Engineering*, 48, 467–483.
- [54] Gong, H., Hu, J., Rui, X., Luo, J., & Zhu, N. (2023). Unveiling the occurrence, distribution, removal, and environmental impacts of 65 emerging contaminants in neglected fresh leachate from municipal solid waste incineration plants. *Journal of Hazardous Materials*, 460(132355), 132355.
- [55] Teymur, Y. A., & Güzel, F. (2024). Microwave-assisted synthesis, characterization, and oxytetracycline antibiotic sorption performance of a novel magnetic nanohybrid material: MnFe₂O₄@black cumin solid waste-derived activated carbon. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(3), 112641.
- [56] Saadi, A. S., Bousba, S., Riah, A., Belghit, M., Belkhalifa, B., & Barour, H. (2024). Efficient synthesis of magnetic activated carbon from oak pericarp for enhanced dye adsorption: A one-step approach. *Desalination and Water Treatment*, 319(100420), 100420.
- [57] Wang, Q., Zhang, Y., Zheng, Y., Fagbohun, E. O., & Cui, Y. (2024). Magnetic activated carbon for the removal of methyl orange from water via adsorption and Fenton-like degradation. *Particuology*, 94, 314–326.
- [58] Gregg S. J, Sing K. S. W. *Adsorption, Surface Area and Porosity*, Academic Press, San Diego, (1995).
- [59] Webb P.A, Orr C. *Micromeritics Instrument*, Norcross, GA (1997).
- [60] Arismendi, D, Becerra-Herrera, M, Cerrato, I, Richter, P (2019). Simultaneous determination of multiresidue and multiclass emerging contaminants in waters by rotating-disk sorptive extraction-derivatization- gas chromatography/mass spectrometry. *Talanta* 201. 480–489.
- [61] Duffau Boris, Rojas Fabiola, Guerrero Isabel, Roa Luis, Rodríguez Luis, Soto Marcelo, Aguilera Marisol, Sandoval Soraya. (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”. *Ispch.cl*.
- [62] Ahmed, M. B., Zhou, J. L., Ngo, H. H., & Guo, W. (2015). Adsorptive removal of antibiotics from water and wastewater: Progress and challenges. *The Science of the Total Environment*, 532, 112–126.
- [63] Azizian, S. (2004). Kinetic models of sorption: a theoretical analysis. *Journal of Colloid and Interface Science*, 276(1), 47–52.

- [65] Sharifian, S., & Asasian-Kolur, N. (2024). Adsorption: a reliable solution for emerging contaminants removal. En *Traditional and Novel Adsorbents for Antibiotics Removal from Wastewater* (pp. 1–120). Elsevier.
- [66] Saleh, T. A. (2022). Kinetic models and thermodynamics of adsorption processes: classification. En *Interface Science and Technology* (pp. 65–97). Elsevier.
- [67] Bagbi, Y., Yomgam, P., Libang, E., Boruah, B., Kaur, J., Jayanthi, S., Kumar, S., & Dhaniala, N. K. (2024). Waste bamboo-derived magnetically separable bamboo-activated carbon: from characterization to effective remediation of fluoride (F⁻) ions from water. *RSC Advances*, 14(34), 24952–24968.
- [68] Farahani, H. S., Najafi, M., Behbahani, M., & Naseri, M. T. (2023). Ultrasonic assisted magnetic dispersive solid phase extraction of 2-chloroethyl ethyl sulfide by magnetic activated carbon from aqueous samples prior to gas chromatography-ion mobility spectrometry analysis. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 193(109146), 109146.
- [69] Okhravi, T., Dastoori, H., Ali Farajzadeh, M., & Mohebbi, A. (2024). Development of a continuous magnetic dispersive solid phase extraction method for the extraction of seven widely used pesticides from fruit juices. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 198(110163), 110163.
- [70] Drenkova-Tuhtan, A., Inskeep, C. S., Luthardt, L., Deuso, S. L., Ballweg, T., Hanselmann, D., Béalu, Z., Meyer, C., Schug, B., Steinmetz, H., & Mandel, K. (2024). Reusable and inductively regenerable magnetic activated carbon for removal of organic micropollutants from secondary wastewater effluents. *Water Research*, 255(121525), 121525.
- [71] Tran, P. T., Truong, T. T. A., Le, H. V. M., Vo, K. D., Nguyen, H. M., Nguyen, L. Q., Tran-Thuy, T.-M., & Van Nguyen, D. (2024). Facile preparation of magnetic activated carbon from *Peltophorum pterocarpum* flowers for persulfate activation in methyl orange treatment. *Bioresource Technology Reports*, 27(101953).
- [72] Nazempour, F., Mowla, D., Qaretapeh, M. Z., & Dashtian, K. (2024). Ex-situ magnetic C N-rich activated carbon derived from *Prunus scoparia* shells for the simultaneous adsorption of metronidazole and acetaminophen: Kinetic, isotherm, thermodynamic, and multivariate studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(5), 113762.
- [73] Nisar, M., Dos Santos, L. M., Geshev, J., Qadir, M. I., Khan, S., Fehine, G. J. M., Machado, G., & Einloft, S. (2024). Nanoarchitected composite of polysulfone and carbon-based fillers bearing magnetically stimuable function for efficient CO₂ capture. *Journal of Science Advanced Materials and Devices*, 9(2), 100701.
- [74] Azizi-Khereshki, N., Mousavi, H. Z., Dogaheh, M. G., Farsadrooh, M., Alizadeh, N., & Mohammadi, A. (2023). Synthesis of molecularly imprinted polymer as a nanosorbent for dispersive magnetic micro solid-phase extraction and determination of valsartan in biological samples by UV-Vis Spectrophotometry: Isotherm, kinetics, and thermodynamic studies. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 296(122656), 122656.
- [75] Ahranjani, P. J., Saei, S. F., El-Hiti, G. A., Yadav, K. K., Cho, J., & Rezania, S. (2024). Magnetic carbon nanotubes doped cadmium oxide as heterogeneous catalyst for biodiesel from waste cooking

oil. *Chemical Engineering Research & Design: Transactions of the Institution of Chemical Engineers*, 201, 176–184.

[76] Occhicone, A., De Gregorio, E., Montagnaro, F., Ausanio, G., Gargiulo, V., Alfè, M., Roviello, G., & Ferone, C. (2024). Production and characterization of nano-magnetic material through different red mud reduction processes. *Materials Chemistry and Physics*, 328(129950), 129950.