



**Universidad de Chile**  
**Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas**  
Departamento de Química Inorgánica y Analítica

***“Estudio de adsorción-desorción y degradación de 17- $\alpha$ -  
Etinilestradiol (EE2) en suelos tratados con biosólidos”***

Profesor patrocinante

MgQ. Inés Ahumada Torres  
Departamento de Química Inorgánica  
y Analítica  
Laboratorio de Química Ambiental  
Universidad de Chile

Directores de memoria

MgQ. Inés Ahumada Torres  
Departamento de Química Inorgánica  
y Analítica  
Laboratorio de Química Ambiental  
Universidad de Chile

Dra. Loreto Ascar Estay  
Departamento de Química Inorgánica  
y Analítica  
Laboratorio de Química Ambiental  
Universidad de Chile

Memoria para optar al Título Profesional de Químico

**Sebastián Adolfo Linares Albornoz**

Santiago, Chile

2019

## AGRADECIMIENTOS

Esta tesis está dedicada a mi familia, tanto para los que están como los que se han ido. Quiero partir agradeciéndole a ellos, un pilar fundamental, sin su apoyo y contención hubiera sido muy difícil. A mis padres, Sandra Albornoz Valdebenito y Gustavo Linares Ulloa, que desde pequeño me inculcaron buenas enseñanzas y los valores que hoy en día puedo poner en práctica para desenvolverme en mi diario vivir. También le agradezco a mi hermano Cristóbal, mis primos Juanito Linares y Carlos Ugalde, a mi tía Ángela y a mi tía Roxana, por siempre darme una palabra de aliento cuando la necesitaba.

Quiero mencionar a mi círculo de amigos que me ha regalado la vida, Carlos Valdés, Christopher Aguilera y Diego Alarcón, que estuvieron conmigo dándome buenas energías para enfrentar nuevos desafíos, sin su presencia esto no hubiera sido lo mismo.

Quiero destacar el apoyo de la profesora Inés Ahumada y la profesora Loreto Áscar, estoy muy agradecido por haberme recibido en el laboratorio de Química Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. También quiero mencionar a las personas que participan en este laboratorio, entre ellas al profesor Pablo Richter, Daniel Arismendi, Inmaculada Cerato, Luis Honda, Catalina Uribe, Jairon Goya, Cristina Pedraza, Alejandra Molina, Felipe miranda, Jorge Comas y Mario Riquelme. Son un grupo humano excepcional, valoro mucho su buena onda y el empuje que me dieron todo este tiempo, infinitas gracias por escucharme, guiarme en este desafío y darme las herramientas necesarias para realizarme como un profesional de la Química.

Quiero agradecer a la profesora Sylvia Copaja, al profesor Héctor Bravo y todas las personas que participan del laboratorio de Química Orgánica y Ambiental de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile, no olvido la confianza que me dieron en su momento y por enseñarme a trabajar en el área de las ciencias.

También quiero destacar a toda la gente cercana que trabaja en el supermercado Santa Isabel Catamarca de la comuna de Quinta Normal, del cual formo parte. En especial quiero mencionar a mi jefa Sandra Muñoz, Patricia Morales, Maribel Saavedra, Gino Traipe, Byron

Correa, Bryan Araya y todos mis compañeros de la sección de Carnicería, gracias por el apoyo incondicional.

Este es un momento decisivo en mi vida personal y profesional, ya que estoy cerrando un ciclo lleno de aprendizajes y crecimiento. Mi gratitud y mis mejores deseos para todas estas personas que han formado parte de esta etapa inolvidable de mi vida.

También agradecer al proyecto FONDECYT 1150502 por el financiamiento de esta tesis.

## INDICE DE CONTENIDOS

<i>INDICE DE TABLAS</i> .....	<i>vii</i>
<i>INDICE DE FIGURAS</i> .....	<i>viii</i>
<i>RESUMEN</i> .....	<i>x</i>
<i>SUMMARY</i> .....	<i>xii</i>
<b><i>I. INTRODUCCION</i></b> .....	<b><i>1</i></b>
1.1. Antecedentes generales.....	1
1.2. Biosólidos y su generación en las plantas de tratamiento .....	2
1.3. Antecedentes específicos del 17 $\alpha$ -etinilestradiol.....	3
1.4. Parámetros de calidad de los suelos agrícolas.....	7
1.5. Legislación actual para la aplicación de biosólido en suelo de uso agrícola.....	9
1.6. Validación del método analítico.....	10
1.6.1. Exactitud.....	10
1.6.2. Linealidad .....	11
1.6.3. Precisión .....	11
1.6.4. Límite de detección (LD) .....	11
1.6.5. Límite de cuantificación (LC) .....	12
1.7. Isotermas de adsorción en un sistema sólido-líquido .....	12
1.8. Modelación de las isotermas de adsorción.....	16
1.9. Parámetros de adsorción.....	17
<b><i>II. HIPOTESIS</i></b> .....	<b><i>19</i></b>
<b><i>III. OBJETIVOS</i></b> .....	<b><i>19</i></b>
3.1. Objetivo General.....	19
3.2. Objetivos Específicos .....	19
<b><i>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</i></b> .....	<b><i>20</i></b>
4.1. Reactivos .....	20
4.2. Estándares .....	21
4.3. Materiales .....	21
4.4. Instrumentos y equipos .....	22

<b>4.5. Análisis de EE2 y equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)</b>	<b>23</b>
.....	.....
<b>4.6. Selección y preparación de muestras</b>	<b>23</b>
4.6.1. Suelos y biosólido.....	23
4.6.2. Preparación de las soluciones stock de 17 $\alpha$ -etinilestradiol .....	24
<b>4.7. Caracterización fisicoquímica de suelos y biosólido</b>	<b>25</b>
4.7.1. Determinación del pH.....	25
4.7.2. Determinación de la conductividad .....	25
4.7.3. Determinación del contenido de carbono orgánico (CO) y materia orgánica (MO) .....	26
4.7.4. Determinación de la textura de los suelos .....	27
4.7.5. Determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC).....	29
4.7.6. Determinación de nitrógeno total .....	29
4.7.7. Determinación de metales pesados.....	30
4.7.8. Determinación del factor de humedad.....	30
4.7.9. Determinación de la densidad aparente .....	31
<b>4.8. Estudio de adsorción y desorción del 17<math>\alpha</math>-Etinilestradiol en los suelos y mezclas suelo-biosólido</b>	<b>31</b>
4.8.1. Determinación del tiempo de equilibrio .....	31
4.8.2. Estudio de adsorción de EE2 .....	32
4.8.3. Estudio de desorción de EE2 .....	32
4.8.4. Determinación de las constantes K <sub>f</sub> , K <sub>d</sub> y K <sub>oc</sub> de EE2 .....	32
<b>4.9. Estudio del tiempo de degradación de 17<math>\alpha</math>-Etinilestradiol en suelos tratados con y sin biosólidos</b>	<b>33</b>
4.9.1. Incubación de las muestras de suelos con y sin biosólido.....	34
4.9.2. Extracción de las muestras de suelos con y sin biosólido .....	34
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSION</b>	<b>35</b>
<b>5.1. Caracterización física y química de suelos y biosólido</b>	<b>35</b>
<b>5.2. Relación de las propiedades fisicoquímicas del EE2 con el pH de los diferentes suelos y el biosólido utilizados en el estudio</b>	<b>37</b>
<b>5.3. Análisis e identificación mediante HPLC – DAD</b>	<b>38</b>
<b>5.4. Validación del método analítico</b>	<b>39</b>
<b>5.5. Estudio de tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 en diferentes suelos</b>	<b>45</b>
.....	.....
<b>5.6. Estudio de adsorción de EE2 en diferentes suelos con y sin la adición de biosólido</b>	<b>47</b>

5.7.	<b>Cálculo de los parámetros del modelo matemático lineal y la isoterma de Freundlich para interpretación de las isothermas de adsorción de EE2.....</b>	<b>50</b>
5.8.	<b>Estudio de desorción de EE2 en diferentes suelos con y sin la adición de biosólido.....</b>	<b>52</b>
5.9.	<b>Estudio de degradación de EE2 en los diferentes suelos con y sin la adición de biosólido.....</b>	<b>54</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>57</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>59</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXO.....</b>	<b>62</b>
8.1.	<b>Estudio de tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 en diferentes suelos .....</b>	<b>62</b>
8.2.	<b>Estudio de adsorción y desorción de EE2 en diferentes suelos.....</b>	<b>63</b>
8.2.1.	Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Codigua.....	63
8.2.2.	Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Codigua con la adición de biosólido .....	64
8.2.3.	Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Ostolazas.....	64
8.2.4.	Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Ostolazas con la adición de biosólido .....	65
8.2.5.	Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Pomaire .....	65
8.2.6.	Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Pomaire con la adición de biosólido .....	66
8.3.	<b>Estudio de degradación de EE2 en diferentes suelos.....</b>	<b>66</b>
8.3.1.	Estudio de degradación de EE2 en el suelo Codigua con y sin biosólido .....	66
8.3.2.	Estudio de degradación de EE2 en el suelo Ostolazas con y sin biosólido ....	67
8.3.3.	Estudio de degradación de EE2 en el suelo Pomaire con y sin biosólido .....	67

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Propiedades fisicoquímicas de la hormona estrogénica EE2</i> .....	5
<b>Tabla 2.</b> <i>Criterios de evaluación de un suelo con respecto a su pH (NOM-021-RECNAT-2000)</i> .....	7
<b>Tabla 3.</b> <i>Clasificación de suelos en base a su contenido de materia orgánica (MO%) en suelos no volcánicos (NOM-021-RECNAT-2000)</i> .....	8
<b>Tabla 4.</b> <i>Criterios para clasificar un suelo con base en su contenido de nitrógeno total (NOM-021-RECNAT-2000)</i> .....	8
<b>Tabla 5.</b> <i>Clasificación de la fertilidad de suelos de acuerdo a la CIC (NOM-021-RECNAT-2000)</i> .....	9
<b>Tabla 6.</b> <i>Concentración máxima de metales pesados que debe poseer el suelo receptor de biosólido de acuerdo a la legislación actual</i> .....	10
<b>Tabla 7.</b> <i>Ubicación y clasificación de los suelos muestreados en la Región Metropolitana</i> .....	24
<b>Tabla 8.</b> <i>Características fisicoquímicas de los suelos y biosólido empleados en el estudio</i> .....	36
<b>Tabla 9.</b> <i>Concentración de metales pesados en los suelos y en el biosólido</i> .....	37
<b>Tabla 10.</b> <i>Datos de las ecuaciones de la recta para las curvas de calibración del EE2</i> ....	40
<b>Tabla 11.</b> <i>Repetición en la medición del EE2</i> .....	41
<b>Tabla 12.</b> <i>Precisión en la medición del EE2</i> .....	42
<b>Tabla 13.</b> <i>Límites de Detección y Cuantificación para la medición de EE2</i> .....	43
<b>Tabla 14.</b> <i>Porcentaje de recuperación en la medición del EE2</i> .....	44
<b>Tabla 15.</b> <i>Coefficientes de adsorción del EE2 para los suelos y los mismos con la adición de biosólido</i> .....	50

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura molecular del 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol (EE2). .....	4
<b>Figura 2.</b> Vías de interconversión de estrógenos naturales y sintéticos (Adeel M, 2016). ..	6
<b>Figura 3.</b> Representación de los tipos generales de isothermas de adsorción de solutos en el medio poroso (modificado de Marzal, 1992). .....	13
<b>Figura 4.</b> Clasificación de las isothermas y representación de los diferentes subgrupos de isoterma de adsorción (adaptado de Giles et al., 1960). .....	14
<b>Figura 5.</b> Mapa con las zonas de muestreo de suelos agrícolas, donde C, O y P representan a Codigua, Ostolazas y Pomaire, respectivamente. ....	24
<b>Figura 6.</b> Diagrama de texturas para clasificación de suelos. ....	28
<b>Figura 7.</b> Cromatograma de EE2 obtenido por HPLC -DAD. ....	38
<b>Figura 8.</b> Curvas de calibración de EE2 en matriz de los diferentes suelos del estudio. ....	39
<b>Figura 9.</b> Curvas de calibración de EE2 en matriz de los diferentes suelos del estudio con la adición de biosólido. ....	40
<b>Figura 10.</b> Tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 a distintas concentraciones en el suelo Codigua. ....	45
<b>Figura 11.</b> Tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 a distintas concentraciones en el suelo Ostolazas. ....	45
<b>Figura 12.</b> Tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 a distintas concentraciones en el suelo Pomaire. ....	46
<b>Figura 13.</b> Isothermas de adsorción de EE2 del suelo Codigua con y sin biosólido. ....	47
<b>Figura 14.</b> Isothermas de adsorción de EE2 del suelo Ostolazas con y sin biosólido. ....	48
<b>Figura 15.</b> Isothermas de adsorción de EE2 del suelo Pomaire con y sin biosólido. ....	49
<b>Figura 16.</b> Adsorción y desorción de EE2 en el suelo Codigua con y sin biosólido. ....	52
<b>Figura 17.</b> Adsorción y desorción de EE2 en el suelo Ostolazas con y sin biosólido. ....	53
<b>Figura 18.</b> Adsorción y desorción de EE2 en el suelo Pomaire con y sin biosólido. ....	53
<b>Figura 19.</b> Proceso de degradación de EE2 en los diferentes suelos del estudio. ....	55
<b>Figura 20.</b> Proceso de degradación de EE2 en los diferentes suelos con la adición de biosólido. ....	56
<b>Figura 21.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua para un rango de concentración de 0,0 - 10,0 mg L <sup>-1</sup> . ....	62
<b>Figura 22.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas para un rango de concentración de 0,0 - 10,0 mg L <sup>-1</sup> . ....	62
<b>Figura 23.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire para un rango de concentración de 0,0 - 10,0 mg L <sup>-1</sup> . ....	63
<b>Figura 24.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L <sup>-1</sup> . ....	63
<b>Figura 25.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua con la adición de biosólido para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L <sup>-1</sup> . ....	64

<b>Figura 26.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L <sup>-1</sup> .....	64
<b>Figura 27.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas con la adición de biosólido para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L <sup>-1</sup> .....	65
<b>Figura 28.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L <sup>-1</sup> .....	65
<b>Figura 29.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire con la adición de biosólido para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L <sup>-1</sup> .....	66
<b>Figura 30.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua para un rango de concentración de 0,0 - 14,0 mg L <sup>-1</sup> .....	66
<b>Figura 31.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas para un rango de concentración de 0,0 - 14,0 mg L <sup>-1</sup> .....	67
<b>Figura 32.</b> Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire para un rango de concentración de 0,0 - 14,0 mg L <sup>-1</sup> .....	67

## RESUMEN

Actualmente, en varios puntos estratégicos de Chile las aguas servidas son llevadas a plantas de tratamiento donde la fase sólida es separada de la fase líquida para ser tratado simultáneamente con el fin de estabilizarlos y eliminar compuestos nocivos para la salud. A pesar de esto, algunos de los compuestos orgánicos no son posibles de eliminar y permanecen en estos residuos o biosólidos. Dado su alto contenido orgánico, nutrientes y otras características físico-químicas, los biosólidos provenientes de las plantas de tratamientos son utilizados en los suelos como sustitutos de fertilizantes con el fin de mejorar su calidad agrícola, donde estos potenciales contaminantes pueden pasar hacia plantas entrando a la cadena trófica. Ejemplo de ellos, son los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs), son compuestos orgánicos sintéticos, que no se encuentran en forma natural en el medio ambiente. Son utilizados en la formulación de antibióticos, antiinflamatorios, agentes antimicrobianos, hormonas sintéticas y biogénicas, además de medicamentos veterinarios.

Dentro de los PPCPs que entran en la planta de tratamiento de aguas residuales, se encuentra como una fuente de importancia la hormona esteroidea 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2). El riesgo medioambiental de este contaminante orgánico contenido en el biosólido aplicado al suelo depende de los siguientes factores: su concentración, su persistencia, su capacidad para incorporarse a la cadena trófica, su labilidad, y su biotoxicidad.

De acuerdo a lo permitido por la normativa actual (D.S N°004/2009), los suelos poseen las características fisicoquímicas adecuadas para ser enmendados con biosólido en una concentración de 90 Mg ha<sup>-1</sup>.

El objetivo del presente estudio fue estudiar la adsorción, desorción y degradación de 17- $\alpha$ -Ethinilestradiol, en suelos tratados con y sin biosólidos. El estudio de la adsorción y desorción de este compuesto se evaluó a través de la determinación de las concentraciones en equilibrio en la matriz suelo/solución, realizando experimentos en batch, con soluciones de EE2 en un rango de 0,25 – 8,0 mg L<sup>-1</sup> en CaCl<sub>2</sub> 0,01 M. Los resultados mostraron que se daban tasas de desorción entre 13,0 a 28,6 % comparado con lo que fue adsorbido en los suelos, valores que disminuían en suelos enmendados con biosólido. De manera mayoritaria, los modelos de las isotermas de adsorción se ajustaron al modelo de Freundlich, lo cual

permitió obtener  $\text{Log } K_{oc}$  entre 2,97 y 3,79, lo que muestra que el compuesto tiende a adsorberse en la parte hidrófoba de la materia orgánica del suelo, lo que influenciaría en su retención en los suelos.

El estudio de degradación de EE2 realizado, se llevó a cabo a diferentes tiempos de incubación, con un enriquecimiento de una concentración de EE2 de  $10 \text{ mgL}^{-1}$  en las muestras de suelo y suelo/biosólido, sometidos a una temperatura y humedad de campo constante. Los resultados mostraron que en todos los casos el compuesto se degradaba entre un 61,1 a 80,3 %, valores que aumentaban en suelos enmendados con biosólido.

## SUMMARY

Currently, at several strategic points in Chile wastewater is taken to treatment plants where the solid phase is separated from the liquid phase to be treated simultaneously in order to stabilize them and eliminate harmful compounds for health. Despite this, some of the organic compounds are not possible to eliminate and remain in these residues or biosolids. Given its high organic content, nutrients and other physical and chemical characteristics, biosolids from treatment plants are used in soils as fertilizer substitutes in order to improve their agricultural quality, where these potential contaminants can pass to plants entering the soil. the trophic chain. Examples of these are pharmaceutical and personal care products (PPCPs), are synthetic organic compounds, which are not found naturally in the environment. They are used in the formulation of antibiotics, anti-inflammatories, antimicrobial agents, synthetic and biogenic hormones, as well as veterinary medicines.

Within the PPCPs that enter the wastewater treatment plant, the steroidal hormone 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) is found as a source of importance. The environmental risk of this organic contaminant contained in the biosolid applied to the soil depends on the following factors: its concentration, its persistence, its capacity to incorporate itself into the food chain, its lability, and its biotoxicity.

According to what is allowed by the current regulations (D.S N ° 004/2009), the soils have the appropriate physicochemical characteristics to be amended with biosolids at a concentration of 90 Mg ha<sup>-1</sup>.

The aim of the present study was to study the adsorption, desorption and degradation of 17- $\alpha$ -Ethinylestradiol in soils treated with and without biosolids. The study of the adsorption and desorption of this compound was evaluated through the determination of equilibrium concentrations in the soil / solution matrix, performing batch experiments, with EE2 solutions in a range of 0.25 - 8.0 mg L<sup>-1</sup> in CaCl<sub>2</sub> 0.01 M. The results showed that desorption rates were given between 13.0 to 28.6% compared to what was adsorbed in the soils, values that decreased in soils amended with biosolids. In a majority way, the models of the adsorption isotherms were adjusted to the Freundlich model, which allowed to obtain Log K<sub>oc</sub> between 2.97 and 3.79, which shows that the compound tends to adsorb in the

hydrophobic part of the organic matter of the soil, which would influence its retention in soils.

The EE2 degradation study carried out was carried out at different incubation times, with an enrichment of an EE2 concentration of  $10 \text{ mgL}^{-1}$  in the soil and soil/biosolids samples, subjected to a constant temperature and humidity field. The results showed that in all cases the compound degraded between 61.1 to 80.3%, values that increased in soils amended with biosolids.

# **I. INTRODUCCION**

## **1.1. Antecedentes generales**

En Chile, el tratamiento de las aguas servidas se ha incrementado sustancialmente en los últimos años, alcanzando un nivel de cobertura cercano al 99,8% respecto a las aguas servidas recolectadas de la población urbana nacional. Esta condición ha posibilitado la descontaminación paulatina de los cursos de aguas marítimos y continentales del país.

Dentro de un marco legal a nivel país, la superintendencia de servicios sanitarios (SISS), es el organismo que vela para que las plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS) cumplan con un estándar de calidad que permita que la disposición de las aguas servidas tratadas a los cuerpos receptores, se efectúe de acuerdo a la normativa vigente. Esta acción se realiza a través de la fiscalización sobre el autocontrol, la realización de controles directos e inspecciones en terreno (SISS, 2017).

Hoy en día, existen 290 sistemas de tratamiento de aguas servidas operando y autorizados por el SISS, los que atienden a más de 11 millones y medio de habitantes en todo el país. La tecnología de tratamiento predominante corresponde a sistemas de lodos activados, con casi un 60% de la cantidad total de plantas de tratamiento de aguas servidas (SISS, 2017).

Es de amplio conocimiento, que el tratamiento de las aguas servidas trae consigo la generación de biosólidos, los cuales pueden ser utilizados como fertilizantes y/o remediadores de los suelos y también como materia prima para la generación de biogás. Aunque el plan de saneamiento de aguas servidas mejora significativamente la calidad del agua, no todos los contaminantes son capaces de ser eliminados completamente en el tratamiento y son descargados al medioambiente a través de los biosólidos. Por este motivo, la acumulación de estos puede ser nociva para la salud humana y para el medio ambiente, por la presencia de contaminantes, virus y bacterias en ellos. Debido a lo anterior, se requiere

tener un manejo adecuado de estos residuos mediante la consideración de dos opciones diferentes: la disposición en rellenos sanitarios e incineración o el uso como fertilizante y en la remediación de suelos como segunda alternativa (USEPA, 1999).

Se considera que los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs) son contaminantes orgánicos que incluyen antibióticos, antiinflamatorios, agentes antimicrobianos, hormonas sintéticas y biogénicas, además de medicamentos veterinarios (Karnjanapiboonwong et al., 2011). Estos productos son utilizados por las personas por razones cosméticas, por motivos de salud o empleados por la agroindustria para aumentar el crecimiento o la salud del ganado. Los PPCPs han sido detectados en aguas superficiales, aguas subterráneas, en biosólidos, así como también en suelos agrícolas luego de la aplicación de biosólidos (Tamtam et al., 2008; Fick et al., 2009; McClellan et al., 2010; Wu et al., 2009). La remoción de los PPCPs durante el tratamiento de aguas residuales no es completa, creándose de esta forma un camino de ingreso de estos compuestos al medioambiente terrestre por la aplicación de biosólidos a los suelos (McClellan et al., 2010). Este grupo de compuestos no están normados y constituyen un conjunto de compuestos llamados “contaminantes emergentes”.

## **1.2. Biosólidos y su generación en las plantas de tratamiento**

En las plantas de tratamiento de aguas servidas se separan desechos líquidos de sólidos, pasando por distintos tratamientos fisicoquímicos. En el caso particular de los desechos sólidos, las etapas de tratamiento son muy reducidas, (1) espesamiento de los sólidos, (2) digestión anaeróbica y/o aeróbica y (3) centrifugado, posteriormente los desechos también denominados lodos son llevados a rellenos sanitarios, empleados como enmienda agrícola, o bien como fuente de biocombustible (Mahamud et al., 1996). La generación de biosólidos en las plantas de tratamiento de aguas de la Región Metropolitana llega a 290 mil toneladas por año. Los lodos estabilizados o biosólidos, al ser destinados como un recurso agrícola y forestal en la recuperación de suelo, conlleva una forma de reciclaje del residuo, evitando su disposición en rellenos sanitarios o en vertederos específicos. Las aplicaciones de los biosólidos y las características que deben tener están reguladas por la United States

Environment Protection Agency (USEPA). En Chile, esta tarea corresponde a la superintendencia de servicios sanitarios SISS, que fiscaliza que los biosólidos cumplan con los estándares de calidad que exige la normativa vigente, de acuerdo al Decreto N°4 del Ministerio del Interior. Este reglamento regula el manejo de lodos estabilizados o biosólidos y sus características finales, sin embargo, los compuestos disruptores endocrinos (EDCs) no se encuentran regulados en nuestro país.

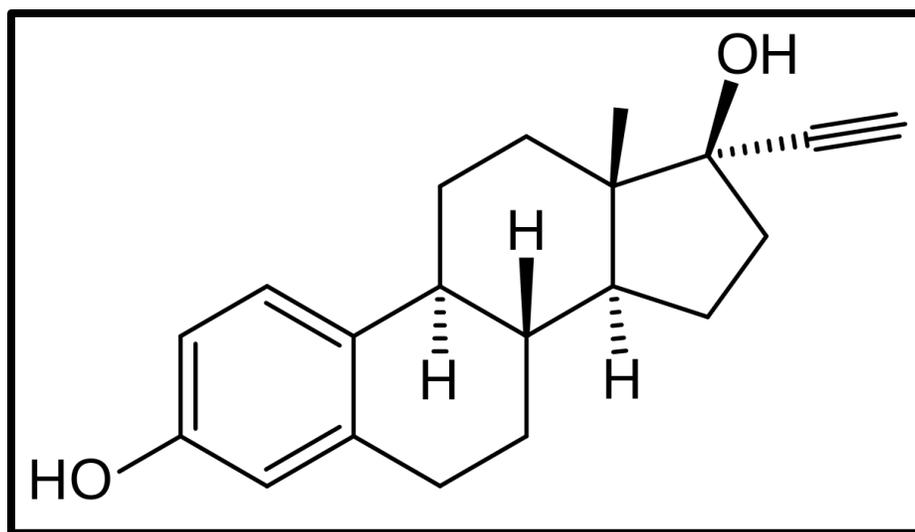
El riesgo medioambiental de los contaminantes orgánicos contenidos en el biosólido aplicado al suelo depende de los siguientes factores: su concentración, su persistencia, su capacidad para incorporarse a la cadena trófica, su labilidad, y su biotoxicidad (Epstein, 2003). Dentro de los PPCPs que entran en la planta de tratamiento de aguas residuales, se encuentra como una fuente de importancia la hormona esteroidea 17 $\alpha$ -etinilestradiol.

### **1.3. Antecedentes específicos del 17 $\alpha$ -etinilestradiol**

El 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), esquematizado en la Figura 1, es un estrógeno derivado del estradiol (E2) (hormona esteroide sexual femenina), el cual fue el primer análogo del estrógeno sintetizado. Una manera de evitar la oxidación de Estradiol a Estrona (E1) es bloquear la función alcoholica en C17 con un sustituyente apropiado, como el etinil, dando lugar a la EE2. Es uno de los medicamentos más utilizados en el mundo, ya que se utiliza en fórmulas para producir anticonceptivos. El estradiol se absorbe bien por vía oral, pero es rápidamente inactivado por el hígado mediante oxidación del hidroxilo, en cambio en el EE2 la sustitución del carbono 17 con un grupo etinil le otorga a este estrógeno gran resistencia a la degradación del hígado. La actividad de la EE2 es 2,46 veces más fuerte que la E2 (Pillon A., 2005).

Este estrógeno sintético es un ingrediente activo de los anticonceptivos orales y suplementos hormonales, además se utiliza generalmente en el tratamiento de los síntomas de la menopausia en reemplazo del E2. En la naturaleza, junto con otros estrógenos, el EE2 se excreta en la orina de las mujeres y animales hembras, llegando a las plantas de tratamiento de agua residuales, ríos y arroyos (Karnjanapiboonwong., 2010; Ternes et al., 1999a). Se ha encontrado que EE2 es capaz de inducir cambios relevantes en el sistema hormonal de

animales acuáticos a concentraciones de  $\text{ng L}^{-1}$  como, por ejemplo, alterando la determinación de sexo, retrasando la madurez sexual o disminuyendo la aparición de características sexuales secundarias (Aris, 2011). En la figura 1, se muestra la estructura química del EE2.



**Figura 1.** Estructura molecular del 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol (EE2).

Considerando que la partición de los estrógenos, tanto naturales como sintéticos, entre la fase sólida y acuosa es crítica para la predicción de su destino y transporte en los sistemas medioambientales, es probable que la adsorción sea un factor significativo en la reducción de su concentración en la fase acuosa, ya que los estrógenos son compuestos orgánicos hidrofóbicos de baja volatilidad. Por tal razón, el EE2 tiene una fuerte tendencia a ser adsorbido por los suelos y su movilidad en estos sería mínima (Karnjanapiboonwon et al., 2010). Otros estudios han demostrado que los estrógenos tienden a ser adsorbidos rápidamente en suelos o sedimentos, limitando potencialmente su movilidad y transporte desde los suelos a los ecosistemas acuáticos donde parecen causar más daño (Hildebrand et al., 2006). A continuación, en la tabla 1, se presentan algunas propiedades fisicoquímicas del EE2:

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas de la hormona estrogénica EE2

Propiedad	17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2)
Masa molecular <sup>b</sup> [g mol <sup>-1</sup> ]	296,4
pK <sub>a</sub> <sup>b</sup>	10,40
Log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>	3,67
Solubilidad en agua <sup>b</sup> [mg L <sup>-1</sup> ]	4,80
Presión de vapor <sup>a</sup> [mmHg]	4,5·10 <sup>-11</sup>
Constante de Henry <sup>a</sup> [atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> ]	7,9·10 <sup>-12</sup>

**a:** (Kuster M, 2004), **b:** (Adeel M, 2016)

En la figura 2, se esquematiza la dinámica degradativa de la hormona EE2. En varios estudios, se ha mostrado una gran y rápida sorción de estrógenos en suelos tal como una rápida degradación del estradiol (E2) a estrona (E1) y de la estrona (E1) a estriol (E3). La degradación de E2 por oxidación es de gran importancia ambiental, ya que la E1 es dos a tres veces menos potente que la E2 como disruptor endocrino. La persistencia de E1 podría ser incrementada por su lenta degradación a bajas temperaturas o por los bajos niveles de oxígeno que acompañan la aplicación de enmiendas (Prater J., 2015). Las tasas de degradación de los isómeros 17 $\alpha$  y 17 $\beta$ -estradiol en suelos aeróbicos son las mismas y el metabolito de producto principal de ambos isómeros es la E1, siendo el principal mecanismo la oxidación de la E2 (Mashtare M., 2013). Por otra parte, la reducción de E1 a E2 se puede producir sin la presencia de oxígeno. Por lo tanto, puede ocurrir un ciclo completo de degradación de E1 a E2 y viceversa. La degradación de E2 a E1 puede ocurrir en horizontes superficiales del suelo, y la situación contraria podría ocurrir en horizontes más profundos y acuíferos donde se esperan condiciones reductoras (Jürgens M., 2004), donde la materia orgánica es un buen reductor, ya que se oxida, libera energía para microorganismos y se origina CO<sub>2</sub>, también procesos como la desnitrificación, desulfuración y la formación de Fe<sup>+2</sup> y Mn<sup>+2</sup> ocurrirían en condiciones reductoras. Al aumentar las condiciones anaeróbicas la reducción en el suelo sigue la siguiente secuencia: O<sub>2</sub> – NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – Mn<sup>+4</sup> – Fe<sup>+3</sup> – SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> – CO<sub>2</sub>,



#### 1.4. Parámetros de calidad de los suelos agrícolas

Para realizar una evaluación de la calidad agrícola de un suelo se debe realizar un análisis físico y químico de éste, el cual se podrá emplear como enmienda orgánica dependiendo del tipo de degradación que tenga y del tipo de agricultura que se desee desarrollar en él. Dentro de estos parámetros se encuentra el pH, fundamental para determinar el grado de acidez o alcalinidad del suelo, el cual se aprecia en la tabla 2.

**Tabla 2.** Criterios de evaluación de un suelo con respecto a su pH (NOM-021-RECNAT-2000)

Categoría	Valor de pH
Fuertemente ácido	<5,0
Moderadamente ácido	5,1 – 6,5
Neutro	6,6 – 7,3
Medianamente alcalino	7,4 – 8,5
Fuertemente alcalino	>8,5

Otro punto importante es la materia orgánica, debido a que es la fuente de energía en el suelo para plantas. Dentro de la determinación analítica de la materia orgánica, se consideran los residuos vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células de organismos que viven en el suelo, incluso compuestos orgánicos tóxicos de origen antropogénico. En la tabla 3, se muestra la clasificación por categorías de los porcentajes de materia orgánica presente en suelos no volcánicos.

**Tabla 3.** Clasificación de suelos en base a su contenido de materia orgánica (MO%) en suelos no volcánicos (NOM-021-RECNAT-2000)

Categoría	Materia orgánica (%)
Muy bajo	<0,5
Bajo	0,6 – 1,5
Medio	1,6 – 3,5
Alto	3,6 – 6,0
Muy alto	>6,0

De la misma forma que el carbono, el nitrógeno es una de las biomoléculas fundamentales en la dinámica del suelo. Su contenido varía de acuerdo a las características biogeoquímicas del suelo. En los microorganismos, la carencia de nitrógeno afecta su crecimiento, por lo que la población microbiana no tendrá un desarrollo óptimo. En contraste, demasiado nitrógeno permite el crecimiento microbiano rápido y acelera la descomposición. En ese sentido, la presencia de nitrógeno es determinante en la fertilidad del suelo y la mejora su estructura (Moreno, 1978). A continuación, en la tabla 4, se presenta la clasificación de los suelos dependiendo de su contenido de nitrógeno total.

**Tabla 4.** Criterios para clasificar un suelo con base en su contenido de nitrógeno total (NOM-021-RECNAT-2000)

Categoría	Nitrógeno en el suelo (%)
Extremadamente pobre	< 0,032
Pobre	0,032 – 0,063
Medianamente pobre	0,064 – 0,095
Medio	0,096 – 0,126
Medianamente rico	0,127 – 0,158
Rico	0,159 – 0,221
Extremadamente rico	> 0,221

Por otro lado, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se refiere a la capacidad del suelo para retener o intercambiar cationes, siendo influenciada por el contenido de

materia orgánica y textura del suelo. Por esta razón su valor es una referencia directa con la fertilidad propia del suelo, de acuerdo a su valor analítico se puede estimar si posee una muy alta o muy baja fertilidad. En la tabla 5, se muestra la clasificación de la fertilidad de los suelos, de acuerdo a la capacidad de intercambio catiónico.

**Tabla 5.** Clasificación de la fertilidad de suelos de acuerdo a la CIC (NOM-021-RECNAT-2000)

Fertilidad	CIC [cmol kg <sup>-1</sup> ]
Muy alta	>40
Alta	25 – 40
Media	16 - 24
Baja	5 - 15
Muy baja	<5

Existen otros parámetros como la textura del suelo, que permite determinar el tamaño de partículas a través del porcentaje de arena, limo y arcilla, información útil para relacionar la interacción que tendrán con los contaminantes orgánicos. Por otro lado, el contenido de metales pesados entrega información indispensable para poder decidir la factibilidad de las enmiendas con biosólido proveniente de plantas de tratamiento de aguas residuales.

### 1.5. Legislación actual para la aplicación de biosólido en suelo de uso agrícola

En nuestro país, de acuerdo al marco regulatorio indicado en el Decreto N°4 del Ministerio del Interior, publicado el año 2009 sobre el manejo de residuos, se detalla el reglamento para el manejo de lodos en las plantas de tratamientos de aguas servidas. Si bien la ley señala las características físico-químicas que deben poseer los lodos estabilizados para ser aplicados a suelos agrícolas, como pH y concentración máxima de metales pesados, no regula otro tipo de agentes dañinos para la salud como los disruptores endocrinos abordados en este estudio. Este decreto regula la tasa de incorporación de biosólidos a suelos degradados en 90 Ton ha<sup>-1</sup> por año para suelos que cumplan con los requisitos establecidos de concentraciones máximas de metales pesados, que aparecen en la tabla 6.

**Tabla 6.** Concentración máxima de metales pesados que debe poseer el suelo receptor de biosólido de acuerdo a la legislación actual

Metales	Concentración máxima en mg kg <sup>-1</sup> suelo (en base materia seca)		
	Macrozona norte		Macrozona sur
	pH > 6,5	pH ≤ 6,5	pH > 5
Arsénico	20	12,5	20
Cadmio	2	1,25	2
Cobre	150	100	75
Mercurio	1,5	1	1
Níquel	112	50	30
Plomo	75	50	50
Selenio	4	3	4
Zinc	175	120	175

De acuerdo al artículo N°23 (D.S N°004/2009), aquellos suelos que posean una mayor concentración de metales pesados que los indicados en la tabla anterior, y sin haber sido receptores de lodo anteriormente, se permitirá sólo una aplicación de una tasa máxima de 30 Ton ha<sup>-1</sup>.

## 1.6. Validación del método analítico

Como definición, la validación de un método analítico se refiere al establecimiento de una base de datos experimentales, los cuales certifican la calidad de un método analítico teniendo en cuenta el objetivo al que se está enfocando. Por lo tanto, es de suma importancia definir los objetivos iniciales y de esta forma optimizar los ensayos.

### 1.6.1. Exactitud

Este término se define como la cercanía de un resultado a un valor verdadero. Aquí se evalúan los resultados experimentales en una validación comparativa con un resultado obtenido en un análisis de un material referencial, expresados a través de un porcentaje de recuperación. Esto se expresa en la ecuación 1:

$$R (\%) = [C_{\text{Real}} / T_{\text{eórica}}] \times 100 \quad [\text{Ecuación 1}]$$

### 1.6.2. Linealidad

Corresponde a la proporcionalidad entre la concentración del analito y la respuesta del método dentro de un intervalo de concentraciones de un analito, en donde el método analítico es fiable. Para el diagnóstico de la linealidad se realiza una curva de calibración con alícuotas provenientes de soluciones estándares.

### 1.6.3. Precisión

En general esta expresión se define en términos de repetitividad y reproducibilidad. La primera corresponde a la variabilidad esperada en un análisis realizado por el mismo analista utilizando el mismo equipo. La segunda se refiere a la variabilidad de un análisis realizado por diferentes analistas en distintos laboratorios.

La repetitividad depende de la concentración del analito, por lo que las mediciones se deben realizar a diferentes concentraciones. Se evalúa en términos del coeficiente de variación, el cual se determina con la ecuación 2:

$$CV(\%) = \frac{\sigma}{x} \times 100 \quad \text{[Ecuación 2]}$$

En la cual:

$\sigma$  = Desviación estándar.

$x$  = Promedio de las concentraciones encontradas.

### 1.6.4. Límite de detección (LD)

Este factor indica la mínima concentración del analito que se puede detectar confiablemente. Este valor se puede determinar de manera experimental, de acuerdo a la ecuación 3 (Requerimientos sobre validación de métodos en el marco de la acreditación de laboratorios según la norma ISO 17025, INTI):

$$LD = 3S_{std} \quad \text{[Ecuación 3]}$$

Donde:

$S_{std}$  = Desviación estándar de las concentraciones del estándar medido. Corresponde a un blanco.

#### **1.6.5. Límite de cuantificación (LC)**

Esta expresión corresponde a la concentración de analito que se puede determinar con un nivel aceptable de precisión y exactitud. Se determina con la ecuación 4:

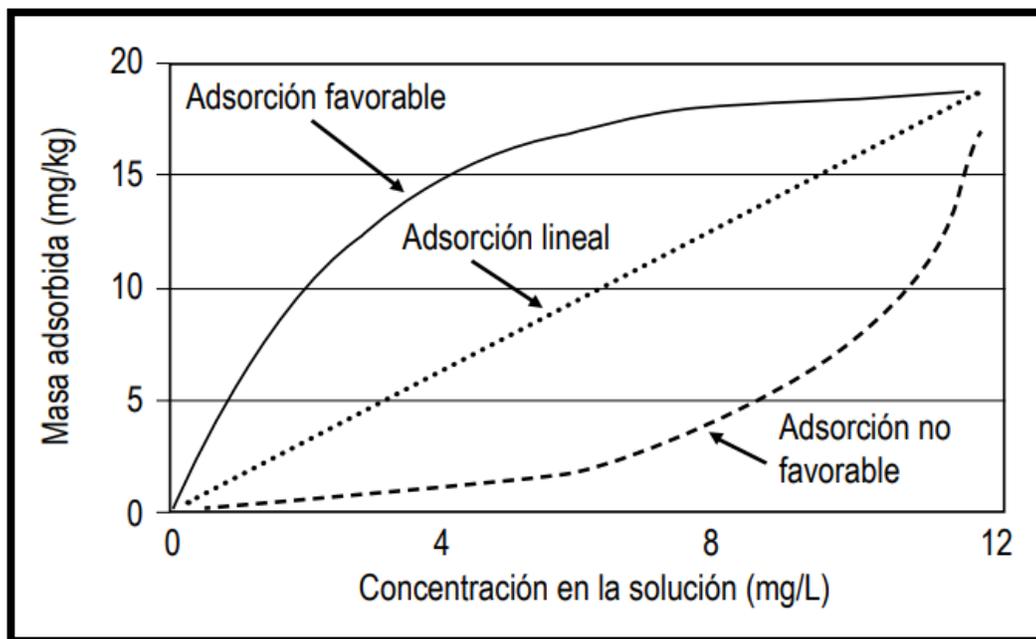
$$LC = 10S_{std} \quad \text{[Ecuación 4]}$$

Los parámetros utilizados en esta ecuación son los mismos mencionados en la ecuación anterior (ec. 3).

### **1.7. Isotermas de adsorción en un sistema sólido-líquido**

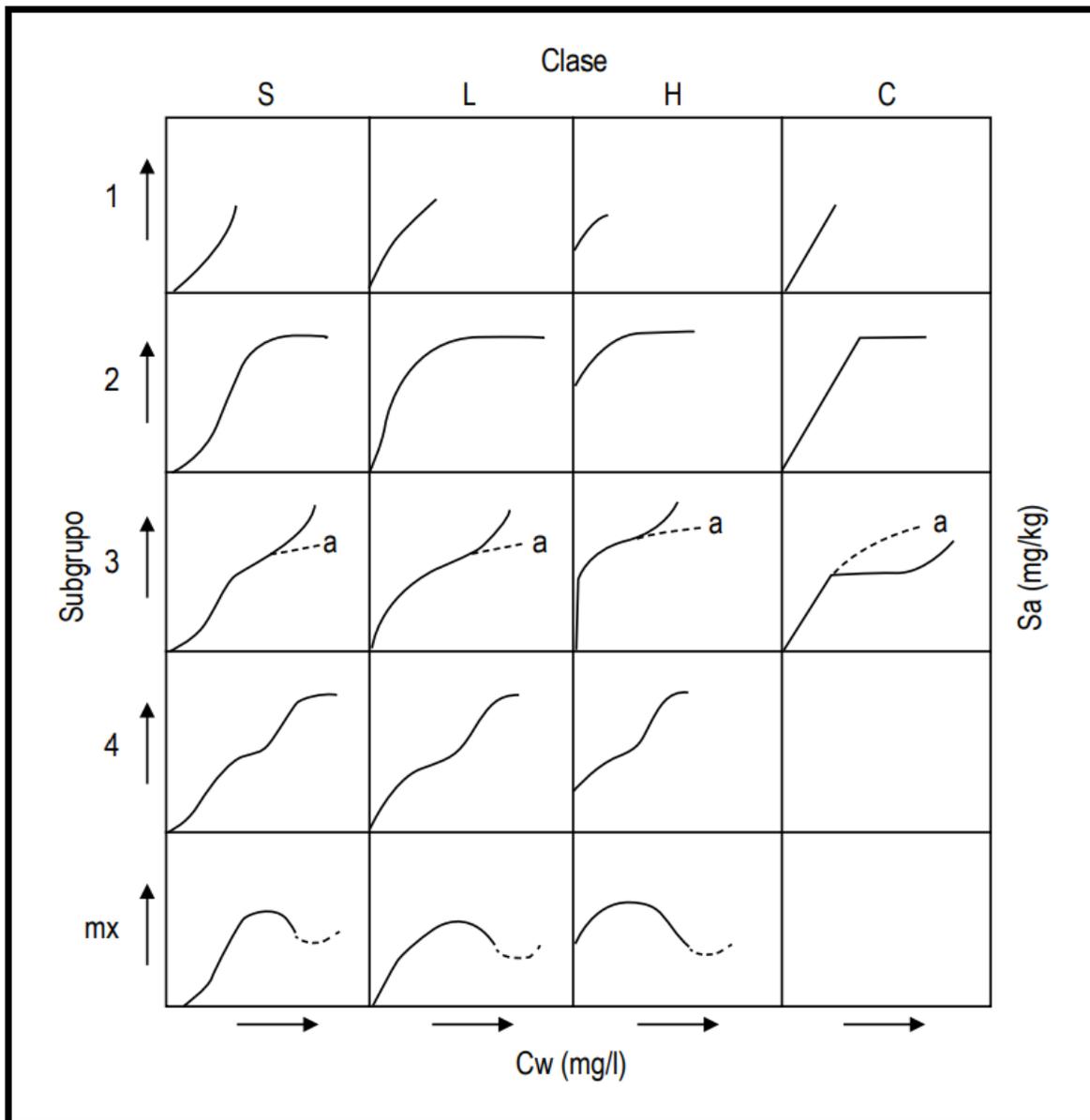
Asociando la forma de recubrimiento y la formación de capas sobre la fase sólida por parte de estos contaminantes orgánicos, encontramos distintas formas de isotermas de adsorción definidas por un comportamiento particular.

Las isotermas de adsorción describen la relación de actividad o equilibrio entre un soluto cualquiera en la solución y el adsorbente (matriz del medio poroso) bajo unas condiciones fisicoquímicas determinadas. De acuerdo con la forma de la curva de adsorción, se puede estimar el proceso de adsorción, lo cual se muestra en la figura 3.



**Figura 3.** Representación de los tipos generales de isoterma de adsorción de solutos en el medio poroso (modificado de Marzal, 1992).

El proceso de adsorción de los solutos orgánicos e inorgánicos se describe mediante 4 tipos o clases fundamentales de isoterma: S, L, H y C (Giles et al., 1960; Sposito, 1984, 1994; Sparks, 1995; Jenne, 1998) y diferentes subgrupos. Esta clasificación de las isoterma de adsorción en 4 grupos fundamentales se basa en la forma inicial de la pendiente de las mismas, mientras que los distintos subgrupos se basan en las posibles formas de la parte superior de la curva (meseta) que describe la isoterma de cada soluto. En la figura 4, se recogen las principales formas de las isoterma que se han reportado en la literatura científica consultada. En este caso nos centraremos en las que son más comunes en la dinámica de adsorción del EE2.



**Figura 4.** Clasificación de las isotermas y representación de los diferentes subgrupos de isoterma de adsorción (adaptado de Giles et al., 1960).

Las isotermas de tipo C: son las isotermas lineales, donde se mantienen en equilibrio la masa del soluto en la solución acuosa y la masa de soluto adsorbida en la matriz sólida, sin que se pueda especificar los mecanismos de adsorción entre el soluto y el adsorbente (Sparks, 1995). La existencia de una isoterma lineal es indicativa de que los sitios de adsorción permanecen constantes, o sea que a medida que se adsorbe el soluto más sitios de adsorción se van creando. Esta isoterma es también indicativo de que el soluto puede entrar a regiones

inaccesibles para el solvente. Giles et al., (1960), plantea que el soluto entra más fácil a la matriz sólida que el solvente. Según este autor normalmente este tipo de isoterma se mantiene constante hasta un determinado valor de concentración en que la curva cambia bruscamente de pendiente y adquiere en su parte superior una meseta completamente horizontal (figura 4). Existen determinadas condiciones en el medio poroso que favorecen la existencia de isotermas de tipo C:

a) Existencia de moléculas muy flexibles en el medio poroso debido a diferentes grados de cristalización de los minerales que lo forman (presencia de minerales amorfos, materia orgánica, etc.).

b) Mayor afinidad del soluto con el sustrato que con el solvente.

c) Gran poder de penetración del soluto en la matriz debido a sus características fisicoquímicas.

d) La existencia de determinadas condiciones en la estructura cristalina de los sólidos que permitan su adsorción.

Isoterma tipo L: los medios con este tipo de isotermas son indicativos de una gran afinidad entre el soluto y el adsorbente para bajas concentraciones, lo cual va decreciendo en la medida que aumenta la concentración. Estas isotermas se caracterizan por una disminución de la pendiente en la medida que se incrementa la concentración del soluto en la solución, debido a una disminución de los sitios de adsorción y termina convirtiéndose en una meseta plana al adsorbente ser cubierto completamente por el soluto. El valor de la masa adsorbida para esta meseta se le considera como la máxima capacidad de adsorción del medio poroso que adsorber este soluto. En este caso se obtiene que  $C_w/C_o = 1$  ( $C_w$  es la concentración en el agua al final del proceso de adsorción y  $C_o$  es la concentración inicial en la solución), o sea saturación de los sitios de adsorción (figura 4). Estas isotermas en compuestos orgánicos se ha comprobado que las moléculas se disponen de forma plana en la superficie de las partículas sólidas y que ocasionalmente pueden estar en formas verticales (Giles et al., 1960).

Isoterma tipo H: es un caso particular de la isoterma tipo L. Este tipo de isoterma es indicativo de una alta afinidad entre el soluto y el adsorbente. Para bajas concentraciones la masa de soluto en la solución es completa e instantáneamente adsorbida. La parte inicial de

la curva que describe esta isoterma es inicialmente vertical pues el soluto de la solución es completamente adsorbido (Giles et al., 1960). En este caso, la masa de soluto adsorbida por la matriz sólida es muy grande, normalmente se necesita una gran concentración de soluto en la solución que está en contacto con el medio poroso para poder saturar los sitios de adsorción. En algunos casos puede tener lugar la formación de complejos y precipitación del soluto en forma de otros minerales (Sparks, 1995) (figura 4).

Isoterma tipo S: este tipo de isothermas es indicativo de que a bajas concentraciones del soluto en la solución acuosa existe poca afinidad entre el soluto y el adsorbente. Esta afinidad se incrementa en la medida que aumenta la concentración de soluto en la solución, hasta un cierto valor de concentración donde se produce una saturación de los sitios de adsorción (figura 4). Este tipo de isoterma es característico para determinadas condiciones:

- a) Cuando las moléculas del soluto son monofuncionales.
- b) La existencia de una atracción intermolecular moderada, lo que causa la formación de paquetes en forma regular en la superficie del sólido que realiza la adsorción.
- c) Encontrarse una situación de fuerte competencia por los sitios de adsorción entre las moléculas del soluto y las del solvente u de otra especie. Este tipo de curva es característico de compuestos orgánicos (Rodríguez, 2009).

## **1.8. Modelación de las isothermas de adsorción**

Los detalles del equilibrio y del proceso de adsorción, son generalmente conocidos como isothermas de adsorción. Estos factores describen el comportamiento de la interacción entre adsorbato-adsorbente y proveen información sobre la capacidad del adsorbente estudiado.

Para este fin, el modelo de Freundlich es una ecuación empírica que no asume homogeneidad en la energía de los sitios en la superficie y sin límite en la carga máxima de adsorción, y muestra una consistencia de una distribución exponencial de centros activos característicos de una superficie heterogénea, representada en la ecuación 5.

$$C_s = K_f C_e^{1/n} \quad \text{[Ecuación 5]}$$

Al linealizar la ecuación se obtiene:

$$\text{Log}(C_s) = \text{Log}(K_f) + 1/n \text{Log}(C_e) \quad \text{[Ecuación 6]}$$

Los parámetros  $K_f$  ( $\text{mgL mgkg}^{-1}$ )<sup>-1/n</sup> y  $n$  caracterizan la capacidad y la intensidad de adsorción, respectivamente; hipotéticamente  $K_f$  alcanza el valor de  $C_s$  cuando la  $C_e$  se aproxima a la unidad y así puede ser considerado como un indicador de la intensidad de adsorción.

### 1.9. Parámetros de adsorción

La cantidad adsorbida de una determinada especie depende no sólo de la composición del suelo sino también de la especie química de la que se trata y de su concentración en la solución.

Un parámetro importante en los estudios de adsorción es el coeficiente de distribución o de reparto “ $K_d$ ”. Esto se debe a que da cuenta de la relación y afinidad entre el adsorbato y el adsorbente. Aquello se evidencia comparando la concentración de un compuesto químico absorbido en  $\text{mg kg}^{-1}$  y a la concentración que queda disuelta en solución en  $\text{mg L}^{-1}$ .

$$K_d = \frac{C_s}{C_e} \quad \text{[Ecuación 7]}$$

Estos contaminantes son fácilmente adsorbidos en la materia orgánica de los sedimentos. El coeficiente de distribución de estos compuestos químicos está relacionado con el coeficiente de distribución entre el carbono orgánico y el agua, definido como “ $K_{oc}$ ”. El coeficiente de distribución real para el suelo se obtiene con la siguiente expresión:

$$K_{oc} = \frac{K_d}{foc} = \frac{K_d \times 100}{CO\%} \quad \text{[Ecuación 8]}$$

Donde:

CO%, es el porcentaje de carbono orgánico.

foc, es la fracción de carbono orgánico presente.

Por estos motivos, se estudiará la capacidad de adsorción y desorción del 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol en suelos seleccionados a través del método de porciones en batch. Adicionalmente, se realizará un estudio de la degradación de esta hormona esteroidal por medio de un método a humedad de campo y temperatura de incubación constante con variación del tiempo de incubación, como un factor preponderante. Esto nos ayudará a comprender el comportamiento de este compuesto químico en suelos de la región Metropolitana, lo que puede servir como complemento a la regulación de su uso como abono a nivel agrícola.

## **II. HIPOTESIS**

Se plantea como hipótesis, que la adsorción de 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol en el suelo aumentará con la aplicación de biosólido y por lo tanto influiría en su degradación.

## **III. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo General**

Estudiar la adsorción, desorción y degradación de 17- $\alpha$ -Ethinilestradiol, en suelos tratados con y sin biosólidos.

### **3.2. Objetivos Específicos**

1. Caracterizar física y químicamente las muestras de suelo y el biosólido
2. Evaluar la capacidad de adsorción y desorción del 17- $\alpha$ -Ethinilestradiol en suelos, a través de la determinación de las concentraciones en equilibrio en la matriz suelo/solución.
3. Cuantificar la concentración de EE2 en equilibrio, mediante cromatografía Líquida de alto rendimiento acoplada a un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD).
4. Determinar las variables analíticas del método de HPLC-DAD.
5. Ajustar los estudios de adsorción en los suelos con el modelo de Freundlich.
6. Evaluar el comportamiento de degradación del 17- $\alpha$ -Ethinilestradiol en función de la dependencia del tiempo y composición suelo/biosólido.
7. Analizar e interpretar los resultados obtenidos.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Reactivos

- Acetona grado HPLC, Merck (Darmstadt, Germany).
- Acetona para análisis, Merck (Darmstadt, Germany).
- Acetato de Amonio, Merck (Darmstadt, Germany).
- Acetato de Sodio, Merck (Darmstadt, Germany).
- Ácido Bórico, Merck (Darmstadt, Germany).
- Ácido Clorhídrico (37%), Merck (Darmstadt, Germany).
- Ácido Nítrico (65%), Merck (Darmstadt, Germany).
- Ácido Sulfúrico (97%), Merck (Darmstadt, Germany).
- Agua ultrapura (grado Milli-Q).
- Cloruro de Calcio dihidratado para análisis, Merck (Darmstadt, Germany).
- Cloruro de Sodio para análisis, Merck (Darmstadt, Germany).
- Cloruro de Potasio para análisis, Merck (Darmstadt, Germany).
- Dicromato de sodio, Merck (Darmstadt, Germany).
- Etanol para análisis, Merck (Darmstadt, Germany).
- Hexametafosfato de sodio, Sigma Aldrich (Milwaukee, Wi, USA).
- Hidróxido de sodio, Merck (Darmstadt, Germany).
- Metanol grado HPLC, Merck (Darmstadt, Germany).
- Metanol para análisis, Merck (Darmstadt, Germany).
- Nitrógeno extrapuro  $\geq 99,995\%$ , Linde (Santiago, Chile).
- Sacarosa, Merck (Darmstadt, Germany).

#### 4.2. Estándares

- $17\alpha$ -etinilestradiol  $\geq 98\%$  de pureza, Sigma Aldrich (Milwaukee, WI, USA).

#### 4.3. Materiales

- Filtros Millipore millex - GN de 0,20  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, con membrana de Nylon.
- Filtros Millipore millex - GV de 0,22 y 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, con membrana de PVDF.
- Filtros millipore S-Pak, de diámetro de poro 0,22  $\mu\text{m}$ , diámetro superficial de 47 mm, color blanco y superficie cuadrículada.
- Jeringas de inyección de vidrio Hamilton de 10 y 50  $\mu\text{L}$ .
- Jeringas plásticas desechables de 10 mL con aguja, Nipro Syringe.
- Matraces de aforo de 1, 2, 5, 10, 50, 100, 200, 250 y 1000 mL.
- Matraces Erlenmeyer de 250 y 500 mL.
- Micropipetas de 10 - 100; 20 - 100; 100 - 1000 y 1000 - 5000  $\mu\text{L}$ .
- Morteros de porcelana.
- Papel filtro N°2.
- Pipetas aforadas clase A de 2, 5, 10 y 15 mL.
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL.
- Pipetas Pasteur Hirshman.
- Probetas de vidrio de 50, 500, 1000 y 2000 mL.
- Propipetas.
- Tamiz metálico de 2 mm.
- Tubos de centrifuga de polipropileno de 50 mL con tapa rosca.
- Tubos de vidrio de fondo redondo de 50 mL.

- Vasos de precipitado de plástico de 250 mL.
- Vasos de precipitado de vidrio de 50, 100, 200, 250, 500 y 1000 mL.
- Viales ámbar con tapa rosca de 12, 30 y 50 mL.
- Viales ámbar con tapa rosca y septa de 2 mL.

#### **4.4. Instrumentos y equipos**

- Agitador Mecánico Heidolph promax 2022.
- Agitador Orbital New Brunswick Scientific classic C-24.
- Balanza analítica Precisa 125A, Swiss Quality.
- Balanza digital Adam AQT-2600.
- Balanza granataria PJ precisa junior 5000.
- Baño de ultrasonido Power Sonic 410.
- Centrifuga Verifuge 3.0 Heraeus Sepatech.
- Espectrofotómetro UV-Visible, Unicam UV/Vis spectrometer.
- Espectrómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer 1100B.
- Estufa WTC Binder.
- Evaporador con baño térmico “Turbo Vap® lv”, Biotage.
- Hidrómetro ASTM 152 H.
- Horno microondas Milestone mls 1200 Mega.
- Incubadora VWR.
- Manifold Supelco modelo Visiprep 24 DL.
- pH metro WTW pmx 3000.
- Vórtex Sci Logex MX-S.

- Sistema de purificación de agua Simplicity®, Merck Millipore.
- Termómetro Brand.

#### **4.5. Análisis de EE2 y equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

Considerando el contaminante orgánico, la matriz y las condiciones del estudio se estableció que se necesitaba una técnica de calidad analítica, que sea sensible, selectiva, que detecte y cuantifique confiablemente las concentraciones de este analito, evitando un tratamiento amplio de las muestras.

Por esto, para la determinación de EE2 se utilizó un cromatógrafo HPLC Waters con bomba binaria Waters 1525 y un detector de arreglo de diodos Waters modelo 2998. Además, el sistema incluía un desgasificador en línea AF. Junto con lo anterior se empleó una columna cromatográfica Waters modelo Atlantis con una fase estacionaria en base a C18, con un diámetro de poro de 5  $\mu\text{m}$  y 4,6 x 250 mm de diámetro y largo de la columna, respectivamente. Para la adquisición de los datos se utilizó el software Empower Pro.

#### **4.6. Selección y preparación de muestras**

##### **4.6.1. Suelos y biosólido.**

El biosólido empleado en este estudio proviene del Centro de Gestión Integral de Biosólido “El Rotal”, ubicado en la comuna de Tíl-Tíl, en la Región Metropolitana. Se obtuvieron alrededor de 3 Kg de muestra con poca humedad. Se liofilizaron 20 g de biosólido, los cuales fueron molidos y guardados a  $-4^{\circ}\text{C}$ .

Los suelos corresponden a tres zonas ubicadas en la parte sureste de la Región Metropolitana (Figura 5). Los tres suelos fueron elegidos debido a que son candidatos a ser enmendados con biosólido. Los suelos fueron muestreados en el mes de mayo, época de mediados de otoño y son del orden Mollisol (Tabla 7). Se tamizaron a un tamaño de partícula  $< 2\text{mm}$  y se conservaron en recipientes plásticos a temperatura ambiente.

**Tabla 7.** Ubicación y clasificación de los suelos muestreados en la Región Metropolitana

Ubicación	Serie	Orden
Codigua (C)	Codigua (CDG)	Mollisol
Ostolazas (O)	Pudahuel (PUD)	Mollisol
Pomaire (P)	San Diego (SDG)	Mollisol



**Figura 5.** Mapa con las zonas de muestreo de suelos agrícolas, donde C, O y P representan a Codigua, Ostolazas y Pomaire, respectivamente.

#### 4.6.2. Preparación de las soluciones stock de $17\alpha$ -etinilestradiol

Para los estudios de tiempos de equilibrio y adsorción-desorción, se prepararon soluciones stock de estándares de EE2 en concentraciones de 200 y 4000 mg L<sup>-1</sup>. En ambos casos se prepararon en metanol como medio de solución. A partir de estas se prepararon las soluciones diluidas de acuerdo al objetivo de cada experiencia y la curva de calibrado. Por otro lado, para el estudio de degradación, se preparó una solución stock estándar de EE2 en una concentración de 500 mg L<sup>-1</sup>. En este caso se preparó en acetona como medio de solución.

## 4.7. Caracterización fisicoquímica de suelos y biosólido

### 4.7.1. Determinación del pH

La medición del pH se realizó por potenciometría con un electrodo combinado de vidrio-calomelano. Se procedió pesando 10 g de muestra en un vaso precipitado de 100 mL y se le incorporó 25 mL de agua ultra pura, se agitó a 400 rpm, en agitador orbital durante 5 min. Posteriormente, se dejó reposar la muestra durante 2 horas, procediendo a leer el pH en el sobrenadante después de 1 minuto de estabilizada la lectura (Sadzawka, 2006).

### 4.7.2. Determinación de la conductividad

La medición se realizó en un conductivímetro. Para esto la muestra de suelo se mezcló con agua en una razón 1:5 en un frasco plástico. Luego, se agitó durante 30 minutos en un agitador recíproco y se filtró con papel filtro N°2, el filtrado se recolectó en un vaso plástico y se determinó la conductividad, esta medición se corrigió a 25°C (Sadzawka, 2006).

Previo a la medición de las muestras fue necesario calcular la constante de celda del conductivímetro (K), la cual es necesaria para corregir las mediciones hechas, esta no debía diferir en más de un 5% del valor dado por el fabricante, para así poder obtener resultados consistentes. Para esto, fue necesario hacer tres soluciones de KCl en concentraciones de 0,1-0,02 y 0,01 M y medir su conductividad. Para obtener el valor de K se utilizó la ecuación 9:

$$K = CE_e/CE_m \quad \text{[Ecuación 9]}$$

Donde:

K = Constante de celda.

CE<sub>e</sub> = CE específica de una de las soluciones de KCL en dS m<sup>-1</sup>.

CE<sub>m</sub> = CE medida de la misma solución de KCl en dS m<sup>-1</sup>.

### 4.7.3. Determinación del contenido de carbono orgánico (CO) y materia orgánica (MO)

Para la determinación de carbono orgánico se procedió pesando 1,5 g de cada suelo y 0,2 g de biosólido (en triplicado), y llevándolo a matraces Erlenmeyer. Se incluyeron muestras control y seis matraces con 1 mL de una serie de estándares de sacarosa (0 a 50 mg de sacarosa por mL). A cada matraz se agregó 10 mL de solución de dicromato de sodio ( $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) 0,5 M y 20 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado. Luego se dejó reposar sobre una plancha aislante bajo campana durante 30 minutos. Terminado el tiempo de reposo, se agregó 70 mL de agua Milli-Q y se dejó reposar durante la noche. Una alícuota del sobrenadante de cada matraz fue vertida a una cubeta y se midió el dicromato reducido en el espectrofotómetro UV-Vis a 600 nm (Sadzawka, 2006).

La lectura obtenida fue utilizada para obtener el %CO en función de la siguiente fórmula:

$$\%CO = ((a-b) \times 1,16) / (S \times 10) \times fh \quad \text{[Ecuación 10]}$$

Donde:

%CO = Porcentaje de carbono orgánico.

a = mg de CO en la muestra.

b = mg de CO en el blanco.

s = masa de suelo (g).

fh = Factor de humedad.

La materia orgánica se calculó para los suelos, según la siguiente fórmula:

$$\text{Materia orgánica (\%)} = 1,74 \times \%CO \quad \text{[Ecuación 11]}$$

#### 4.7.4. Determinación de la textura de los suelos

La determinación de textura de los suelos, se realizó a través del método del hidrómetro (Bouyoucos) que consistió en pesar 50 gramos de cada suelo en un frasco plástico de 1 L, luego se agregó 700 mL de agua destilada y 20 mL de solución de hexametáfosfato de sodio (o Polifosfato de sodio) al 10%. Se dejó agitando la solución por 15 minutos en el agitador mecánico, luego se trasvasió a una probeta de 1 L y se enrasó con agua destilada. Se tapó la probeta con parafilm y se agitó manualmente por un minuto. Se dejó en reposo por 4 minutos y se midió la temperatura y la lectura del hidrómetro. Se volvió a medir la temperatura y la lectura del hidrómetro luego de dos horas. Finalmente, se tomó como herramienta un triángulo textural para expresar estas lecturas en porcentajes de arena, arcilla y limo presentes en cada suelo (Sadzawka, 2007).

Para conocer la textura de los suelos Ostolazas, Codigua y Pomaire, fue necesario obtener la lectura corregida ( $H_c$ ), a través de la siguiente expresión:

$$H_1C = H_1 + [(T_1^{\circ}F - 67^{\circ}F) \times 0,2] \quad \text{[Ecuación 12]}$$

Donde:

$H_1c$  = Corresponde a la lectura corregida del hidrómetro a los 4 minutos.

$H_1$  = Corresponde a la lectura del hidrómetro a los 4 minutos.

$T_1$  = Corresponde a la temperatura en  $^{\circ}F$  registrada a los 4 minutos.

$$H_2C = H_2 + [(T_2^{\circ}F - 67^{\circ}F) \times 0,2] \quad \text{[Ecuación 13]}$$

Donde:

$H_2c$  = Corresponde a la lectura corregida del hidrómetro luego de dos horas.

$H_2$  = Corresponde a la lectura del hidrómetro luego de dos horas.

$T_2$  = Corresponde a la temperatura en  $^{\circ}F$  registrada luego de dos horas.

Para conocer los porcentajes de Arena, Arcilla y Limo, se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\%Arena = 100 - (H_1c \times 2) \quad \text{[Ecuación 14]}$$

$$\%Arcilla = H_2c \times 2 \quad \text{[Ecuación 15]}$$

$$\%Limo = 100 - (\%Arcilla + \%Arena) \quad \text{[Ecuación 16]}$$

Luego, empleando los porcentajes calculados fue posible encontrar la textura de cada suelo en el triángulo de texturas (Figura 6).

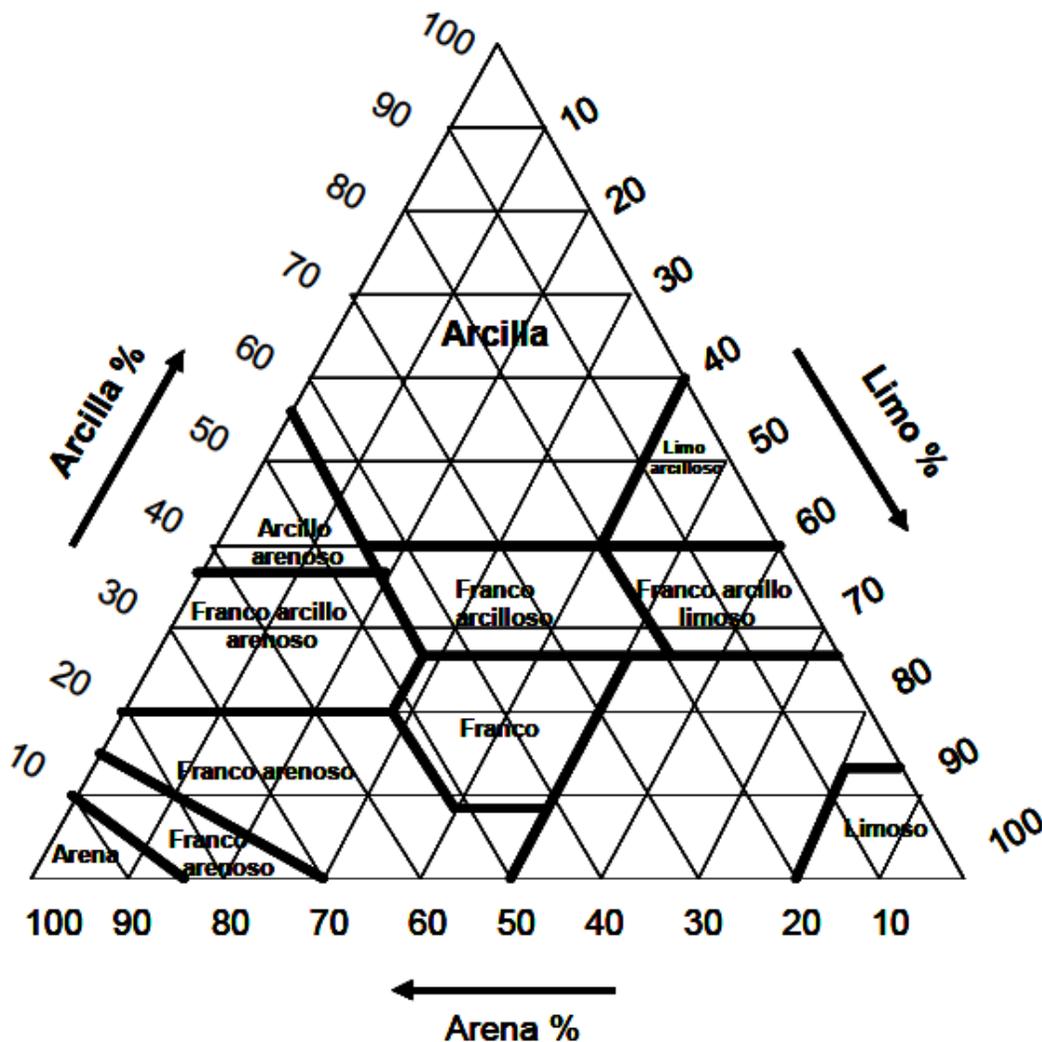


Figura 6. Diagrama de texturas para clasificación de suelos.

#### 4.7.5. Determinación de capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La determinación de la CIC se llevó a cabo mediante una saturación del suelo con una solución de acetato de sodio 1 M. En un tubo de centrífuga se agregó 4 g de suelo junto con 33 mL de una solución de acetato de sodio 1 M a pH 8,2. Se agitó el tubo durante 5 minutos en un agitador mecánico recíproco. Se centrifugó 15 minutos y se descartó el sobrenadante. Se trató la muestra con otras tres porciones más de 33 mL de acetato de sodio 1 M. A continuación, se agregó 33 mL de etanol repitiendo el procedimiento anterior. Por último, se agregaron 3 porciones de 33 mL de acetato de amonio 1 M y se colectó el sobrenadante en un matraz de aforo de 100 mL. El extracto se diluyó 50 veces al igual que los blancos. Se elaboró una curva de calibración desde 1 a 20 mg L<sup>-1</sup> de cloruro de sodio, a partir de un estándar de 1000 mg L<sup>-1</sup>. Se midió el sodio presente en el extracto por Espectroscopía de Emisión Atómica (EEA), a 589 nm (Sadzawka, 2006).

Para calcular la concentración de Na se utilizó la siguiente ecuación:

$$N(\text{cmolkg}) = (a - b) \times 0,435 \quad [\text{Ecuación 17}]$$

Donde:

a = mg L<sup>-1</sup> de Na en el filtrado de la muestra diluida.

b = mg L<sup>-1</sup> promedio de Na en los blancos diluidos.

#### 4.7.6. Determinación de nitrógeno total

La determinación de nitrógeno total en los suelos y en el biosólido consistió en agregar en un tubo de digestión 1 g de muestra aproximadamente y 1 g de catalizador devarda. Posteriormente, se agregaron 8 mL de ácido sulfúrico concentrado. La muestra fue digerida durante 90 minutos a 420 °C, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego se realizó la etapa de destilación de la muestra con NaOH al 25% p/v. El destilado se arrastró con 25 mL de ácido bórico con los indicadores incorporados. La muestra fue titulada con ácido clorhídrico 0,1 M (Sadzawka, 2006).

La determinación de nitrógeno total se realizó aplicando la siguiente formula:

$$N_T(\%) = \frac{a-b}{s} \times M \times 1,4 \times fh \quad [\text{Ecuación 18}]$$

Donde:

a = Volumen (mL) de HCl gastados en la muestra.

b = Volumen (mL) de HCl gastados en el blanco.

M = Concentración (M) del HCl.

s = Masa (g) de la muestra secada al aire.

fh = Factor de corrección por humedad.

#### **4.7.7. Determinación de metales pesados**

Alrededor de 200 mg de muestra de suelo y de biosólido fue sometida a una pseudo-digestión con agua regia. Se incluyeron dos blancos y a cada muestra se agregaron 6 mL de una mezcla concentrada de HCl y HNO<sub>3</sub> 1:3 (v/v), utilizando un horno microondas, Milestone mls 1200 Mega. El programa de digestión se dividió en tres etapas: 5 min a 250 W, 5 min a 400 W y 10 min a 500 W, luego se sometió a un minuto de ventilación y 30 minutos de reposo en un baño de agua fría. Las muestras digeridas, se transfirieron a matraces de 10 mL, se aforaron con agua Milli-Q y se filtraron con papel filtro N°2. Para determinar la concentración de los metales: Cu, Zn, Pb, Ni, Cr y Cd se empleó espectroscopia de absorción atómica con llama (FAAS), se elaboró una curva de calibración entre 1 y 10 mg L<sup>-1</sup>, a partir de un estándar multielemento (Merck) de 1000 mg L<sup>-1</sup>. Los resultados fueron corregidos por el factor de humedad en la muestra (Contreras, 2009).

#### **4.7.8. Determinación del factor de humedad**

El procedimiento para medir la humedad fue tomar 100 g de muestra, de acuerdo al protocolo de la NCh 1515 Of 79, esa cantidad corresponde según la balanza analítica que se utiliza que es de precisión de 0,01 g. La muestra húmeda se pesó en un recipiente y luego se dejó por 24 horas en una estufa a 110° ± 5°C, transcurrido dicho tiempo se pesó el recipiente con la muestra seca. Para calcular la humedad se utilizó la ecuación 19:

$$Fh = ((Mh - Ms) \times 100) / (Ms - Mr) \quad \text{[Ecuación 19]}$$

Donde:

Fh = Factor de humedad.

Mh = Peso recipiente más lectura de suelo húmedo (g).

Ms = Peso recipiente más lectura de suelo seco (g).

Mr = Peso recipiente (g).

#### **4.7.9. Determinación de la densidad aparente**

Empleando una probeta de 50 mL se agregó suelo hasta llegar al nivel de 50 mL (aplicando dos golpes verticales antes de aforar a los 50 mL), posteriormente se pesó la cantidad de suelo agregado a la probeta. La determinación de la densidad aparente fue calculada con la siguiente formula:

$$d_{aparente} = \frac{\text{masa de suelo}}{\text{volumen}} \quad \text{[Ecuación 20]}$$

### **4.8. Estudio de adsorción y desorción del 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol en los suelos y mezclas suelo-biosólido**

#### **4.8.1. Determinación del tiempo de equilibrio**

Los estudios de adsorción fueron realizados mediante experimentos en batch. Se procedió a pesar 0,5 g de suelo en tubos de vidrio de fondo redondo, al cual se le agregaron 15 mL de solución de concentración 0,5; 2,0 y 5,0 mg L<sup>-1</sup> de EE2 diluida en CaCl<sub>2</sub> 0,01 M. Posteriormente, se agitaron durante 60 min en un agitador orbital, seguido de una centrifugación durante 15 min a 2000 rpm. Finalmente, se recolectaron los sobrenadantes para determinar en forma indirecta la concentración adsorbida del EE2. El procedimiento se repitió variando el tiempo de agitación a 4, 6, 8, 12 y 24 h.

#### **4.8.2. Estudio de adsorción de EE2**

Los estudios de adsorción fueron realizados mediante experimentos en batch. Para ello se prepararon soluciones de trabajo de EE2 en un rango de 0,5 a 8,0 mg L<sup>-1</sup> diluidas en CaCl<sub>2</sub> 0,01 M.

Luego se pesaron las muestras de suelo y mezclas suelo/biosólido y se colocaron en tubos de vidrio de fondo redondo de 50 mL y se agregaron las diferentes soluciones de EE2 en una relación muestra/solución de 1:30 (0,5 g de muestra y 15 mL de solución), por triplicado. También se incluyó una muestra control para asegurar que no exista adsorción de los compuestos en el tubo o pérdida por degradación. Las suspensiones se colocaron en un agitador orbital a 150 rpm durante 24 h y posteriormente fueron centrifugadas a 2000 rpm por 15 min. Finalmente, se separaron y filtraron los sobrenadantes con filtros Millipore 0,22 um con membrana de PDVF y se cuantificó el EE2 remanente mediante HPLC-DAD (Karnjanapiboonwong and Morse, 2010).

#### **4.8.3. Estudio de desorción de EE2**

Para determinar la desorción de la hormona esteroideal EE2 se utilizó algunos de los puntos del estudio de adsorción, correspondientes a las concentraciones de 0,5; 2,0 y 5,0 mg L<sup>-1</sup> de EE2, por triplicado. A cada tubo de vidrio se agregó 5 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,01M. Las suspensiones fueron equilibradas en un agitador orbital a 150 rpm por 24 h y luego se centrifugaron a 2000 rpm durante 15 min. Finalmente, se colectaron y filtraron los sobrenadantes con filtros Millipore 0,22 um con membrana de PDVF para determinar la concentración desorbida de EE2 mediante HPLC-DAD. (Karnjanapiboonwong and Morse, 2010).

#### **4.8.4. Determinación de las constantes K<sub>f</sub>, K<sub>d</sub> y K<sub>oc</sub> de EE2**

Los resultados del estudio de adsorción fueron interpretados a través del modelo matemático de Freundlich. De esa forma fueron obtenidas las isotermas de adsorción. Para determinar la constante de Freundlich se utilizó la siguiente ecuación:

$$S = K_f C^{1/n} \quad \text{[Ecuación 21]}$$

Donde  $S$  es la concentración del compuesto en el adsorbente (suelo) en  $\text{mg kg}^{-1}$ ,  $K_f$  es la constante de Freundlich,  $C$  es la concentración del compuesto en la solución de equilibrio en  $\text{mg L}^{-1}$  y  $1/n$  es una medida de la no linealidad. Cuando  $1/n = 1$ , la isoterma se convierte en una ecuación lineal.

$$S = K_d C \quad \text{[Ecuación 22]}$$

Donde,  $K_d$  es el coeficiente de partición ( $\text{mL mg}^{-1}$ ).

Para el cálculo del coeficiente de partición ( $K_d$ ), se aplicó el modelo lineal. Junto con esto, se obtuvo el coeficiente de adsorción de carbono orgánico  $K_{oc}$ , a partir del coeficiente de partición ( $K_d$ ) determinado experimentalmente y el contenido de carbono orgánico de los suelos (CO).

$$K_{oc} = \frac{K_d}{\% \text{ carbono orgánico}} \times 100 \quad \text{[Ecuación 23]}$$

#### **4.9. Estudio del tiempo de degradación de 17 $\alpha$ -Ethinilestradiol en suelos tratados con y sin biosólidos**

Para la determinación de la degradación del EE2 en el suelo, se cuantificó a diferentes tiempos la concentración de EE2 en las muestras de suelo y suelo/biosólido, incubados a una temperatura y humedad de campo constante.

El estudio de degradación se llevó a cabo en los suelos seleccionados, con y sin la adición de biosólido. Las muestras se incubaron a  $25^\circ\text{C}$  durante un periodo máximo de 20 días, en condiciones de humedad de campo. Se extrajeron periódicamente alícuotas de las muestras para ser analizadas.

#### **4.9.1. Incubación de las muestras de suelos con y sin biosólido**

Se pesaron 10 g de cada suelo y cada mezcla de suelo con biosólido con una dosis de 90 Mg ha<sup>-1</sup>, todo por duplicado. Las muestras se colocaron en tubos de vidrio de fondo redondo, se les adicionó 10 mL de una solución de EE2 de 10 mg L<sup>-1</sup> en acetona HPLC y se agitaron durante 15 hrs a 180 rpm. Transcurrido este tiempo, se evaporó el exceso de acetona, se homogenizó y se dispuso la mezcla en un vaso de precipitado de 50 mL previamente pesado. Posteriormente, se incubaron las muestras a 25°C, manteniendo condiciones de humedad de campo y se fueron extrayendo porciones de muestras por duplicado (equivalente a 0,5 g cada una), a tiempo 0, 3, 6, 12, 24, 48 120, 240, 360 y 480 hrs

#### **4.9.2 Extracción de las muestras de suelos con y sin biosólido**

Para la determinación de la concentración de EE2, se realizó una extracción de los 0,5 g de cada muestra con 2 mL de acetona HPLC en tubos de centrifuga, se sónico por 15 min, se centrifugó a 3500 rpm durante 10 min, se separaron los sobrenadantes en viales ámbar y se repitió la extracción con acetona en las mismas condiciones. Luego se juntaron los sobrenadantes, se sellaron y colocaron las muestras en el congelador hasta su posterior análisis.

Para realizar el análisis, se evaporó la acetona en una placa calefactora a 35 °C con una corriente de N<sub>2</sub> en una atmosfera inerte. Finalmente, las muestras se reconstituyeron con 1 mL de metanol HPLC, se filtraron con filtros Millipore 0,20 um con membrana de Nylon y se analizaron por HPLC-DAD (Xuan R y col, 2008).

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1. Caracterización física y química de suelos y biosólido

En la Tabla 8, se presentan las características físicas y químicas de los suelos y del biosólido empleado en el estudio. De acuerdo a los criterios de evaluación de suelos (NOM-021-REC-NAT-2000), los suelos serian medianamente alcalinos y el biosólido se encontraría en un rango cercano a la neutralidad.

Respecto a la conductividad eléctrica se observaron diferencias entre los suelos. Los valores más bajos se encontraron en los suelos Codigua y Pomaire, con una conductividad eléctrica de 0,07 y 0,11 dS m<sup>-1</sup>, respectivamente. Los valores más altos se encontraron en el caso del suelo Ostolazas con un valor de 0,19 dS m<sup>-1</sup>.

En cuanto al contenido de materia orgánica, se puede precisar que tanto el suelo Ostolazas como el suelo Pomaire presentaron valores más altos que el suelo Codigua. Por otra parte, el biosólido “El Rutal” presentó mayor valor de contenido de materia orgánica que las muestras de suelos. Dentro de este estudio, el carbono orgánico es un parámetro esencial de evaluar, ya que estaría directamente relacionado con los procesos de adsorción y degradación del EE2.

En cuanto a la textura de los suelos, los suelos Ostolazas y Pomaire se clasificarían como franco arenosos y el suelo Codigua, es de tipo arenoso. Respecto de la capacidad de intercambio (CIC) y N total, el suelo Ostolazas presentó los valores más altos de ambos parámetros que los suelos Codigua y Pomaire.

**Tabla 8.** Características fisicoquímicas de los suelos y biosólido empleados en el estudio

Parámetro	Suelo Codigua	Suelo Ostolazas	Suelo Pomaire	Biosólido “El Rotal”
pH	8,09 ± 0,03	7,60 ± 0,04	7,74 ± 0,04	7,25 ± 0,03
Conductividad Eléctrica (dS m <sup>-1</sup> )	0,07 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,11 ± 0,01	-----
Carbono Orgánico (%CO)	0,45 ± 0,01	2,05 ± 0,01	1,13 ± 0,02	25,9 ± 0,4
Materia Orgánica (%)	0,79 ± 0,01	3,57 ± 0,01	1,97 ± 0,04	-----
Densidad Aparente (g mL <sup>-1</sup> )	1,36	1,17	1,23	-----
Arena (%)	88,2	70,2	64,2	-----
Arcilla (%)	5,8	13,8	17,8	-----
Limo (%)	6	16	18	-----
Textura	Arenoso	Arenoso Franco	Franco Arenoso	-----
Nitrógeno total (%)	0,10	0,28	0,12	3,33
Capacidad de intercambio catiónico “CIC” (cmol kg <sup>-1</sup> )	15,9 ± 1	27,9 ± 2	20,3 ± 2	75 ± 2
Factor de Humedad	1,008	1,024	1,210	1,104
Capacidad de Campo (%)	7,60	17,20	10,95	-----

Los suelos seleccionados cuentan con las características físicas y químicas generales adecuadas para ser empleados en la agricultura, debido a que cumplen con el artículo N°23 del Decreto N°4 de la normativa vigente sobre manejo y aplicación de lodos provenientes de las plantas de tratamiento de aguas servidas del año 2009. Por otro lado, como se observa en la tabla 9, en cuanto al contenido máximo de metales pesados exigidos para la aplicación de biosólido, el biosólido cumple con todos los puntos del artículo N°24 relacionado con la concentración máxima de metales pesados que debe poseer para este tipo de suelos.

**Tabla 9.** Concentración de metales pesados en los suelos y en el biosólido

Metal (mg kg <sup>-1</sup> )	Suelo Codigua	Suelo Ostolazas	Suelo Pomaire	Biosólido “El Rotal”
Cu	40 ± 1	50 ± 5	50 ± 1	763 ± 1
Ni	33 ± 4	56 ± 1	71 ± 1	63 ± 7
Zn	84 ± 4	126 ± 7	93 ± 1	1714 ± 13
Pb	21 ± 1	16 ± 1	14 ± 3	61 ± 7
Cr	94 ± 9	130 ± 4	78 ± 13	482 ± 3
Cd	n.d*	n.d	n.d	n.d

(\*) n.d, no detectado

Evaluando el cumplimiento del artículo N°24 del Decreto N°4 de la normativa vigente sobre manejo y aplicación de lodos provenientes de las plantas de tratamiento de aguas servidas del año 2009, se observa que todos los suelos presentan niveles adecuados de metales pesados. Según la norma se permitirá una aplicación de biosólidos con una tasa máxima de 90 Ton ha<sup>-1</sup>.

## 5.2. Relación de las propiedades fisicoquímicas del EE2 con el pH de los diferentes suelos y el biosólido utilizados en el estudio

Es importante asociar los rangos de pH con las características propias del EE2, ya que éste define el grado de disociación del compuesto en un medio. La literatura indica que el pK<sub>a</sub> del EE2 tiene un valor de 10,4. Tomando en cuenta la teoría de Henderson Hasselbach y la de equilibrio químico (Harris D. C, 1982), se puede definir una estrecha relación entre la fuerza de disociación de un ácido o de su base conjugada y el valor pK<sub>a</sub>. Por lo tanto, como el valor de pK<sub>a</sub> es alto, el compuesto en solución tenderá a comportarse como un ácido débil. Ello indica que existirá una mayor concentración de la especie protonada y estará débilmente disociada en solución. Por lo anterior, se puede establecer que de acuerdo con el valor de pK<sub>a</sub> del EE2 y el pH de los suelos, éste se encontraría en solución principalmente en su forma no ionizada. Lo anterior se potenciaría con la escasa solubilidad de este compuesto en agua, por lo que el compuesto estaría mayoritariamente adsorbido en la

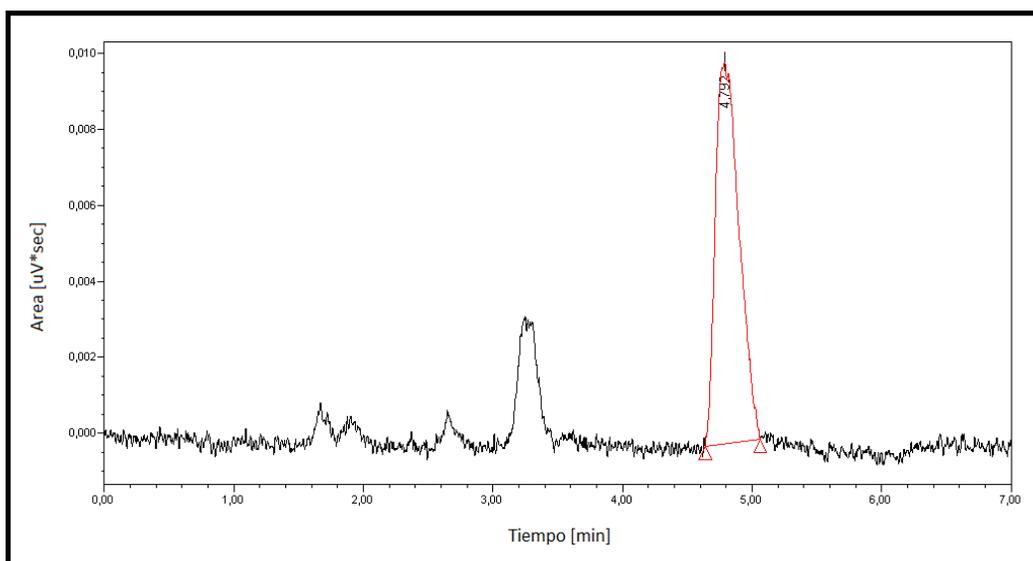
materia orgánica del suelo a través de interacciones hidrofóbicas (Lima y Col., 2012). En general, la velocidad de adsorción depende de la velocidad de difusión y del grado de disociación de la especie. Por lo tanto, estos son procesos que varían dependiendo del pH del medio en el que ocurre el proceso (Gonzales V., 2012).

### 5.3. Análisis e identificación mediante HPLC – DAD

Después de realizar un estudio previo al análisis y optimizar el método, se pudo establecer las condiciones del análisis. Se trabajó en condiciones isocráticas de 70% de acetonitrilo y 30% de agua mili-Q a un flujo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ .

Para la detección del analito, se estableció que la longitud de onda más apropiada para su identificación fue 210 nm. Luego de aplicar estas condiciones experimentales se obtuvieron cromatogramas, encontrando que el tiempo de retención del compuesto estaba en un rango aproximado de 4,7 - 5,0 min. Tomando en cuenta la elución de la matriz de la muestra, se fijó una corrida de muestra total de 7 min.

Para la elaboración de los estándares y el tratamiento de las muestras, se estableció que se debía trabajar con curva de calibración con matriz para obtener resultados más fiables. En la figura 7 se muestra un cromatograma típico de EE2, en las condiciones mencionadas anteriormente.

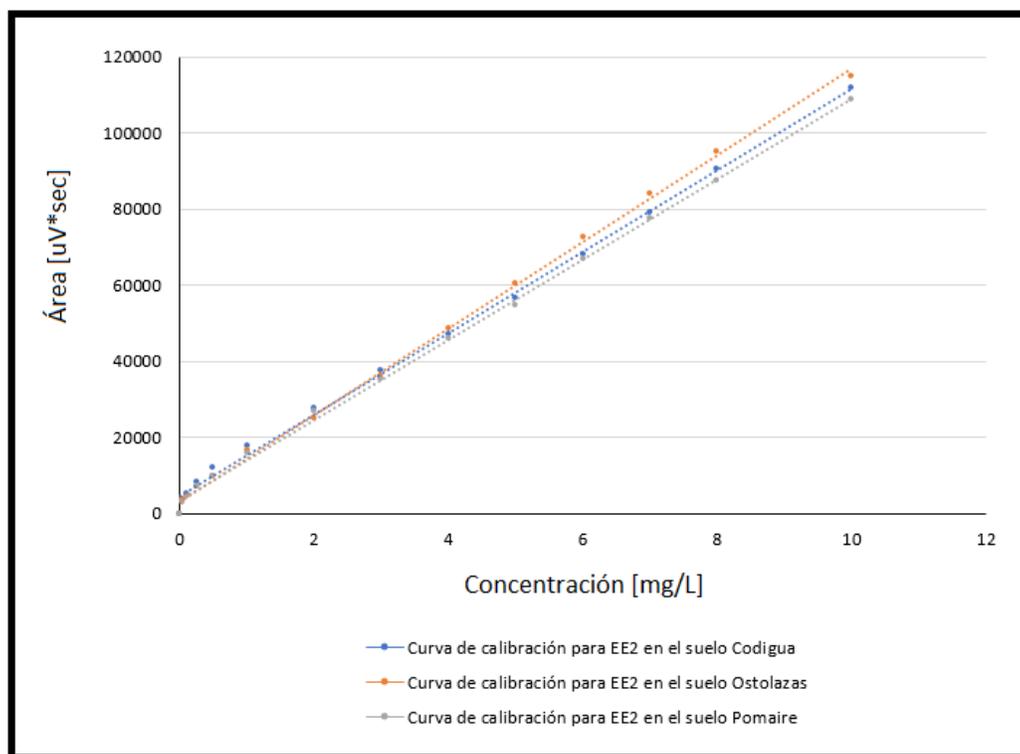


**Figura 7.** Cromatograma de EE2 obtenido por HPLC -DAD.

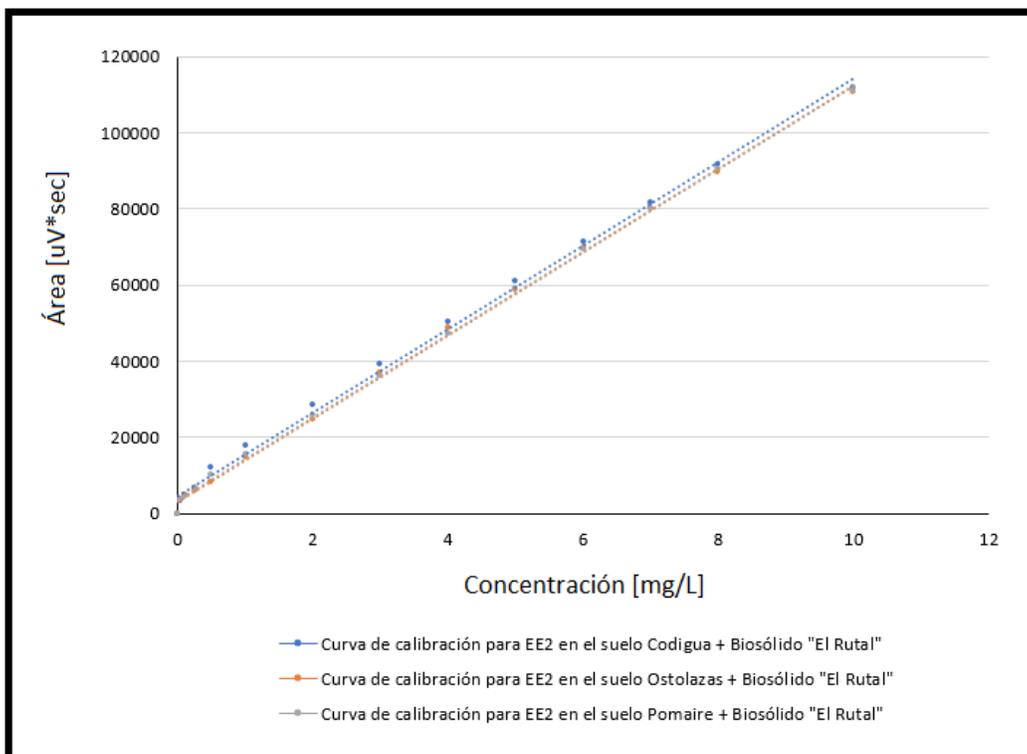
#### 5.4. Validación del método analítico

Como se mencionó, en el estudio se trabajó con curvas de calibración en matriz. Esto se basa en que al comparar las curvas en solvente y las con matriz, nos dan diferencias apreciables entre sus pendientes. Las pendientes de las curvas en solvente tienen valores mayores que en las curvas con matriz, donde se observan variaciones de 20,97; 24,29 y 23,15 % en los suelos Codigua, Ostolazas y Pomaire sin biosólido, respectivamente. Junto con lo anterior, en las pendientes de las curvas en los suelos Codigua, Ostolazas y Pomaire con biosólido, se observan fluctuaciones de 22,13; 25,62 y 24,45 %, respectivamente. Estos resultados explican un efecto al considerar el aporte de la matriz.

En las figuras 8 y 9, se muestran las curvas de calibración de EE2 en matriz para cada suelo del estudio, ya sea con y sin la adición de biosólido



**Figura 8.** Curvas de calibración de EE2 en matriz de los diferentes suelos del estudio.



**Figura 9.** Curvas de calibración de EE2 en matriz de los diferentes suelos del estudio con la adición de biosólido.

Para la determinación de la linealidad del método analítico se procedió a realizar una curva de calibración para EE2 con el efecto de matriz de cada suelo con y sin la presencia de biosólido. Se obtuvo la ecuación de la recta, el rango de concentración lineal y sus correspondientes correlaciones se muestran en la tabla 10:

**Tabla 10.** Datos de las ecuaciones de la recta para las curvas de calibración del EE2

Matriz	Ec. de la Recta	Rango Lineal (mg L <sup>-1</sup> )	Coefficiente de Correlación (R <sup>2</sup> )
EE2 + Suelo Codigua	Y = 10697X + 4587,4	0,25 – 8,0	0,996
EE2 + Suelo Ostolazas	Y = 11851X + 2613,5	0,25 – 8,0	0,998
EE2 + Suelo Pomaire	Y = 10546X + 3543,3	0,25 – 8,0	0,998
EE2 + Suelo Codigua + Biosólido	Y = 11144X + 4452,7	0,25 – 8,0	0,996
EE2 + Suelo Ostolazas + Biosólido	Y = 11072X + 2930,5	0,25 – 8,0	0,999
EE2 + Suelo Pomaire + Biosólido	Y = 10993X + 3371,6	0,25 – 8,0	0,999

Al observar los datos del coeficiente de correlación para cada caso, es posible inferir que en el rango estudiado el método es lineal, debido a que estos tienen un valor cercano a la unidad.

Para la obtención del coeficiente de variación del analito a distintas concentraciones se aplicó la ecuación 2. Para esto, se seleccionó una concentración de EE2 baja, media y alta, que estuvieran dentro del rango lineal de la curva de calibración y se analizaron según la metodología por quintuplicado. Los resultados se presentan en la tabla 11.

**Tabla 11.** Repetición en la medición del EE2

Matriz	Concentración de EE2 (mg L <sup>-1</sup> )	Concentración Obtenida en las mediciones (mg L <sup>-1</sup> )				
		Registro I	Registro II	Registro III	Registro IV	Registro V
EE2 + Suelo Codigua	0,25	0,264	0,245	0,262	0,248	0,255
	4,0	3,964	4,015	3,970	4,014	3,992
	8,0	8,030	7,960	7,968	8,022	7,995
EE2 + Suelo Ostolazas	0,25	0,267	0,243	0,247	0,263	0,255
	4,0	3,974	4,033	3,980	4,028	4,004
	8,0	7,991	8,074	8,004	8,062	8,033
EE2 + Suelo Pomaire	0,25	0,266	0,244	0,247	0,263	0,255
	4,0	4,012	4,067	4,017	4,063	4,040
	8,0	7,979	8,056	7,989	8,045	8,017
EE2 + Suelo Codigua + Biosólido	0,25	0,246	0,268	0,250	0,264	0,257
	4,0	4,065	3,999	4,010	4,054	4,032
	8,0	7,940	8,025	7,956	8,010	7,983
EE2 + Suelo Ostolazas + Biosólido	0,25	0,244	0,270	0,247	0,266	0,257
	4,0	4,006	4,090	4,024	4,072	4,048
	8,0	7,935	8,039	7,958	8,016	7,987
EE2 + Suelo Pomaire + Biosólido	0,25	0,267	0,243	0,247	0,263	0,255
	4,0	4,000	4,073	4,014	4,060	4,037
	8,0	7,951	8,045	7,970	8,026	7,998

**Tabla 12.** Precisión en la medición del EE2

Matriz	Concentración de EE2 (mg L <sup>-1</sup> )	$\bar{x}$ y DS de las concentraciones obtenidas	Coefficiente de Variación (CV %)
EE2 + Suelo Codigua	0,25	0,26 ± 0,01	2,91
	4,0	3,99 ± 0,02	0,54
	8,0	8,00 ± 0,03	0,35
EE2 + Suelo Ostolazas	0,25	0,26 ± 0,01	3,63
	4,0	4,00 ± 0,02	0,60
	8,0	8,03 ± 0,03	0,40
EE2 + Suelo Pomaire	0,25	0,26 ± 0,01	3,36
	4,0	4,04 ± 0,02	0,57
	8,0	8,02 ± 0,03	0,38
EE2 + Suelo Codigua + Biosólido	0,25	0,26 ± 0,01	3,25
	4,0	4,03 ± 0,03	0,62
	8,0	7,98 ± 0,03	0,40
EE2 + Suelo Ostolazas + Biosólido	0,25	0,26 ± 0,01	3,91
	4,0	4,05 ± 0,03	0,75
	8,0	7,99 ± 0,04	0,47
EE2 + Suelo Pomaire + Biosólido	0,25	0,26 ± 0,01	3,61
	4,0	4,04 ± 0,03	0,68
	8,0	8,00 ± 0,04	0,43

Para calcular la precisión se obtuvo un promedio de mediciones realizadas en 5 días distintos. Posteriormente se calculó la desviación estándar entre ellas y el CV%. De la tabla 12, se puede apreciar que los valores del coeficiente de variación están por debajo del 5%, el cual es el límite permitido en la validación. Por esta razón se puede sugerir que el método para la determinación de EE2 presentaría una precisión aceptable. Cabe mencionar, que los valores de los coeficientes de variación más altos, se registraron en las concentraciones más bajas, donde los errores son más significativos.

Para obtener los límites de detección y de cuantificación, se utilizó un estándar de EE2 de concentración fija de 0,25 mg L<sup>-1</sup>, el cual fue inyectado 10 veces. Este criterio es aceptable, ya que se encontraba en el límite de detección esperado y dentro del rango lineal de concentración. El cálculo se realizó con las ecuaciones 3 y 4. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 13.

**Tabla 13.** Límites de Detección y Cuantificación para la medición de EE2

Matriz	$\bar{x}$ de las concentraciones de las repeticiones (mg L <sup>-1</sup> )	DS	LD (mg L <sup>-1</sup> )	LC (mg L <sup>-1</sup> )
EE2 + Suelo Codigua	0,256	0,013	0,038	0,127
EE2 + Suelo Ostolazas	0,262	0,015	0,045	0,150
EE2 + Suelo Pomaire	0,253	0,014	0,042	0,141
EE2 + Suelo Codigua + Biosólido	0,261	0,015	0,044	0,146
EE2 + Suelo Ostolazas + Biosólido	0,260	0,017	0,050	0,168
EE2 + Suelo Pomaire + Biosólido	0,259	0,016	0,048	0,159

Como se observa en la Tabla 13, los valores de los límites de Detección (LD) para las matrices evaluadas están entre 0,038 y 0,050 mg L<sup>-1</sup>. Los límites de Cuantificación (LC) fluctuaban entre 0,127 y 0,168 mg L<sup>-1</sup>.

En las mediciones de los estándares en matriz, las lecturas de las concentraciones de 0,1 mg L<sup>-1</sup> eran poco fiables, ya que tendían a confundirse con el ruido instrumental y las señales tenían poca calidad analítica. Por otro lado, las lecturas de las concentraciones de 0,25 mg L<sup>-1</sup> eran señales definidas y se podían diferenciar del ruido base. Esto tiene coherencia con los resultados obtenidos en los LD y LC, debido a que los valores se encuentran justo en este rango.

**Tabla 14.** Porcentaje de recuperación en la medición del EE2

Matriz	Concentración de EE2 (mg L <sup>-1</sup> )	$\bar{x}$ y DS de las concentraciones obtenidas	Porcentaje de Recuperación (R %)
EE2 + Suelo Codigua	0,25	0,26 ± 0,01	102
	4,0	3,99 ± 0,02	100
	8,0	8,00 ± 0,03	100
EE2 + Suelo Ostolazas	0,25	0,26 ± 0,01	102
	4,0	4,00 ± 0,02	100
	8,0	8,03 ± 0,03	100
EE2 + Suelo Pomaire	0,25	0,26 ± 0,01	102
	4,0	4,04 ± 0,02	101
	8,0	8,02 ± 0,03	100
EE2 + Suelo Codigua + Biosólido	0,25	0,26 ± 0,01	103
	4,0	4,03 ± 0,03	101
	8,0	7,98 ± 0,03	100
EE2 + Suelo Ostolazas + Biosólido	0,25	0,26 ± 0,01	103
	4,0	4,05 ± 0,03	101
	8,0	7,99 ± 0,04	100
EE2 + Suelo Pomaire + Biosólido	0,25	0,26 ± 0,01	102
	4,0	4,04 ± 0,03	101
	8,0	8,00 ± 0,04	100

Al observar la tabla 14, los resultados de porcentajes de recuperación obtenidos son bastante aceptables, ya que están en un rango cercano al 100%. Se ve, que independiente de la concentración empleada, el porcentaje de recuperación es prácticamente del 100%.

Teniendo en cuenta la metodología aplicada al estudio y las concentraciones de EE2 con las cuales se trabajó, se llega a la conclusión que el método analítico es adecuado para todos los suelos.

### 5.5. Estudio de tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 en diferentes suelos

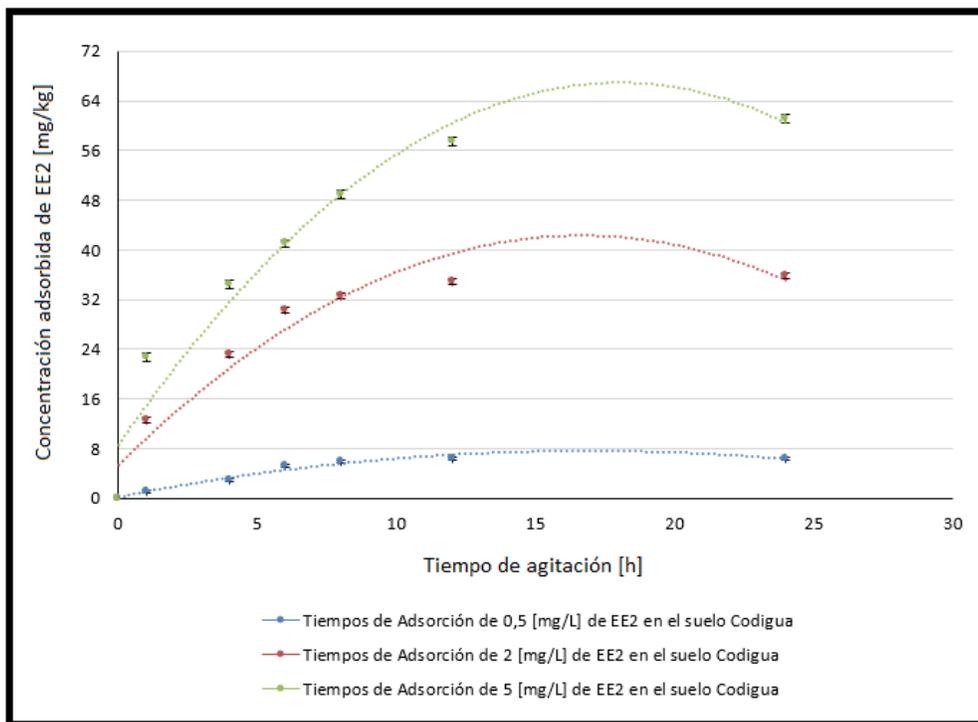


Figura 10. Tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 a distintas concentraciones en el suelo Codigua.

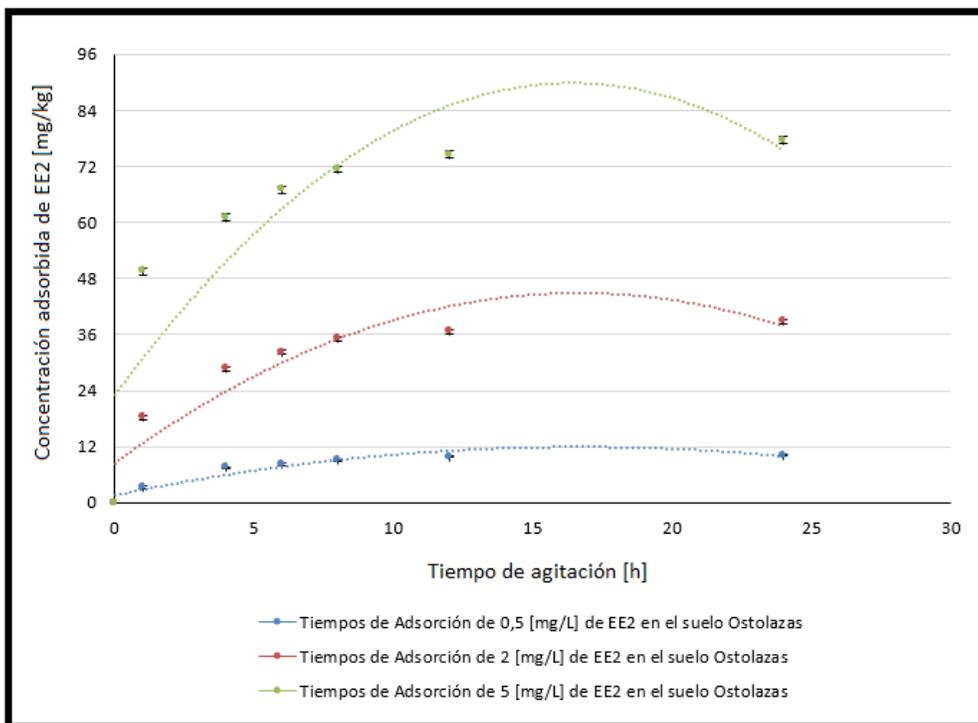
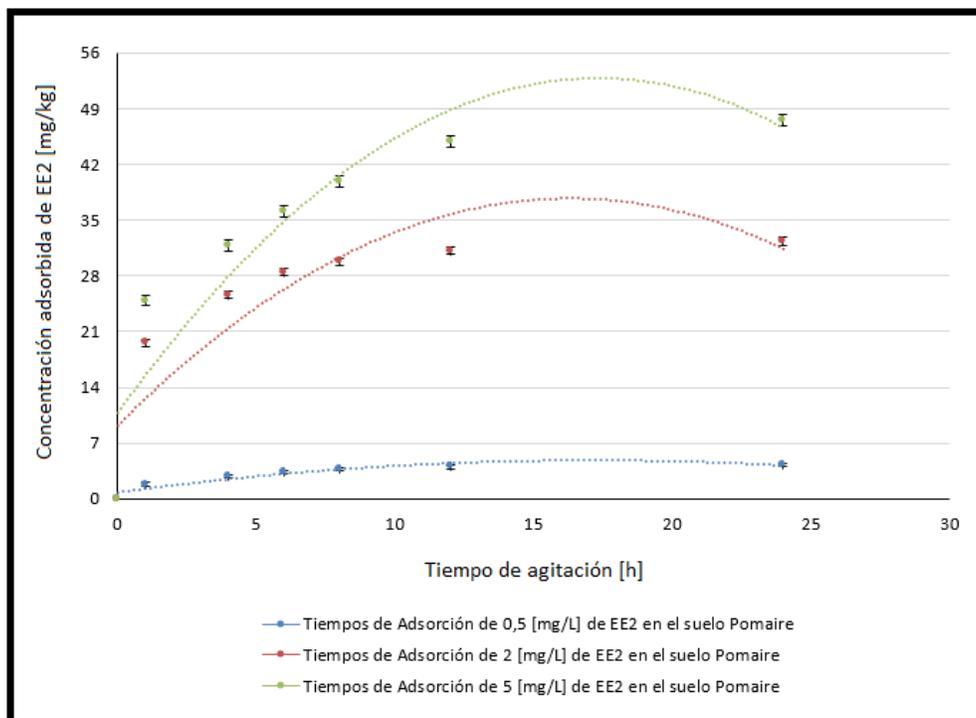


Figura 11. Tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 a distintas concentraciones en el suelo Ostolazas.

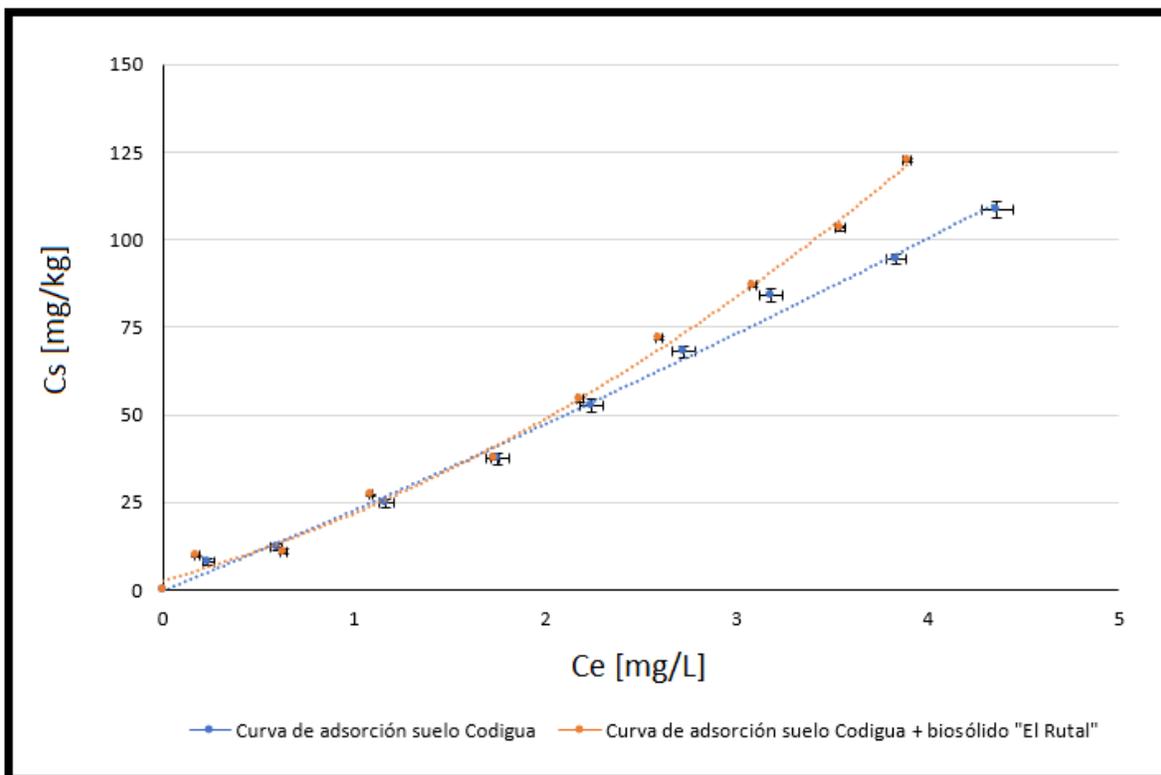


**Figura 12.** Tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 a distintas concentraciones en el suelo Pomaire.

Desde las Figuras 10 a la 12, se presentan los tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 en el suelo Codigua, Ostolazas y Pomaire, en una concentración de 0,5; 2,0 y 5,0 mg L<sup>-1</sup>. En las gráficas se puede observar, que todas las curvas el EE2 tiende a adsorberse en el suelo rápidamente antes de la primera hora, llega a una concentración límite y luego tiende a un equilibrio. En todos los casos se aprecia que comienza a producirse una dinámica de equilibrio entre las 15 y 20 hrs, pero se da un máximo de adsorción a las 24 hrs. Esto concuerda con otros estudios de adsorción realizados para este compuesto (Karnjanapiboonwong et al. 2010; Yu et al. 2013).

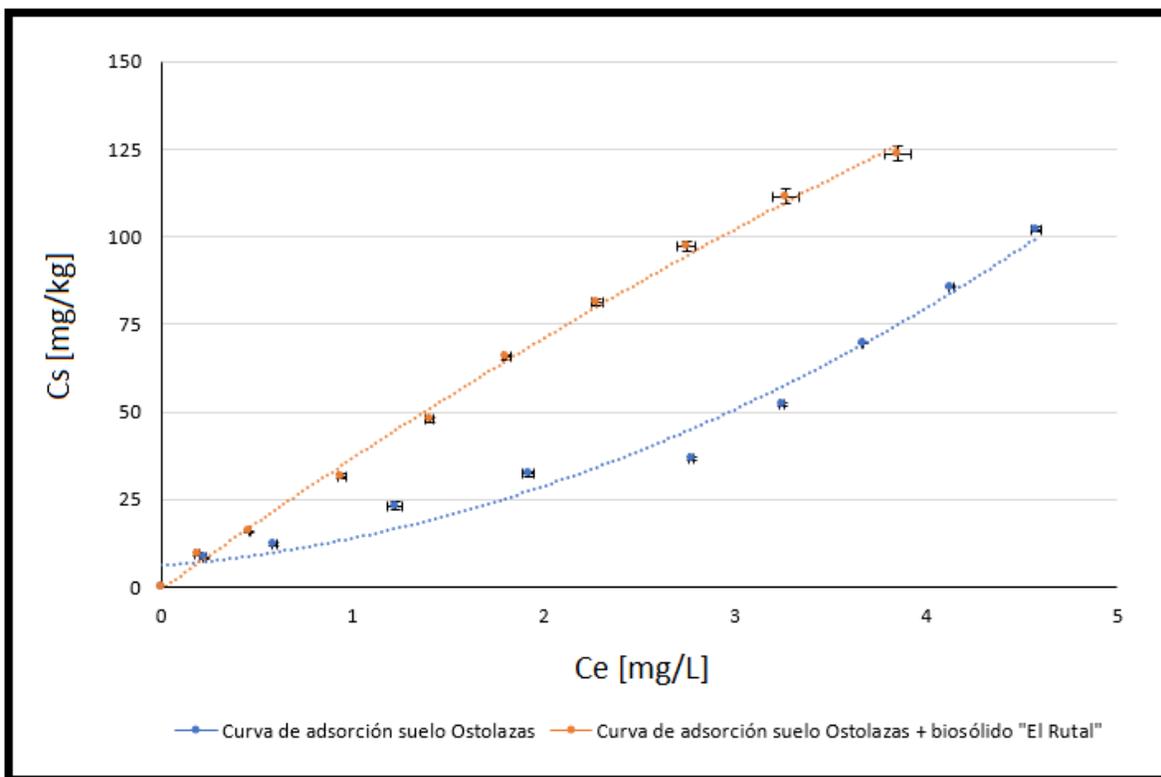
Si se comparan los tiempos de adsorción en los tres suelos, se observa que en el suelo Codigua es donde el analito se demora más en llegar al equilibrio. Esto se puede relacionar con el bajo contenido de materia orgánica que presenta, ya que el adsorbato tiende a interactuar con la fracción orgánica del suelo y así queda retenido. Junto con lo anterior, se aprecia que la mayor adsorción en las diferentes concentraciones de EE2 se da en el suelo Ostolazas, el cual es el suelo que tiene un mayor contenido de materia orgánica.

## 5.6. Estudio de adsorción de EE2 en diferentes suelos con y sin la adición de biosólido



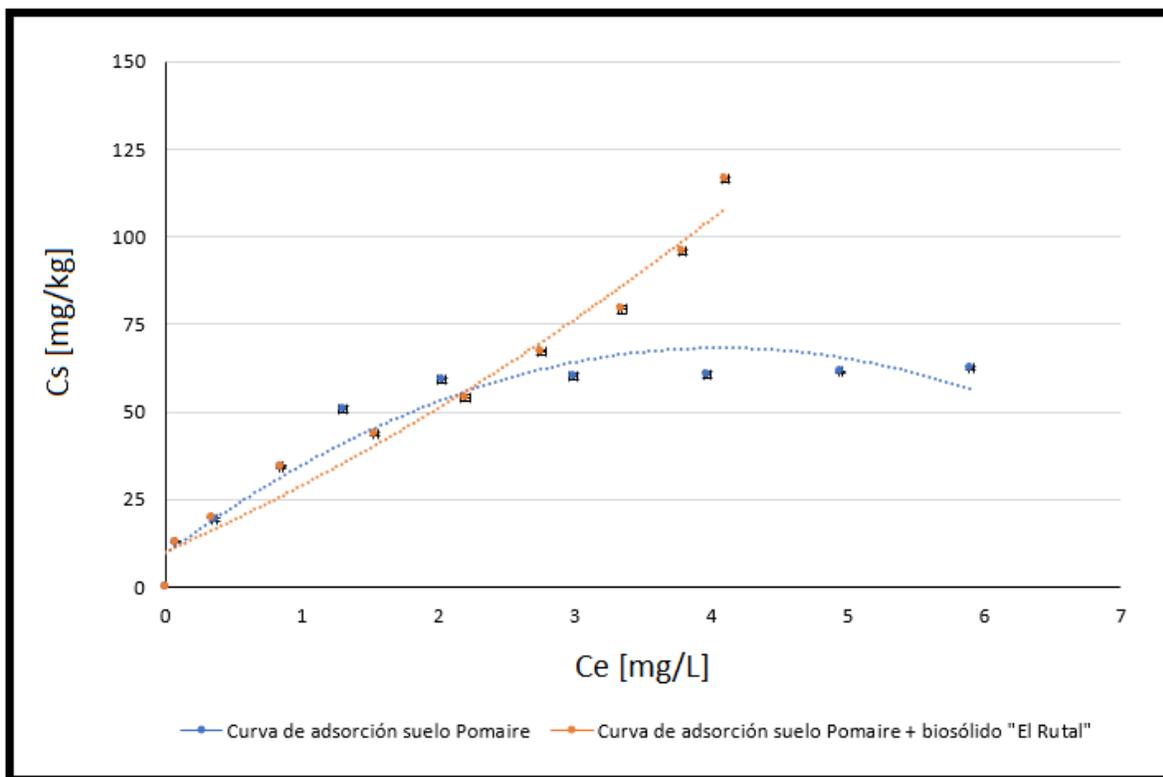
**Figura 13.** Isotermas de adsorción de EE2 del suelo Codigua con y sin biosólido.

Si se toma en cuenta la referencia de las isotermas experimentales propuestas por Giles et al. en 1960 (Rodríguez, 2009), se ve que para la adsorción de EE2 en el suelo Codigua con y sin biosólido, la isoterma tiene una forma lineal y se asocian a la isoterma de clase C. Las isotermas de tipo C son indicativas de un mecanismo de partición mediante el cual los iones o moléculas de adsorción, se distribuyen o se dividen entre la superficie y la fase solución sin ningún enlace específico entre el adsorbente y el adsorbato (Sparks, 1995). Para el caso del suelo con biosólido, el aporte de este último incrementa la adsorción del EE2 en el suelo, al generar nuevos sitios activos de adsorción.



**Figura 14.** Isotermas de adsorción de EE2 del suelo Ostolazas con y sin biosólido.

La Figura 14 muestra que para la adsorción de EE2 en el suelo Ostolazas con biosólido, la isoterma tiene una forma lineal y corresponde a una de tipo C. En este caso, el adsorbato se distribuye uniformemente en la superficie del suelo. En cambio, la del suelo sin biosólido, se asocia a la isoterma de tipo S. Esta muestra que inicialmente existe una baja afinidad entre el adsorbato y el suelo, lo cual va aumentando paulatinamente en la medida que aumenta la concentración ofrecida de EE2. La isoterma en forma de S, sugiere una adsorción cooperativa, que podría deberse a la asociación entre las moléculas de EE2 adsorbidas agrupadas en filas o agrupaciones (Banat et al., 2000; Calace et al., 2002; Giles et al., 1974; Hinz, 2001). Junto con esto se han elaborado estudios de modelación que indican que las moléculas de EE2 tienden a colocarse paralelas entre sí, estabilizadas por las interacciones hidrófobas entre los grupos metínicos y las interacciones de apilamiento  $\pi - \pi$  entre los anillos aromáticos de las dos moléculas, estabilizándose principalmente por interacciones hidrófobas (Lima et al., 2011).



**Figura 15.** Isotermas de adsorción de EE2 del suelo Pomaire con y sin biosólido.

La Figura 15, muestra las isotermas de adsorción de EE2 en el suelo Pomaire solo y tratado con biosólido. En el caso de la adsorción del suelo con biosólido, se observa que la isoterma sería del tipo C, donde a medida que se adsorbe el soluto los sitios de adsorción no se alcanzan a saturar y existe un equilibrio entre la concentración del compuesto y el suelo. Por otro lado, en la adsorción sin biosólido, esta isoterma se asocia con la de tipo L. En este tipo de adsorción se presenta un número fijo de sitios que son idénticos y los sitios solo pueden contener una molécula. Por lo tanto, existe una alta afinidad entre las partículas del suelo y el adsorbato, permitiendo únicamente una cobertura de monocapa, lo que representa la máxima adsorción. La adsorción es reversible y la energía de adsorción es la misma para todos los sitios e independiente de la cobertura de la superficie, es decir, la superficie es homogénea y no hay interacción entre las moléculas de adsorbato, por tanto, el adsorbato se comporta de manera ideal (Sparks, 1995). Es probable que se produzcan uniones específicas (quimisorción) entre el adsorbato y el suelo, mediante puentes de hidrógeno o enlaces covalentes, producto de la interacción entre la función fenólica en C-3 y la función hidroxilo en C-17 de las moléculas EE2, que pueden reaccionar con grupos funcionales carboxílicos

de la materia orgánica del suelo (Lima et al., 2012; Cantarero, 2017). En general, se encontró que, en este estudio la adición de biosólido favorecería la adsorción de EE2 para los diferentes suelos.

### 5.7. Cálculo de los parámetros del modelo matemático lineal y la isoterma de Freundlich para interpretación de las isotermas de adsorción de EE2

**Tabla 15.** Coeficientes de adsorción del EE2 para los suelos y los mismos con la adición de biosólido

Matriz	Ecuación Freundlich			Ecuación lineal		
	$K_f$	$1/n$	$r^2$	$K_d$	$\text{Log } K_{oc}$	$r^2$
Suelo Codigua	24,71	0,963	0,978	24,39	3,734	0,994
Suelo Codigua con biosólido	32,44	0,808	0,944	27,72	3,790	0,978
Suelo Ostolazas	22,60	0,840	0,959	18,91	2,970	0,940
Suelo Ostolazas con biosólido	37,02	0,904	0,992	34,48	3,226	0,995
Suelo Pomaire	36,29	0,395	0,931	18,78	3,221	0,683
Suelo Pomaire con biosólido	43,59	0,532	0,959	27,56	3,387	0,968

La isoterma de Freundlich es un modelo que representa el proceso de adsorción mediante la formación de multicapas en superficies heterogéneas, considerando que los sitios de adsorción podrían estar ocupados primero por enlaces fuertes y que la fuerza del enlace decrece al incrementar la ocupación de sitios de adsorción.

En la tabla 15, se resumen los coeficientes de correlación obtenidos de las isothermas de Freundlich, los cuales varían de 0,931 a 0,992. En ese sentido, en el caso del suelo Codigua y Ostolazas con y sin biosólido, se obtuvo los mejores ajustes al modelo. En general, se encontró valores de  $1/n$  menores a 1. En el caso del suelo Pomaire con y sin biosólido se obtienen los valores más bajos. Obtener un valor de  $1/n < 1$  implica que la intensidad y la eficiencia de la adsorción es baja en un sistema heterogéneo, como en este caso. Por otra parte, se ha encontrado que la adsorción de los compuestos no solo depende del pH y del contenido de carbono orgánico de los suelos, sino que también del contenido de arcilla, puesto que mientras mayor es la fracción de arcillas en el suelo, mayor será el número de sitios de adsorción (Chen et al., 2006). En este caso, es el suelo Pomaire el que presenta un mayor porcentaje de arcilla que los otros dos suelos, lo cual estaría acorde con los resultados de  $K_f$  obtenidos en este estudio, ya que es en el suelo Pomaire el que mostró la mayor capacidad de adsorción tanto en el suelo solo como en el tratado con biosólido. La adsorción de algunos compuestos orgánicos en suelos es generalmente dependiente del pH, debido a que a un pH del suelo bajo y el pKa del compuesto, éstos se presentan en su forma neutra, teniendo una fuerte tendencia a ser adsorbidos por la materia orgánica del suelo, en comparación a su forma disociada más polar, pero debido a las estructuras de los PPCPs (iónicas o polares) no es fácil predecir su comportamiento de adsorción en los suelos (Xu et al., 2009).

Los valores obtenidos en el estudio de adsorción fueron interpretados también a través del cálculo del coeficiente de distribución. Se encontró que este parámetro varió dependiendo del tipo de suelo y del contenido de materia orgánica. Si bien, el suelo Codigua es el que posee menor contenido de materia orgánica, fue el suelo en que se obtuvo el mayor coeficiente de distribución (24,4) y cuando los suelos fueron tratados con biosólido, en todos los suelos, el valor de  $K_d$  fue más alto (en un rango de 27,6 a 34,5), por tanto, la materia orgánica aportada por el biosólido es una superficie importante que incrementa la retención del EE2. Debido a la variabilidad generada por el efecto de la materia orgánica sobre la isoterma de adsorción en cada suelo se calculó el parámetro  $K_{oc}$ , que corrige el valor de la constante de distribución ( $K_d$ ) con el contenido de carbono orgánico. Al respecto se encontró que el valor del  $K_{oc}$  aumentó para cada suelo al añadir el biosólido, lo cual indica que la adsorción del EE2 se ve influenciada por el contenido de la materia orgánica presente (Julca

O. A., 2006). El valor más alto se encontró en el suelo Codigua con biosólido (3,79), lo que indicaría que la materia orgánica incrementaría la capacidad de adsorción en este suelo, comparado con el suelo Ostolazas y Pomaire.

Por otro lado, al observar los coeficientes de correlación tanto para el modelo lineal como en las isotermas de Freundlich, los valores más altos en ambos casos se obtuvieron en el suelo Ostolazas con biosólido (0,992 y 0,995, respectivamente). Los valores más bajos se obtuvieron para el suelo Pomaire (0,931 y 0,683, respectivamente), lo que indica que el proceso de adsorción para este suelo no se ajusta al modelo lineal empleado. Este resultado también indica que, entre los dos modelos, el modelo de Freundlich ajustó mejor los valores.

### 5.8. Estudio de desorción de EE2 en diferentes suelos con y sin la adición de biosólido

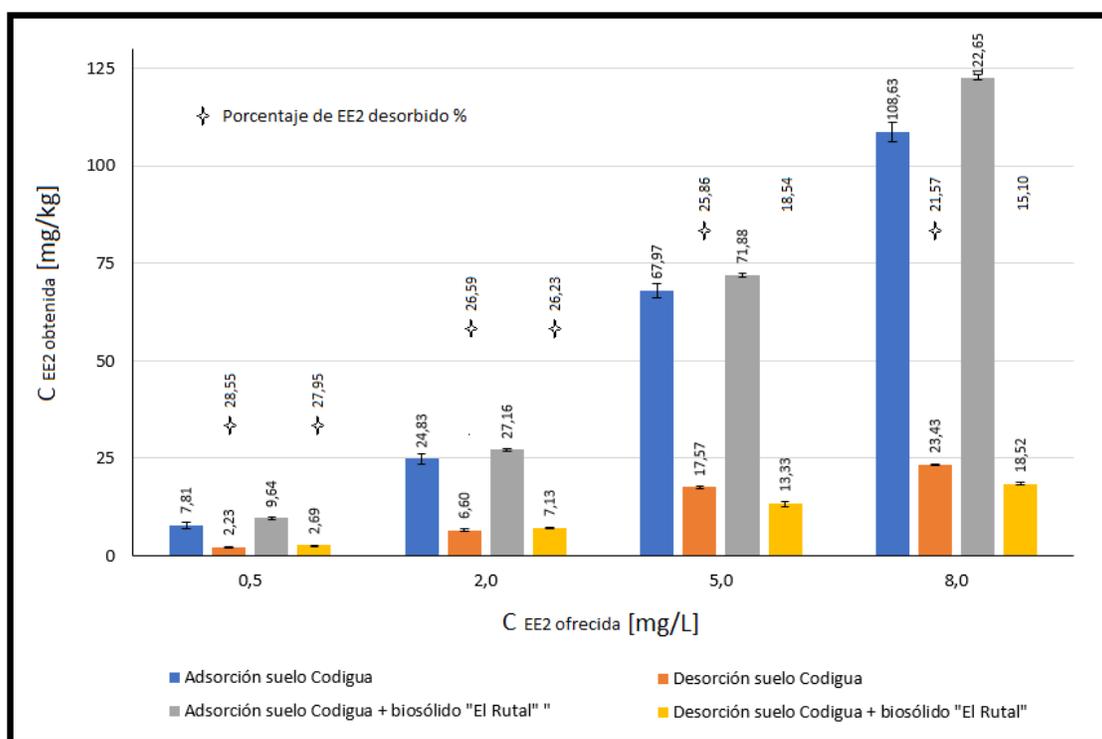
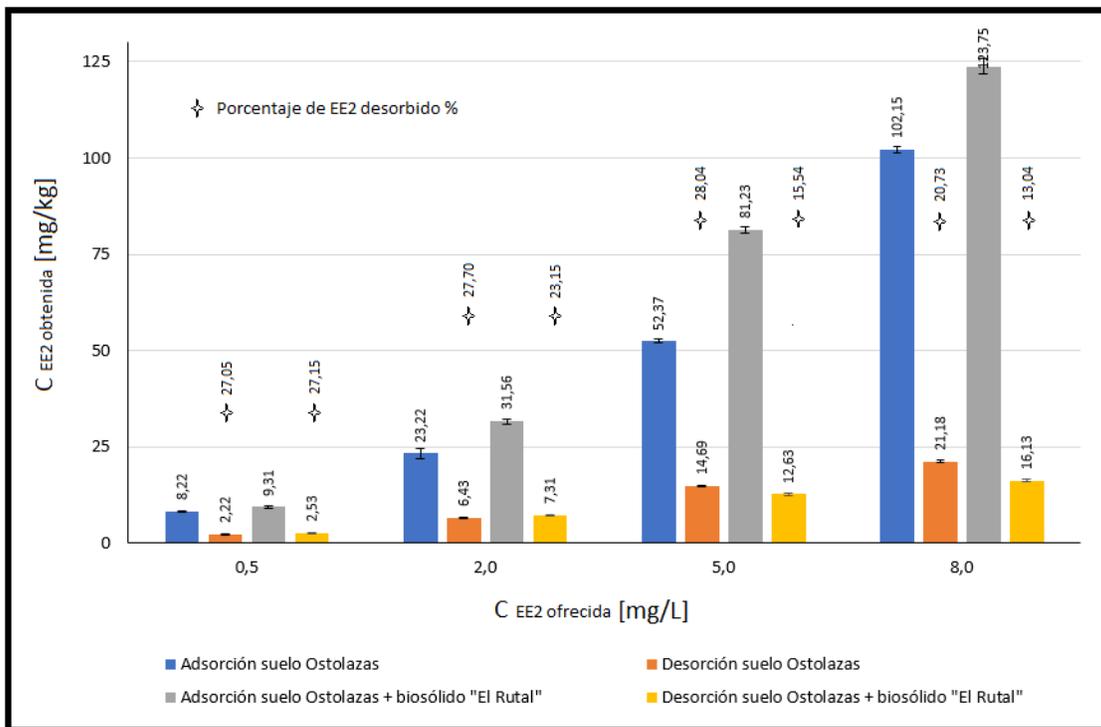
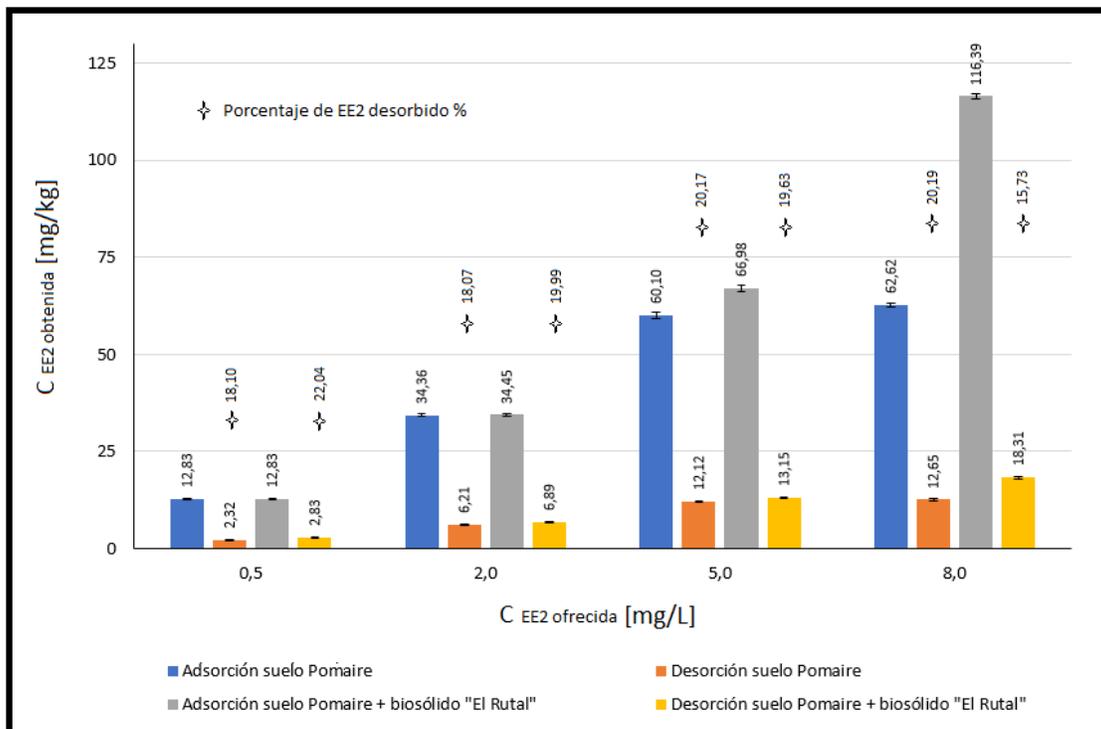


Figura 16. Adsorción y desorción de EE2 en el suelo Codigua con y sin biosólido.



**Figura 17.** Adsorción y desorción de EE2 en el suelo Ostolazas con y sin biosólido.



**Figura 18.** Adsorción y desorción de EE2 en el suelo Pomaire con y sin biosólido.

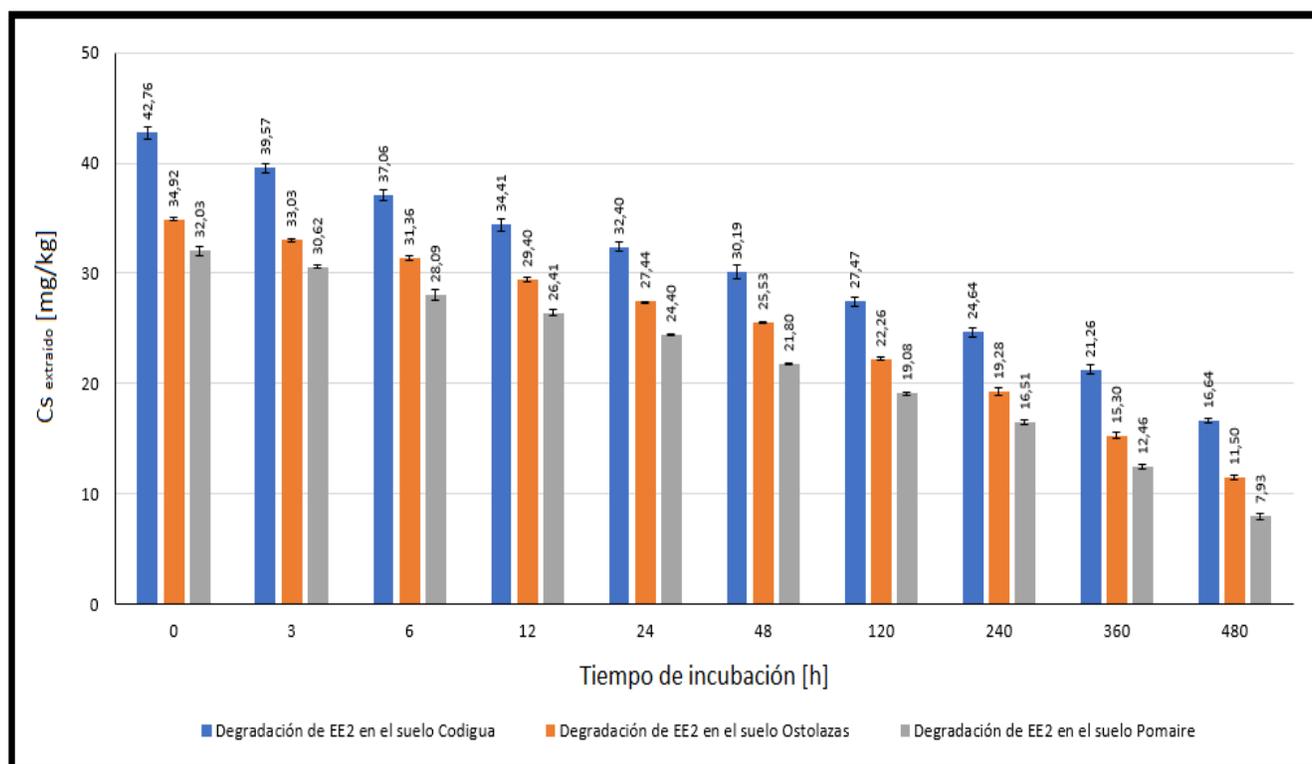
En las Figuras 16, 17 y 18, se presenta la adsorción y desorción de EE2 en las muestras de suelo y suelo con biosólido para un rango de concentraciones de EE2 ofrecida de 0,5 a 8,0 mg L<sup>-1</sup>. Al observar los resultados para el suelo Codigua, se obtuvieron porcentajes de desorción entre 28,6 y 21,6 %, pero cuando este suelo fue tratado con biosólido, se obtuvieron porcentajes de desorción entre 28,0 a 15,1 %. En el caso del suelo Ostolazas, se obtuvieron porcentajes de desorción entre 27,1 a 20,7 % y en presencia de biosólido se obtuvieron porcentajes de desorción entre 27,2 a 13,0 %, en suelo Pomaire, se encontraron porcentajes de desorción entre 18,1 a 20,2 % y en presencia de biosólido, este suelo mostró porcentajes de desorción entre 22,0 a 15,7 %. Al analizar el estudio de desorción, se observa que tanto para los suelos Codigua, Ostolazas y Pomaire con y sin biosólido, las tasas de desorción son similares a la concentración ofrecida de 0,5 mg/L. Sin embargo, en todos los suelos, al producirse un aumento de la concentración adsorbida, las tasas de desorción disminuyeron cuando los suelos fueron tratados biosólidos. Esto se debería, a que al estar en presencia de biosólido, el aporte de materia orgánica de éste, produciría uniones más fuertes con el EE2. Junto con esto, el suelo de mayor desorción de EE2 fue el suelo Codigua sin y con biosólido. Esto se puede explicar por el bajo contenido de materia orgánica (0,79) por tanto el compuesto estaría débilmente unido en la superficie del suelo.

#### **5.9. Estudio de degradación de EE2 en los diferentes suelos con y sin la adición de biosólido**

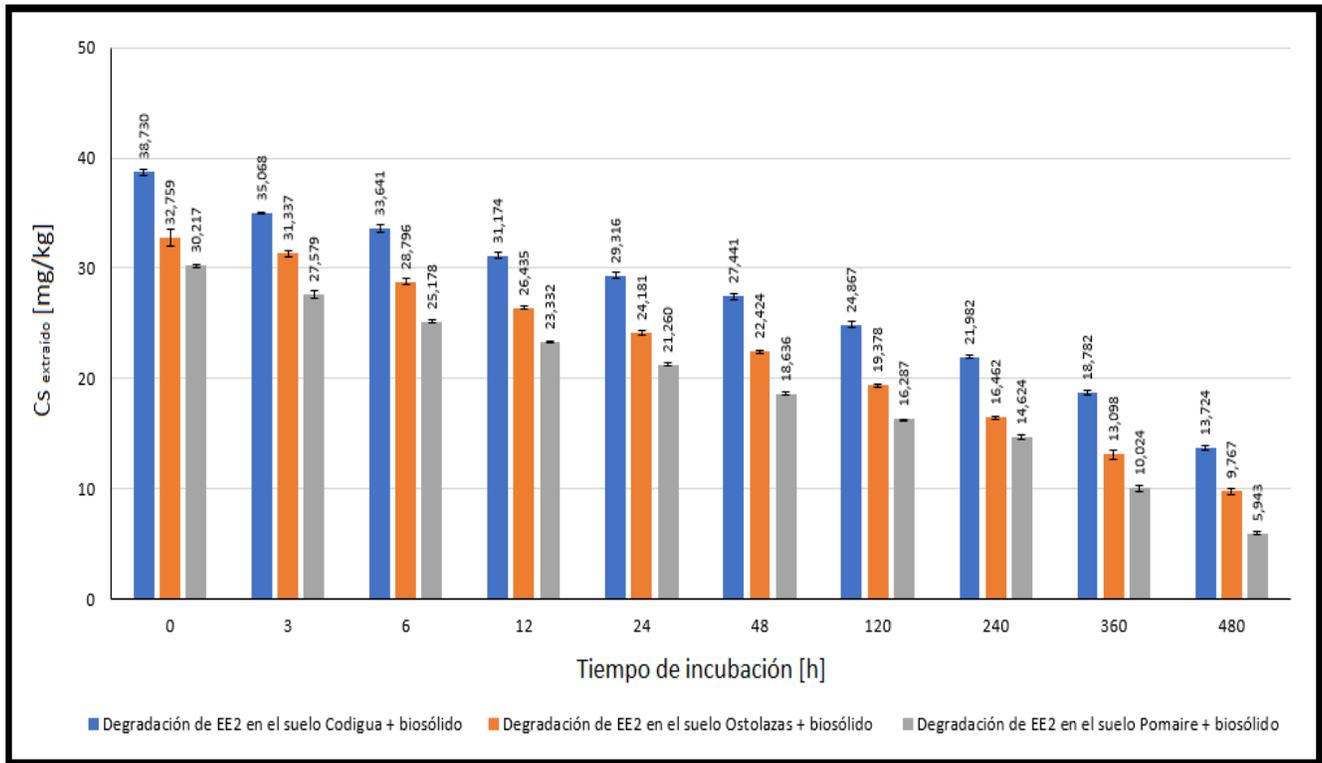
Las curvas de degradación de EE2 obtenidas en el estudio (Figuras 19 y 20), muestran una rápida degradación del compuesto, entre 0 y 120 hrs (0 a 5 días). Luego de este periodo, entre los 15 y 20 días de iniciado el proceso, la degradación del EE2 tiende a estabilizarse paulatinamente. Al diferenciar entre los suelos con y sin biosólido, podría existir una degradación más acentuada con la presencia del biosólido.

Las tasas de degradación de EE2 más altas, la presentan los suelos Ostolazas y Pomaire, este último con valores de 75,2 % y 80,3 % para el suelo y el enmendado con biosólido respectivamente, mientras que Ostolazas presentó una degradación de 67,1 % para

el suelo y 70,2 % para el suelo tratado con biosólido. El suelo Codigua fue el que presentó el menor grado de degradación de EE2 (61,1 %) y en presencia de biosólido 64,6 %. El decaimiento de la concentración del EE2, se pueden explicar por la degradación de este compuesto al estar en contacto con algunos agentes de la matriz del suelo. Se ha encontrado que un factor importante podría ser la presencia del dióxido de manganeso ( $MnO_2$ ), ya que es uno de los agentes oxidantes más fuertes que se puede encontrar en los suelos y oxida los esteroides a través de la deshidrogenación y la hidroxilación (Hang B, 2015). Por otra parte, la degradación de EE2 aumenta en presencia de biosólido y con una mayor fracción de arcillas en el suelo, lo que se debería a que el biosólido aportaría una mayor cantidad de microorganismos y nutrientes, provocando un incremento de la degradación de este compuesto (Xuan R y col, 2008).



**Figura 19.** Proceso de degradación de EE2 en los diferentes suelos del estudio.



**Figura 20.** Proceso de degradación de EE2 en los diferentes suelos con la adición de biosólido.

## VI. CONCLUSIONES

- Para la metodología de extracción de EE2 empleada en las diferentes matrices de suelo, se encontró porcentajes de recuperación cercanos del 100%, con valores de coeficientes de variación bajo el 5%.
- Se encontraron límites de detección (LD) de EE2 para el método, en las distintas matrices en rangos de 0,038 – 0,050 y límites de cuantificación (LC) de 0,127- 0,168 mg L<sup>-1</sup> respectivamente para los suelos con y sin biosólidos.
- La linealidad del método, se estableció en un rango de 0,25 – 8 mg L<sup>-1</sup> para todos los casos, en donde se obtuvieron coeficientes de correlación de 0,996 a 0,999.
- El tiempo de equilibrio para el proceso de adsorción de EE2 fue de 24 horas.
- En el estudio de adsorción de EE2 en el suelo Codigua con y sin biosólido, presentó isothermas de adsorción tipo C, en cambio el suelo Ostolazas tratado sin biosólido presentó una isoterma tipo S, similar al suelo Pomaire sin biosólido y cuando éste fue tratado con biosólido fue interpretado mejor a través de una isoterma de adsorción tipo L.
- Comparando el modelo de Freundlich y modelo el lineal para interpretar el estudio de adsorción de EE2, el primero ajusto mejor los datos obtenidos.
- Se utilizó el modelo de Freundlich para interpretar el estudio de adsorción de EE2 obteniéndose coeficientes de correlación de 0,9 para la mayoría de los suelos, en el caso del suelo Pomaire no se ajustó al modelo empleado.
- En general la adsorción de EE2 en los suelos incrementó con la incorporación de biosólido, lo cual correlacionó con una menor desorción de éste en los suelos tratados con biosólidos
- La desorción de EE2 fue menor en los suelos tratados con biosólidos.

- Se encontró una rápida degradación de EE2 en los primeros cinco días, sobre todo en aquellos suelos tratados con biosólidos. En general el orden de degradación en los suelos fue Pomaire >Ostolaza >Codigua.
- Se estima que en la degradación de EE2, la principal vía es por biodegradación por parte de los microorganismos y en presencia de sustratos que se encuentran en la materia orgánica del suelo. Las tasas de degradación aumentaban con la adición de biosólido y en suelos con mayores porcentajes de arcilla.
- Los resultados indican que la adsorción de  $17\alpha$ -Ethinilestradiol en el suelo aumentó con la aplicación de biosólido e influye positivamente en su degradación.

## VII. REFERENCIAS

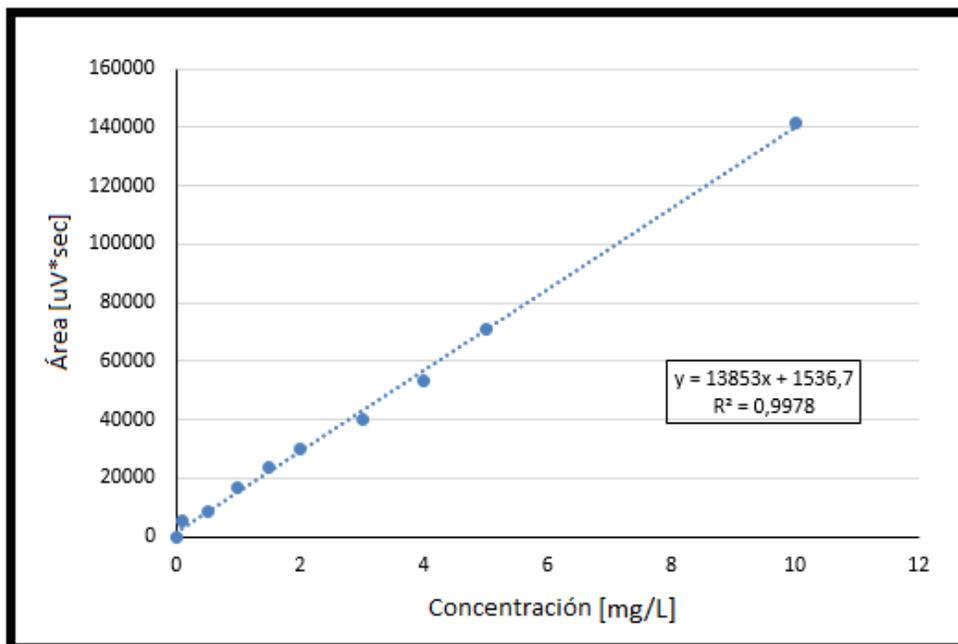
1. Adeel M.; Song X.; Wang Y.; Francis D.; Yang Y, 2016. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review. *Environment International*, volume 99, pages 107-119.
2. Aris A.; Shamsuddin A.; Praveena S. 2014. Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. *Environment International*, volume 69, pages 104-119.
3. Banat FA, Al-Bashir B, Al-Asheh S, Hayajneh O, 2000. Adsorption of phenol by bentonite. *Environ Pollut*, volume 107, pages 391–398.
4. “Cade-Idepe”, Consultores en ingeniería; Diagnostico y clasificación de los cursos y cuerpos de agua según objetivos de calidad. Direccion general de aguas, Ministerio de Obras Públicas, 2017. [en línea] <<http://portal.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2017/12/Informem metodologia.pdf>> [consulta: 28 de noviembre de 2018].
5. Calace N, Nardi E, Petronio BM, Pietroletti M, 2002. Adsorption of phenols by papermill sludges. *Environ Pollut*, volume 118, pages 315-319.
6. Cantarero R, Richter P, Brown S, Ascar L, Ahumada I, 2017. Effects of applying biosolids to soils on the adsorption and bioavailability of 17 $\alpha$  ethinylestradiol and triclosán in wheat plants. *Environ Sci Pollut*, volume 24, pages 12847–12859.
7. Chen W, Song L, Gan N, Li L, 2006. Sorption, degradation and mobility of microcystins in Chinese agriculture soils: risk assessment for ground water protection. *Environ Pollut*, volume 144, pages 752–758.
8. Epstein E. 2003. Land application of sewage sludge and biosolids. Lewis Publishers. CRC Press. Estados Unidos.
9. Fick J, Soderstrom H, Lindberg R. H, Phan C, Tysklind M, Joakim Larsson D. G. 2009. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. *Environmental Toxicology and Chemistry*, volume 28, pages 2522–2527.
10. Fisicoquímica avanzada. Dr. Víctor Manuel Rosas García, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Semestre de otoño 1999 [en línea] <<http://lqi.tripod.com/FQAv/syllab.htm>> [consulta: 25 y 26 de octubre de 2018].
11. Giles CH, Smith D, Huitson A, 1974. A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I: theoretical. *J Colloid Interf Sci*, volume 47, pages 755–765.
12. Gobierno de Chile., Superintendencia de servicios sanitarios (2017). Normativa y documentación de los sistemas de tratamientos de aguas servidas de Chile. Recuperado el 5 de agosto de 2017, desde: <http://www.siss.gob.cl/577/w3-channel.html/>
13. Goeppertab N., Drorb I., Berkowitz B., 2014 “Detection, fate and transport of estrogen family hormones in soil”. *Chemosphere*, volume 95, pages 336-345.
14. Han B., Zhang M., Zhao D., Feng Y., 2015. Degradation of aqueous and soil-sorbed estradiol using a new class of stabilized manganese oxide nanoparticles. *Water Research*, volume 70, pages 288 – 299.

15. Hildebrand C., Londry K.L., Farenhorst A. 2006. Sorption and desorption of three endocrine disrupters in soils. *Journal of Environmental Science and Health*, volume 41, pages 907–921.
16. Hinz C, 2001. Description of sorption data with isotherm equations. *Geoderma*, volume 99, pages 225–243.
17. Julca O. A., Meneses F. L., Blas S. R., 2006. Organic matter, importance, experiences and its role in agriculture. *IDESIA (Chile)* volumen 24, páginas 49-61.
18. Karnjanapiboonwong A, Morse A.N. 2010. Sorption of estrogens, triclosan, and caffeine in a sandy loam. *Journal Soils Sediments*, volume 10, pages 1300-1307.
19. Karnjanapiboonwong A, Suski J. G, Shah A. A, Cai Q, Morse A.N, Anderson T. A. 2010. Occurrence of PPCPs at a Wastewater Treatment Plant and in Soil and Groundwater at a Land Application Site. *Water Air Soil Pollution*, volume 216, pages 257–273.
20. Karnjanapiboonwong A, Chae D.A, Canas J.E, Jackson W.A, Maul J.D, Morse A.N, Anderson T.A. 2011. Uptake of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol and triclosan in pinto bean, *Phaseolus vulgaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, volume 74, pages 1336- 1342.
21. Kuster M., López de Alda M. J., Barceló D, 2004 “Analysis and distribution of estrogens and progestogens in sewage sludge, soils and sediments”. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, volume 23, pages 790-798.
22. Li J, Jiang L, Xiang X, Xu S, Wen R, Liu X, 2012. Competitive sorption between 17 $\alpha$ -ethinyl estradiol and bisphenol A /4-n-nonylphenol by soils. *Journal of Environmental Sciences*, volume 25, pages 1154–1163.
23. Li J, Jiang L, Liu X, Lv J, 2013. Adsorption and aerobic biodegradation of four selected endocrine disrupting chemicals in soil-water system. *International Biodeterioration & Biodegradation*, volume 76, pages 3-7.
24. Li J, Fu J, Xiang X, Wu M, Liu X, 2013. Kinetics, equilibrium, and mechanisms of sorption and desorption of 17 $\alpha$ -ethinyl estradiol in two natural soils and their organic fractions. *Science of the Total Environment*, volumes 452–453, pages 404–410.
25. Lima DLD, Calisto V, Esteves V, 2011. Adsorption behaviour of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol onto soils followed by fluorescence spectral deconvolution. *Chemosphere*, volume 84, pages 1072–1078.
26. Lima DLD, Schneider R, Esteves V, 2012. Sorption behavior of EE2 on soils subjected to different long-term organic amendments. *Science of the Total Environment*, volume 423, pages 120–124.
27. Mahamud M.M, Juan Carlos Gutiérrez Estrada, H. Sastre, 1996, “Biosólidos generados en la depuración de aguas. Métodos de tratamiento”. ISSN 1134-2196, volumen 3, páginas 45-54.
28. Mashtare M., Green D., Lee L., 2013 “Biotransformation of 17 $\alpha$ - and 17 $\beta$ -estradiol in aerobic soils”. *Chemosphere*, volume 90, pages 647-652.
29. McClellan K, Halden R.U. 2010. Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey. *Water Research*, volume 44, pages 658 – 668.
30. Moreno D. R. 1978. Clasificación de pH del suelo, contenido de sales y nutrientes asimilables. INIA-SARH. México D.F.

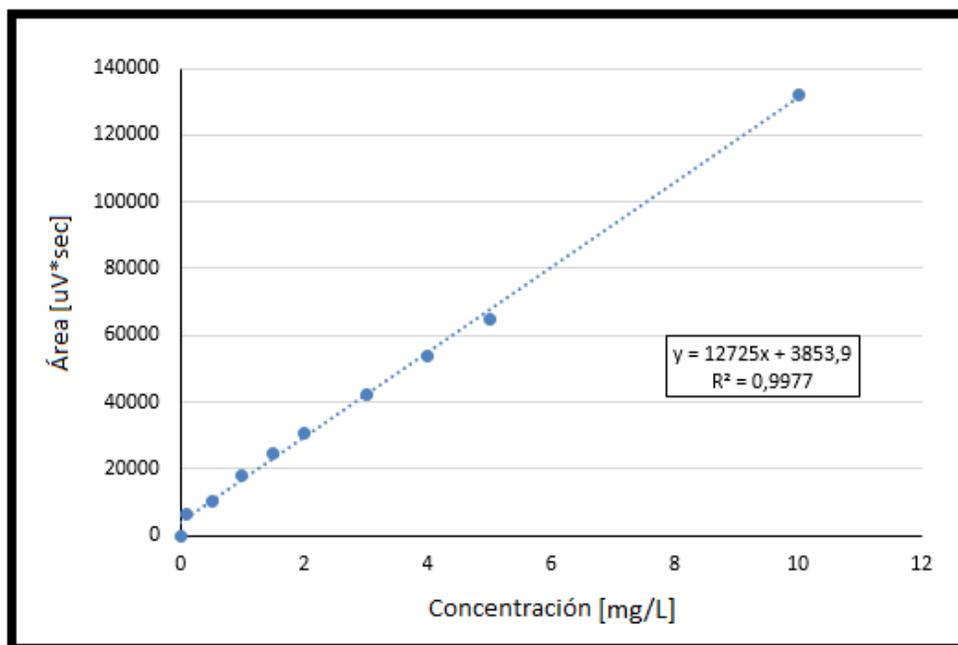
31. Pi N., Ng J.Z., Kelly B.C., 2017. Bioaccumulation of pharmaceutically active compounds and endocrine disrupting chemicals in aquatic macrophytes: Results of hydroponic experiments with *Echinodorus horemanii* and *Eichhornia crassipes*. *Science of The Total Environment*, volumes 601–602, pages 812-820.
32. Pillon A., Boussioux A., Escande A., 2005 “Binding of Estrogenic Compounds to Recombinant Estrogen Receptor- $\alpha$ : Application to Environmental Analysis”. *Environ Health Perspect*, volume 113, pages 278–284.
33. Fisicoquímica avanzada. Dr. Víctor Manuel Rosas García, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Semestre de otoño 1999 [en línea] <<http://lqi.tripod.com/FQAv/syllab.htm>> [consulta: 25 y 26 de octubre de 2018].
34. Requerimientos sobre Validación de Métodos en el marco de la Acreditación de Laboratorios según la norma ISO 17025. Lic. Pablo Alvarez, Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Gobierno de Argentina [en línea] <<https://www.inti.gob.ar/lacteos/pdf/seminario/apuntes.pdf>> [consulta: 12 y 13 de diciembre de 2018].
35. Rodríguez R.; Linares R.; Guadalupe E., 2009. Adsorption and desorption of hexavalent chromium in miners wastes., *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG*, volume 12, pages 108-117. UNMSM ISSN: 1561-0888.
36. Sadzawka A. Carrasco M.A, Grez R, Mora M, Flores H, Neaman A. 2006. Métodos de Análisis recomendados para suelos de Chile. Revisión 2006. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA - No 34.
37. Tamtam F, Mercier F, Le Bot B, Eurin J, TucDinh Q, Clement M, Chevreuil M. 2008. Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. *Science of the Total Environment*, volume 393, pages 84–95.
38. Ternes T.A, Kreckel P, Muller J. 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Science of the Total Environment*, volume 225, pages 91– 99.
39. USEPA. 1999. Biosolids generation in the United States. U.S. Environmental Protection Agency. Municipal and Industrial Solids Waste Division, Office of Solid Waste.
40. Verónica Gonzales Núñez, 2012. pH y equilibrios acido-base, departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Salamanca, España.
41. Wu C, Witter J.D, Sponberg A.L, Czajkowski K.P. 2009. Occurrence of selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin. *Water Research*, volume 43, pages 3407–3416.
42. Xin J, Liu X, Jiang L, Li M, 2012. BDE-47 sorption and desorption to soil matrix in single- and binary-solute systems. *Chemosphere*, volume 87, pages 477–482.
43. Xu J, Wu L, Chang AC, 2009. Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal careproducts (PPCPs) in agricultural soils. *Chemosphere*, volume 77, pages 1299–1305.
44. Xuan R, A. Blassengale, Wang Q, 2008. Degradation of Estrogenic Hormones in a Silt Loam Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, volume 56, pages 9152–9158.
45. Yu Y, Liu Y, Wu L, 2013. Sorption and degradation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in soils. *Environ. Sci Pollut*, volume 20, pages 4261–4267.

## VIII. ANEXO

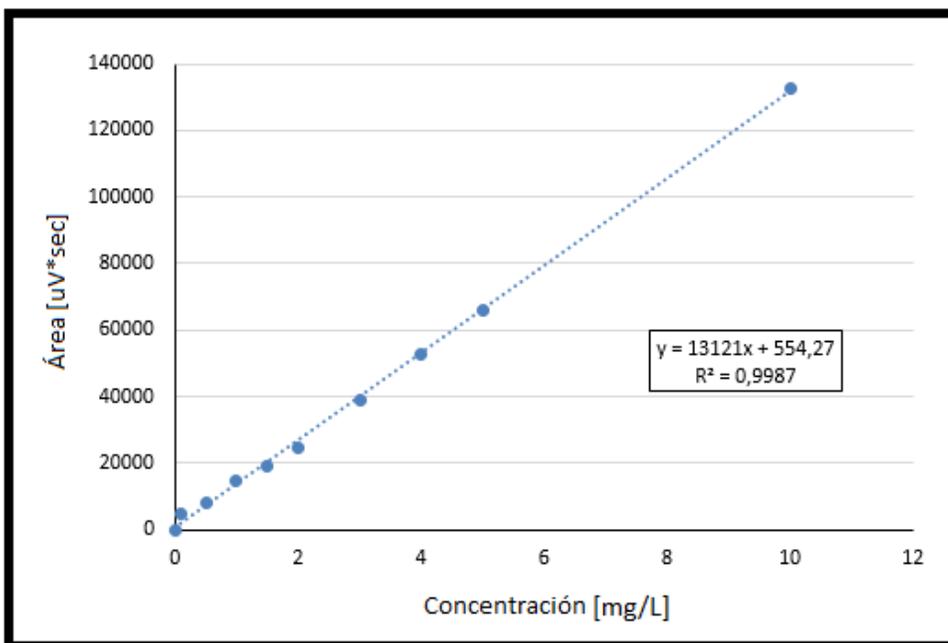
### 8.1. Estudio de tiempos de equilibrio en la adsorción de EE2 en diferentes suelos



**Figura 21.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua para un rango de concentración de 0,0 - 10,0 mg L<sup>-1</sup>.



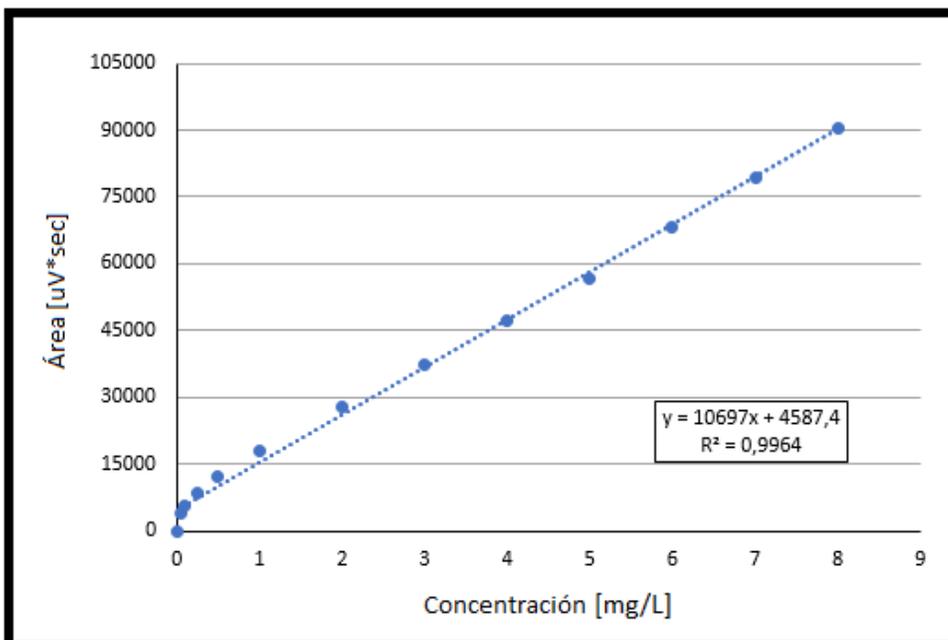
**Figura 22.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas para un rango de concentración de 0,0 - 10,0 mg L<sup>-1</sup>.



**Figura 23.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire para un rango de concentración de 0,0 - 10,0 mg L<sup>-1</sup>.

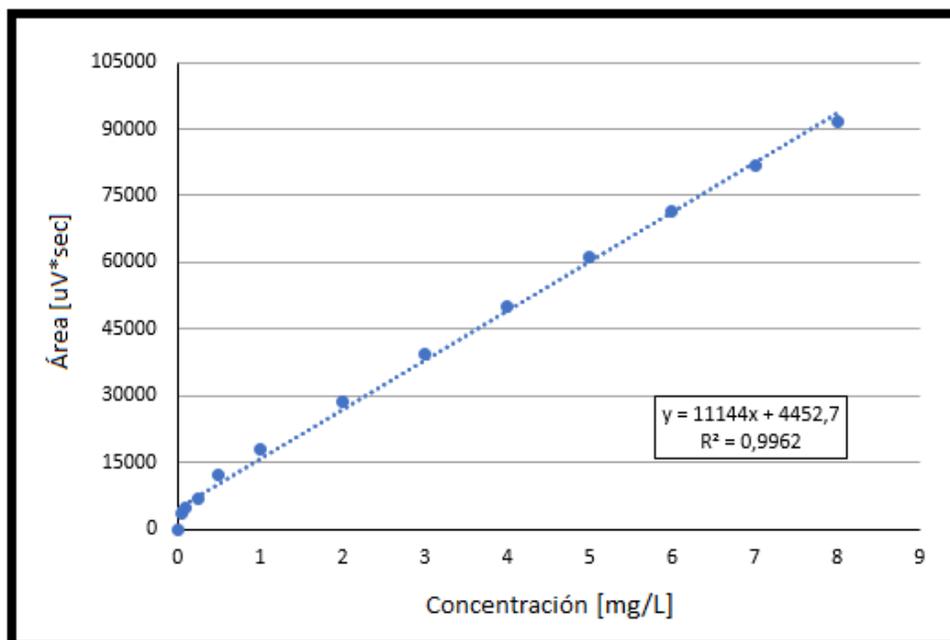
## 8.2. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en diferentes suelos

### 8.2.1. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Codigua



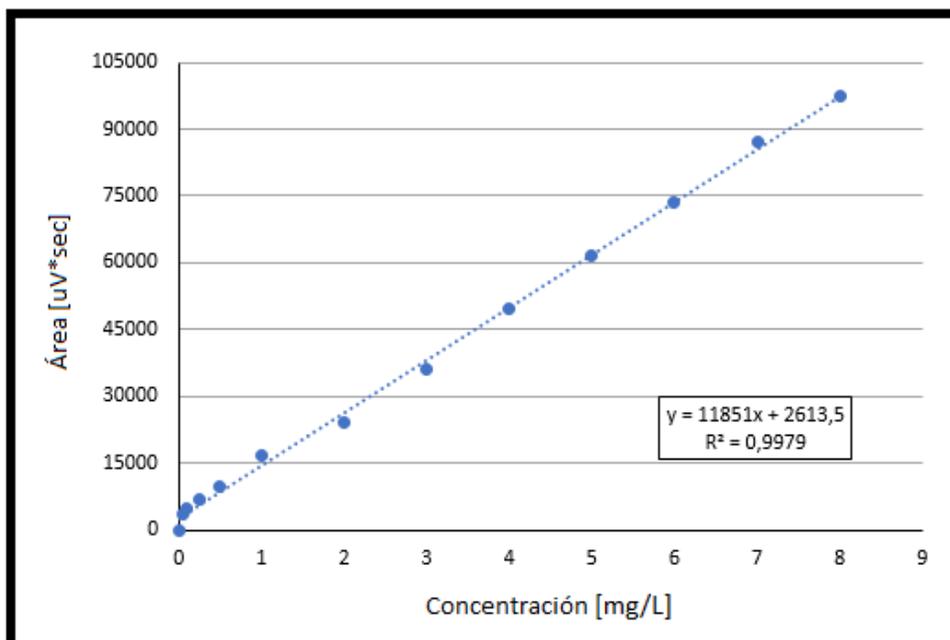
**Figura 24.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 8.2.2. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Codigua con la adición de biosólido



**Figura 25.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua con la adición de biosólido para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 8.2.3. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Ostolazas



**Figura 26.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L<sup>-1</sup>.

#### 8.2.4. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Ostolazas con la adición de biosólido

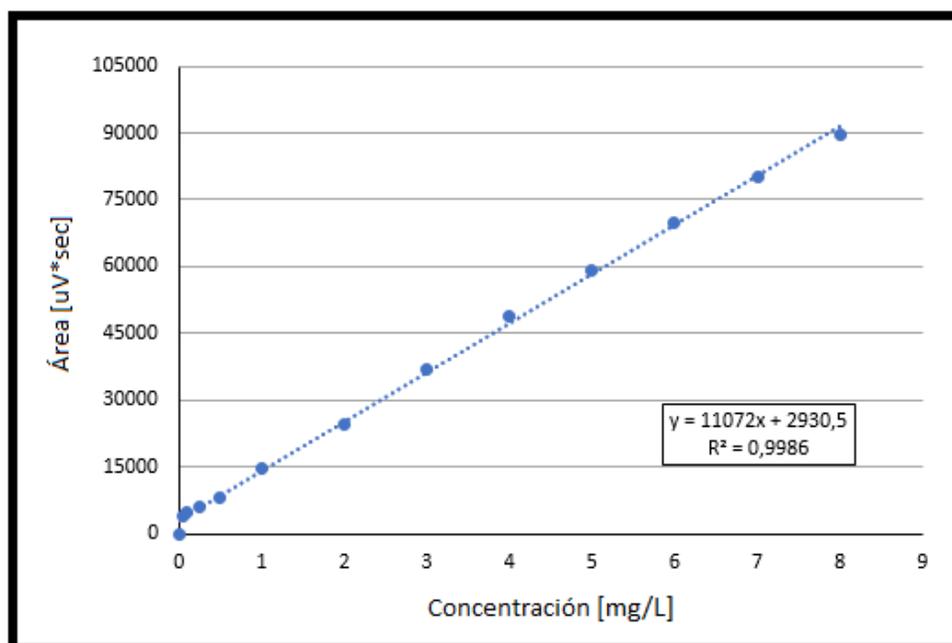


Figura 27. Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas con la adición de biosólido para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L<sup>-1</sup>.

#### 8.2.5. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Pomaire

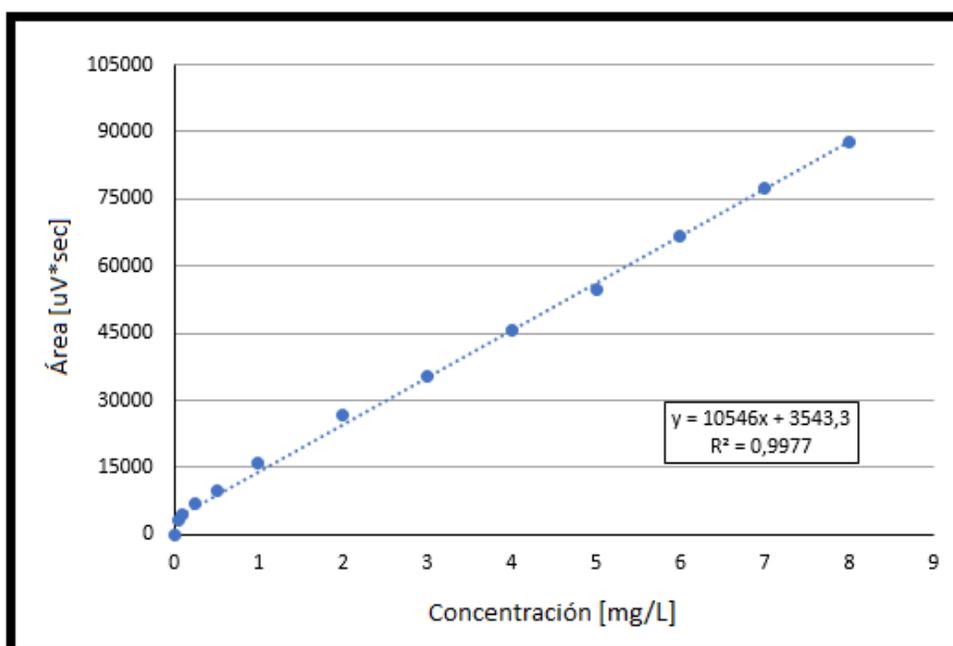


Figura 28. Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 8.2.6. Estudio de adsorción y desorción de EE2 en el suelo Pomaire con la adición de biosólido

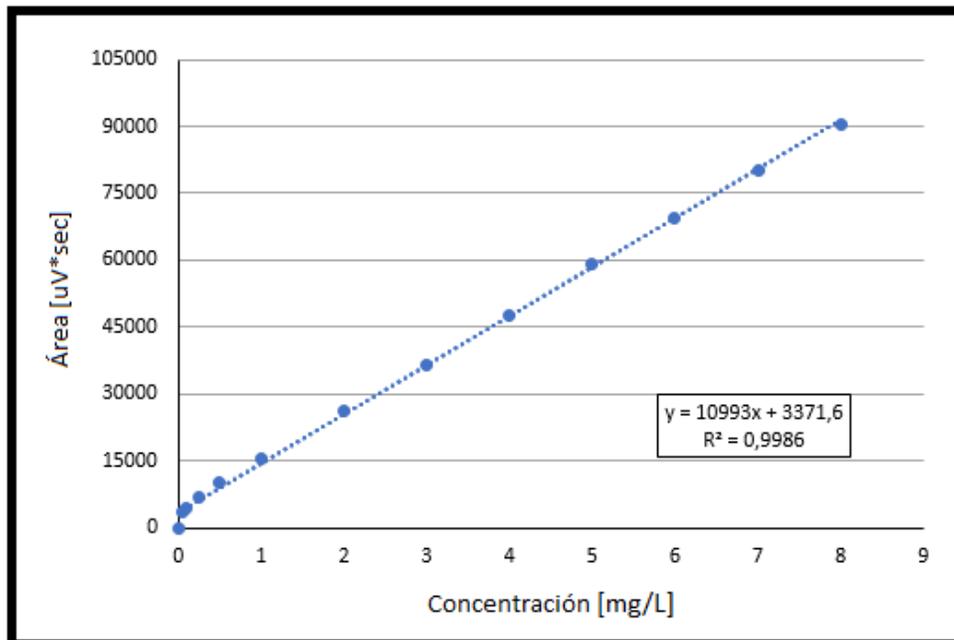


Figura 29. Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire con la adición de biosólido para un rango de concentración de 0,0 - 8,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 8.3. Estudio de degradación de EE2 en diferentes suelos

#### 8.3.1. Estudio de degradación de EE2 en el suelo Codigua con y sin biosólido

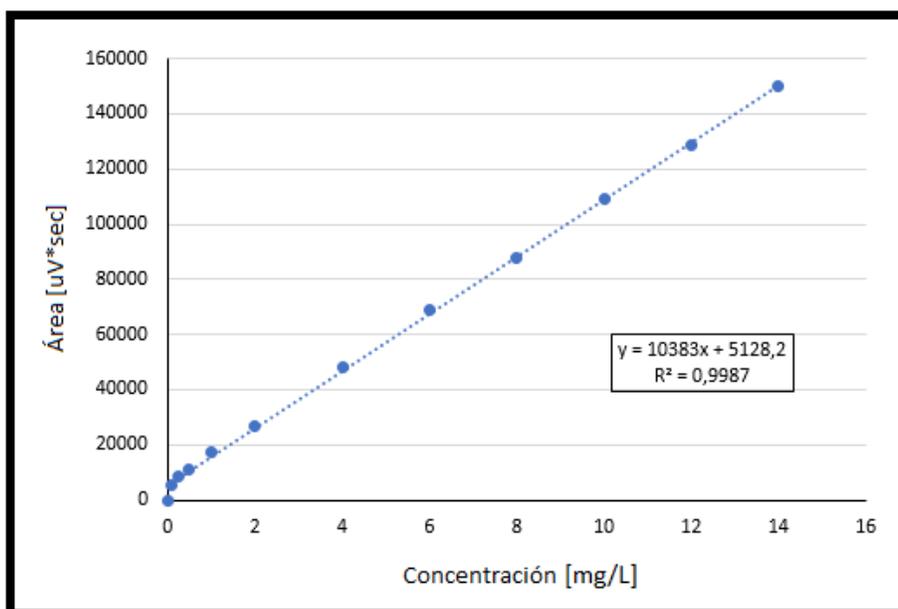
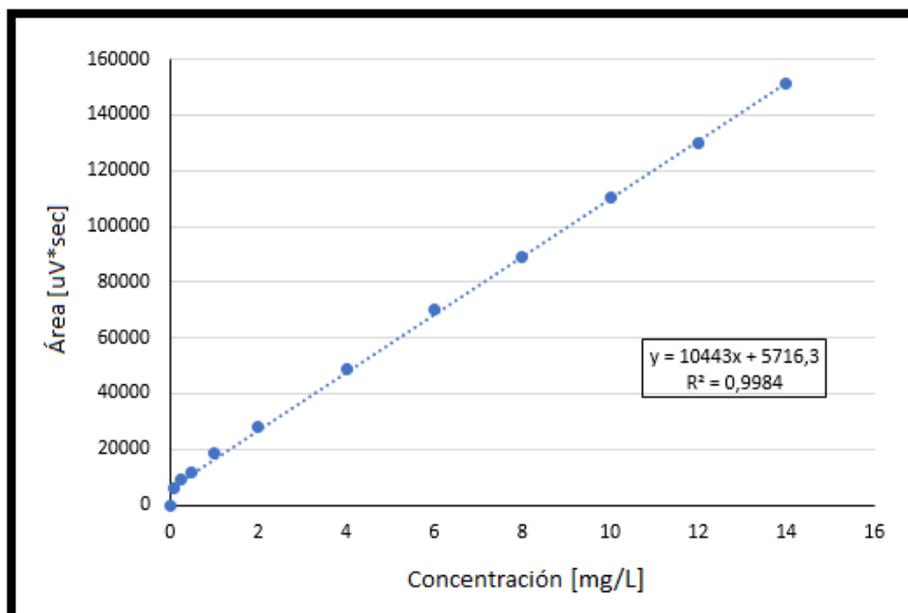


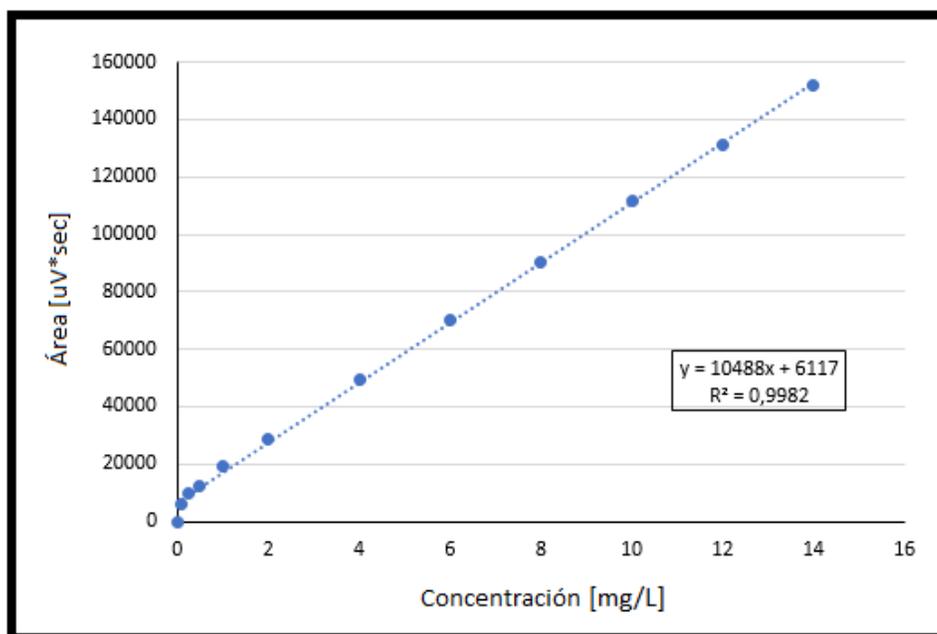
Figura 30. Curva de calibración de EE2 para el suelo Codigua para un rango de concentración de 0,0 - 14,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 8.3.2. Estudio de degradación de EE2 en el suelo Ostolazas con y sin biosólido



**Figura 31.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Ostolazas para un rango de concentración de 0,0 - 14,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 8.3.3. Estudio de degradación de EE2 en el suelo Pomaire con y sin biosólido



**Figura 32.** Curva de calibración de EE2 para el suelo Pomaire para un rango de concentración de 0,0 - 14,0 mg L<sup>-1</sup>.