

# UNIVERSIDAD DE CHILE

## FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



### *DESARROLLO DE UN MUESTREADOR PASIVO PARA MUESTREO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS.*

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Doctor en Química  
por:

## **INMACULADA CERRATO RUIZ**

**Directores de Tesis:**

DR. PABLO RICHTER

MG Q. INÉS AHUMADA

**Santiago-CHILE**

**Marzo 2021**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE DOCTORADO**

Se informa a la Dirección de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Doctorado en Química presentada por el candidato:

**INMACULADA CERRATO RUIZ**

*Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Química, en el examen privado rendido el día \_\_\_\_\_*

**Directores de Tesis:**

Dr. Pablo Richter \_\_\_\_\_

Mg Q. Inés Ahumada \_\_\_\_\_

**Comisión Evaluadora de Tesis:**

Dr. Alejandro Álvarez (presidente) \_\_\_\_\_

Dra. Claudia Mardones \_\_\_\_\_

Dra. Mónica Antilén \_\_\_\_\_

Dra. Carla Toledo \_\_\_\_\_

## AGRADECIMIENTOS

Y llegó tan ansiado momento, un proyecto que partió en primera instancia hace mucho tiempo y que lo retomé con fuerza hace 5 años. Nunca es tarde para luchar por los sueños. Sólo se necesita valentía, perseverancia y fe.

En primer lugar, agradecer a Dios por darme tantas y tantas bendiciones, con mi familia, con mi trabajo, con mi tesis, con la vida, con mis amigos.

Agradezco a mi familia, Ricardo mi gran amor y compañero, mis hijos Antonio y Pilar, mis amores, que me han animado en todo momento. Siempre he contado con su apoyo incondicional.

Agradezco a mis padres, Antonio y Carmen, todo un ejemplo de vida. A mis hermanos, Antonio Jesús, Raúl y Rafa que siempre creyeron en mí. Un cariño especial a mi hermano Raúl que estuvo pendiente de mi avance en todo momento.

A mi familia chilena y en especial a mis suegros Jano y Elisa, siempre me dieron fuerzas y todo su cariño y apoyo.

A mi amiga Conchita, que siempre me animó a que retomara este desafío que había dejado inconcluso hace tiempo atrás, por circunstancias mayores.

A mis amigas Rami, Ceci, Carlita, Vero, Julie, Beatriz y Merchi que siempre me dieron mucha fuerza y ánimo.

A mis profesores formadores en el área de Química Analítica, el profesor D. Miguel Valcárcel y al profesor D. Eduardo Schalscha. Grandes maestros.

Un especial agradecimiento a mis directores, profesores y amigos: profesora Doña Inés Ahumada y profesor D. Pablo Richter, ambos me dieron la oportunidad para cumplir mi sueño de doctorarme, me enseñaron y guiaron en este gran desafío. Grandes maestros y grandes personas. Mil gracias.

Un gran agradecimiento a todos los profesores de mi comisión, al presidente: profesor Alejandro Álvarez, a la profesora Claudia Mardones, a la profesora Mónica Antilén y a la profesora Carla Toledo, por todos sus consejos y recomendaciones para poder llevar a cabo el desarrollo de mi tesis de forma exitosa.

Un fuerte agradecimiento a los profesores del departamento de química Inorgánica y Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, en especial a la profesora Loreto y a la profesora Cristina, por la paciencia que emplearon en cada uno de mis ensayos de las diferentes presentaciones. También un afectuoso agradecimiento a los profesores del grupo de técnicas de laboratorio químico, profesores Patricio, Cristina, Jeanette, Maruja e Inés, excelente grupo profesional y humano. Como no, un fuerte agradecimiento a los profesores Claudio Olea y la profesora Carolina Zúñiga por darme siempre una palabra de ánimo.

Al laboratorio de Química Ambiental, lugar que ha pasado a ser mi segunda casa por todos estos años. A todos los compañeros del Laboratorio de Química Ambiental que me contagiaron siempre de su ánimo y por qué no decirlo, también de su juventud y alegría: Mercedes, Vanty, Ale y Felipe.

En especial un muy fuerte agradecimiento a Daniel y a Betsabé, siempre estuvieron para escucharme y ayudarme, excelentes personas y muy buenos profesionales y compañeros.

A la profesora Soledad Cárdenas y al profesor Rafael Lucena de la Universidad de Córdoba por recibirme en su grupo para mi estadía de investigación.

A la empresa Aguas Andinas por abrirme sus puertas y creer en mi proyecto.

A los proyectos Fondecyt n° 1150502, 1140716, 1180742 por su ayuda al financiamiento de esta tesis.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

**Título de Tesis:** *DESARROLLO DE UN MUESTREADOR PASIVO PARA MUESTREO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS.*

**Presentando por:** Inmaculada Cerrato Ruiz

**Resumen**

El estudio de contaminantes en aguas superficiales es de gran prioridad y relevancia a nivel mundial ya que son estas aguas la principal fuente de abastecimiento para consumo humano. Debido al amplio consumo de fármacos y productos de cuidado personal, las aguas residuales que llegan a las plantas de tratamiento contienen a estos estos compuestos a niveles de  $\mu\text{g/L}$ , los cuales no son retenidos en su totalidad en las plantas de tratamiento y consecuentemente los efluentes de éstas aún siguen conteniendo niveles de contaminantes emergentes que son vertidos a los cursos naturales. En las últimas décadas, el uso de técnicas de muestreo pasivo para el control de los contaminantes en diferentes matrices de agua se ha expandido drásticamente. Por ello el objetivo principal que se propone para esta tesis, es el desarrollo de un muestreador pasivo para la toma de muestra y preconcentración de un grupo de contaminantes emergentes: parabenos, hormonas, antiinflamatorios no esteroidales (AINES) y triclosán en aguas superficiales, con el fin, en primer lugar, de detectar su presencia y, en segundo lugar, estimar la fracción soluble promedio de estos compuestos en las aguas. Se examinaron diferentes fases sorbentes naturales y comerciales en el muestreador, concluyendo que las fases de corcho particulado y laminar son adecuadas para la sorción del grupo de compuestos en estudio, pero considerando el tiempo de molienda y de armado que se consume en la preparación de la fase particulada, es recomendable la elección de la fase sorbente de corcho laminar. También se estudió la elución de los contaminantes en estudio desde la fase sorbente de estos muestreadores. Se determinó que dos eluciones con una mezcla de solventes en una proporción de 75 % de metanol y 25 % de acetonitrilo eran suficientes para la desorción cuantitativa de los analitos desde la fase sorbente. Para poder implementar estos muestreadores en terreno, fue necesario obtener las tasas de muestreo ( $R_s$ ) para cada uno de los contaminantes emergentes en estudio. Se obtuvieron las tasas de muestreo ( $R_s$ ) para algunos compuestos en estudio en el laboratorio para la fase corcho laminar que varían entre  $0,620 \text{ Ldía}^{-1}$  para el etilparabeno y  $19,013 \text{ Ldía}^{-1}$  para estrona. Estos muestreadores desarrollados se podrán utilizar para detectar presencia de los analitos propuestos, independientemente si ha sido posible obtener las  $R_s$ . Para los compuestos que se ha podido obtener la  $R_s$ , además, se podrá extrapolar la concentración retenida en la fase sorbente a la concentración promedio en el agua. Estos muestreadores fueron aplicados en dos muestreos realizados antes y después de la planta de tratamiento El Trebal (Aguas Andinas), en primavera de 2018 y en invierno de 2019. En ambos casos, los resultados obtenidos con el muestreo pasivo se compararon con los resultados obtenidos a través de un muestreo convencional con muestreador automático en los mismos puntos de muestreo, en forma

simultánea. Además, en el muestreo realizado en invierno de 2019, se incluyeron dos puntos adicionales, uno aguas arriba de la planta y otro aguas abajo de la planta. En ambos casos, al no poseer muestreador automático, los resultados del muestreo pasivo se compararon con los resultados generados a través de un muestreo puntual. En este último muestreo desarrollado en invierno del 2019 también se enriquecieron previamente las fases de corcho laminar con estándares isotópicos marcados, de tres contaminantes, estrona, etilparabeno y triclosán, con el fin de establecer si era necesario corregir las Rs de laboratorio. Teniendo en cuenta que las condiciones hidrodinámicas del río influyen significativamente en el muestreo pasivo, estas Rs podrían variar respecto de las mismas determinadas en el laboratorio. Se logró obtener para el triclosán, la Rs in situ en el efluente para el muestreo de Julio de 2019.

### **Abstract**

The study of pollutants in surface waters is of high priority and relevance worldwide since these surface waters are the main source of water supply for human consumption. Due to the wide consumption of drugs and personal care products, the wastewater that reaches the water treatment plants contains these compounds at levels of  $\mu\text{g/L}$ , which are not fully retained in the treatment plants consequently, the effluents from these continue to contain levels of emerging pollutants that are discharged into natural courses. In the last decades, the use of passive sampling techniques for the control of contaminants in different water matrices has expanded dramatically. For this reason, the main objective proposed for this thesis is the development of a passive sampler for sampling and pre-concentration of a group of emerging pollutants: parabens, hormones, NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drugs) and triclosan in surface waters, with the purpose, firstly, of detecting their presence and, secondly, estimating the average soluble fraction of these compounds in the waters. Different natural and commercial sorbent phases were examined, concluding that the particulate and sheet cork phases are suitable for the sorption of the group of compounds under study, but considering the grinding and assembly time that is consumed in the preparation of the particulate phase, the choice of the laminar cork sorbent phase is recommended. The elution of the pollutants under study from the sorbent phase of these samplers was also studied. It was found that, to carry out the desorption of the analytes from the sorbent phase, it was necessary to carry out two elution with a mixture of solvents in a proportion of 75% methanol and 25% acetonitrile. In order to implement these samplers in the field, the sampling rates (Rs) of these must be obtained for each of the emerging pollutants under study. Sampling rates (Rs) were obtained for some compounds under study in the laboratory for the sheet cork phase that vary between  $0.620 \text{ Lday}^{-1}$  for ethyl paraben and  $19.013 \text{ Lday}^{-1}$  for estrone. These developed samplers can be used to detect the presence (or average concentration retained in the sampler) of those compounds that it has not been possible to obtain the Rs as well as those compounds that have been able to obtain the Rs. For those who have been able to obtain the Rs, in addition, this concentration retained in the sorbent phase can be extrapolated to the average concentration in the water. These samplers have been applied in two samplings carried out before and after the Trebal (Aguas Andinas) treatment plant, in spring 2018 and in winter 2019. In both cases, the results obtained with passive sampling were compared with the results

obtained through a conventional sampling with automatic sampler at the same sampling points, simultaneously. In addition, in the sampling carried out in winter 2019, two additional points were included, one upstream of the plant and the other downstream of the plant. In both cases, as they did not have an automatic sampler, the results of passive sampling were compared with the results generated through a point sampling. In this last sampling carried out in winter 2019, the sheet cork phases were also previously enriched with marked isotopic standards, of three contaminants, estrone, ethyl paraben and triclosan, in order to establish if it was necessary to correct the laboratory Rs. Considering that the hydrodynamic conditions of the river significantly influence passive sampling, these Rs could vary with respect to those determined in the laboratory. It was possible to obtain for triclosan, the Rs in situ in the effluent for the July 2019 sampling.

## INDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.	1
ÍNDICE DE FIGURAS.	3
ÍNDICE DE TABLAS.	6
ABREVIATURAS.	7
1. INTRODUCCIÓN.	8
1.1. Características y efectos de cada uno de los contaminantes emergentes.	13
1.1.1. Parabenos.	13
1.1.2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES).	15
1.1.3. Hormonas.	17
1.1.4. Triclosán.	19
1.2. Muestreadores pasivos. Fundamentos.	20
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	28
2.1. Hipótesis.	28
2.2. Objetivo general.	28
2.3. Objetivos específicos.	28
3. INSTRUMENTACIÓN, REACTIVOS Y METODOLOGÍA.	29
3.1. Diseñar y desarrollar un muestreador pasivo para contaminantes emergentes en aguas, probando con diferentes fases sorbentes.	30
3.1.1. Desarrollo del muestreador pasivo.	30
3.1.2. Elección de la fase sorbente.	31
3.1.3. Localización de los muestreadores.	34
3.2. Metodología de elución.	36
3.3. Metodología de derivatización.	37
3.4. Condiciones del GC-MS	37
3.5. Metodología analítica para la determinación de los contaminantes en el eluato de la fase sorbente de muestreador pasivo y en las aguas.	39
3.6. Estimación de las constantes $R_s$ (tasas de muestreo) de los muestreadores en laboratorio.	40
3.7. Calibración cinética. Simetría de desorción y absorción.	41
3.8. Desarrollo de experimentos de correlación entre la concentración en solución y la retención de los analitos en el muestreador.	42
3.9. Validación en terreno. Comparación con un muestreador automático o con muestreo puntual. Muestreo de aguas.	42
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	45
4.1 Resultados para la metodología de aguas	41

4.2. Estudio de elución.	48
4.3. Elección de la fase.	51
4.3.1. Caracterización de la fase sorbente.	56
4.4. Pseudocalibración del muestreador y obtención de las Rs en laboratorio	61
4.5. Resultados de calibración cinética. Isotropía.	67
4.6. Correlación entre la concentración de los analitos en solución y la retención de los analitos en el muestreador.	69
4.7. Resultados de muestras reales.	71
4.7.1. Coordinación con Aguas Andinas.	71
4.7.2. Determinación de los analitos en muestras de aguas para el muestreo de Sep-2018.	71
4.7.3. Determinación de los analitos en muestras de aguas, en temporada de invierno, Jul-2019. Calibración in situ. Corrección in situ.	76
5. CONCLUSIONES.	80
PLAN DE TRABAJO.	81
BIBLIOGRAFIA.	82

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de tratamientos de depuración en las PTAS de Chile.	10
Figura 2. Número de trabajos publicados en el siguiente tópico: “passive sampling in water” (de acuerdo con la base de datos de Web of Science, entre Enero 1999 y Diciembre 2020).	11
Figura 3. Esquema que indica posibles fuentes y destino de los contaminantes emergentes.	12
Figura 4. Esquema visual sobre la trazabilidad de los contaminantes emergentes.	13
Figura 5. Estructura molecular de los parabenos.	13
Figura 6. Estructura molecular de los antiinflamatorios.	16
Figura 7. Estructura molecular de las hormonas E1, E2 y E3.	17
Figura 8. Estructura molecular de la hormona EE2.	17
Figura 9. Estructura molecular del triclosán.	19
Figura 10. Regímenes de trabajo de los muestreadores pasivos.	20
Figura 11. Esquema general de los muestreadores pasivos.	21
Figura 12. Estructura molecular de la Polietersulfona (PES).	21
Figura 13. Imagen del muestreador POCIS.	22
Figura 14. Esquema general de armado de un muestreador POCIS.	22
Figura 15. Montaje de muestreadores antes de ser sumergidos en soluciones enriquecidas con los analitos en estudio y con agitación vertical para la estimación de las Rs en laboratorio.	26
Figura 16. Fotografías del cuerpo del muestreador pasivo desarrollado en este estudio.	30
Figura 17. Dibujo del muestreador de teflón desarrollado con fase corcho laminar.	31
Figura 18. Membranas comerciales de polietersulfona utilizadas en el muestreador pasivo.	31
Figura 19. Elementos contenidos en el muestreador pasivo de este estudio (TPS) y el POCIS.	31
Figura 20. Muestreador pasivo armada con PES en su interior.	32
Figura 21. Muestreador pasivo y las fases corcho molido y laminar.	32
Figura 22. Agitador vertical utilizado para el estudio.	33
Figura 23. Set de 4 muestreadores sumergidos en agitación.	33
Figura 24. Diagrama que esquematiza el procedimiento para la selección de la fase sorbente.	34
Figura 25. Fotografía Cuenca Maipo Mapocho, antes de la planta el Trebal.	35
Figura 26. Fotografía Cuenca Maipo Mapocho, después de la planta el Trebal.	36
Figura 27. Mapa de los puntos de muestreo.	
Figura 28. Esquema de la metodología desarrollada para la determinación de los contaminantes en estudio, tanto en aguas como en el eluato de la fase sorbente.	39
Figura 29. Esquema del montaje empleado para realizar el enriquecimiento de la fase con los compuestos marcados.	41

Figura 30. Fotografía del muestreador automático, localizado en la arqueta de salida de la planta el Trebal (efluente).	43
Figura 31. Muestreadores colocados en una canastilla de acero para su disposición y muestreo.	44
Figura 32. a) Fotografía colocando el muestreador en el Río Mapocho, sector Canoa; b) Fotografía de canasta con los muestreadores pasivos, después de 24 horas de muestreo, sector Puente Esperanza.	44
Figura 33. Cromatograma SIM de todos los analitos a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .	48
Figura 34. Elución de todos los analitos excepto E1, con diferentes porcentajes de mezclas de metanol y acetonitrilo.	49
Figura 35. Elución de E1 con diferentes porcentajes de mezclas de metanol y acetonitrilo.	49
Figura 36. Optimización del número de eluciones para todos los analitos menos E1.	50
Figura 37. Optimización del número de eluciones para E1.	50
Figura 38. Cromatograma con evaporación a sequedad del total de los 40mL de eluato obtenidos después de la elución.	53
Figura 39. Cromatograma con evaporación a sequedad de los 500 $\mu\text{L}$ de eluato del total de los 40 mL.	54
Figura 40. Comparación de la extracción entre los muestreadores armados con fase laminar de corcho molida y fase laminar de corcho sin moler, con sus áreas normalizadas con estándar interno.	54
Figura 41. Comparación de eluato de corcho sometido a una (A) y dos etapas (B) previas de limpieza.	55
Figura 42. Espectro IR de la fase corcho laminar molido.	56
Figura 43. Espectro IR de la fase de corcho laminar.	57
Figura 44. Imágenes de Fluorescencia de un estudio transversal de la muestra de corcho laminar. a) A $\lambda$ exc 405nm, máximo de fluorescencia. b) Representación tridimensional del corte transversal con profundidad de 40 $\mu\text{m}$ .	58
Figura 45. Imágenes de análisis multivariado de una microzona de la fase de corcho laminar (106.94 x 94.98 mm) realizadas con MCR-ALS: Mapeos de concentración relativa de MCR Componente 1 (a), MCR Componente 2 (b), and MCR Componente 3 (c). Espectro de emisión de cada componente puro (d).	58
Figura 46. Fotografía por microscopía electrónica de la fase corcho laminar utilizada a escala 500 $\mu\text{m}$ .	59
Figura 47. Fotografía por microscopía electrónica de la fase corcho laminar a escala 200 $\mu\text{m}$ .	59
Figura 48. Fotografía por microscopía electrónica de la fase corcho laminar a escala 50 $\mu\text{m}$ .	60
Figura 49. Fotografía por microscopía electrónica de la fase corcho laminar a escala 10 $\mu\text{m}$ .	60
Figura 50. Curva de depleción para el butilparabeno con muestreador con fase C18.	61

Figura 51. Curvas de depleción para el ibuprofeno con muestreador con fase C18.	61
Figura 52. Gráfico para obtener la Rs del butilparabeno con muestreador con fase C18	62
Figura 53. Gráfico para obtener la Rs del ibuprofeno con muestreador con fase C18.	62
Figura 54. Curva de depleción para E1 con muestreador con fase corcho laminar.	63
Figura 55. Curva de depleción para triclosán con muestreador con fase corcho laminar.	63
Figura 56. Obtención de la Rs de E1 con muestreador con fase corcho laminar.	64
Figura 57. Obtención de la Rs de triclosán con muestreador con fase corcho laminar.	63
Figura 58. Curvas de desorción y sorción para etilparabeno a 10 $\mu\text{gL}^{-1}$ .	67
Figura 59. Curvas de desorción y sorción del etilparabeno a 20 $\mu\text{gL}^{-1}$ .	67
Figura 60. Curvas de desorción y sorción para estrona. E1.	68
Figura 61. Curvas de desorción y sorción para triclosán.	68
Figura 62. Relación entre la concentración en la solución y la retención de etilparabeno en el muestreador con dos días de exposición.	69
Figura 63. Relación entre la concentración en la solución y la retención de estrona en el muestreador con dos días de exposición.	70
Figura 64. Relación entre la concentración en la solución y la retención de triclosán en el muestreador con dos días de exposición.	71
Figura 65. Comparación entre muestreo pasivo y muestreo con muestreador automático.	75

## INDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Características de los parabenos en estudio.	14
Tabla 2. Características de los antiinflamatorios en estudio.	15
Tabla 3. Características de las hormonas en estudio.	17
Tabla 4. Características del triclosán.	18
Tabla 5. Rampa de calentamiento del GC	37
Tabla 6. Condiciones del método GC-MS optimizado.	38
Tabla 7. Tiempos de retención de los analitos y sus iones cuantificador e identificador.	46
Tabla 8. Cifras de mérito de la metodología desarrollada.	47
Tabla 9. Comparación de la extracción de los analitos de las diferentes fases en estudio. Áreas normalizadas de cada analito.	52
Tabla 10. Rs (Ldía-1 ) para los diferentes analitos en diferentes fases obtenidos en el laboratorio y sus valores encontrados en la bibliografía para otros muestreadores.	65
Tabla 11. Concentraciones de los analitos en la muestra compuesta de 24 horas tomadas por el muestreador automático. Muestreo 2018.	72
Tabla 12. Concentraciones de los analitos en el eluato de la fase sorbente del muestreador pasivo expuesto durante 24 horas. Muestreo 2018.	73
Tabla 13. Concentraciones promedio de los analitos en las muestras de agua tomadas por el muestreador pasivo durante 24 horas, teniendo en cuenta Rs. Muestreo 2018.	74
Tabla 14. Comparación de la concentración de los analitos obtenidos a través del muestreo del muestreador automático y del muestreador pasivo durante 24 horas haciendo la corrección con las Rs. Muestreo 2018.	74
Tabla 15. Concentración de los analitos con muestra compuesta o puntual. Muestreo 2019.	76
Tabla 16. Concentración de los analitos en el eluato de la fase sorbente en muestreadores pasivos expuestos durante 24 horas con fase corcho laminar. Muestreo 2019.	77
Tabla 17. Concentraciones promedio de los analitos en muestras de agua tomadas por el muestreador pasivo durante 24 horas teniendo en cuenta Rs.	78

## **ABREVIATURAS**

CE: Órgano ejecutivo y legislativo de la UE.

Rs: Tasas de muestreo.

AINES: Antiinflamatorios no esteroidales.

ng: nano gramo

µg: microgramo

PTAS: Plantas de tratamiento de aguas.

SISS: Superintendencia de Servicios Sanitarios de Chile.

HPLC: High Performance liquid Cromatography o Cromatografía líquida de alta resolución

GC: Cromatografía de gases.

MP: Metilparabeno

EP: Etilparabeno

PP: Propilparabeno

BP: Butilparabeno

E2: 17β-estradiol

E3: Estriol

E1: Estrona

EE2: Etinilestradiol

TCS: Triclosan

POCIS: Polar Organic Chemical Integrative Sampler o muestreadores integradores para compuestos orgánicos polares.

WBL: Water Boundary Layer o capa de agua enlazada.

PRC: Compuestos de Referencia.

PES: Membrana de Polietersulfona.

RSDE: Extracción por disco rotatorio.

ppb: partes por billón.

rpm: revoluciones por minuto.

Mesh: número de luces de mallas dentro de una pulgada inglesa (25,4mm), unidad utilizada para ver la finura de un sólido.

MEOH: Metanol

ACN: Acetonitrilo.

EI: Impacto Electrónico.

SIM: Selected Ion Monitoring

MTSFA: N- Metil-N-(trimetilsilil) trifluoracetamida.

PCB: Bifenilo clorado.

FTIR: Espectroscopía infrarroja con transformadas de Fourier

CEPEDEQ: Centro para el desarrollo de la Química.

TWA: concentración media ponderada en el tiempo

## 1.INTRODUCCIÓN.

Según la directiva publicada en el Diario oficial de la Unión Europea, “la contaminación química de las aguas superficiales representa una amenaza al medio acuático, con efectos tales como toxicidad aguda y crónica de organismos acuáticos, acumulación de contaminantes en el ecosistema y pérdida de hábitats y de biodiversidad, y también supone una amenaza para la salud humana” [1].

Los contaminantes emergentes se pueden definir como compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el medio ambiente no se considera significativa en término de distribución, aunque se consideran dañinos por su impacto ecológico y efectos adversos para la salud [2].

Los cuerpos de agua pueden ser a la vez fuente y sumidero de compuestos orgánicos polares y solubles en agua, estos compuestos pueden ser retenidos por suelos y/o sedimentos [3]. Entran al ecosistema o al medioambiente a través de diferentes fuentes u orígenes: aguas residuales (domésticas o industriales), residuos de plantas de tratamientos de aguas, efluentes hospitalarios, actividades agrícolas o ganaderas, tanques sépticos, lixiviados de vertederos entre otros [2].

Dentro de los contaminantes emergentes se incluyen una amplia gama de compuestos químicos. Desde pesticidas, plaguicidas, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, agentes tensioactivos, plastificantes, aditivos industriales, hormonas naturales y/o sintéticas, nanopartículas, retardantes de llama, etc [2].

Estos compuestos aparecen en concentraciones muy bajas en aguas superficiales y subterráneas, por ello muchas veces para poderlos medir, debe incluirse una etapa preconcentración, previa a la detección y posterior cuantificación. Aunque sean concentraciones bajas ( $\text{ngL}^{-1}$  y  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) los riesgos que existen con este grupo amplio de compuestos son importantes, ya que pueden ser bioacumulables y por otro lado también resulta peligroso el hecho de que puedan interactuar entre ellos y/o con sus metabolitos, magnificándose la peligrosidad.

En líneas generales los efectos de la contaminación química de las aguas superficiales y/o subterráneas se pueden resumir como [4]:

1. Acción tóxica y cancerígena.
2. Incidencia en la producción alimentaria.
3. Limitación del uso del agua con fines recreativos.
4. Reducción de las posibilidades de su uso industrial y agropecuario.

En el caso de Chile, las normativas y legislación sobre estos contaminantes emergentes está en desarrollo y por tanto no existe la exigencia de que sean eliminados en las plantas de tratamiento de aguas.

En la actualidad en Chile están operativas 297 plantas de tratamiento de aguas (PTAS), según la Superintendencia de Servicios Sanitarios de Chile. (SISS).

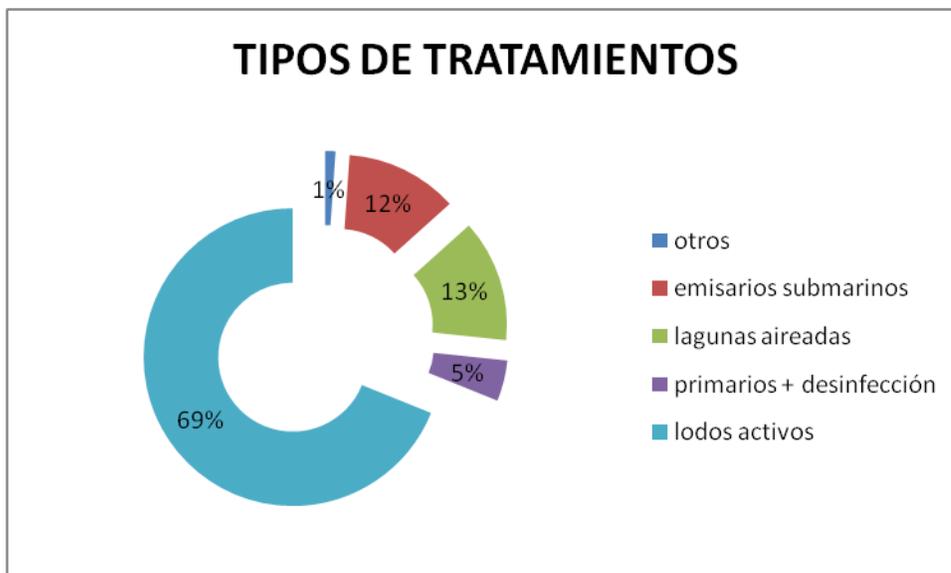


Figura 1. Tipos de tratamientos de depuración en las PTAS de Chile.

Como vemos en la Figura 1, los tratamientos que se encuentran descritos e informados por las PTAS son generales y no específicos para contaminantes emergentes. Al no tener tratamientos específicos para retener y/o eliminar estos contaminantes, las aguas efluentes de estas plantas de tratamiento de aguas podrían contener contaminantes emergentes [5]. Estas aguas tratadas en la mayoría de los casos son vertidas a canales de regadío o a los cursos fluviales.

Aunque estos contaminantes están presentes a muy bajas concentraciones ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), debido a su bioacumulación, es necesario hacer un estudio de estos, tanto en aguas como en las plantas de la zona ( $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) [6].

En diferentes áreas de investigación de la química analítica se han ido introduciendo prácticas amigables con el medio ambiente, verdes o ecológicas, debido a su ingerencia en la salud y el medio ambiente [7,8]. El muestreo pasivo cumple con varias condiciones como para denominarlo amigable con el medio ambiente, pues minimiza el tamaño y número de las muestras, también podríamos decir que ayuda a reducir los tratamientos de las muestras, al ser pasivo no utiliza energía externa para su uso. Por otro lado, la posibilidad de utilizar métodos de multideterminación de grupos de analitos ayuda a reducir consumos de reactivos químicos y genera menos desechos.

La directiva marco europea del agua, basa su programa de monitoreo obligatorio en estrategias de toma de muestra puntual, pero recomienda el uso de muestreadores pasivos como un método complementario para mejorar la calidad de la evaluación cuando se espera una gran variación

temporal o fluctuaciones continuas de las fuentes contaminantes. La Comisión Europea también subraya la necesidad de una mayor investigación y validación antes del uso de métodos de muestreo pasivo para verificar su cumplimiento [1].

Debido a que los contaminantes emergentes se encuentran en bajas concentraciones, se requieren metodologías muy sensibles para su detección y cuantificación. De esta manera la elección de los métodos adecuados de preconcentración y la técnica analítica sensible es crucial para obtener resultados satisfactorios. Teniendo en cuenta estas consideraciones, el muestreo pasivo presenta una ventaja destacable, pues combina el muestreo y la preconcentración en una sola etapa, por ello cuando se disponen en terreno, se dejan por un periodo considerable de tiempo para así lograr acumular contaminantes [9]. Si combinamos esta característica del muestreo pasivo con una técnica analítica sensible como cromatografías HPLC o GC con detector masas sería una buena combinación para conseguir nuestros objetivos.

Históricamente los muestreadores pasivos en aguas se empezaron a utilizar con contaminantes inorgánicos [10]. A continuación, se muestra una figura donde aparece el número de publicaciones de muestreadores en aguas desde 1999 hasta el 2020 [11].

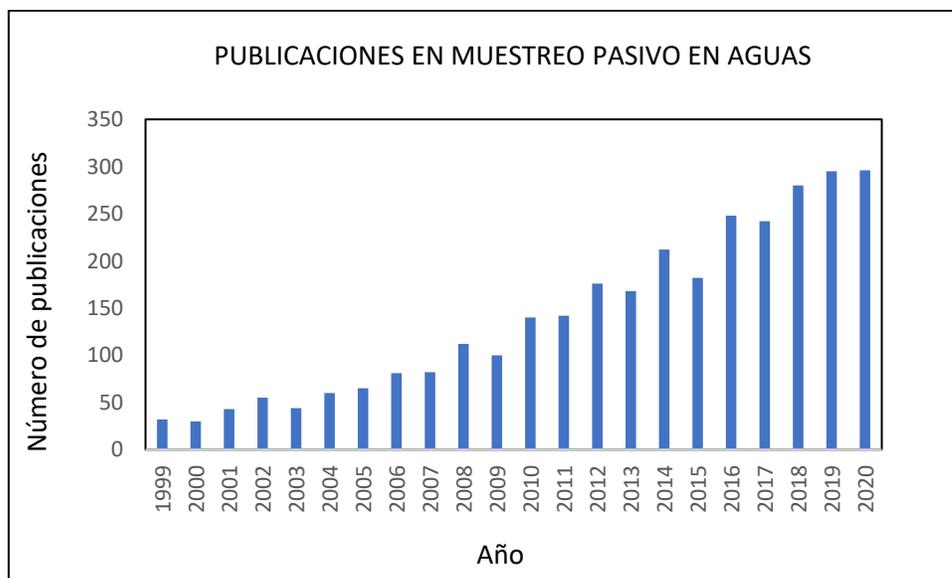


Figura 2. Número de trabajos publicados en el siguiente tópic: “passive sampling in water “(de acuerdo con la base de datos de Web of Science, entre Enero 1999 y Diciembre 2020).

En la Figura 2 se muestra que el número de publicaciones ha ido aumentando de forma significativa y prácticamente lineal desde 2007.

Según Vrana y colaboradores [10], aparece la primera publicación con relación a un muestreador pasivo de microcontaminantes en aguas y en el caso concreto de los muestreadores pasivos orgánicos polares (POCIS), que son los muestreadores que nos servirán como referencia en la bibliografía, en el año 1999, mientras que si revisamos la bibliografía en muestreo pasivo en aire su aparición fue con bastante

antelación. Siendo que el agua a igual que el aire es un recurso necesario e indispensable tanto en su cantidad como en su calidad, llama la atención que recién en las dos últimas décadas se haya desarrollado el muestreo pasivo en esta área.

Resulta necesario tener en cuenta que la importancia del estudio de estos contaminantes en aguas resulta interesante, pues al introducirse en la cadena trófica se pueden ir bioacumulando.

A continuación, en la Figura 3, se ejemplifica un diagrama resumido de la trazabilidad de los contaminantes emergentes que son introducidos en la cadena trófica según el siguiente esquema. Entran a las aguas residuales, tanto de origen doméstico o industrial, incluso hospitalario, para aquellos hospitales que no tienen su propia planta de tratamiento. Estas aguas residuales llegan a las plantas de tratamientos de aguas que debido a que no tienen por ahora tratamientos específicos para retener estos tipos de contaminantes, pasan parcialmente o no son retenidos en su totalidad. Posteriormente estas aguas tratadas suelen ser usadas parte como aguas de regadío o son vertidas al curso fluvial. Debido a que estos contaminantes pueden acumularse en las plantas que han sido regadas con estas aguas tratadas, pueden introducirse a la cadena trófica, cuando son ingeridos como alimentos.



Figura 3. Esquema que indica posibles fuentes y destino de los contaminantes emergentes.

A continuación, se presenta un esquema simple (Figura 4), donde de otra manera se puede describir lo que se muestra en la Figura 3. Estos contaminantes al no ser totalmente eliminados por las

plantas de tratamiento de tratamiento de aguas y pasar a los cursos ya sean fluviales o a los canales de regadío, podrían bioacumularse tanto en la flora como en la fauna de estos ecosistemas acuáticos [6]. También estas aguas al ser potencialmente usadas para riego podrían contaminar vegetales que posteriormente sean consumidos después por otros animales o incluso por, los seres humanos.

Por ello, ya en otros países existe el interés de realizar estudios tanto de cuantificación de estos compuestos, como de remediación y de desarrollo de metodologías específicas o especiales de tratamiento de estos mismos para ser eliminados en su totalidad en las plantas de tratamiento de aguas.

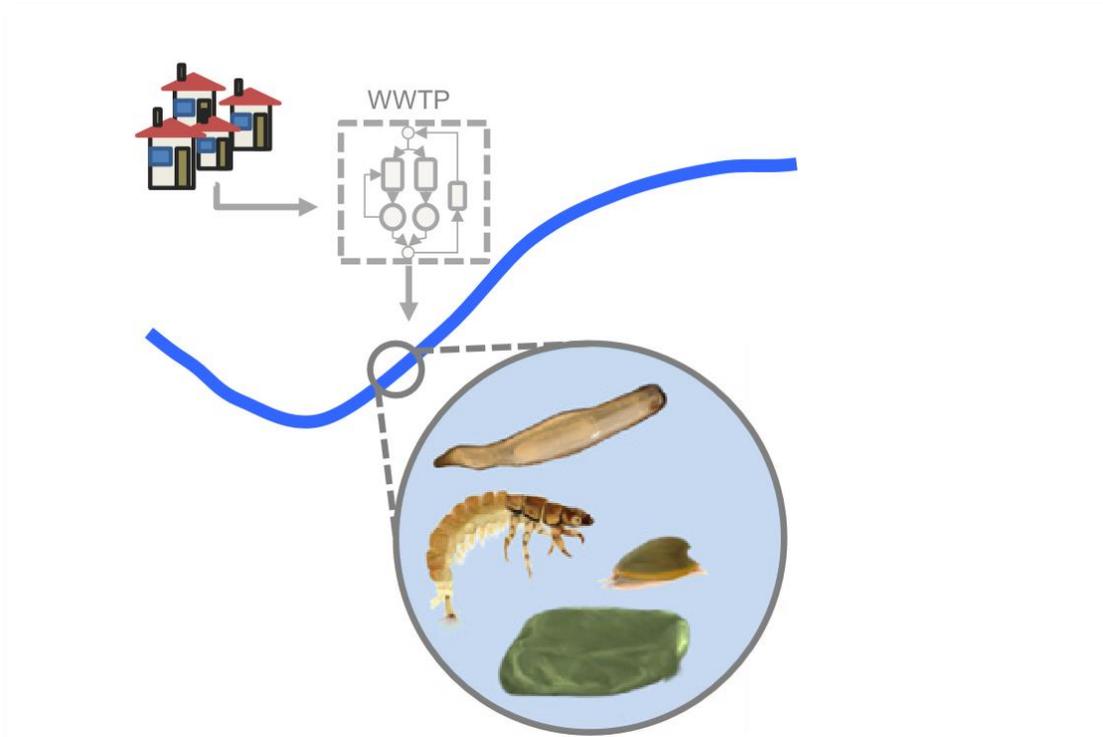


Figura 4. Esquema visual sobre la trazabilidad de los contaminantes emergentes.

## 1.1. Características y efectos de cada uno de estos contaminantes emergentes.

### 1.1.1. Parabenos.

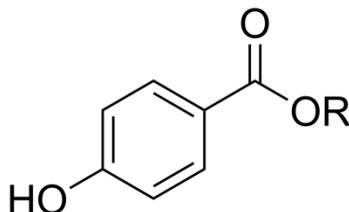


Figura 5. Estructura molecular de los parabenos.

Son un grupo de conservantes y/o antibacterianos muy utilizados tanto en la industria de cosméticos y productos de cuidado personal, como en la industria alimentaria. Su fórmula química es éter de p-hidroxibenzoico. Fueron introducidos por primera vez como productos farmacéuticos en la segunda década del siglo pasado. Se caracterizan por sus propiedades bactericidas y fungicidas. Se utilizan como conservantes en dentífricos, cremas, desodorantes, champús, cosmética en general, pero también se utilizan en sus diferentes tipos para conservar alimentos. Su función es principalmente antimicrobiana, impide o retrasa el crecimiento de hongos y bacterias. Se estudiarán cuatro parabenos que son los más utilizados: Metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP) y butilparabeno (BP). En general se puede decir que, al aumentar su longitud de cadena, disminuye su solubilidad en agua, por ello, también sus propiedades antibacterianas son directamente proporcionales a la longitud de cadena. Así el butilparabeno tiene cuatro veces mayor capacidad para inhibir el crecimiento microbiano que el etilparabeno. Sus pesos moleculares (PM) varían desde 152,16 g del metilparabeno a 194,3 g del butilparabeno respectivamente. Sus pka van aumentando desde 8,17 del MP hasta 8,50 del BP, mientras que su Log Kow va desde 1,66 hasta 3,24 del MP y BP respectivamente. Los parabenos producen daño a la salud humana y animal. En la bibliografía se describen a los parabenos como disruptores endocrinos [11]. Principalmente imitan a estrógenos, que son hormonas sexuales femeninas. Su influencia en el sistema hormonal humano es importante y esto causa problemas en el funcionamiento de diferentes áreas de cuerpo humano. Así se han descrito la relación con enfermedades dermatológicas como reacciones alérgicas de la piel o de los ojos [12]. También se ha encontrado relación con el cáncer de mama [13] y con otras enfermedades [14]. Los seres humanos pueden exponerse a la contaminación por parabenos, ya sea usando productos de cuidado personal que los contengan, por la ingesta de alimentos contaminados por los mismos, como también, por la toma de agua que contenga estos contaminantes emergentes. Así, se han empleado en alimentos procesados como conservas vegetales, productos horneados, grasas y aceites, condimentos, jugos de frutas, salsas, etc. Aparecen con los siguientes códigos en los envases de alimentos: Metilparabeno E 218 y E 219; Etilparabeno E214 y E215; Propilparabeno E 216 y E217.

En estudios realizados entre 2014 y 2016 se ha documentado una amplia presencia de parabenos y sus metabolitos en peces, aves, algas marinas, aguas de mar y sedimentos [11,15].

Desde el año 2014, los países de la UE han reducido el contenido permitido de EP y BP en cosméticos un 0,4% y 0,14% respectivamente [11].

Por otro lado, estudios epidemiológicos recientes, publicados en 2019, muestran evidencia entre la exposición en edad temprana a los parabenos problemas de salud a futuro [16].

Los resultados de la presencia de parabenos en orina humana, publicados en estudios realizados en 2018, demuestran que los seres humanos están expuestos a la contaminación por estos compuestos [14]. Su gran riesgo se ve aumentado por su ecotoxicidad, así aparecen flora y fauna contaminados por estos compuestos. Además, la mayoría de estos compuestos no son destruidos en

su totalidad por las plantas de tratamiento de aguas (que contengan los tratamientos convencionales de aguas residuales). Si a esto se le añade la posibilidad de generar metabolitos tóxicos, sería conveniente para futuras investigaciones tener en cuenta efectos combinados de éstos, y de otros contaminantes emergentes [15].

A continuación, se presenta la Tabla 1, donde aparece un resumen de las principales características fisicoquímicas de los parabenos en estudio. El valor de  $K_{ow}$  o coeficiente de partición octanol/ agua de una sustancia indica el valor de la hidrofobicidad y está relacionado con su capacidad de absorción o su potencial de bioacumulación en tejidos grasos. Un valor bajo de  $K_{ow}$  indica la probable movilidad y transporte de este compuesto por su menor hidrofobicidad, y fácil metabolización y biodegradación, es decir, hay que esperar una escasa bioacumulación. Por el contrario, un valor alto de  $K_{ow}$  indica posible absorción en tejidos grasos, o inmovilización en suelos y sedimentos. Se ha observado que una baja movilidad favorece la toxicidad de estas sustancias.

**Tabla 1. Características de los parabenos en estudio.**

PROPIEDADES	MP	EP	PP	BP
<b>PESO MOLECULAR(g/mol)</b>	152,16	166,18	180,21	194,23
<b>pKa</b>	8,17	8,22	8,35	8,5
<b>logKow</b>	1,66	2,19	2,71	3,24
<b>Solubilidad en agua(25°C) (g/100mL)</b>	2	0,86	0,3	0,15
<b>K Henry (atm m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> a 25°C)</b>	2,2 10 <sup>-9</sup>	4,8 10 <sup>-9</sup>	4,3 10 <sup>-9</sup>	6,8 10 <sup>-9</sup>

[7]

### 1.1.2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES).

Pertenecen al grupo de fármacos que son utilizados para el consumo humano. De acuerdo con la información disponible en literatura se han detectado concentraciones para este tipo de compuestos, que van de los  $\text{ngL}^{-1}$  a los  $\mu\text{gL}^{-1}$  y además de ser encontrados en ríos y agua de mar, estudios recientes han demostrado que pueden incluso entrar en el agua potable a niveles trazas ( $\text{ngL}^{-1}$ ) [17,18]. Debido a su alto consumo después de ser excretados aparecen en las aguas residuales. Las plantas de tratamiento de aguas no logran con los procedimientos implementados en la actualidad en Chile, eliminar por completo a este grupo de contaminantes emergentes (esto ocurre también en otros países) y por ello es posible detectarlos en aguas superficiales [18-21].

Estos compuestos son un grupo variado y químicamente heterogéneo de fármacos principalmente antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos, por lo que reducen los síntomas de la inflamación, el dolor y la fiebre. Todos ejercen sus efectos por acción de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa. Pertenecen al grupo de fármacos que son muy utilizados para el consumo

humano. Son compuestos de baja polaridad o polaridad intermedia (log Kow varía entre 2,9 y 4,4) pero al pH de las aguas naturales y debido a sus pKa bajos (entre 3,4 y 4,8), son ácidos y se encuentran cargados, aumentando su movilidad, pudiendo ser fácilmente incorporados en la cadena trófica. Las constantes de Henry, siendo estas muy bajas, con valores de orden de magnitud entre  $10^{-7}$  y  $10^{-12}$  indican que estos compuestos se mantienen fijos en la solución acuosa, es decir, tienen una baja presión de vapor y no son volátiles.

Se estudiarán los siguientes compuestos que son altamente utilizados:

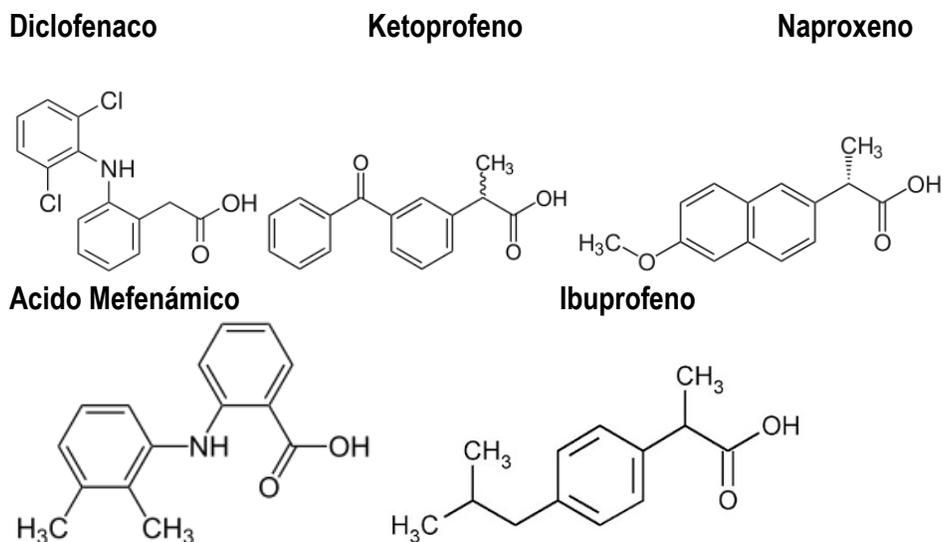


Figura 6. Estructura molecular de los antiinflamatorios.

Tabla 2. Características de los antiinflamatorios en estudio.

PROPIEDADES	DICLOFENACO	KETOPROFENO	NAPROXENO	ÁCIDO MEFENAMICO	IBUPROFENO
pKa	4,15	4,45	4,15	4,20	4,91
Log Kow	4,51	3,12	3,18	5,12	3,97
Solubilidad en agua (mg/L a 25°C)	2,3	51,0	15,9	20,0	21,0
K Henry (atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> a 25°C)	$4,73 \times 10^{-12}$	$3,39 \times 10^{-10}$	$2,12 \times 10^{-11}$	$1,65 \times 10^{-8}$	$1,50 \times 10^{-7}$

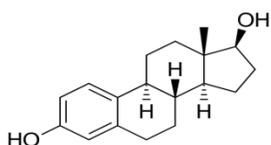
[18-20]

### 1.1.3. Hormonas.

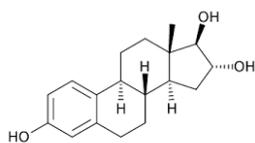
Son aquellas sustancias o productos de la secreción de determinadas glándulas del cuerpo de animales, personas o plantas, las cuales son transportadas por la sangre o en su defecto por la savia, cumplen la función de regular la actividad de otros órganos. Por otro lado, está el concepto de disruptor hormonal (o endocrino) que se define como cualquier sustancia que una vez incorporada en el organismo interfiere en el funcionamiento del sistema hormonal mediante la suplantación de las hormonas naturales, el bloqueo de su acción, o el aumento o disminución de sus niveles. Entre los disruptores se encuentran las sustancias persistentes y bioacumulativas que incluyen a algunos pesticidas, sustancias químicas industriales, productos sintéticos, etc. Las hormonas se encuentran en bajas concentraciones en las aguas superficiales que han sido tratadas en las plantas de tratamiento de aguas.

Se estudiarán los siguientes estrógenos naturales:

**17 $\beta$ -estradiol (E2)**



**Estriol (E3)**



**Estrona (E1)**

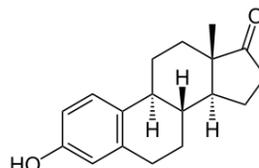


Figura 7. Estructura molecular de las hormonas E1, E2 y E3.

Son hormonas sexuales esteroideas producidas por los ovarios y, en menores cantidades, por las glándulas adrenales.

Por otra parte, también se incluye en el estudio una hormona sintética:

**EE2, Etililestradiol, hormona sintética**

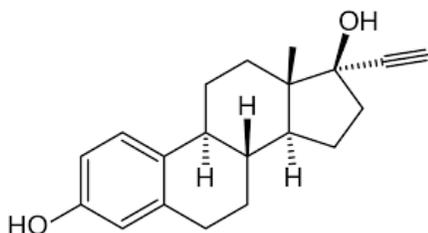


Figura 8. Estructura molecular de la hormona EE2.

En la Figura 7 y en la Figura 8 aparecen las hormonas naturales y la sintética en estudio, respectivamente.

La hormona etilnilestradiol es un estrógeno sintético, indicado en formulaciones anticonceptivas, y es uno de los medicamentos más usados en el mundo.

Las hormonas aparecen en bajas concentraciones en las aguas superficiales que han sido tratadas en las plantas de tratamiento de aguas.

Sus valores de las constantes de disociación ácida son mayores a 9,6, lo que indica que son compuestos que se comportan como ácidos débiles, por lo que, se encontrarán principalmente en su forma protonada en un amplio intervalo de pH, mientras que estarán en su forma disociada solo a valores de pH altamente alcalino. La presión de vapor, como los valores de la constante de Henry son muy bajos, del orden de  $10^{-11}$ , lo cual muestra que son compuestos no volátiles, tanto puros como en solución, por lo que en el tratamiento de muestra, éstos son estables en soluciones acuosas.

Los estrógenos excretados por seres humanos y animales domésticos pertenecen al grupo de los denominados contaminantes emergentes, y dentro de éstos, a los compuestos disruptores endocrinos [22, 23]. Es decir, son compuestos que no integran naturalmente los ecosistemas, y que, al encontrarse biodisponible, pueden producir efectos adversos en los seres vivos expuestos [24]. Además, pueden ocurrir efectos sinérgicos que deberían ser considerados.

Se encuentran con frecuencia en fuentes de aguas naturales y residuales, y su presencia debe de ser controlada.

**Tabla 3. Características de las hormonas en estudio.**

PROPIEDADES	ESTRONA	17 $\beta$ -ESTRADIOL	ESTRIOL	ETILINILESTRADIOL
pKa	10,40	10,40	10,40	10,24
Log Kow	4,31	3,75	2,67	4,11
Solubilidad en agua a 25°C (mg/L)	30	3,6	441	11,3
K Henry (atmm <sup>3</sup> /mol)	$3,8 \cdot 10^{-10}$	$3,64 \cdot 10^{-11}$	$1,33 \cdot 10^{-12}$	$7,94 \cdot 10^{-12}$

[25]

#### 1.1.4. Triclosán.

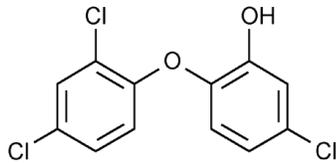


Figura 9. Estructura molecular del triclosán.

Es un agente bacteriano comúnmente usado en productos de cuidado personal, aunque en un comienzo fue registrado como pesticida. Conocido como TCS, de composición química, (5-cloro-2-(2,4-dicloro-fenoxi)-fenol). El triclosán añadido a productos de cuidado personal como champús, jabones, cremas y pasta de dientes entre otros, llega a las aguas residuales domésticas, éstas son tratadas en plantas de tratamiento de aguas, las cuales, en la mayoría de los casos no tienen tratamientos especiales para la eliminación de este compuesto.

El triclosán es uno de los contaminantes orgánicos más frecuentemente detectado en los ríos en Estados Unidos [26].

Existen diferentes estudios donde se demuestra la persistencia del triclosán a los tratamientos de las plantas de tratamiento de aguas. Al no ser eliminados o retenidos en estas plantas de tratamiento de agua, pasan a las aguas superficiales provocando daños en el ecosistema fluvial [27]. En otros estudios, hacen referencia a que el triclosán puede afectar a la función muscular y cardíaca. Por otro lado, también en algunos casos se le atribuyen propiedades como disruptor endocrino [28]. Existen estudios de cómo el triclosán, que no es en su totalidad eliminado en las plantas de tratamiento de aguas, pasa a los cursos fluviales y aguas de regadío, pudiendo ser bioacumulado.

Se comercializa como un polvo blanquecino y tiene una elevada hidrofobicidad [25]. El triclosán llega a las plantas de tratamientos de aguas a través de las aguas servidas y debido a esto, podría estar presente en los lodos, en los efluentes de descarga y en los sedimentos.

**Tabla 4. Características del triclosán.**

PROPIEDADES	TRICLOSÁN
pKa	7,9
Log Kow	4,8
Solubilidad en agua a 25°C (mg/L)	5,0
K Henry(atm·m <sup>3</sup> /mol)	1.5 x 10 <sup>-7</sup>

[27, 28]

Teniendo en cuenta que el log Kow es un parámetro importante para predecir la distribución de compuestos en varios ecosistemas (agua, suelos, etc), los compuestos con valores altos de log Kow tienden a adsorberse más fácilmente en la materia orgánica de suelos o sedimentos, debido a su baja afinidad por el agua. Los productos químicos como el triclosán, con valores log Kow muy altos (es decir mayor a 4.5) son de mayor cuidado, pues pueden tener mayor potencial de ser bioacumulado en los organismos vivos.

## 1.2. Muestreadores pasivos. Fundamentos.

Se puede definir el muestreo pasivo como cualquier técnica de muestreo que está basada en el flujo libre de moléculas de analito desde el medio muestreado al medio colectante por la diferencia en los potenciales químicos del analito entre los dos medios [10]. Los muestreadores pasivos se caracterizan por no necesitar fuente de poder para su funcionamiento, además con ellos se disminuye el volumen y costos de transporte de la muestra, se mejora la posibilidad de controlar derrames esporádicos y también preconcentran, aparecen descritos en la bibliografía diferentes muestreadores de contaminantes en aguas [17,29,30,31].

Estos muestreadores pasivos se pueden utilizar tanto para medir la concentración promedio dependiente del tiempo en la etapa cinética, como también se puede utilizar después de largos periodos de exposición (de días a incluso meses), en la etapa de equilibrio.

La adsorción /absorción de los analitos disueltos en agua, en la mayoría de los muestreadores pasivos sigue el modelo siguiente:

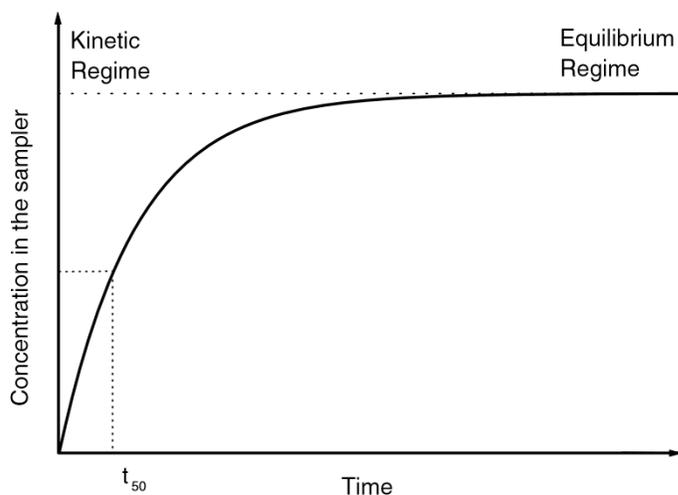


Figura 10. Regímenes de trabajo de los muestreadores pasivos [10].

En general el fundamento de los muestreadores pasivos podría representarse por el siguiente esquema básico:

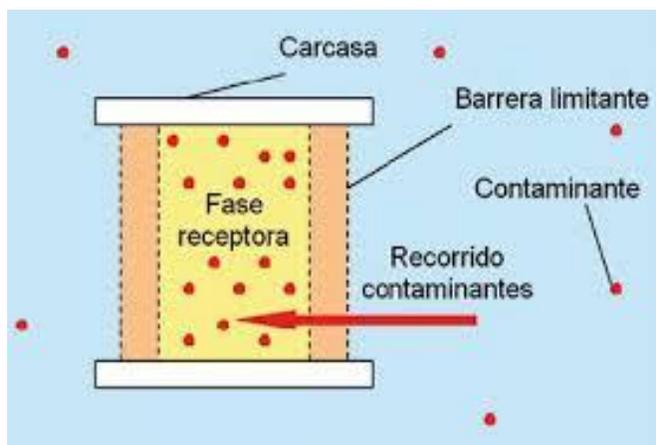


Figura 11. Esquema general de los muestreadores pasivos.

El medio sorbente puede ser: un reactivo, un solvente o una fase porosa.

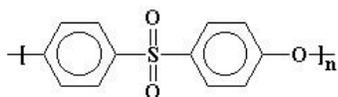
Están influenciados por muchas variables como: temperatura, biofloculación, pH, turbulencia, salinidad, etc [32]. El muestreo pasivo es muy recomendable pues nos da información integral de la muestra durante el periodo de tiempo que fue colocado el muestreador. De esta manera resulta más representativo para detectar contaminación que el muestreo puntual. Para poder utilizarlos en terreno, se deben realizar diferentes tipos de estudios preliminares y/o calibraciones en el laboratorio.

El muestreador pasivo diseñado debe cumplir con ciertos requerimientos: material no corrosivo, capacidad de reutilización, transportable, reproducible, versátil y efectivo.

En la bibliografía se muestran los muestreadores POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) o muestreadores integradores para compuestos orgánicos polares, confeccionados con acero inoxidable [29,30,31].

En la Figura12, se muestra la estructura molecular de las membranas de polietersulfona utilizadas en los muestreadores comerciales POCIS.

El muestreador POCIS consiste en un dispositivo circular que contiene fase sorbente entre dos membranas de polietersulfona (Figura 13).



Poliéter sulfona 200 P

Figura 12. Estructura molecular de la polietersulfona (PES).



Figura 13. Imagen del muestreador POCIS.

A continuación, en la figura 14 se muestra el esquema general del armado del muestreador pasivo POCIS.

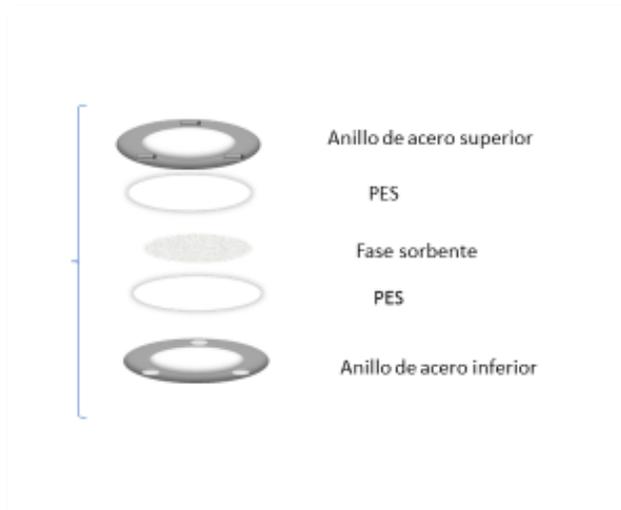


Figura 14. Esquema general de armado de un muestreador POCIS:

Estas membranas permiten el paso del agua con los contaminantes emergentes disueltos, los cuales son retenidos al atravesar la fase sorbente. La membrana resiste la biofloculación y materiales mayores como sedimentos o material particulado, no pasan. La fase sorbente elegida depende de las características fisicoquímicas de los analitos que se quiere retener y ésta puede ser cambiada y/o removida con facilidad. En el muestreador a desarrollar se evaluarán diferentes fases sorbentes, se dará prioridad al uso de ecofases, como corcho, comparándolas con fases comerciales como C18 [31,10].

En el diseño del muestreador se debe tener en cuenta también las características hidrológicas del curso de agua donde va a ser colocado. En el caso de Chile los cursos de agua pueden tener gran turbulencia, debido a que en una franja estrecha de terreno pasan de alturas escarpadas al valle y posterior desembocadura al mar. Por esto en el diseño del muestreador, se tendrá en cuenta la posibilidad de una carcasa que proteja a las membranas de polietersulfona, de turbulencias de agua o de material particulado que pudieran llegar con mucha energía y pudieran dañarlas. También se tendrá en cuenta la posibilidad de usar otro material para su construcción que permita ser más reutilizable que el acero inoxidable.

Estos muestreadores deben ser calibrados y validados, teniendo en cuenta que estos conceptos son diferentes, pero que suelen confundirse. La validación tiene relación con la determinación de parámetros que dan cuenta de la eficiencia de la operación, mientras que la calibración, puede ser definida por procedimientos experimentales desarrollados bajo condiciones controladas, en este caso con el fin de calcular el valor de las tasas de muestreo o  $R_s$  [33].

Tomando en cuenta estas consideraciones el muestreo pasivo es recomendable, pues nos da información integral de la muestra durante el periodo de tiempo que el muestreador fue instalado. De esta manera, sería más representativo para detectar contaminación, que el muestreo puntual [34].

Para poder utilizarlos en terreno, se han de hacer diferentes tipos de estudios preliminares y/o calibraciones en el laboratorio.

### **Tipos de muestreo pasivo:**

- En el equilibrio.

Para poder medir en la etapa de equilibrio, se han de tener en cuenta ciertos fundamentos y ecuaciones de los modelos propuestos, para una vez determinada la concentración del contaminante retenido en la fase del muestreador, se pueda correlacionar con la concentración de estos contaminantes en las aguas.

Para trabajar en esta etapa, el analito debe alcanzar el equilibrio entre su concentración en el muestreador y en la fase acuosa, y en esas condiciones, se deben cumplir las siguientes ecuaciones:

$$C_s(t) = C_w \frac{k_1}{k_2} (1 - e^{-k_2 \cdot t}) \quad (1)$$

La ecuación (1), en condiciones de equilibrio, quedaría simplificada a:

$$C_s = C_w k_1/k_2; \quad C_s = C_w K \quad (2)$$

Siendo  $K$ = constante de partición,  $C_s$ = concentración del analito en fase sorbente,  $C_w$ = concentración del analito en el agua

- Previo al equilibrio (etapa cinética)

En esta etapa no es necesario exponer a tiempos largos el muestreador, se debe trabajar en periodos de tiempo más reducidos. Es recomendable trabajar en la etapa cinética con tiempos de exposición más cortos, ya que igualmente es factible estimar las concentraciones para periodos más largos. Pero para poder trabajar en esta etapa, se debe calibrar los muestreadores tanto en laboratorio, como en terreno y así validarlos in situ.

En esta etapa se cumple la siguiente ecuación:

$$M_s(t) = C_w R_s t \quad (3)$$

Siendo:

$M_s$ =masa del analito acumulado en el sorbente

$C_w$ =concentración en el agua ( $\mu\text{g/L}$ ).

$t$ =tiempo de duración en días.

$R_s$ = tasa de muestreo ( $\text{L/día}$ ) (laboratorio; in-situ).

Para poder utilizar estos muestreadores pasivos en el cuerpo de agua en estudio, como ya se mencionó con anterioridad, se deben calibrar previamente en el laboratorio.

La calibración consiste en exponer a los muestreadores al agua enriquecida con una concentración conocida de estos analitos de interés bajo condiciones controladas en el laboratorio. De esta manera se podrá estimar tasas de muestreo ( $R_s$ ) de éstos. Estas  $R_s$  se suelen medir en  $\text{L/día}$ . A modo de breve reseña se ha de tener en cuenta que ya se han desarrollado diferentes métodos de calibración y sus correspondientes modelos matemáticos [35,36,37, 38].

### **Estimación de los $R_s$ :**

Este factor  $R_s$ , es importante para poder cuantificar las concentraciones de los analitos en las aguas superficiales, a partir de la concentración de los analitos retenidos en la fase sorbente del muestreador pasivo. Los  $R_s$  se pueden estimar de dos maneras principalmente: en el Laboratorio o en condiciones naturales (in situ). Para estimarlas en laboratorio, están descritas dos metodologías: con calibración estática simple y calibración estática con renovación de solución enriquecida [17,30,35].

Para estimar in situ, se proponen dos alternativas: las cuales serán evaluadas respecto a su factibilidad de uso y conveniencia.

Se pueden calibrar mediante el uso de PRC o compuestos de referencia o mediante la validación de lo que adsorbe el muestreador por un tiempo limitado y correlacionarlo con lo que tenga una muestra

compuesta tomada por un muestreador múltiple automático, que se localice en el mismo lugar y por el mismo tiempo que el muestreador pasivo, tomando en cuenta el caudal.

En el primer caso se propone recurrir a compuestos de referencia PRC (deuterados), compuestos similares o parecidos a los analitos a estudiar pero que no existen en la naturaleza o medio ambiente. Estos compuestos son introducidos en el sorbente, antes de ser colocados en terreno. Sus datos de disipación son indicativos de las condiciones de exposición que afectan no sólo su liberación, sino también las condiciones de la etapa de absorción de compuestos estudiados [10,17,32,33].

La cinética de liberación de los PRC es de primer orden igual a la de absorción.

$$\ln \frac{C_t}{C_0} = Ke * t \quad (4)$$

Siendo:

$C_0$ =Concentración en el sorbente del analito a tiempo o cero.

$C_t$ =Concentración en el sorbente de analito a tiempo  $t$ .

$Ke$ =Constante de velocidad de eliminación,

$t$ = tiempo en días,

Los modelos descritos proponen que  $R_s$  in situ se puede obtener con la siguiente ecuación:

$$R_s \text{ in situ} = Ke \text{ in situ} * \frac{R_{scal}}{K_{ecal}} \quad (5)$$

**$Ke$  in situ** se calcula representando según la ecuación (4)  $\ln C_t/C_0$  vs  $t$  y la pendiente de la recta sería  $Ke$  in situ.

**$R_{scal}$**  se calcula en el laboratorio, realizando ensayos de calibración. Existen diferentes tipos de métodos de calibración, el método utilizado depende de la exactitud de la medición que queremos. Todos estos métodos de calibración de laboratorio se basan en sumergir los muestreadores en soluciones con concentraciones conocidas del analito en estudio y simular condiciones naturales.

Estudiando el proceso de depleción, el cual según estudios realizados por otros autores tienen una cinética de primer orden [35,36,37,38], haciendo el mismo tipo de representación de  $\ln C_t/C_0$  vs  $t$ , la pendiente de la recta sería  $R_{scal}$ .

Existen valores de  **$K_{ecal}$**  en la bibliografía y en el caso que no estén descritos, se pueden calcular haciendo un experimento con un muestreador automático puntual, programado a intervalos de tiempo pequeños y aplicar la ecuación (1).

De los métodos de calibración en el laboratorio se propone utilizar, el de calibración estática simple, donde no se reponen (con solución enriquecida) las alícuotas que se van tomando para ver la disminución de la concentración de los contaminantes en disolución, que ocurre debido a la sorción por parte de la fase sorbente del muestreador pasivo. Este método de calibración estática presenta ventajas

como: simplicidad, se pueden preparar varias réplicas en el laboratorio, de diferentes muestras de aguas, tomando en cuenta diferentes variables.

Por otro lado, se ha de tener en cuenta que se tienen algunas desventajas como la imposibilidad de ir chequeando las posibles turbulencias, que podrían ocurrir en un ambiente real, tampoco nos permite evaluar la dependencia de las tasas de muestreo con las concentraciones de los analitos [35,36,37].

Una vez calibrados y optimizadas sus condiciones de uso, se podrían disponer en las aguas en estudio.

Se debe considerar que según los contaminantes sean más polares o menos polares, el tipo de interacciones que existan en el muestreador pasivo pueden tener diferente naturaleza, que dependerá no solo de la polaridad de estos, sino también de la naturaleza de la fase sorbente [38].

Por tanto, también será necesario encontrar una fase sorbente apropiada según el grupo de compuestos en estudio.



Figura 15. Montaje de muestreadores antes de ser sumergidos en soluciones enriquecidas con los analitos en estudio y con agitación vertical para la estimación de las Rs en laboratorio.

Se debe considerar, además, que la retención o acumulación de un analito en estudio en la fase del muestreador, ocurre por la diferencia en cuanto a concentración o actividad de cada uno de los analitos entre el agua y la fase. Esto ocurre por la sucesión de una serie de procesos. Primero el analito en estudio debe de cruzar por difusión la capa de agua enlazada (WBL, water boundary layer), segundo aparece una capa retrasada de agua que se desarrolla debido a la fricción y que provoca un aumento de la viscosidad.

El espesor promedio de la membrana PES (Polietersulfona) hidratada es de 130 $\mu$ m. Finalmente, los analitos se transfieren de la membrana al material sorbente predominantemente por adsorción de

los compuestos polares y por absorción en los apolares. Para cualquier compuesto químico las resistencias relativas a la transferencia de masa de los compuestos en cada uno de los compartimentos también son importantes. Cuando las turbulencias son altas (caso de los ríos chilenos en época de lluvia), la resistencia a la transferencia de masa en la capa límite es insignificante y en este caso el factor limitante sería el transporte a través de la membrana de polietersulfona [29,30]. Por su parte, dependiendo de la porosidad de la fase sorbente, ésta también puede determinar la etapa limitante de la velocidad de extracción, así para fases muy porosas, como Oasis HLB, la difusión del analito a través de los poros de la fase podría ser la etapa limitante.

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.**

### **2.1. Hipótesis.**

La metodología de muestreo pasivo que utiliza corcho como fase sorbente diseñada en este estudio, permitirá evaluar la presencia (y estimar la concentración) de diversos contaminantes emergentes: parabenos, hormonas, antiinflamatorios no esteroidales y triclosán en aguas, dado que la composición de la fase sorbente de corcho laminar posee un balance hidrofílico-lipofílico que favorece la interacción con analitos de este tipo, haciendo factible su preconcentración durante el período de muestreo.

### **2.2. Objetivo general.**

Desarrollar un muestreador pasivo para la toma de muestra y preconcentración de un grupo de contaminantes emergentes: parabenos, hormonas, antiinflamatorios no esteroidales y triclosán en aguas. Con el fin de evaluar la presencia y estimar la concentración de estos compuestos en aguas.

### **2.3. Objetivos específicos.**

1-Diseñar y desarrollar un muestreador pasivo para contaminantes emergentes en aguas, evaluando diferentes fases sorbentes tanto sintéticas (C18) como naturales (corcho).

2-Desarrollar una metodología analítica para la determinación de este grupo de contaminantes retenidos en la fase sorbente del muestreador pasivo y en las aguas.

3-Estimar las Rs (tasas de muestreo) de los muestreadores en laboratorio.

4- Estudios de isotropía de desorción y sorción de los analitos.

5-Validación en terreno. Comparación con muestreador automático o con muestreo puntual. Realizar muestreo pasivo en las aguas en estudio.

### **3. INSTRUMENTACIÓN, REACTIVOS y METODOLOGÍA.**

#### **Equipos utilizados:**

- Cromatógrafo de gases Thermo Fisher con detector de espectrómetro de masas con analizador de cuadrupolo, ISQ. Modo ionización por impacto electrónico usando como gas portador helio de 99,999 % de pureza y columna capilar marca Restek RTX-5Sil MS 30m, 0,32 mm ID, 0,25  $\mu\text{m}$ , -60 a 350 °C.
- Baño de ultrasonido Power sonic 410 con capacidad de 10 L, frecuencia 40KHz y regulador de temperatura de ambiente a 50 °C.
- pH metro WTW modelo pMX 3000 y Eutech PC 2700 Eutech Instruments.
- Agitador Bio magnetic stirrer MMS-3000 Boeco y Agimatic-N, Selecta.
- Equipo de filtración al vacío.
- Vortex, Vision Scientific.
- Bloque evaporador de VWR.
- Microscopio cofocal de barrido laser, Zeiss LSM 780,
- Espectrofotómetro FTIR, Nicolet iS5
- Microscopio electrónico, Inspect, N50.

#### **Materiales:**

- Micropipetas de 2 a 5000  $\mu\text{L}$ , Labopette.
- Membranas de polietersulfona Millipore Express 0,22  $\mu\text{m}$ . Merck
- Viales de vidrio ambar con tapa rosca 1,5, 12 y 60 mL.
- Puntas para micropipetas.
- Tapas roscas con septa.
- Materiales de vidrio: vaso de precipitado pipetas volumétricas, matraces de aforo, frascos, etc., Brand.
- Muestreador de teflón y disco rotatorio fabricados en Polymerland.
- Papel de filtro 125mm, Whatman.
- Filtro 0,22  $\mu\text{m}$ ., Millipore.
- Láminas de corcho de Corchos Chile.

## Reactivos:

- Estándares de Metilpbn, etilpbn, propilpbn, butilpbn, E1, E2, E3, EE2, Diclofenaco, ketoprofeno, naproxeno, ibuprofeno, meclofenámico, mefenámico y triclosan de Sigma-Aldrich. Estándares marcados de etilparabeno-D<sub>3</sub>, estrona-2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub> y triclosan-D<sub>3</sub> de Sigma-Aldrich.
- Piridina de Sigma- Aldrich.
- C18 de Sigma-Aldrich.
- Nitrógeno extra puro 99,995%. LINDE.
- Helio alta pureza. LINDE.
- Metanol grado cromatográfico. Merck.
- Acetonitrilo grado cromatográfico. Merck.
- Derivatizante MSTFA. Merck.

### 3.1-Diseñar y desarrollar un muestreador pasivo para contaminantes emergentes en aguas, utilizando diferentes fases sorbentes.

#### 3.1.1. Desarrollo del muestreador pasivo.

Se diseñó y construyó un muestreador pasivo con cuerpo de teflón, redondo de 4,5 cm de diámetro interno, que contiene tres partes básicas: (a) una parte inferior y (b) una parte superior, ambas con perforaciones de 2 mm de diámetro y (c) un anillo espaciador para fijar dos membranas de PES, entre las cuales se dispone la fase sorbente. A continuación, se presenta dos fotografías del muestreador, por ambos lados:





Figura 16. Fotografías del cuerpo del muestreador pasivo desarrollado para este estudio.

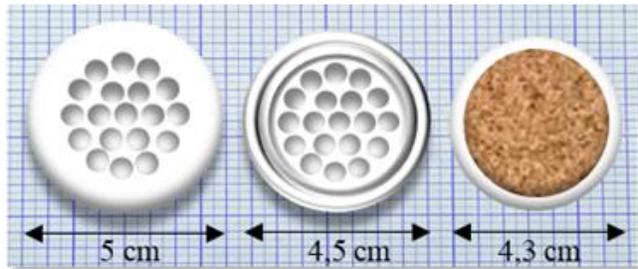


Figura 17. Dibujo del muestreador de teflón desarrollado con fase corcho laminar.

Las membranas de PES (polietersulfona) utilizadas son de 4,5 cm (Figura18).



Figura 18. Membranas comerciales de polietersulfona utilizadas en el muestreador pasivo.

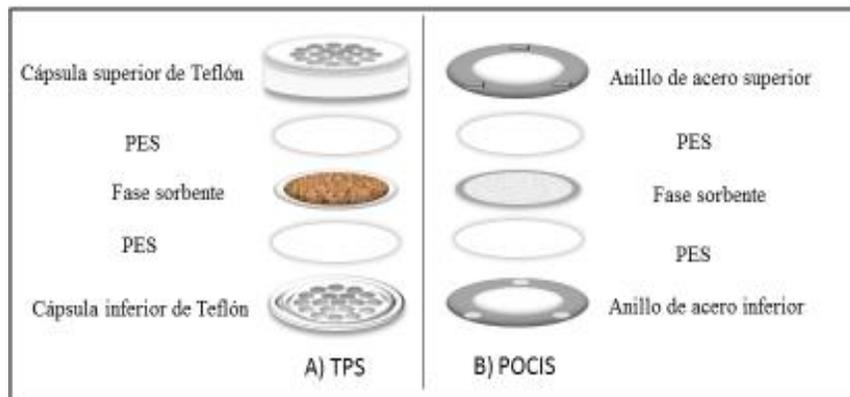


Figura 19. Elementos contenidos en el muestreador pasivo de este estudio (TPS) y el POCIS.

Se eligió el material de teflón debido a que es más resistente a la corrosión y puede ser más reutilizado. Y se le incorporó la carcasa para proteger las membranas del material particulado que puede venir en el río.

### **3.1.2. Elección de la fase sorbente.**

Las fases sorbente utilizadas en este estudio fueron corcho y sílice modificada con octadecilo,  $C_{18}$  como fase química comercial.

En el caso del corcho se probó con dos tipos, uno proveniente de tapones sin uso, y otro en lámina. Ambos se molieron y tamizaron a 100 mesh. En el caso del corcho en lámina, este también fue utilizado como fase laminar.



Figura 20. Muestreador pasivo armado con PES en su interior



Figura 21. Muestreador pasivo y las fases corcho laminar y molido.

Para la evaluación de cada fase sorbente se sumergieron los muestreadores (conteniendo 200 mg fase en polvo o 600 mg de fase laminar, cortada como un disco) en recipientes de 5 L de soluciones acuosas de los analitos a  $10 \mu\text{gL}^{-1}$  preparadas con agua desionizada. Se agitó con agitador vertical a 100 rpm durante un periodo determinado (entre 2 y 14 días). Estos experimentos se hicieron por cuadruplicado.



Figura 22. Agitador vertical utilizado para el estudio.



Figura 23. Set de 4 muestreadores sumergidos en agitación.

Después de los días en agitación se retiraron los muestreadores, se guardaron en papel de aluminio en el congelador y una vez terminados todos los experimentos se eluyeron los analitos y se analizaron por GC-MS, de acuerdo con los procedimientos descritos más adelante.

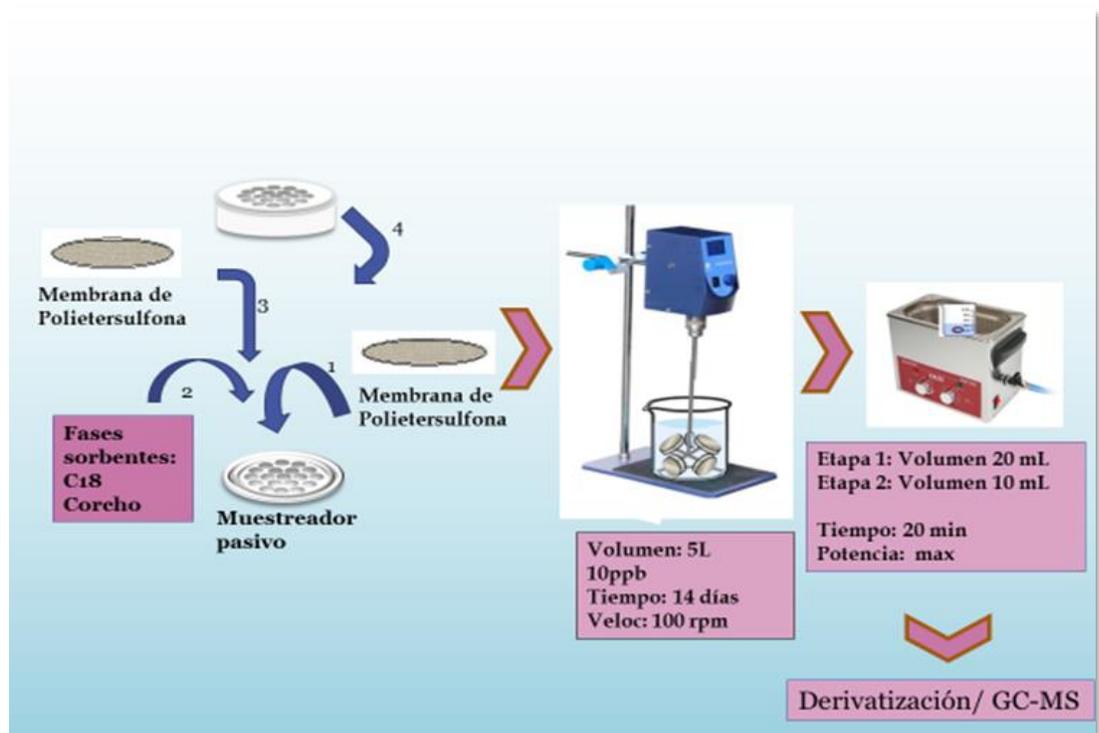


Figura 24. Diagrama que esquematiza el procedimiento para la selección de la fase sorbente.

Una vez elegida la fase sorbente apropiada para el muestreador se realizó la caracterización de esta mediante, Microscopia confocal (CLSM), Espectrometría infrarroja con transformadas de Fourier (FTIR) y Microscopía electrónica de barrido (SEM).

### **3.1.3. Localización de los muestreadores pasivos.**

El área de estudio se encuentra en la zona central, en la Cuenca del Río Maipo-Mapocho.

Se seleccionó esta zona pues resulta necesario que sea un río que pase por áreas pobladas, ya que una de las principales fuentes de contaminantes emergentes son las aguas residuales urbanas. Por otro lado, para el estudio es clave poder disponer estos muestreadores antes y después de las plantas de tratamiento de aguas, ya que el estudio está centrado en los contaminantes emergentes que no pueden ser retenidos cuantitativamente por éstas.

Por temor a posible robo o vandalismo se dispondrán los muestreadores en zonas o predios privados, con control de seguridad.

Con el apoyo de la empresa de Aguas Andinas, administradora de la planta el Trebal y de un reconocimiento previo realizado junto al personal de la Dirección General de Aguas de la Región Metropolitana, se planificó el muestreo.

Las características hidrológicas de la cuenca Maipo Mapocho son [5]:

- 250 km de longitud. Principal colector de las aguas de la Región Metropolitana.
- Dos zonas de crecidas anuales: invierno, primavera.

El plan de Saneamiento de las Aguas Servidas de la Región Metropolitana tuvo por objeto descontaminar el 100% de las aguas residuales de la cuenca.

Las zonas de muestreo seleccionadas fueron: aguas arriba (Sector Canoa) y aguas abajo (Sector Puente Esperanza) de la planta de tratamiento del Trebal y además el afluente y efluente en la planta de tratamiento.

En la figura 24 se aprecia las aguas antes de la planta de tratamiento El Trebal.



Figura 25. Fotografía cuenca Maipo Mapocho, antes de la planta el Trebal.

La fotografía 26 fue tomada después de la zona de vertido de la planta El Trebal, donde unos metros más abajo debajo del puente Esperanza, se ubicó el segundo punto de muestreo.



Figura 26. Fotografía cuenca Maipo Mapocho después del vertido de la planta el Trebal.

En la figura 27 se visualiza los puntos de muestreo.

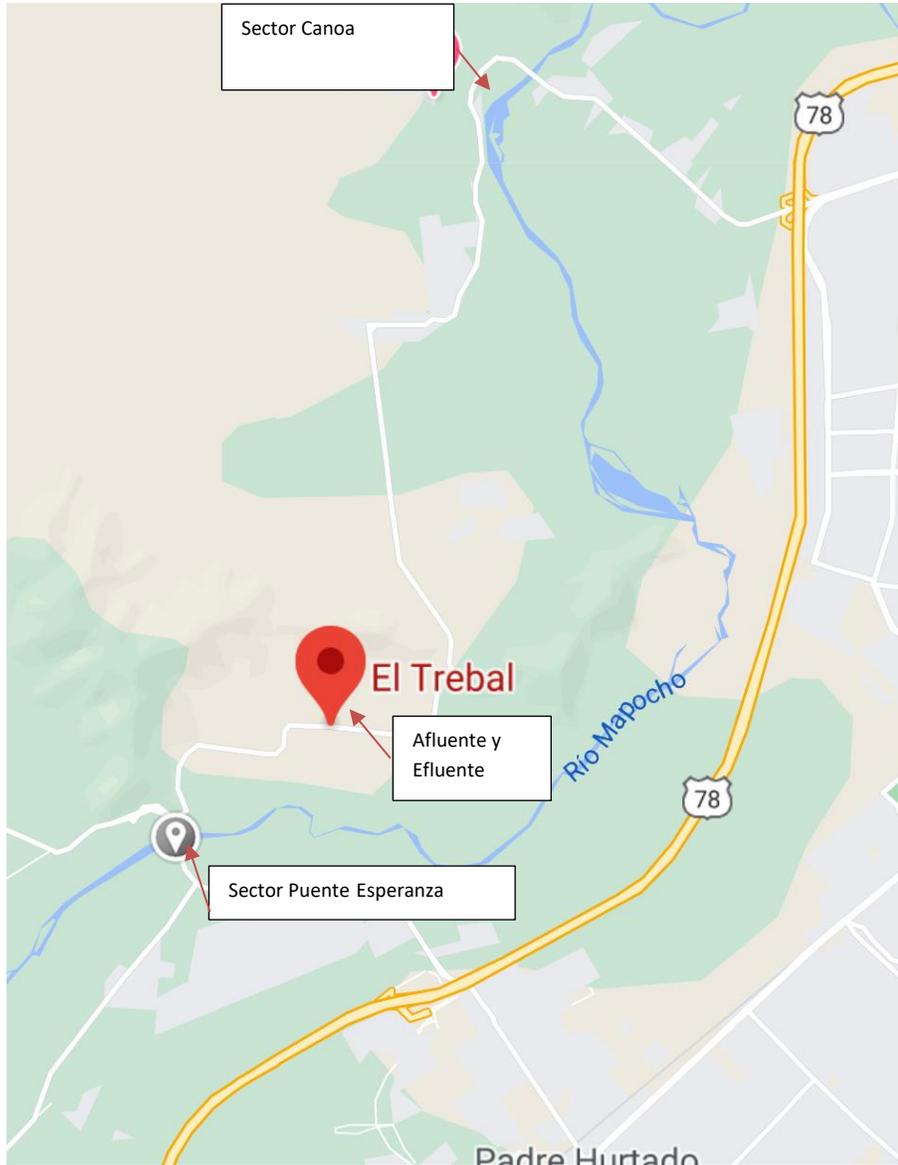


Figura 27. Mapa de los puntos de muestreo.

### **3.2. Metodología de elución.**

Se seleccionaron 2 eluciones secuenciales desde la fase sorbente con volúmenes de 20 mL, 10 mL de una mezcla de 75% de metanol y 25% de acetonitrilo por 20 min cada etapa. La elución fue asistida por ultrasonido a máxima potencia.

### **3.3. Metodología de derivatización.**

Un alícuota de 500  $\mu\text{L}$  de los 40 mL totales del eluato se llevó a sequedad con corriente de  $\text{N}_2$ , se añadió 70  $\mu\text{L}$  de derivatizante (MSTFA) y 50  $\mu\text{L}$  de piridina, se agitó en vortex con el fin de homogeneizar la solución. La reacción de derivatización se realizó en una placa calefactora a 80  $^{\circ}\text{C}$  y 35 min. Una vez terminado se dejó enfriar, se añadió 50  $\mu\text{L}$  de PCB como estándar interno, se agitó en vortex, se transfirió a los insertos de viales para cromatografía, y se programó la inyección en el GC-MS.

Se optimizaron tres parámetros de la derivatización: volumen de MSTFA, tiempo de reacción y temperatura mediante diseño de experimentos.

### **3.4. Condiciones del GC-MS.**

En las Tabla 5 se muestra la rampa de calentamiento del GC y en Tabla 6 se muestran el resto de las condiciones tanto cromatográficas como del espectrómetro de masas empleadas para la determinación final de los analitos [39].

**Tabla 5. Rampa de calentamiento del GC.**

<b>INICIAL</b>	<b>75<math>^{\circ}\text{C}</math></b>	<b>1 min</b>
<b>20<math>^{\circ}\text{Cmin}^{-1}</math></b>	150 $^{\circ}\text{C}$	5 min
<b>10<math>^{\circ}\text{Cmin}^{-1}</math></b>	300 $^{\circ}\text{C}$	5 min

**Tabla 6. Condiciones del método GC-MS optimizado.**

<b>Cromatógrafo de Gases</b>	<b>ISQ (Espectrómetro de masas)</b>
Modo de inyección: Splitless	Tipo de Fuente: EI, Ionización por impacto electrónico
Volumen de inyección: 2µL	Analizador: ISQ de Cuadrupolo simple
Temperatura inyector: 250° C	Temperatura de la línea de transferencia: 250° C
Columna: RTX5MS (30 m; 0,25 mm; 0,25 µm)	Temperatura de la Fuente: 300° C Dwell time: 0,1s por cada m/z
<b>Flujo: 1ml/ min. Gas de arrastre: He pureza 6.0 Tiempo de análisis: 29 min Solvent delay: 7min</b>	

### 3.5. Metodología analítica para la determinación de este grupo de contaminantes en el eluato de la fase sorbente del muestreador pasivo y en las aguas.

En la figura 28 se muestra un esquema donde se resume las diferentes etapas de la metodología desarrollada tanto para la determinación de estos contaminantes en el eluato de la fase sorbente como en las muestras de aguas.

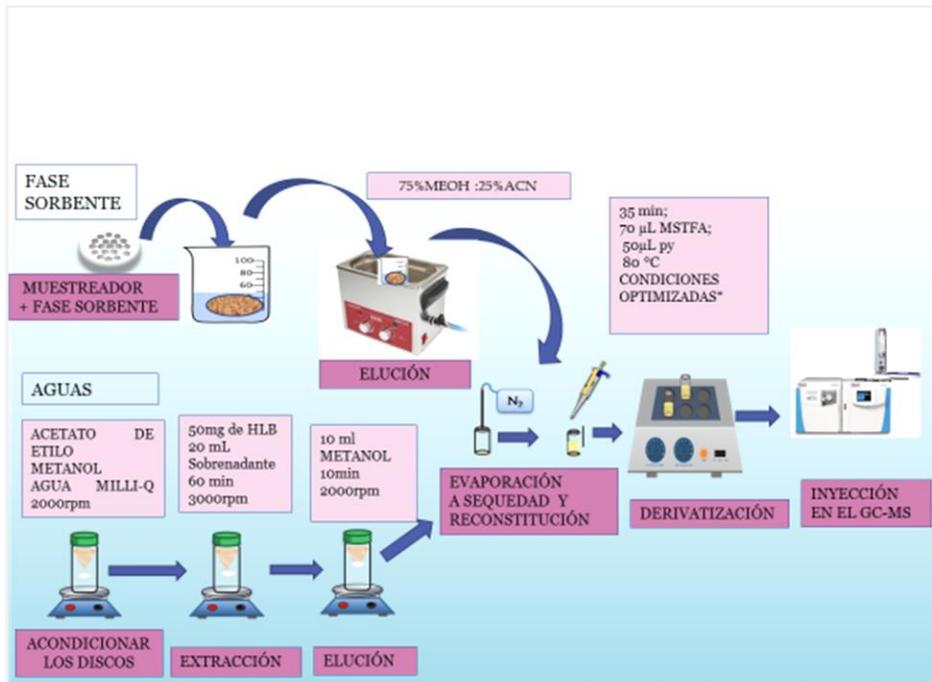


Figura 28. Esquema de la metodología desarrollada para la determinación de los contaminantes en estudio, tanto en aguas como en el eluato de la fase sorbente.

Para el caso de la metodología de aguas (también se aplicará al eluato de la fase sorbente) se optimizó una metodología basada en la extracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) [39]. El dispositivo de extracción (disco) se cargó con 50 mg de Oasis® HLB. La cavidad se cubrió con un filtro de fibra de vidrio y se selló con un anillo de teflón. Previamente a la extracción desde la muestra líquida, el disco con la fase sorbente se acondicionó en acetato de etilo, metanol y agua Milli-Q durante 5 min con cada uno respectivamente.

Para la extracción se vertió una alícuota de 20 mL de muestra o estándar de agua en un vial y se ajustó a un pH 6 con tampón acetato. Se colocó el disco rotatorio previamente acondicionado dentro del vial, y se le hizo rotar a 3000 rpm durante 60 minutos a temperatura ambiente. Después de la extracción, se eliminó el sobrenadante y el disco se colocó en un vial con 10 mL de metanol como disolvente de desorción y se agitó durante 10 min a 2000 rpm.

Se extrajo el sobrenadante de metanol que contiene los analitos concentrados y se evapora bajo corriente de N<sub>2</sub>. Posteriormente se derivatizó el extracto, con el método de derivatización previamente optimizado y se analizó mediante GC-MS en modo SIM, de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente [39].

### **3.6. Estimación de las constantes Rs (tasas de muestreo) de los muestreadores en laboratorio.**

Para la calibración de muestreadores pasivos en el laboratorio [40-42] se implementaron con 200 mg de cada una de las fases en polvo: fase C18, corcho natural molido de dos orígenes distintos (tapón y lámina) de 100 mesh y para el caso de corcho laminar se cortó un círculo de corcho laminar de 600 mg, semejante en diámetro a la membrana de polietersulfona. En todos los casos, las fases fueron recubiertas con dos membranas de polietersulfona.

Se sumergieron 4 muestreadores (por cada tipo de fase) en una solución (5 L) con los analitos en estudio (10 µgL<sup>-1</sup>) y se estuvieron agitando constantemente durante 14 días. Se extrajeron alícuotas de 20 mL periódicamente durante los 14 días. Estas alícuotas se guardaron en frascos plásticos y fueron congeladas. Una vez terminado el período de 14 días, se analizaron todas las muestras por GC-MS con RDSE mediante la metodología descrita con anterioridad [39]. Para el desarrollo de este experimento se armaron los muestreadores como aparece descrito en la figura 24 , pero en vez de medir en el eluato de la fase sorbente, se midió en las alícuotas que se fueron tomando.

Teniendo en cuenta la ecuación (4), expresada en el apartado de muestreadores pasivos:

$$\ln \frac{C_t}{C_{t_0}} = K_e * t$$

Se representa ln (Ct/ Cto) vs t expresado en días y la pendiente de la recta será la Ke igual a Rs en esta calibración simple. Las unidades de Rs serán en Ldía<sup>-1</sup>. Esto se cumple siempre que el experimento se encuentre en la etapa cinética y suponiendo que la reacción es de primer orden.

Para los estudios de extracción en el laboratorio, los muestreadores se sumergieron en soluciones con concentraciones de 10 µgL<sup>-1</sup> de todos los analitos en estudio. Estos muestreadores se mantuvieron durante 14 días bajo agitación vertical a 100 rpm a temperatura ambiente con el fin de construir los perfiles de concentración (depleción de cada uno de los analitos en agua) y finalmente se determinó la retención de los analitos la fase del muestreador.

Para las curvas de depleción se midieron alícuotas del agua de 10mL, las cuales se almacenaron en el congelador para ser posteriormente analizadas previa extracción con RDSE, determinando los analitos por GC-MS, previa derivatización de éstos. Para ello se realizaron diferentes experimentos, probando diferentes armados del muestreador, diferentes sistemas de agitación y con diferentes fases sorbentes entre ellas: corcho de diferentes tipos y C18.

### 3.7. Calibración cinética. Simetría de desorción y absorción.

Con el objeto de asegurar la aplicabilidad del método en muestreo pasivo y para poder hacer la corrección según las condiciones medioambientales de cada muestreo, debe ser verificada la existencia de comportamiento isotrópico de absorción entre el analito y el muestreador y la desorción del compuesto marcado, del muestreador [43].

Para la obtención de las curvas de desorción, se enriqueció la fase laminar de corcho con compuestos marcados, un compuesto por cada grupo o familia, etilparabeno-D<sub>3</sub>, estrona-2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub> y triclosan-D<sub>3</sub>. Para ello, se sumergió la fase laminar de corcho, (sin el muestreador de teflón) en solución acuosa preparada por separado para cada uno de los tres compuestos calibrantes (etilparabeno-D<sub>3</sub>, estrona-2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub> y triclosan-D<sub>3</sub>) o de referencia en una concentración de 20 µg L<sup>-1</sup> y se mantuvo en agitación a 100 rpm durante 7 días.

A continuación, en la figura 29 se muestra el montaje para la realización del enriquecimiento de la fase laminar corcho

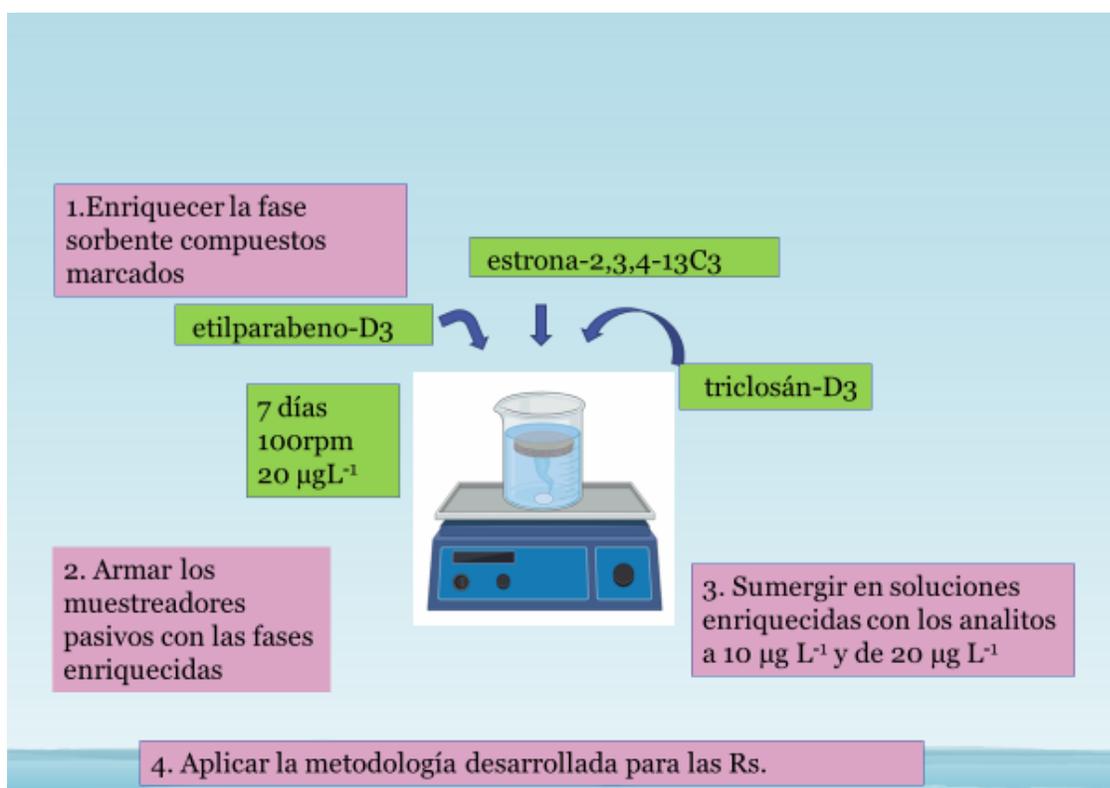


Figura 29. Esquema del montaje empleado para realizar el enriquecimiento de la fase con los compuestos marcados.

Después, se armaron los muestreadores pasivos de teflón desarrollados con las fases enriquecidas y se sumergieron en recipientes de 5 L (por separado para cada calibrante) que contenían solución preparada con aguas desionizada y multiestandar de etilparabeno, estrona y triclosán, respectivamente, a concentraciones de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  y de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ . Se mantuvieron en agitación a 100 rpm durante 14 días. Durante estos días fueron tomadas alícuotas de 20 mL de forma periódica. Estas alícuotas fueron almacenadas en frascos plásticos y congeladas a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Una vez finalizado el periodo de 14 días, todas las muestras fueron analizadas por GC-MS utilizando previamente, la extracción por disco rotatorio (RDSE) descrito en la metodología [39].

### **3.8. Desarrollo de experimentos de correlación entre concentración en solución y la retención en el muestreador.**

Para este experimento se armaron 4 set de muestreadores con fase corcho laminar. Esta fase de corcho laminar fue sometida a un tratamiento de limpieza previamente (se sonicó en mezcla de 75%/25% metanol/ acetonitrilo hasta pérdida del color amarillo de eluato) y también se le acondicionó (se sonicó por 20 min con mezcla de 75%/25% metanol/ acetonitrilo y después otros 20 min con agua desionizada). Cada uno de ellos fue sumergido en recipientes de 5 L en soluciones preparadas con agua desionizada y con cantidad de tres de los analitos, etilparabeno, estrona y triclosán con el fin de conseguir concentraciones finales en solución de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $4 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente. Se mantuvieron en agitación a 10 rpm durante dos días. Posteriormente fueron retirados, eluidos y analizados por la metodología descrita anteriormente [39].

### **3.9. Validación en terreno. Comparación de las concentraciones obtenidas con muestreo pasivo con las obtenidas con un muestreador automático o con muestreo puntual. Muestreo de aguas.**

Para la validación, dependiendo del punto de muestreo y de la posibilidad de tener o no tener muestreador automático en ese punto, se validó el muestreo in situ, con uno u otro tipo de muestreo. Así en los puntos de muestreo antes de la planta de tratamiento (afluente) o justo después de la planta de tratamiento (efluente), fueron validados con los muestreadores automáticos de propiedad de la empresa. En los puntos de muestreo, sobre el río, aguas arriba de la planta de tratamiento (sector Canoa) o aguas abajo de la planta de tratamiento (sector Puente Esperanza), se utilizó muestreo puntual.

En ambos casos se determinó la concentración obtenida a través del muestreador pasivo, expuesto durante un día a la entrada y salida de la planta de tratamiento de aguas residuales de El Trebal, o en los puntos sobre el río.

En el caso de los puntos afluente y efluente la concentración, se comparó con la obtenida en una muestra compuesta formada por múltiples alícuotas tomadas mediante un sistema de muestreo puntual automático, durante el mismo periodo de tiempo (24 horas), colocado en los puntos donde se colocó el muestreador pasivo, antes de la planta de tratamiento de aguas residuales y después de la planta de tratamiento de aguas (afluente y efluente). En el caso de los puntos de muestreo en el río, aguas arriba, sector Canoa y aguas abajo, sector Puente Esperanza, la concentración obtenida por el

muestreador pasivo con 24 horas de exposición, fue comparada con la muestra tomada puntualmente en el comienzo del muestreo pasivo y en el mismo punto donde fue localizado el muestreador pasivo.

Aparecen trabajos en la bibliografía donde validan el muestreador comparando con muestras compuestas tomadas con diferentes muestreadores automáticos [43-46]. En nuestro caso, el muestreador fue programado para tomar un alícuota cada hora y del total de la muestra tomada en 24 horas, se tomó un litro de muestra que fue congelada y transportada refrigerada al laboratorio.

En la siguiente figura se muestra uno de los muestreadores automáticos que posee la planta de tratamiento de aguas, donde se hizo el muestreo.



Figura 30. Fotografía del muestreador automático, localizado en la arqueta de salida de la planta el Trebal (efluente).

Los muestreadores pasivos, fueron colocados con una canastilla metálica, colgados de un cable de acero galvanizado grueso y fueron introducidos por el tubo gris que aparece en la imagen. Se dejaron el mismo tiempo, 24 horas en que fue programada la toma de la muestra compuesta.

En la siguiente figura se puede observar cómo fueron colocados los muestreadores en la canasta, afirmados por cable de acero para que no se soltaran debido a la turbulencia de las aguas.



Figura 31. Muestreadores colocados en una canastilla de acero para su disposición y muestreo.

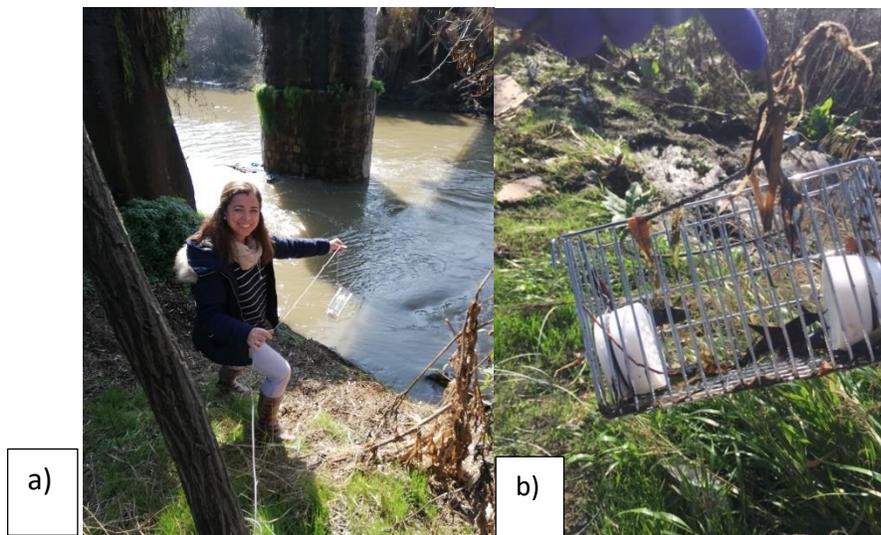


Figura 32. a) Fotografía colocando el muestreador en el Río Mapocho, sector Canoa; b) Fotografía de canasta con los muestreadores pasivos, después de 24 horas de muestreo, sector Puente Esperanza.

En los últimos puntos de muestreo fuera de la planta de tratamiento de agua, no se tenía información de las condiciones hidráulicas durante el muestreo, por lo que los muestreadores, fueron enriquecidos con compuestos marcados de referencia para poder corregir los valores obtenidos si fuese necesario [17]. Aunque existen otros estudios donde sólo utilizan las Rs de laboratorio obtenidas en situaciones similares a las condiciones promedio reales del muestreo de río [46].

## 4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Dada la polaridad intermedia de los analitos seleccionados, la fase comercial que resultaría óptima para utilizar en el muestreo pasivo, sería la fase Oasis HLB. No obstante, esta fase es de alto costo y teniendo en cuenta que las cantidades necesarias de fase sorbente para rellenar el muestreador (200-600mg) son grandes, se vio la posibilidad de utilizar otras fases alternativas. En este sentido, seleccionamos como fase alternativa el corcho [8] dada su composición. El corcho es material de origen natural, se obtiene de la corteza del árbol de Alcornoque y está formado por suberina en un 45%, polifenoles como lignina y taninos en un 33% y celulosa en un 12 %, además ceras en un 5% y otros compuestos minoritarios como agua y sales minerales en un 5%. Los principales componentes de la suberina son los ácidos grasos ferúlico, esteárico y fenólico entre otros, también la componen alcoholes y oxiácidos. La suberina le da sus características de elasticidad e impermeabilidad. Su estructura molecular es en forma de celdas, le permite tener cavidades con aire. La lignina es un polímero compuesto por alcoholes aromáticos. La celulosa forma microfibrillas rígidas que permiten al corcho obtener resistencia ante el estiramiento. El agua representa entre el 3% al 10% según su almacenamiento [7]. Debido a esta capacidad de retener agua, se puede emplear como fase sorbente en los muestreadores pasivos desarrollados, para el muestro de contaminantes emergentes en aguas. Además, existen otros trabajos que hacen referencia a las propiedades extractivas del corcho debido a su naturaleza, donde se describen capacidades extractivas del mismo orden que la fase Oasis HLB [52, 53]. En cuanto a las propiedades físicas del corcho, se podría mencionar que tiene una densidad baja entre 0,12 g/ml y 0,25 g/ml. Aunque el corcho es considerado casi impermeable gracias a la suberina y cera que lo contiene, su impermeabilidad no es absoluta ya deja fluir lentamente el gas y materiales microfluidos, debido al contenido gaseoso de sus células. Debido a esto se puede utilizar como fase sorbente, de manera que su interacción con este tipo de analitos serviría para este propósito. El corcho ha sido utilizado para microextracción de analitos semi polares desde muestras de agua [47].

De forma comparativa utilizamos la fase comercial hidrofóbica octadecil C18, considerando que la interacción con los analitos debiera ser más débil, dado que solo existiría la posibilidad de interacciones hidrofóbicas, sin tener la posibilidad de formar enlaces por puente de hidrógeno.

### 4.1. Resultados para la metodología de aguas.

A continuación, en la tabla 7 se muestra los tiempos de retención de cada uno de los analitos, así como el ion cuantificador e identificador.

Tabla 7. Tiempos de retención de los analitos y sus iones cuantificador e identificador.

COMPUESTOS	$t_R$ (min)	IÓN CUANTIFICADOR	IÓN IDENTIFICADOR
METILPBN	9,23	209	224
ETILPBN	10,83	238	210
PROPILPBN	12,75	210	193
BUTILPBN	14,37	195	210
E1	23,17	342	257
E2	23,34	285	416
E3	24,92	345	504
EE2	24,32	425	196
IBUPROFENO	11,95	234	278
NAPROXENO	18,28	302	287
MEFENÁMICO	19,39	298	313
DICLOFENACO	20,38	242	214
KETOPROFENO	19,52	311	282
TRICLOSÁN	18,76	200	345

A continuación, en la tabla 8, se presenta las cifras de mérito de la metodología desarrollada.

Tabla 8. Cifras de mérito de la metodología desarrollada.

COMPUESTOS	ECUACIÓN	LINEALIDAD R <sup>2</sup>	LOD, µgL <sup>-1</sup>	LOQ, µgL <sup>-1</sup>	% RE
METILPBN	y=12553x-223099	0,9904	0,08	0,23	75
ETILPBN	y=6469x-29011	0,9960	0,07	0,20	74
PROPILPBN	y=6493x-73730	0,9943	0,11	0,33	81
BUTILPBN	y=11402x-195141	0,9949	0,04	0,11	97
ESTRIOL	y=435x+12653	0,9968	0,07	0,21	38
ESTRONA	y=4852x-22181	0,9982	0,04	0,11	75
ETINILESTRADIOL	y=3573x-56164	0,9935	0,07	0,21	79
ESTRADIOL	y=3984x-35676	0,9929	0,04	0,11	80
KETOPROFENO	y=778x-10424	0,9911	0,15	0,44	82
NAPROXENO	y=3977x-44141	0,9996	0,07	0,20	31
IBUPROFENO	y=2730x-16881	0,9966	0,03	0,08	75
MEFENÁMICO	y=1208x+16420	0,9965	0,09	0,27	30
DICLOFENACO	y=1481x-23067	0,9898	0,04	0,12	33
TRICLOSÁN	y=8068x-184715	0,9971	0,07	0,21	44

A continuación, en la Figura 33 se presenta el Cromatograma de un estándar de los analitos en modo SIM.

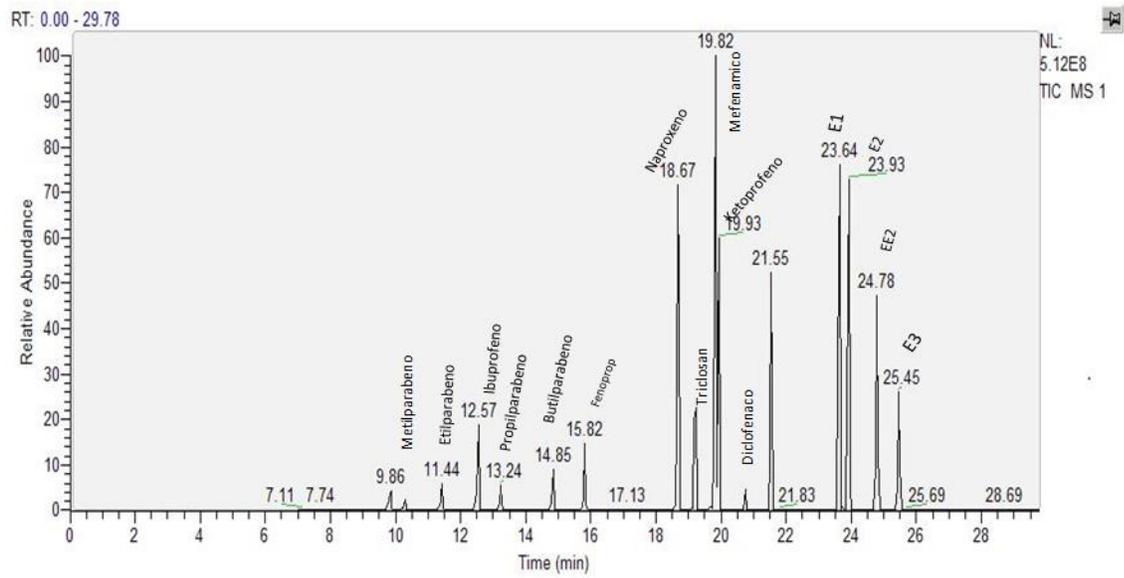


Figura 33. Cromatograma SIM de todos los analitos a 500  $\mu\text{gL}^{-1}$ .

#### 4.2. Estudio de la elución.

Se hicieron estudios preliminares de exposición del muestreador pasivo conteniendo estas diferentes fases sorbentes de manera de determinar el primer lugar el mejor agente eluyente. Se probaron para la elución metanol y acetonitrilo [40], y se observó que se obtenían señales muy diferentes según cada analito, algo que era de esperar pues estamos trabajando con analitos que tienen estructuras moleculares y características fisicoquímicas muy variadas, Por ello para la elección de la fase sorbente, se procedió primero a la optimización de la elución.

Se evaluó mezclando diferentes proporciones de los solventes mencionados. Para ello se armaron 8 muestreadores con fase sorbente semejante, en este caso se utilizaron 200 mg de fase C18 y se sumergieron de a 4 unidades en unos recipientes con 5 L de soluciones preparadas con agua Milli-Q y multiestandar de 10  $\mu\text{g/L}$  y se pusieron en agitación vertical de 100 rpm durante una semana.

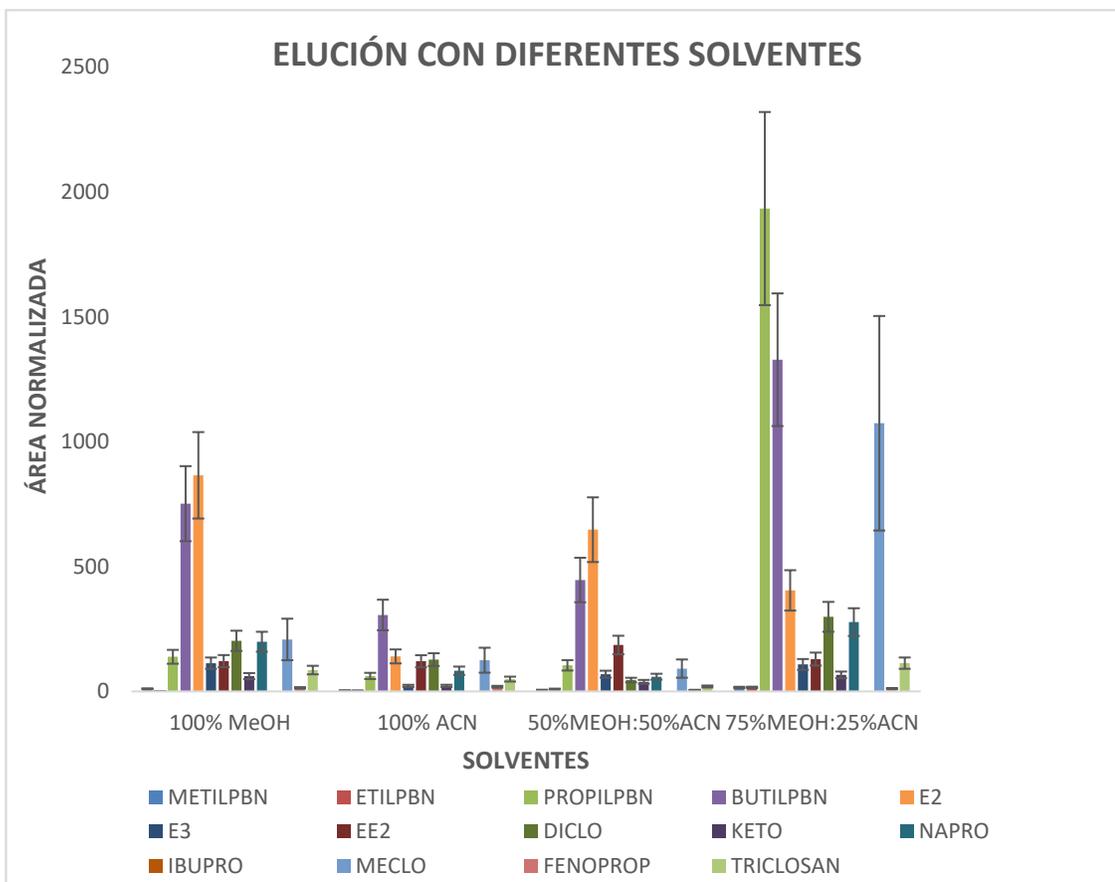


Figura 34. Elución de todos los analitos excepto E1, con diferentes porcentajes de mezclas de metanol y acetonitrilo.

Dado que la hormona E1 tiene una sensibilidad muy alta comparada con el resto de los analitos, esta se representa en el siguiente gráfico (Fig. 36).

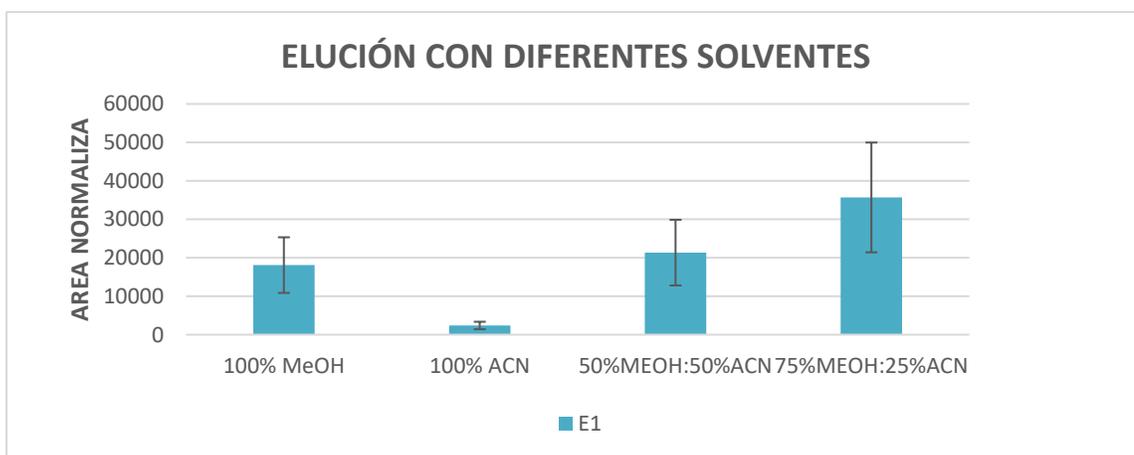


Figura 35. Elución de E1 con diferentes porcentajes de mezcla de metanol y acetonitrilo.

Como se muestra en las Figuras 34 y 35 para la mayoría de los compuestos, la elución más efectiva fue con la mezcla de 75% de metanol y 25% de acetonitrilo.

Una vez estudiada la mezcla de solventes apropiada para la elución, se optimizó el número de eluciones necesarias para conseguir la máxima extracción. Para ello se procedió a repetir dos etapas de elución, la primera con 20 mL de mezcla de 75% metanol y de 25% acetonitrilo, sonicando durante 20 min a la máxima potencia, separando el sobrenadante y realizando una segunda etapa de elución, con 10 mL de mezcla de solventes procediendo de la misma forma.

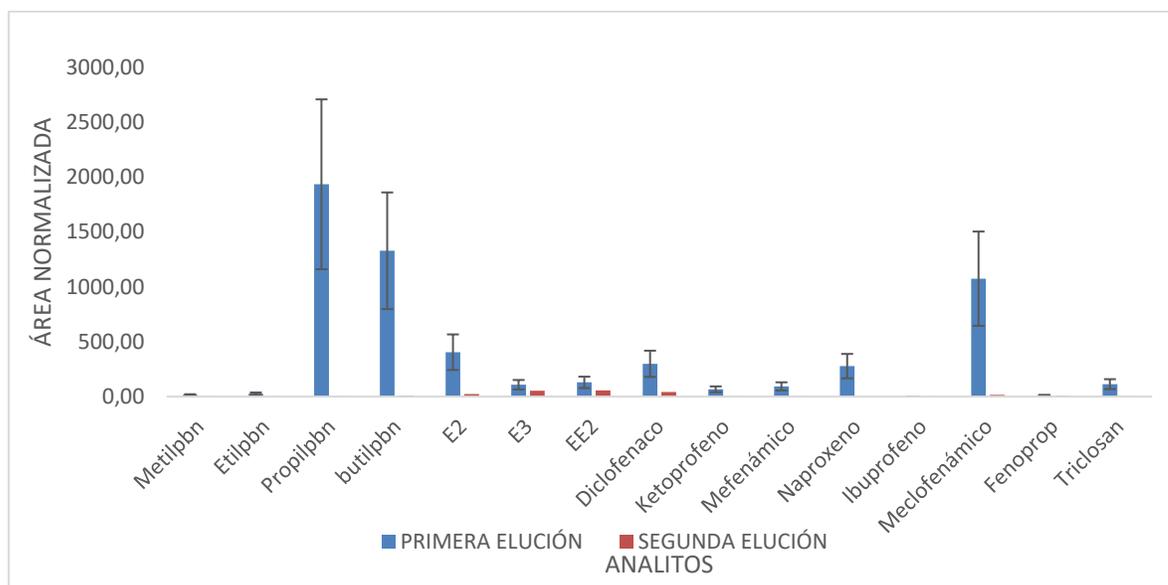


Figura 36. Optimización del número de las eluciones de todos los analitos con excepción de E1.

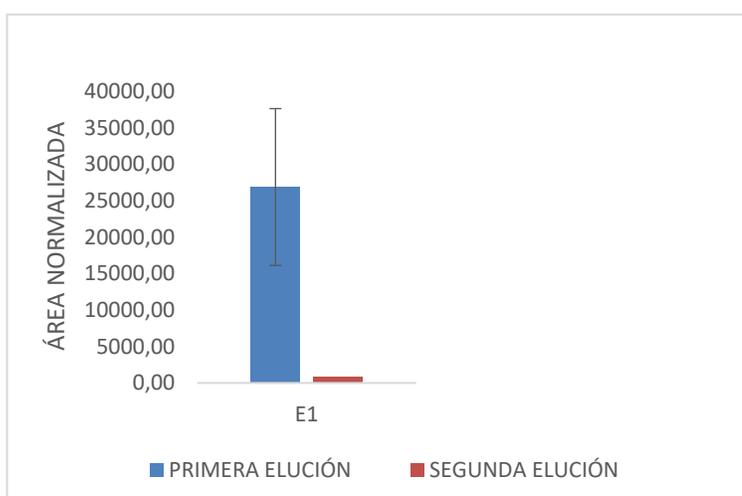


Figura 37. Optimización del número de eluciones de E1.

Las fig. 36 y 37 muestran que dos eluciones son necesarias para la desorción cuantitativa de los compuestos en estudio.

Analizando los gráficos de las Fig. 36 y 37 podemos concluir que dos etapas de elución serían suficientes para la mayoría de los compuestos estudiados. Si bien nuestra experiencia indica que las técnicas de microextracción requieren en general de una sola etapa elución para una desorción cuantitativa de los compuestos, en el caso del muestreador pasivo, la segunda elución fue necesaria debido a que la cantidad de compuesto sorbido es comparativamente mayor y una única elución no resulta suficiente para una determinación cuantitativa.

#### **4.3. Elección de la fase sorbente.**

En este estudio se evaluaron fases comerciales como C18, que típicamente se utiliza en SPE y corcho, como fase natural.

La fase corcho ha sido utilizada previamente como fase sorbente en sistemas de microextracción debido a su composición química y se ha visto que incluso puede extraer contaminantes emergentes con rendimientos similares a la fase Oasis HLB y con costos mucho menores [7,47,48, 49]. Además, el uso de corcho en estos sistemas analíticos le otorga a la metodología una connotación verde o de ecoeficiencia que es muy importante hoy por hoy en la química analítica.

Se estudiaron fases de corcho en dos formatos diferentes: fase corcho pulverizada y fase laminar prensada. Adicionalmente se utilizó corcho pulverizado proveniente de tapones reutilizados. En una primera etapa se hicieron estudios preliminares, exponiendo los muestreadores a catorce días de agitación, pues en la bibliografía se recomiendan tiempos de exposición de dos a tres semanas.

Para comparar las fases, se montaron los muestreadores con cada una de ellas y fueron sumergidos en dos recipientes de 5L de solución preparada con agua desionizada y un multiestandar con concentración de  $10 \mu\text{gL}^{-1}$  de cada analito. Después de los 14 días de agitación a 100 rpm, los muestreadores con las fases envueltos en papel de aluminio fueron almacenados en el congelador.

Para la extracción de los analitos desde la fase sorbente de los muestreadores, se procedió a aplicar la metodología optimizada de elución. Posteriormente los eluatos se llevaron a sequedad con corriente de  $\text{N}_2$ , se derivatizaron con la metodología descrita anteriormente, se les añadió  $50 \mu\text{L}$  de estándar interno de  $1 \text{mgL}^{-1}$ , se agitaron con vortex para homogeneizar y se inyectaron en el GC-MS.

A continuación, en la tabla 9 se presentan los valores de áreas normalizadas, de los diferentes eluatos, obtenidas según las fases sorbentes empleadas en el muestreador pasivo diseñado.

Tabla 9. Comparación de la extracción de los analitos de las diferentes fases en estudio. Áreas normalizadas de cada analito.

COMPUESTOS	CORCHO LAMINAR pulverizado	CORCHO TAPONES pulverizado	C18
METILPBN	15,5 ± 6,1	0,30 ± 0,08	1,5 ± 0,8
ETILPBN	40 ± 10	0,15 ± 0,03	3,0 ± 1,9
PROPILPBN	75 ± 37	2,0 ± 0,6	1,2 ± 0,7
BUTILPBN	nd	nd	2,8 ± 0,7
E1	2191 ± 240	nd	nd
E2	2518 ± 1817	nd	6,5 ± 1,1
E3	28 ± 17	11,9 ± 4,5	6,8 ± 0,8
EE2	365 ± 110	nd	8,4 ± 2,1
DICLOFENACO	10,6 ± 0,9	7,0 ± 4,3	0,4 ± 0,2
KETOPROFENO	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,3 ± 0,2
MEFENAMICO	5,8 ± 1,2	7,3 ± 0,5	0,8 ± 0,7
NAPROXENO	39 ± 19	nd	0,5 ± 0,4
IBUPROFENO	0,2 ± 0,1	0,13 ± 0,04	0,06 ± 0,04
MECLOFENAMICO	72 ± 49	6,3 ± 5,1	0,9 ± 0,0
FENOPROP	1,2 ± 0,4	0,9 ± 0,1	nd
TRICLOSÁN	35,6 ± 0,4	nd	17 ± 2

nd: No se pudo detectar

En la Tabla 9 se observa, que la fase más recomendable para la sorción de la mayoría de los analitos es la fase de corcho laminar molido y, en segundo lugar, la fase molida de tapones y en líneas generales, la fase C18 es la que menos retiene a este grupo de compuestos.

El que retenga más la fase corcho en general a la C18 puede atribuirse a los componentes del corcho que puede generar interacciones tipo puentes de hidrógeno e interacciones  $\pi$ - $\pi$  con los analitos en estudio. El hecho de que retenga más la fase corcho laminar molida que la fase de corcho de tapones molidos, podría ser atribuible a que eran tapones reutilizados provenientes de botellas de vino y no sabemos si tienen otros componentes no naturales incluidos en su fabricación que no tengan estas características extractivas.

Por otro lado, se puede observar que, en algunos valores, las dispersiones de los resultados fueron muy elevadas para un estudio analítico de este tipo. Esto último se debe a que los extractos finales provenientes de las fases de corcho presentaban un fuerte color amarillo que indica que, junto a nuestros analitos, se extraen otros compuestos solubles constituyentes de la misma fase. Por ello en el cromatograma de la figura 38 se observa una línea base muy elevada y si se compara con el cromatograma de los estándares de la figura 33, se evidencia un solapamiento de señales.

Este efecto de solapamiento de picos observado podría ser asociado al alto factor de preconcentración implícito en el muestreo, por ello, se consideró disminuir la cantidad de extracto de 40 mL a 500  $\mu$ L, para llevarlo a sequedad en corriente de  $N_2$  y así disminuir el efecto de la alta concentración de analito y de los componentes del corcho, que posiblemente estarían provocando acoplamiento de señales con los analitos (figura 39)..

Comparando las figuras 38 y 39 se observa una mejoría sustancial que se evidencia en la disminución de señales y de la línea de base de los cromatogramas.

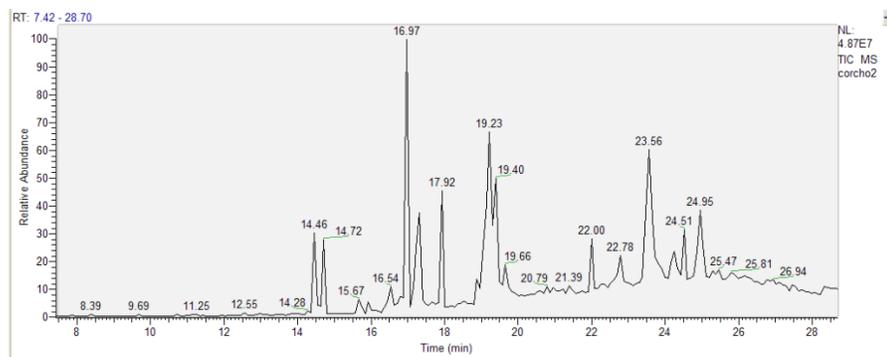


Figura 38. Cromatograma con evaporación a sequedad del total de 40 mL de eluato obtenidos después de las tres etapas de elución.

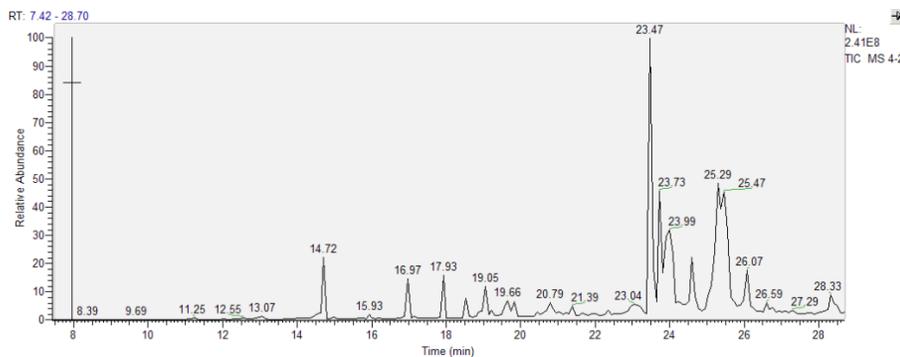


Figura 39. Cromatograma con evaporación a sequedad de 500  $\mu$ L de eluato del total de los 40 mL.

Por otro lado con el fin de mejorar más aún las señales de los analitos, fue necesario incluir una etapa previa de limpieza de los discos de láminas de corcho, por lo cual se realizó la limpieza del corcho con los mismos solventes de elución, metanol y acetonitrilo mezclados en una proporción de 75% y 25% respectivamente, sonicando hasta que dejara de aparecer el lixiviado de color amarillo, obteniéndose los siguientes cromatogramas que muestra la Figura 40.

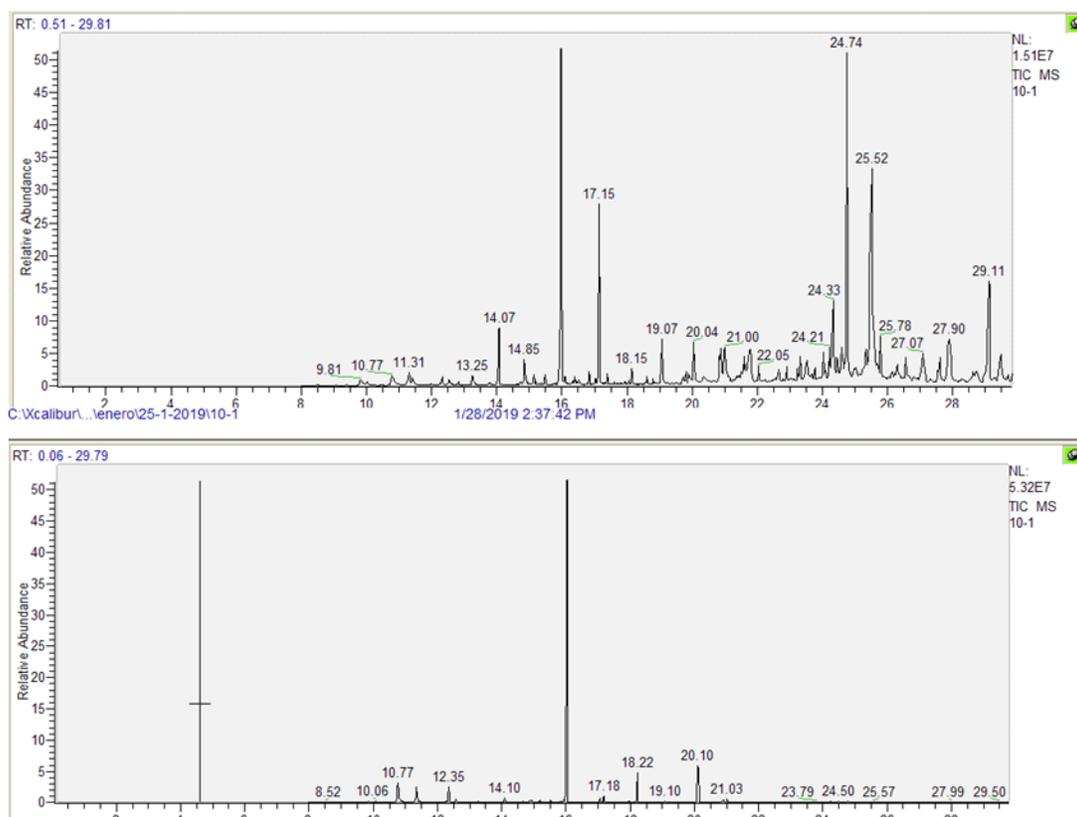


Figura 40. Comparación del eluato de corcho sometido a una (A) y dos etapas (B) previas de limpieza.

En la figura anterior el cromatograma superior se tomó del eluato después de hacer una etapa de limpieza sonicando los discos de corcho laminar, hasta desaparición de color amarillo con mezcla Metanol / Acetonitrilo. Se observa que aún aparecen señales atribuibles a compuestos de la fase corcho. El cromatograma de la Figura 40B se tomó después de hacer dos limpiezas, la primera con la mezcla metanol/acetonitrilo y una segunda con agua desionizada. Como se puede observar, en este segundo cromatograma, en esta condición el eluato aparece mucho más limpio.

Por tanto, se implementó la etapa de prelimpieza de la fase corcho laminar, junto con la evaporación de sólo 500 microlitros del total del eluato y se mejoró la reproducibilidad de los resultados disminuyendo en promedio las desviaciones a valores aceptables para muestreo pasivo (ver figura 41).

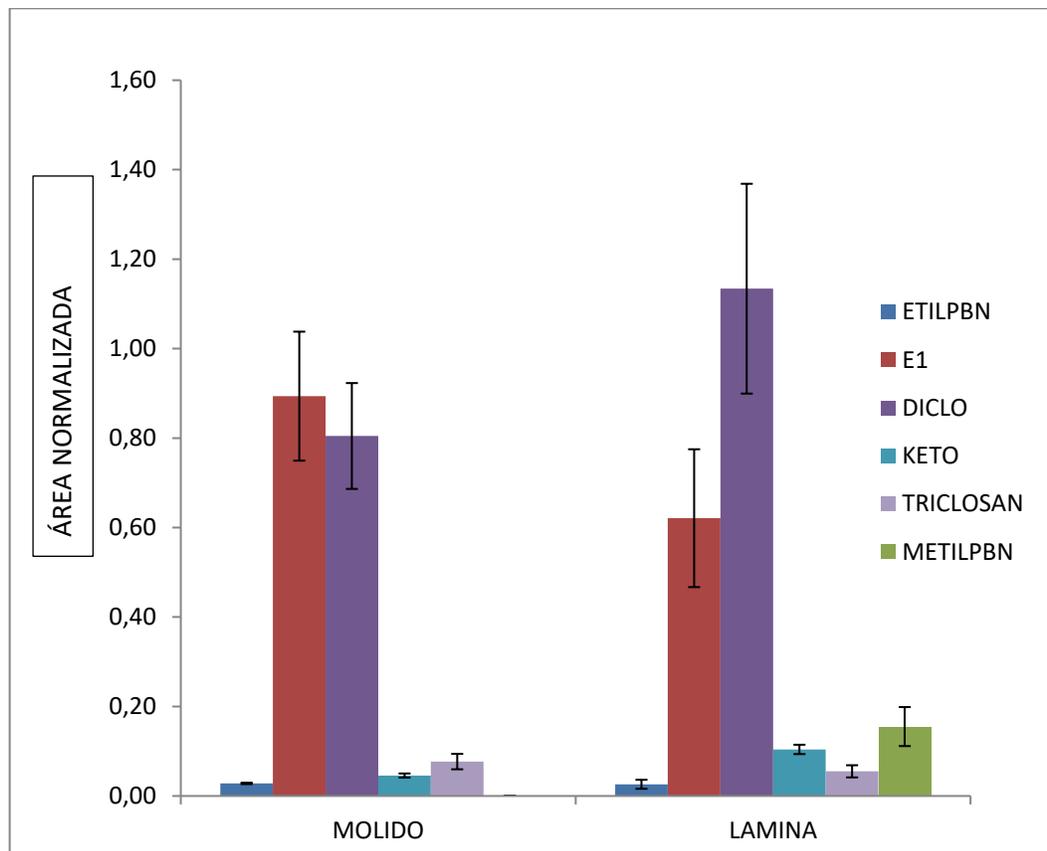


Figura 41. Comparación de la extracción entre los muestreadores armados con fase laminar de corcho molido y fase laminar de corcho sin moler, con sus áreas normalizadas con estándar interno.

Los resultados representados en la figura 41 se realizaron con tiempos de exposición más cortos (dos días) para trabajar con el muestreador pasivo antes del equilibrio o en la etapa cinética.

Se encontró, según la figura 41, que los dos formatos de la fase laminar son adecuados para el grupo de compuestos en estudio, en tiempos cortos de exposición (ya que no presentan diferencias

significativas). Pero considerando el tiempo de molienda y de armado que se consume en la preparación de la fase pulverizada, es más recomendable la elección de la fase sorbente laminar sin moler.

En la bibliografía aparece descrito una mayor capacidad extractiva para la fase corcho laminar respecto a la misma fase molida, que se atribuye a una mayor cantidad de masa de corcho [49]. En el caso de los muestreadores, un disco de corcho laminar cortado para que cubra exactamente en la parte interna del muestreador pesa 600 mg y en la misma cavidad circular cuando se arma con corcho molido del mismo origen, sólo tiene capacidad para 200 mg, debido a que el corcho es muy esponjoso. En nuestro caso no se aprecian diferencias significativas probablemente debido al poco tiempo de exposición y a la baja velocidad de agitación.

#### **4.3.1. Caracterización de la fase sorbente.**

Para su caracterización se realizó a través de un análisis por FTIR, Microscopia confocal (CLSM), y SEM.

Debido a la información extremadamente importante, sobre las estructuras orgánicas y grupos funcionales que nos podría proporcionar la técnica de FTIR, se realizó este análisis para caracterizar la fase. [50]

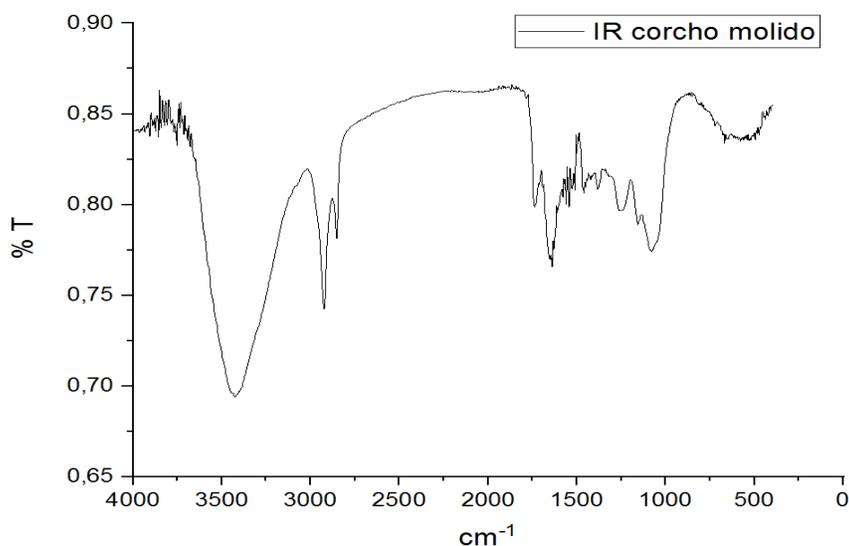


Figura 42. Espectro IR de la fase de corcho laminar molido.

En la figura 42, en el espectro de IR se puede observar una banda ancha a la altura del 3400  $\text{cm}^{-1}$  aproximadamente, asociada a grupos  $-\text{OH}$  que deben estar orientados hacia la superficie. La banda es ancha y da cuenta de la posibilidad de proveer enlaces por puente de hidrógeno provenientes del fenol. La banda a la altura del 2900  $\text{cm}^{-1}$  está asociada a cadenas alifáticas tipo metilos y metilenos. A 1700  $\text{cm}^{-1}$  aparece una banda asociada a grupo carbonilo. La banda fenólica que debería aparecer a

1234 $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la tensión C-O del fenol aparece solapada con otras señales. Interpretación coincidente a la descrita en la bibliografía para corcho molido [47].

Posteriormente se realizaron otros análisis por FTIR (figura 43), en nuestro laboratorio, en diferentes puntos de un mismo disco laminar de corcho sin moler, para ver si la composición espacialmente era uniforme y no se apreciaron diferencias. Las similitudes de este espectro con el publicado para el corcho natural, confirma que en el proceso de aglomeración del corcho laminar utilizado no se utilizaron aditivos [47]. Aspecto que resultó necesario aclarar para ver si las propiedades extractivas de la fase sorbente laminar de corcho elegida, eran atribuibles sólo a las propiedades del corcho natural y no a otros productos que podrían haber sido agregados en su prensado por parte del fabricante.

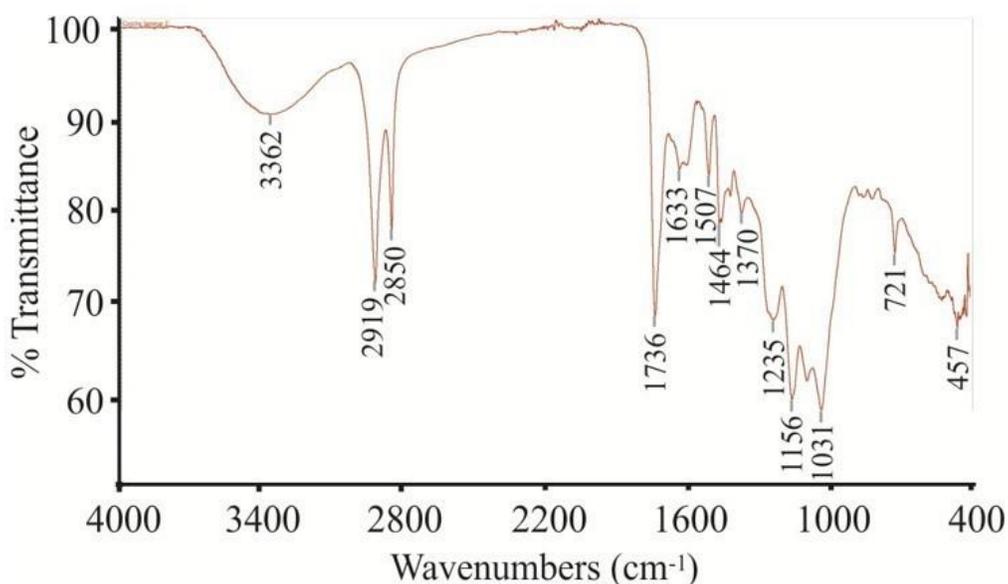


Figura 43. Espectro IR de la fase de corcho laminar.

Con el fin de comprobar por otra técnica que el corcho laminar prensado no tuviera presencia de aditivos, se realizó un análisis de este, con espectroscopía confocal de barrido láser [51]. El CLSM o Microscopio Confocal Láser de Barrido combina el microscopio de fluorescencia con la imagen electrónica.

Mediante esta técnica, se pudo obtener imágenes de alta resolución. Además, se combinó con un estudio quimiométrico MCR, lo cual logró una resolución espectral de la mezcla de compuestos.

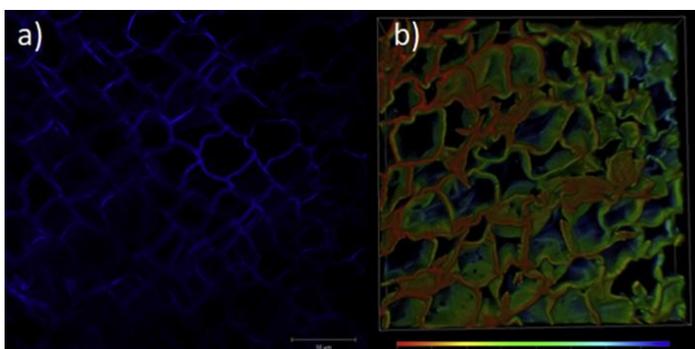


Figura 44. Imágenes de Fluorescencia de un estudio transversal de la muestra de corcho laminar. a) A  $\lambda$  exc 405nm, máximo de fluorescencia. b) Representación tridimensional del corte transversal con profundidad de 40  $\mu$ m.

En la Figura 45 aparecen en el apartado “a”, la imagen de fluorescencia obtenida a la máxima longitud de onda de excitación, 405 nm y en apartado “b”, se muestra la imagen obtenida a profundidad de 40  $\mu$ m.

A continuación, se muestran otras imágenes obtenidas con MCR-ALS, es un algoritmo que resuelve el modelo de MCR utilizando un algoritmo de mínimos cuadrados restringidos.

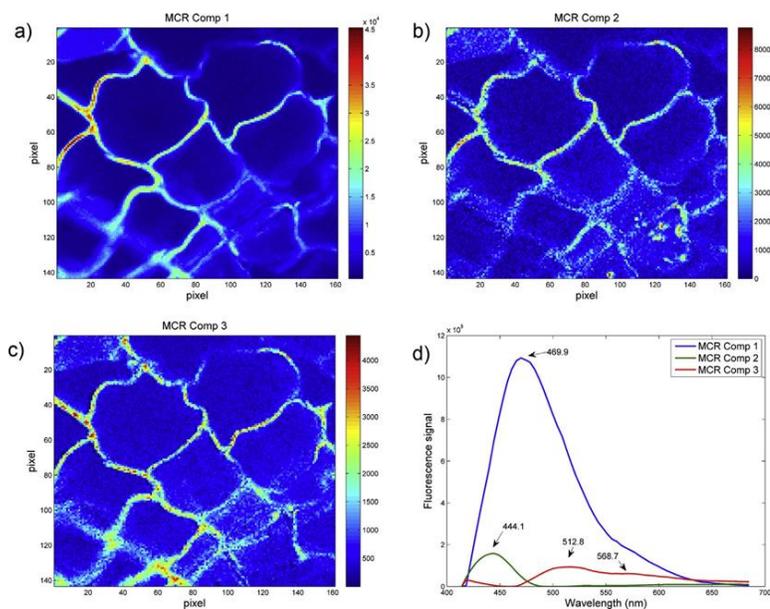


Figura 45. Imágenes de análisis multivariado de una microzona de la fase de corcho laminar (106.94 x 94.98 mm) realizadas con MCR-ALS: Mapeos de concentración relativa de MCRComponente 1 (a), MCRComponente 2 (b), and MCR Componente 3 (c). Espectro de emisión de cada componente puro (d).

El MCR1 sería Suberina, el MCR2 sería Celulosa y el MRC3 sería Lignina, todos ellos, son componentes característicos del corcho natural.

A continuación, se muestran las imágenes de SEM a diferentes tamaños.

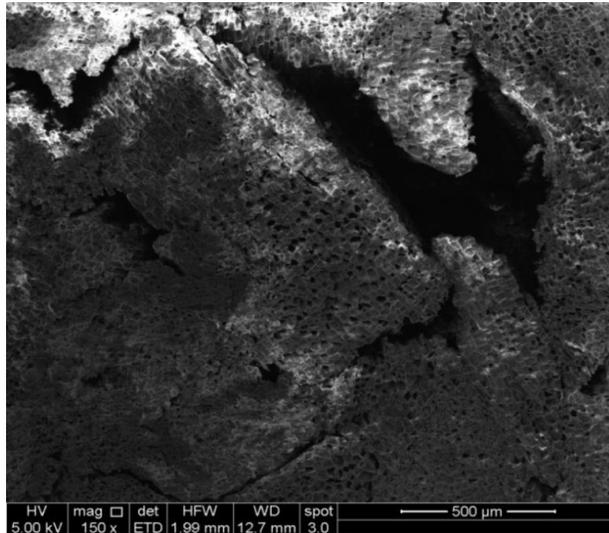


Figura 46. Fotografía por Microscopía electrónica del corcho laminar utilizado a escala 500 μm.

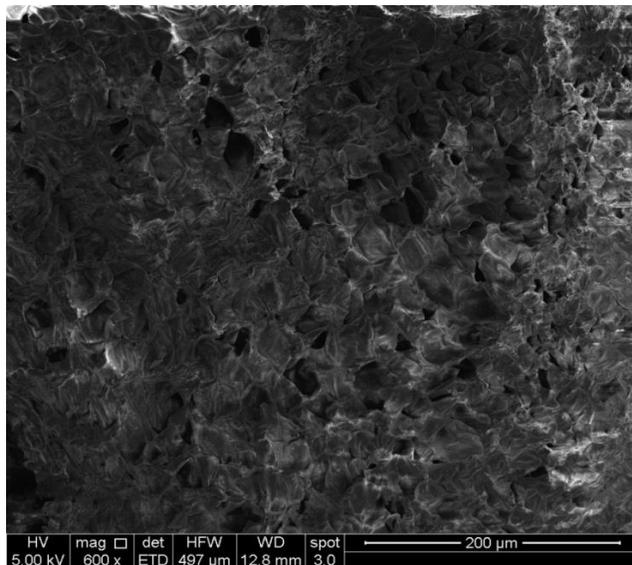


Figura 47. Fotografía por Microscopía electrónica a escala 200 μm.

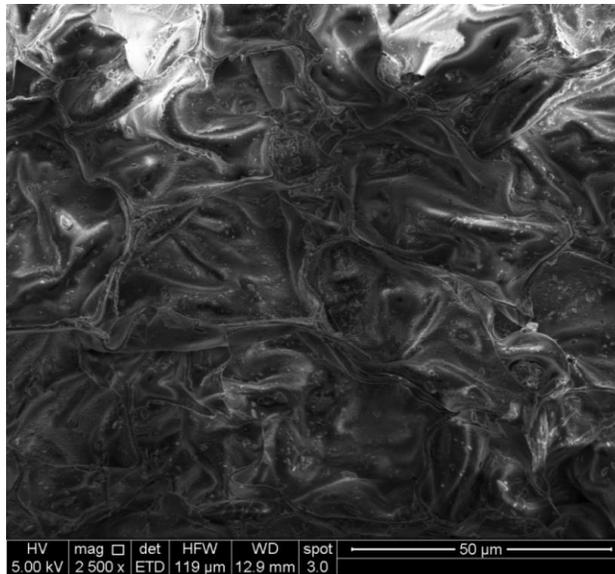


Figura 48. Fotografía por Microscopía electrónica a escala 50 μm.

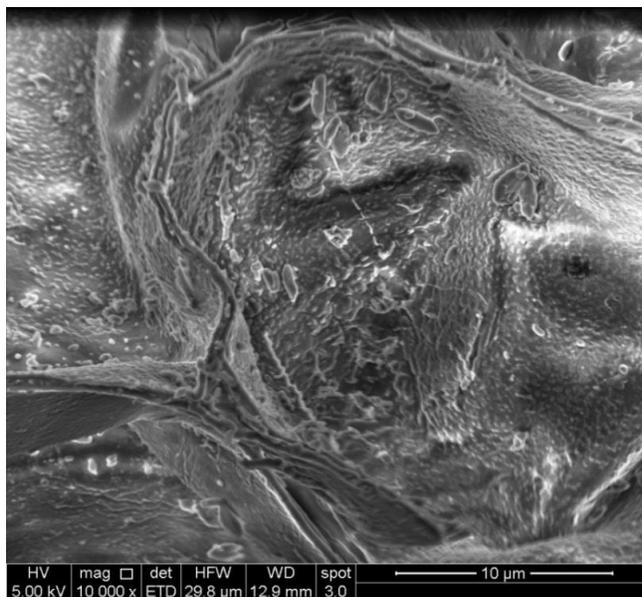


Figura 49. Fotografía por Microscopía electrónica a escala 10 μm.

Estas imágenes confirman lo descrito por la bibliografía acerca de las formas estructurales del corcho, también muestra una morfología que podría ser asociada a las estructuras moleculares de la suberina.

En general las diferentes imágenes de SEM muestran una superficie homogénea del corcho laminar en cuanto a su distribución porosa.

#### **4.4. Pseudocalibración del muestreador y obtención de las Rs en el laboratorio.**

Se obtuvieron perfiles de concentración de todos los analitos primero con la fase C18.

A continuación, se muestran dos perfiles o curvas de depleción a modo de ejemplo.

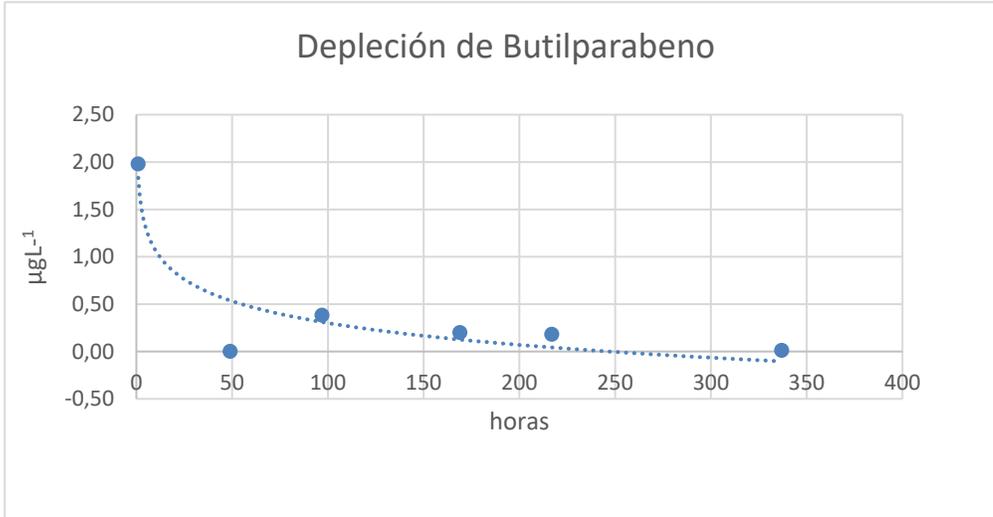


Figura 50. Curva de depleción para el butilparabeno con muestreador con fase C18.

Se puede observar que el butilparabeno a partir de las 100 horas de agitación o 6 días llega a una zona estacionaria. Sin embargo, en el caso de los otros parabenos se observó que en un par de días para la mayoría de ellos ya se llegaba a la zona estacionaria o de equilibrio.

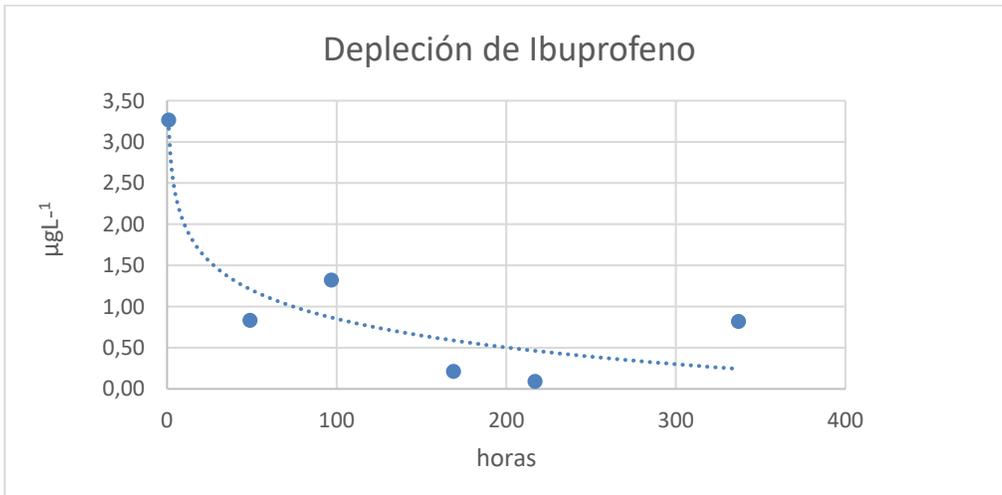


Figura 51. Curva de depleción para el Ibuprofeno con muestreador con fase C18.

En el caso del ibuprofeno se puede observar que entre los 175 horas y 200 horas llega a un estado estacionario o de equilibrio. Con los perfiles de concentración se pudieron calcular las constantes pseudocinéticas de calibración de los muestreadores en el laboratorio. Se le ha de hacer una corrección teniendo en cuenta que en el estudio de depleción se armaron 4 muestreadores y se pusieron en un recipiente con 5L de solución enriquecida.

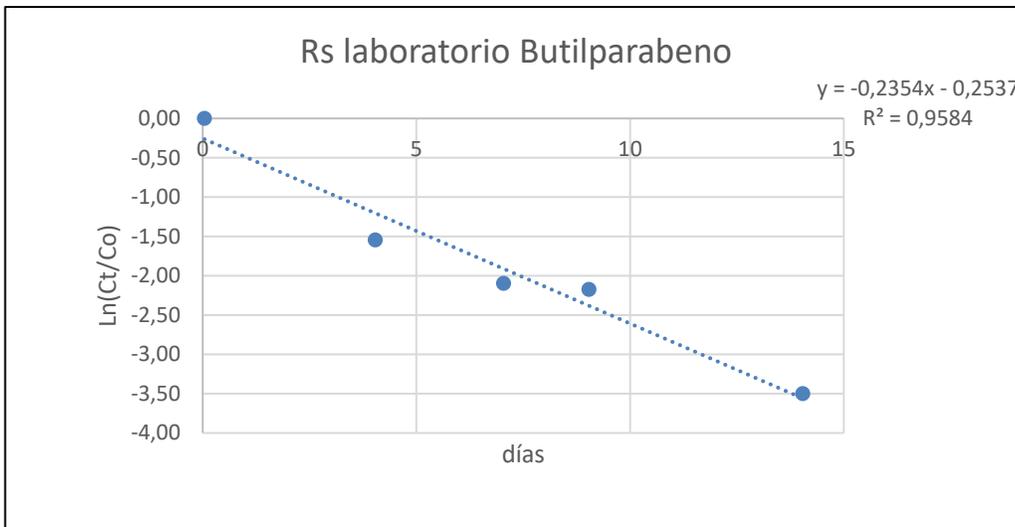


Figura 52. Obtención la Rs del butilparabeno con muestreador con fase C18.

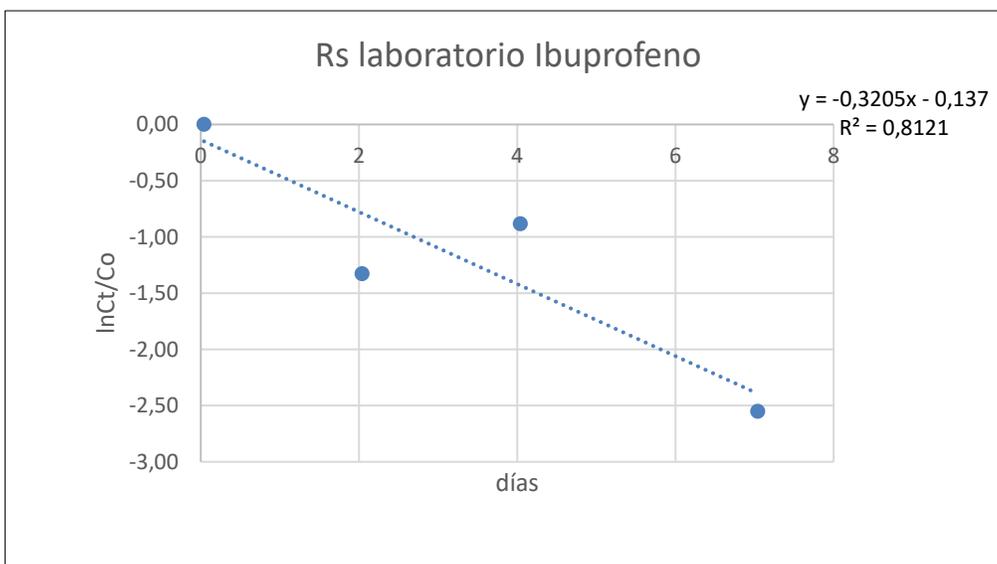


Figura 53. Obtención de la Rs del ibuprofeno con muestreador con fase C18

Para la fase corcho laminar se obtuvieron los perfiles de concentración que se observan en las Figuras 54 y 55, para E1 y TCS, respectivamente, como compuestos representativos.

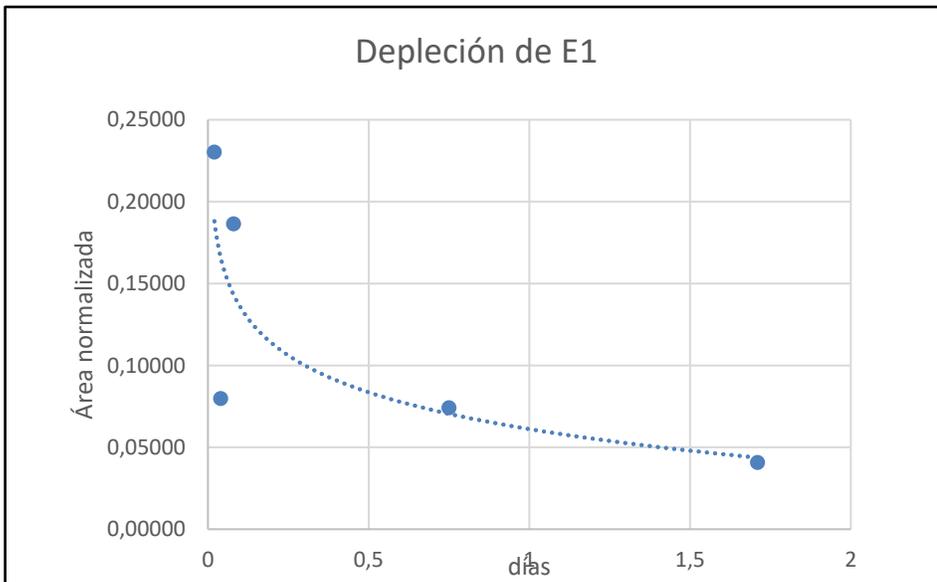


Figura 54. Curva de depleción para E1 con muestreador con fase corcho laminar.

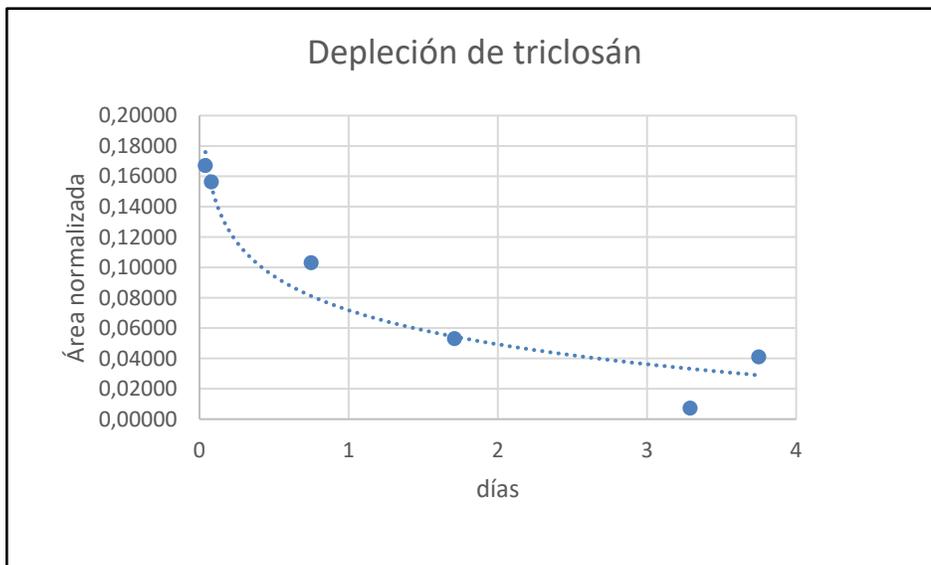


Figura 55. Curva de depleción para el triclosán con muestreador con fase corcho laminar.

De igual manera que con la fase C18, para el caso de la fase corcho laminar se obtuvieron las constantes pseudocinéticas o  $R_s$ , representando  $\ln C_t/C_0$  vs  $t$  en días.

Para la fase corcho laminar resultado más difícil obtener las Rs en el laboratorio.

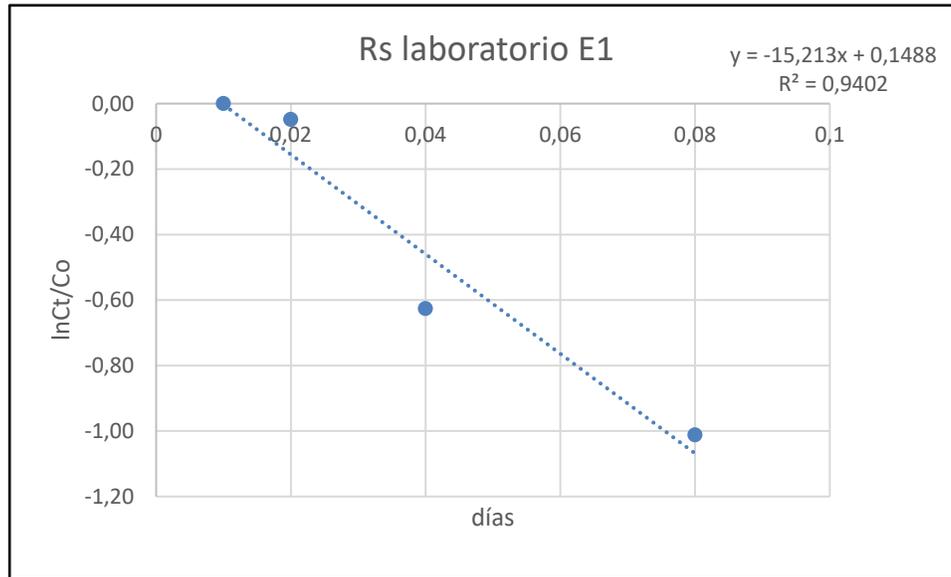


Figura 56. Obtención de la Rs de E1 con muestreador con fase corcho laminar.

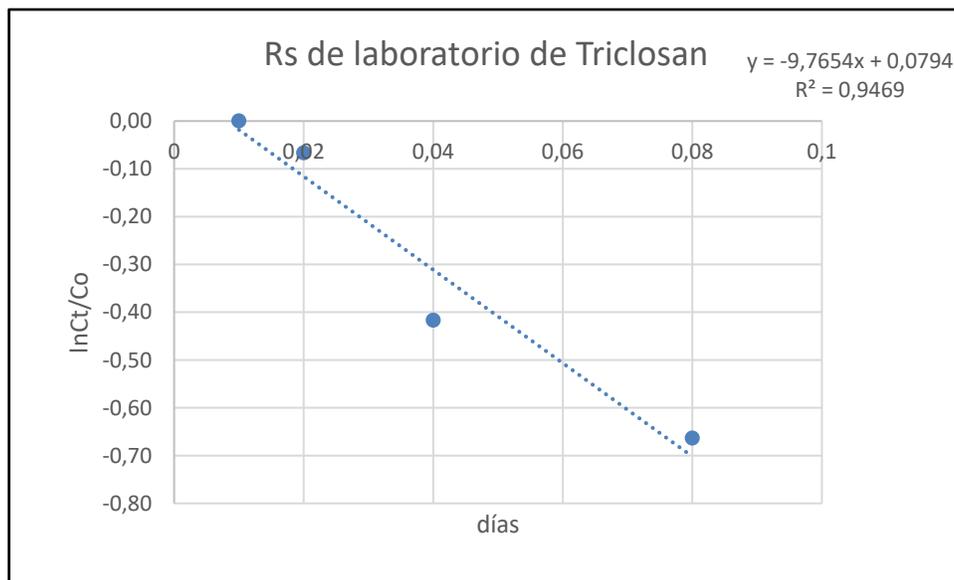


Figura 57. Obtención de la Rs de triclosán con muestreador con fase corcho laminar.

A continuación, se presenta una tabla con Rs, algunas obtenidas en el laboratorio y otras de la bibliografía.

Tabla 10. Rs (Ldía-1) para los diferentes analitos en diferentes fases, obtenidos en el laboratorio y sus valores encontrados en bibliografía para otros muestreadores.

COMPUESTOS	FASE CORCHO LAMINAR. (Ldía <sup>-1</sup> )	FASE CORCHO MOLIDO TAPÓN. (Ldía <sup>-1</sup> )	FASE C18. (Ldía <sup>-1</sup> )	BIBLIOGRAFÍA (HLB) (Ldía <sup>-1</sup> )
METILPBN			0,674	
ETILPBN	0,620		0,398	
PROPILPBN			0,533	
BUTILPBN			0,588	
E1	19,013	0,083		0,699
E2		0,068		0,388
E3		0,058	1,515	0,420
EE2		2,500	0,213	0,853
DICLOFENACO		0,123	0,558	0,094
KETOPROFENO			0,783	
MEFENAMICO		0,135	0,183	
NAPROXENO		1,435		0,125
IBUPROFENO				0,182
MECLOFENAMICO		0,196	0,980	
FENOPROP			0,528	
TRICLOSÁN	12,206	0,578	1,485	0,936

[18,22]

En la Tabla 10 se observa que para la fase corcho laminar elegida se obtienen tasas de muestreo muy altas, lo cual es adecuado. Por una parte, indica que la fase laminar de corcho retiene mejor a los contaminantes, pero por otro lado no es adecuada para la obtención de las constantes  $R_s$ , pues el equilibrio se alcanza en tiempos cortos y esto nos impide obtener correlaciones para muchos de los analitos. Para el cálculo de las  $R_s$  en la fase corcho laminar, las primeras alícuotas se tomaron a los 15 minutos de agitación, se intentó a un menor tiempo, pero se obtuvo valores poco reproducibles.

En la Tabla 10, también se puede observar que generalmente en la fase laminar, se observan valores más altos de  $R_s$  comparándolos con los de corcho molido de otro origen. Hay varios factores que pueden influir, uno de ellos es que, en la fase laminar, el disco pesa 600 mg, mientras que cuando molemos el corcho al ser tan poroso y esponjoso, como que se llena de aire y aumenta de volumen, en la cavidad del muestreador sólo habría una cantidad del orden de 200 mg. Aun así, estas diferencias en masa no justifican las grandes diferencias, suponemos que estos tapones de corcho aglomerados no deben ser de corcho de alta pureza y deben tener algunos otros productos con menor poder de retención de los analitos. Mientras que el corcho laminar, sin aditivos, como el que estamos usando en el muestreador presenta potentes propiedades extractivas, parecidas al Oasis HLB [48], aunque las  $R_s$  encontradas para otros muestreadores, que utilizan esta fase Oasis HLB, pero en menor cantidad, siguen siendo menores.

También se ha de considerar que para el cálculo de las  $R_s$  en el laboratorio se utilizó una agitación de 100 rpm, simulando las condiciones promedio de turbulencia de los ríos chilenos, mientras que las que aparece en la bibliografía suelen estar calculadas a una menor velocidad de agitación (60 rpm) y esto influye en las  $R_s$ , disminuyéndolas. Por otro lado, además de la cantidad de masa el valor de las  $R_s$  también se ve influenciado por la temperatura, radiación solar, etc.

El hecho que los  $R_s$  sean altos, permiten trabajar en tiempos cortos de exposición como propusimos anteriormente, de forma tal que un tiempo cercano a un día de exposición puede ser suficiente. Estos valores altos también aparecen descritos en la bibliografía [52], incluso mayores a los aquí encontrados. Además, son concordantes con las curvas de depleción, donde se ve que la cinética de retención en la fase de corcho es más rápida que en la fase C18

Considerando estos resultados, el muestreador con fase laminar podría ser utilizado como un sistema de **detección de alerta temprana** de todos los compuestos, dado que en un día podríamos detectar la presencia de estos analitos. Además, podría utilizarse como sistema de cuantificación para los tres compuestos que hemos obtenido las  $R_s$ . También existe la alternativa, como se ha propuesto en países europeos [7], de emplear el muestreador pasivo como detección temprana de este grupo de contaminantes, informando de lo retenido en la fase sorbente por día de exposición, y cuando sea necesario, realizar un muestreo puntual (compuesto) con un muestreador convencional para cuantificar el contenido exacto de cada contaminante.

#### 4.5. Resultados de calibración cinética. Isotropía.

En el caso del etilparabeno, se observó que existe isotropía, es decir que las curvas de sorción (extracción) y desorción tienen formas similares cuando el experimento de desorción se realizó a concentración de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .

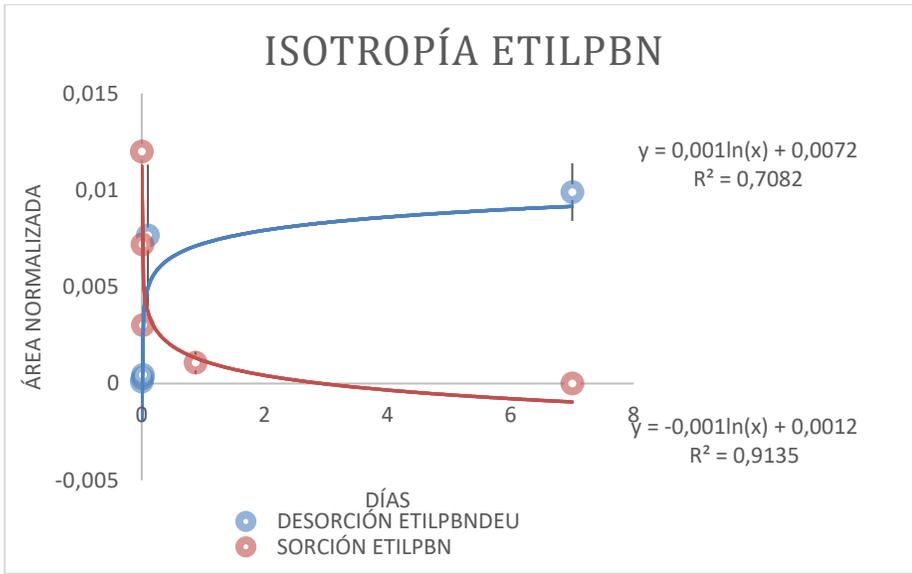


Figura 58. Curvas de desorción y sorción para Etilparabeno a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Se probó a concentración mayor, de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ . se obtiene el siguiente gráfico:

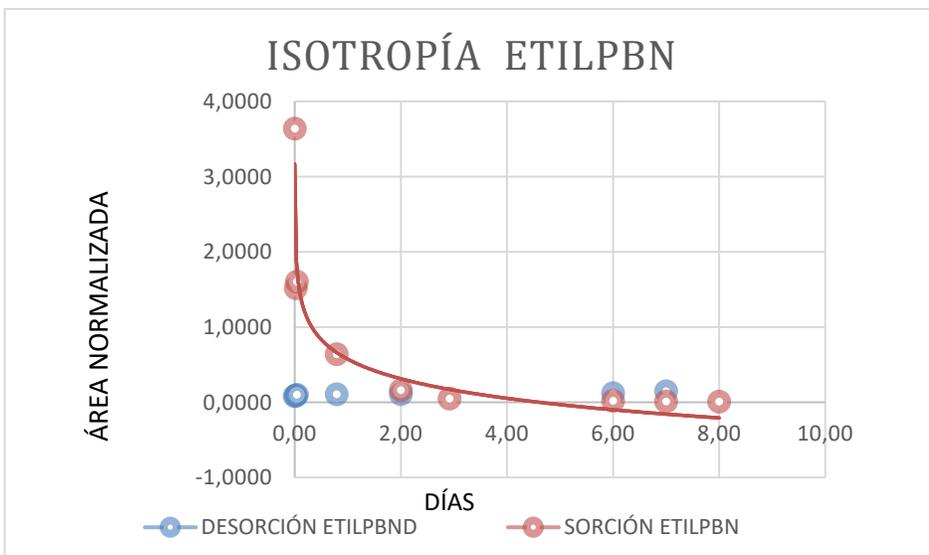


Figura 59. Curvas de desorción y sorción del etilparabeno a  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Esto nos indica que cuando las concentraciones en terreno sean del orden  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , se puede utilizar las fases enriquecidas en etilpbm deuterado, para corregir las Rs de laboratorio, con las condiciones hidrodinámicas y ambientales del muestreo in situ. Para concentraciones mayores no es recomendable, pues sus curvas de desorción y extracción no son simétricas. Sin embargo, en el caso de la estrona y del triclosán, se observó que existe isotropía cuando el experimento de desorción se realizó a  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ .

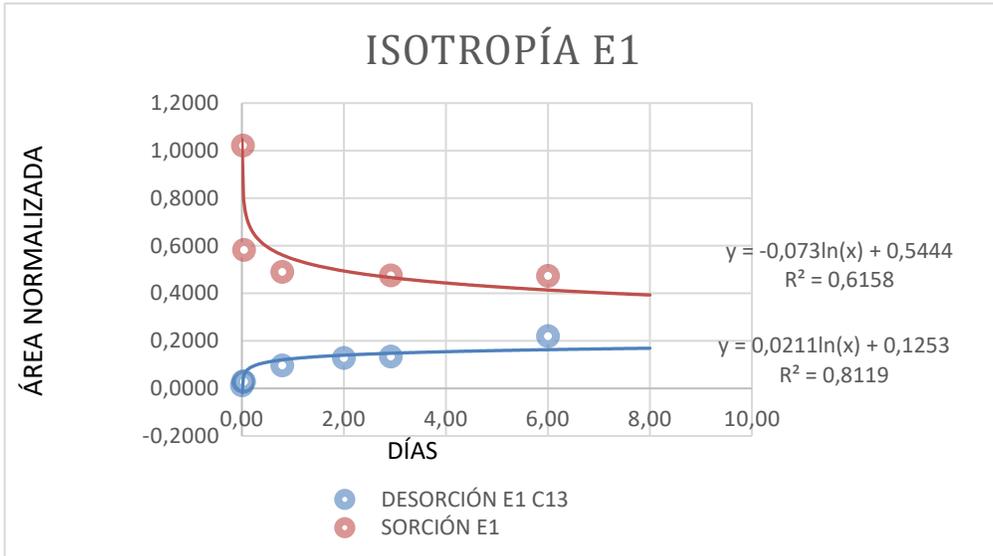


Figura 60. Curvas de desorción y sorción para estrona. E1.

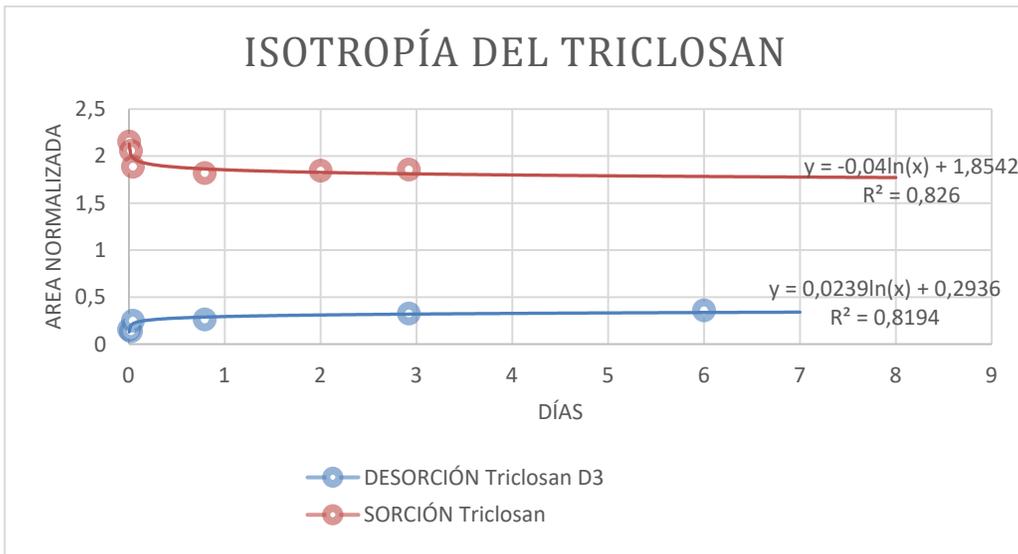


Figura 61. Curvas de desorción y sorción para triclosan.

En los resultados reales del muestreo realizado en invierno de 2019, se pudieron corregir algunos resultados teniendo en cuenta que:  $R_s \text{ corregida} = R_s \text{ lab} * (R_s \text{ in situ cal} / R_s \text{ lab cal})$ .

Siendo:  $R_s \text{ lab} = R_s \text{ del laboratorio}$

$R_s \text{ lab cal} = R_s \text{ del compuesto marcado en el laboratorio}$

$R_s \text{ in situ cal} = R_s \text{ del compuesto marcado en el muestreo in situ}$

Estas  $R_s$  corregidas, pueden ayudar a compensar la influencia de las condiciones hidrodinámicas que influyen en los procesos de retención de los contaminantes en la fase sorbente.

#### **4.6. Correlación entre la concentración de los analitos en solución y la retención de los analitos en el muestreador.**

A continuación, se muestran los resultados obtenidos según la metodología descrita con anterioridad en el apartado, 3.8.

Este experimento se realizó con el objetivo de ver si durante los dos días de agitación, en soluciones de diferentes concentraciones de los contaminantes en estudio, en los muestreadores con fase corcho laminar se obtenía una respuesta lineal.

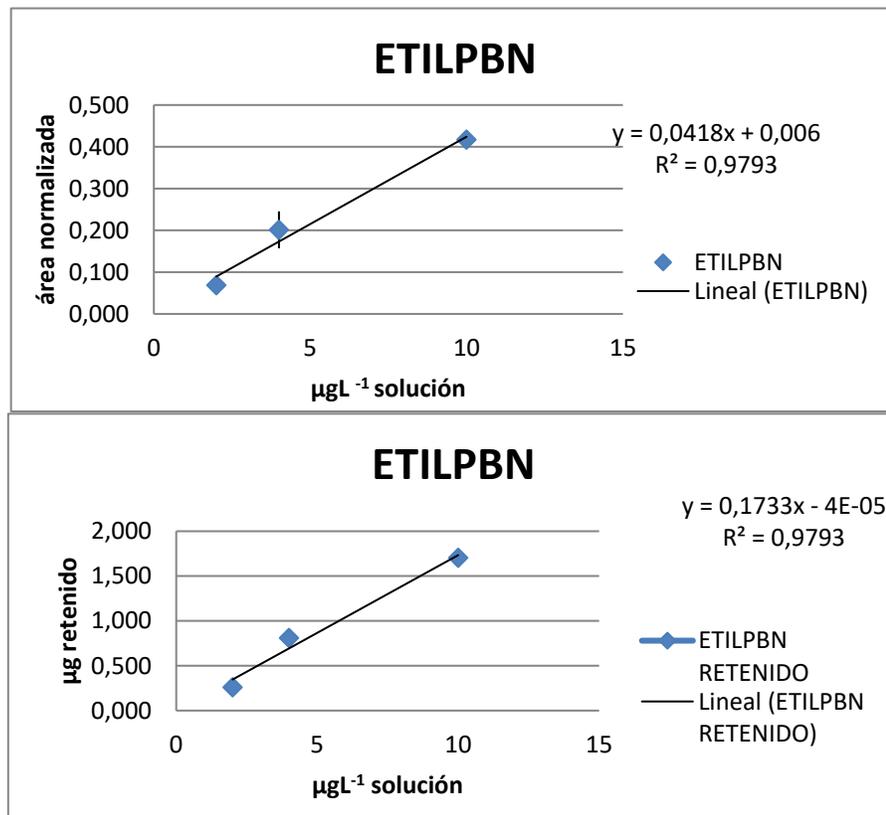


Figura 62. Relación entre la concentración en la solución y la retención de etilparabeno en el muestreador con dos días de exposición.

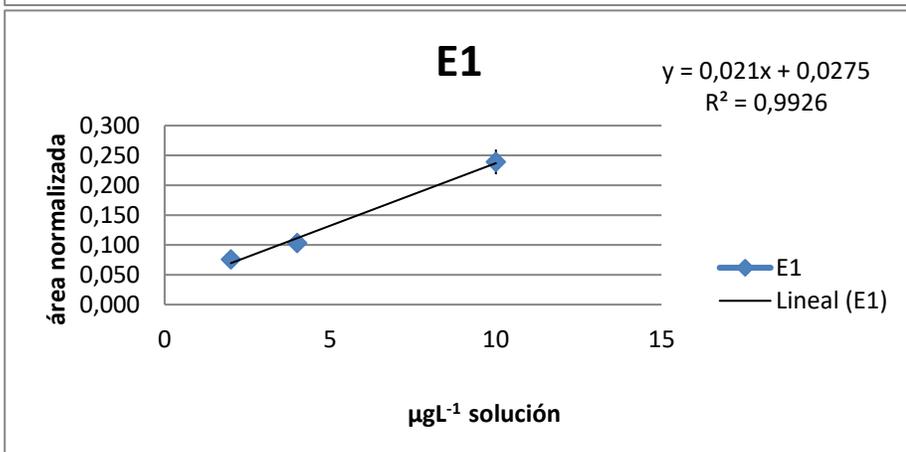
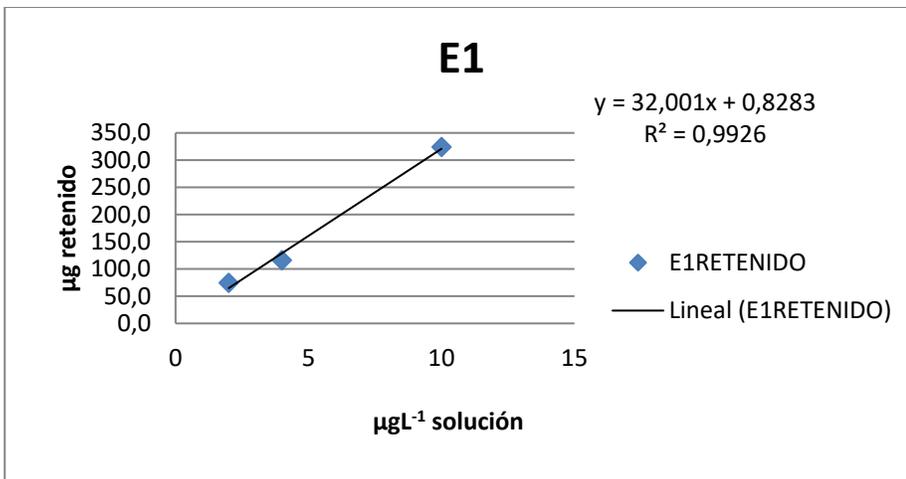
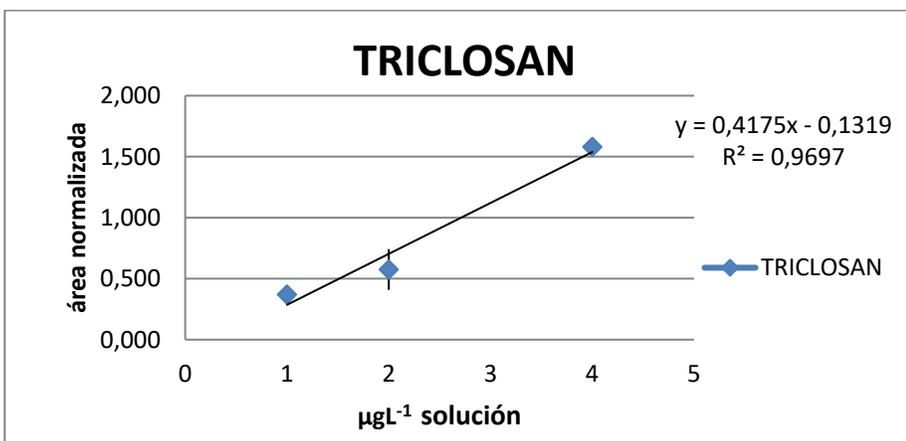


Figura 63. Relación entre la concentración en la solución y la retención de estrona en el muestreador con dos días de exposición.



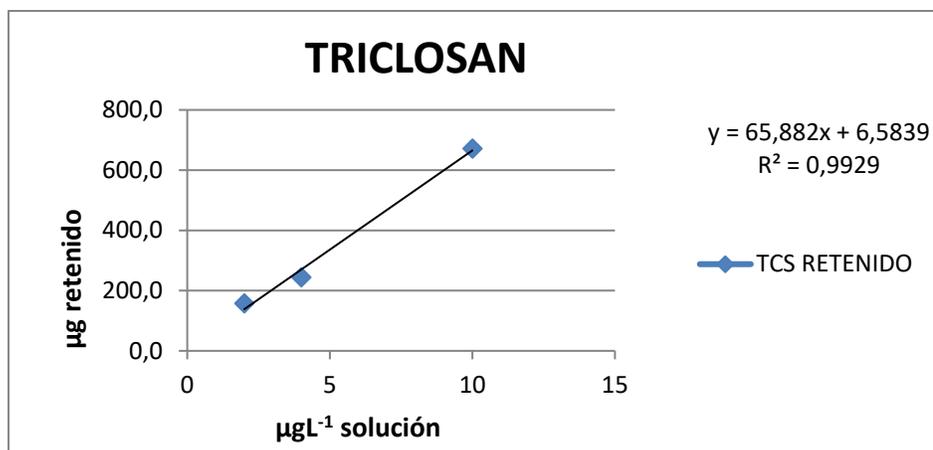


Figura 64. Relación entre la concentración en la solución y la retención de triclosán en el muestreador con dos días de exposición.

Para los tres compuestos estudiados, se encontró que, para una exposición de dos días (en etapa cinética), con agitación de 10 rpm y para rango de concentraciones de 1 a 10 µg/L<sup>-1</sup>, existe una respuesta lineal entre lo retenido en el muestreador y la concentración en solución de los compuestos estudiados. Con esto se comprobó que para muestreo con concentraciones de este orden y con una exposición de hasta dos días, el muestreador no llegaba a la etapa de equilibrio y por tanto podíamos trabajar en régimen cinético como nos habíamos planteado.

#### **4.7. Muestras reales.**

##### **4.7.1. Coordinación con Aguas Andinas.**

Se hizo una planificación de muestreo con Aguas Andinas para el 11 de Septiembre de 2018 y para el 22 de Julio de 2019. Se colocaron los muestreadores en canastillas especiales por 24 horas, en el mismo periodo, la empresa realizó un muestreo con un multimuestreador automático, en el mismo punto, para el afluente y efluente respectivamente. En el caso del muestreo del 22 de julio, además se hizo en dos puntos externos a la planta de tratamiento, en sincronía con los muestreos en la planta de tratamiento.

##### **4.7.2. Determinación de los analitos en muestras de aguas para el muestreo de Sep-2018.**

La determinación de los contaminantes emergentes en estudio se realizó, tanto en la muestra de agua compuesta tomada por el muestreador automático, como en la fase sorbente de corcho laminar de los muestreadores, dispuestos en el mismo punto de muestreo en forma sincrónica con el muestreador automático. En las muestras de aguas todos los calibrados se hicieron con adición estándar para minimizar las interferencias de la matriz.

**Tabla 11. Concentraciones de los analitos en la muestra compuesta de 24 horas tomadas por el multimuestreador automático. Muestreo 2018.**

<b>COMPUESTOS</b>	<b>CONC. AFLUENTE <math>\mu\text{gL}^{-1}</math></b>	<b>CONC. EFLUENTE <math>\mu\text{gL}^{-1}</math></b>
<b>METILPBN</b>	3,9 ± 0,2	1,5 ± 0,2
<b>ETILPBN</b>	0,8 ± 0,6	0,9 ± 0,4
<b>PROPILPBN</b>	1,4 ± 0,2	0,7 ± 0,0
<b>BUTILPBN</b>	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2
<b>E1</b>	6,2 ± 2,9	0,4 ± 0,0
<b>E2</b>	0,8 ± 0,4	0,4 ± 0,2
<b>E3</b>	3,3 ± 0,4	2,5 ± 1,5
<b>EE2</b>	6,5 ± 4,3	nd
<b>DICLOFENACO</b>	54 ± 20	39 ± 8
<b>KETOPROFENO</b>	5,5 ± 1,5	0,34 ± 0,04
<b>NAPROXENO</b>	0,9 ± 0,3	1,3 ± 0,3
<b>IBUPROFENO</b>	1,3 ± 0,4	0,5 ± 0,0
<b>TRICLOSÁN</b>	10,5 ± 4,3	nd

En la Tabla 11 se observa que en general todos los compuestos en el afluente tienen mayor concentración que en el efluente, es decir, el sistema de tratamiento ayuda a disminuir su concentración. El tratamiento que usa esta planta de tratamiento de aguas servidas es el de lodos activados, este siendo un tratamiento general y no específico para compuestos orgánicos de polaridad intermedia. En este contexto, se aprecia que se obtienen disminuciones, pero no cuantitativas, en algunos de los contaminantes. Eso sí, consigue una remoción en su totalidad sólo de EE2 y de triclosán que no fueron detectados en el efluente dado su menor polaridad relativa. Por otro lado, se puede ver que con el diclofenaco no se logra una disminución notoria.

**Tabla 12. Concentraciones de los analitos en el eluato de la fase sorbente del muestreador pasivo expuesto durante 24 horas. Muestreo 2018.**

<b>COMPUESTOS</b>	<b>CONC. AFLUENTE MUESTREADOR</b> $\mu\text{gL}^{-1}$	<b>CONC. EFLUENTE MUESTREADOR</b> $\mu\text{gL}^{-1}$
<b>METILPBN</b>	178 ± 58	157 ± 51
<b>ETILPBN</b>	90,4 ± 31,5	9,71 ± 0,49
<b>PROPILPBN</b>	278 ± 33	275 ± 33
<b>BUTILPBN</b>	283 ± 63	178 ± 40
<b>E1</b>	699 ± 163	19,1 ± 4,8
<b>E2</b>	70 ± 17	20,4 ± 5,1
<b>E3</b>	381,5 ± 0,0	185,0 ± 0,0
<b>EE2</b>	1678 ± 560	29,0 ± 9,7
<b>DICLOFENACO</b>	43,4 ± 11,2	25,0 ± 6,4
<b>KETOFENACO</b>	1874 ± 396	1089 ± 230
<b>NAPROXENO</b>	396 ± 158	154 ± 61
<b>IBUPROFENO</b>	573 ± 159	147 ± 41
<b>TRICLOSÁN</b>	217 ± 25	115 ± 13

En la tabla 12 las concentraciones encontradas en el eluato de la fase sorbente corcho, del muestreador pasivo, aparecen muchos más altas, debido al poder de preconcentración que tiene el muestreador.

Una vez obtenidas estos valores se puede calcular la cantidad o masa de analito retenida en la fase sorbente del muestreador y de ahí mediante las ecuaciones descritas anteriormente y aplicando las Rs obtenidas en el laboratorio para esta fase, podríamos estimar los valores de la concentración promedio de los analitos en el agua.

Aplicando las Rs para etilparabeno, estrona y triclosán para la fase corcho laminar se obtuvieron los valores que aparecen a continuación en la tabla 13.

**Tabla 13. Concentraciones promedio de los analitos en las muestras de agua tomadas por el muestreador pasivo durante 24 horas, teniendo en cuenta Rs. Muestreo 2018.**

COMPUESTOS	CONC. AFLUENTE CORREGIDA $\mu\text{gL}^{-1}$	CONC. EFLUENTE CORREGIDA $\mu\text{gL}^{-1}$
ETILPBN	5,48 $\pm$ 1,9	0,21 $\pm$ 0,01
E1	0,50 $\pm$ 0,11	0,01 $\pm$ 0,00
TRICLOSÁN	0,24 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01

Se puede apreciar en la tabla 13 que tanto en el etilparabeno y en la hormona E1, los valores en el efluente son notoriamente menores que los del afluente y en el caso del triclosán también se ve una disminución, pero en menor magnitud. Aun teniendo la planta sólo tratamientos primarios y terciarios y no secundarios o específicos, logra disminuir la concentración de estos contaminantes emergentes. Por ello, aunque el sistema de tratamiento de la planta es parcialmente efectivo, se recomendaría tener presente a futuro, la implementación de tratamientos de aguas secundarios, con el objetivo de mejorar la eliminación de estos contaminantes emergentes en su totalidad y que no pasen al efluente.

**Tabla 14. Comparación de las concentraciones de los analitos obtenidas con muestreador automático y muestreador pasivo durante 24 horas haciendo la corrección con las Rs. Muestreo 2018.**

COMPUESTOS	MUESTREADOR AUTOMÁTICO $\mu\text{gL}^{-1}$		MUESTREADOR PASIVO $\mu\text{gL}^{-1}$	
	AFLUENTE	EFLUENTE	AFLUENTE	EFLUENTE
ETILPBN	0,8	0,9	5,48	0,21
ESTRONA	6,2	0,4	0,50	0,01
TRICLOSÁN	10,5	nd	0,24	0,13

Se puede observar en la Tabla 14 que los valores obtenidos con los dos muestreos presentan diferencias, que tienen cierto sentido propio a la naturaleza intrínseca de cada uno de los muestreos. Aparece descrito en la bibliografía diferencias entre los resultados obtenidos con los diferentes muestreos [44]. A continuación, se muestra una figura de Criquet y colaboradores [44], donde muestran las diferencias entre las concentraciones encontradas para un fungicida, Metalaxyl-M, con tres diferentes métodos de muestreo, POCIS, muestreo puntual y muestra compuesta tomada con multimuestreador automático.

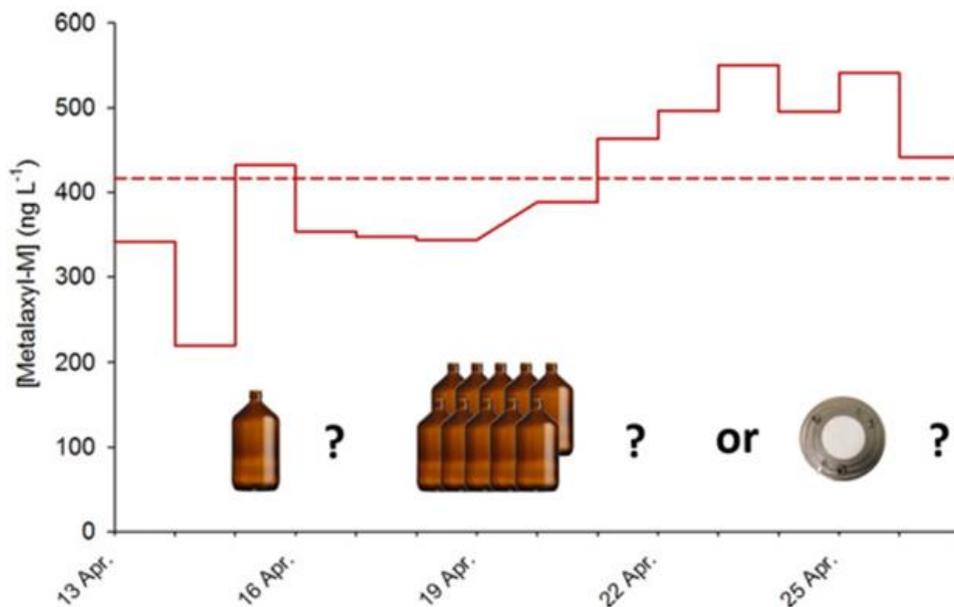


Figura 65. Comparación entre muestreo pasivo y muestreo con muestreador automático

En la Figura 65, la línea punteada es la concentración encontrada con el muestreador pasivo o TWA. La línea continua es la concentración encontrada con el muestreador automático. Tiene sentido encontrar valores diferentes, ya que el muestreador pasivo informa de concentraciones promedio en el tiempo de exposición o TWA. Puede ocurrir tanto que el resultado de la muestra tomada con muestreador automático esté por sobre la media o por debajo de la media. Por ello el reglamento de la CE, recomienda los dos tipos de muestreos y plantea el muestreador pasivo, como sistema de alerta y los métodos de referencia se realizan con metodologías validadas y muestras compuestas tomadas con muestreador automático [7].

#### **4.7.3. Determinación de los analitos en muestras de agua, en temporada de invierno .22 Jul-2019. Calibración in situ.**

En el muestreo realizado en invierno del 2019, se determinaron los analitos etilparabeno, estrona y triclosán. La determinación de los analitos seleccionados se realizó en muestras de agua obtenidas en los puntos Canoa y Puente Esperanza sobre el Río Mapocho, justo antes (afluente) y después (efluente) de la planta del tratamiento El Trebal.

A continuación, en la Tabla 15, se muestran las concentraciones encontradas en una muestra compuesta de 24 horas tomadas por un muestreador automático para el caso de los puntos Afluente y Efluente. En el caso de los puntos Canoa y Puente Esperanza, se realizó una toma de muestra puntual.

**Tabla 15. Concentración de los analitos con muestra compuesta o puntual. Muestreo 2019.**

<b>COMPUESTOS</b>	<b>CANOA PUNTUAL</b>	<b>AFLUENTE COMPUESTA</b>	<b>EFLUENTE COMPUESTA</b>	<b>P. ESPERANZA PUNTUAL</b>
<b>ETILPBN</b>	nd	nd	nd	0,9 ± 0,2
<b>ESTRONA</b>	nd	3,5 ± 0,2	3,5 ± 0,5	nd
<b>TRICLOSÁN</b>	2,5 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,4 ± 0,0	nd

Se puede observar que en punto del sector Canoa en el Río, previo a la planta de tratamiento de aguas, donde vienen las aguas superficiales, afectadas por vertidos de locatarios que algunos no poseen red de agua de alcantarillado, el triclosán es detectado en concentración del orden de 2,5 µg·L<sup>-1</sup>, Posiblemente este valor encontrado es debido a que se hizo con muestreo puntual y sólo representa la concentración en este momento y no una concentración promedio. En el caso de los puntos de muestreo Afluente y Efluente, el etilparabeno no es detectable, probablemente a causa de que ya en la mayoría de los productos de cuidado personal y en los alimentos, se está dejando de usar. En estos puntos de muestreo se detectó estrona y se encontró que las concentraciones de entrada y salida de la planta son iguales, esto indica que el sistema de tratamiento que operaron durante el muestreo no fue efectivo para eliminar esta hormona. En el caso del triclosán se observa que en el efluente disminuye algo respecto al afluente, pero, aunque sea una baja concentración debido a la tendencia del triclosán

a bioacumularse, debe de ser controlada en el río. En el sector Puente Esperanza, punto de muestreo sobre el Río, después del vertido del efluente al mismo, se observa que ya el triclosán y la estrona no fueron detectados, probablemente debido al aumento del volumen del caudal del Río en época lluviosa de invierno, hace que este contaminante se diluya y no sea posible detectarlo. Sin embargo, detectamos el etilparabeno en concentraciones muy bajas, que podrían ser atribuidas a causa de la acumulación de basura doméstica en el sector, debajo del Puente Esperanza y también por la cercanía de un desecho sanitario que podría haber influido en la detección de la presencia de este parabeno.

**Tabla 16. Concentración de los analitos en el eluato de la fase sorbente en muestreadores pasivos expuestos durante 24 horas con fase corcho laminar. Muestreo 2019.**

COMPUESTOS	CANOA	AFLUENTE	EFLUENTE	P. ESPERANZA
ETILPBN	nd	nd	nd	nd
ESTRONA	nd	nd	nd	nd
TRICLOSÁN	61 ± 20	350 ± 3	122 ± 35	nd

En la Tabla 16 se observa que los valores en el extracto o eluato de la fase sorbente de los muestreadores, sólo fue detectado triclosán, es importante destacar, que los muestreadores muestran un promedio de las 24 horas de exposición. Los valores de triclosán mostraron una disminución después de la planta de tratamiento de aguas, entre Afluente y Efluente, que después debido al gran volumen de agua presente la época de lluvia no es detectables en el sector Puente Esperanza, aguas abajo del vertedero del efluente de la planta de tratamiento.

Existe la alternativa de usar los muestreadores en este modo, midiendo el analito retenido en la fase sorbente, como un sistema de alerta temprana y si pasan ciertos niveles, recién ahí planificar un muestreo para validar sus resultados ya sea con sistema de muestreador automático o toma de muchas muestras puntuales secuenciadas, o también de realizar un muestreo pasivo con corrección con compuestos marcados o de referencia, para así estimar una concentración promedio en las aguas superficiales más cuantitativo.

**Tabla 17. Concentraciones promedio de los analitos en muestras de agua tomadas por el muestreador pasivo durante 24 horas teniendo en cuenta Rs.**

COMPUESTOS	CANOA	AFLUENTE	EFLUENTE	P. ESPERANZA
ETILPBN	nd	nd	nd	nd
ESTRONA	nd	nd	nd	nd
TRICLOSÁN	0,07 ± 0,02	0,39 ± 0,04	0,14 ± 0,03	nd

Se puede observar, en la Tabla 17, que las concentraciones promedio obtenidas con el muestreador pasivo con la corrección de la Rs, son más bajas que las obtenidas con muestra compuesta con muestreador automático o con muestreo puntual que se muestran en la Tabla 15, tienen sentido pues suele ocurrir que haya pequeñas diferencias, ya que el muestreo pasivo, capta derrames, variaciones de contaminantes y de caudal etc., no detectables a través de un muestreo puntual. Lo mismo ocurría en el muestreo realizado en época de primavera de septiembre de 2018.

En este muestreo se realizó la corrección con compuestos marcados. El problema fue que para cada uno de los puntos se han de poner varios muestreadores y en diferentes tiempos y se ha de repetir la calibración para cada muestreo y para cada punto (enriqueciendo aún más el procedimiento).

En los puntos Canoa, Afluente y Puente Esperanza, debido probablemente al alto caudal y a turbulencias, los compuestos calibrados o de referencia fueron liberados en su totalidad antes del tiempo estimado. Al no saber con certeza, en que minuto ocurrió la pérdida de estos compuestos, no fue posible obtener la Rs in situ, para estos puntos de muestreo.

En el Efluente, cuando fueron retirados los últimos muestreadores, todavía quedaban retenidos fracción de los compuestos marcados y en este caso se pudo obtener la Rs in situ. Como en este punto, sólo fue detectado triclosán, se procedió a calcular la Rs in situ del triclosán, teniendo en cuenta que ya teníamos la Rs de calibración de laboratorio y con los estudios de las curvas de retención y desorción, teníamos las ecuaciones y sus respectivas Rs.

Así aplicando ecuaciones, descritas en los fundamentos, pudimos llegar a que:

$$R_s \text{ triclosán in situ} = R_s \text{ triclosán lab} (R_s \text{ lab triclosán D} / R_s \text{ triclosán D in situ})$$

La  $R_s$  del triclosán ya fueron obtenidas y está en en la Tabla 10.

Teniendo en cuenta que la  $R_s$  lab de triclosán D, se obtiene de los diagramas de Isotropía, de la linealización logarítmica de la curva de desorción, tomando los puntos correspondientes a un día de muestreo. La  $R_s$  triclosan D in situ, se calcula, de acuerdo con lo encontrado en las fases sorbentes enriquecidas en tiempo cero (blancos) y lo que tienen las fases en los muestreadores expuestos en el río a diferentes tiempos. Posteriormente se buscó la linealidad de los  $\ln(C/Co)$  hasta el primer día de agitación para que los tiempos fueran similares a los de muestreo.

Aplicando las ecuaciones expuestas con anterioridad, se ha podido concluir que para el triclosán en este muestreo del día 22 de Julio de 2019, con exposición de 24 horas y en el punto de muestreo del Efluente, su  $R_s$  triclosan in situ =  $2,6041 \text{ Ldía}^{-1}$ .

En el Efluente según la tabla 16 y aplicando las ecuaciones descritas en los fundamentos de los muestreadores pasivos, se puede obtener que la concentración corregida promedio del triclosan sería de  $0,64 \mu\text{gL}^{-1}$  versus  $0,14 \mu\text{gL}^{-1}$ , que sería la encontrada con la  $R_s$  de laboratorio sin corregir. Variaciones totalmente justificables debido a que en el laboratorio las  $R_s$  se calcularon a una velocidad promedio y después en el punto de muestreo, existe variación del caudal con el tiempo. Además de otras variables, como la radiación solar, la presencia de microorganismos, la temperatura, etc. pueden influir en ello.

Dependiendo del objetivo del estudio a desarrollar en cada caso, se deberá evaluar para cada muestreo si resulta necesario o no la calibración in situ, debido al alto costo tanto en reactivos, materiales y de tiempo.

## **5. CONCLUSIONES.**

- La metodología de muestreo pasivo diseñada en este estudio permitió evaluar la presencia de diversos contaminantes emergentes tanto en muestras de aguas naturales, como en afluente y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales elegida para el estudio. Además, se pudo cuantificar las concentraciones promedio de etilparabeno, estrona y triclosan, compuestos en los que se pudo calcular las tasas de muestreo en condiciones hidrodinámicas simuladas en el laboratorio.
- Dadas las funcionalidades presentes en la fase sorbente de corcho, que posee un balance hidrofílico-lipofílico, se pudo utilizar como fase sorbente para un amplio grupo de contaminantes emergentes que tenían desde polaridades bajas hasta polaridades intermedias.
- Se pudo concluir que para el muestreador desarrollado tanto las fases de corcho molido y corcho laminar son adecuadas para la sorción del grupo de compuestos en estudio (parabenos, AINES, hormonas y triclosán), pero considerando el tiempo de molienda y de armado que se consume en la preparación de la fase molida, es recomendable la elección de la fase sorbente de corcho laminar.
- Se puede afirmar que la fase de corcho laminar posee un alto poder de muestreo y de preconcentración para el grupo de analitos elegido. Debido a estos resultados podemos proponer el muestreador pasivo de teflón desarrollado, con esta fase de corcho laminar, como **un sistema de alerta temprana** pues (debido a su alto nivel de preconcentración) puede detectar antes la presencia de contaminantes a niveles muy bajos de concentración comparado con un sistema de muestreo activo.
- Comparando los muestreos realizados en 2018 y en 2019, en el segundo año los valores de los contaminantes se encuentran más bajos, esto se puede atribuir esta diferencia a que en el segundo caso se hizo en época invernal, donde el caudal del río es mayor y esto podría haber provocado un efecto de dilución.
- En el muestreo de 2019, en el Efluente se pudo obtener las Rs in situ para el triclosán, uno de los contaminantes detectados de los tres elegidos para este muestreo.

## PLAN DE TRABAJO

Actividades	Año 2017		Año 2018		Año 2019		Año 2020	
	Semestre		Semestre		Semestre		Semestre	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Revisión de bibliografía disponible	X	X	X	X	X	X	X	X
Compra de insumos y reactivos	X	X	X	X	X	X		
Desarrollo del muestreador								
Desarrollo de metodología determinación de contaminantes en eluatos y aguas	X	X	X	X				
Estimar Rs en Laboratorio			X	X				
Muestreo de aguas				X		X		
Validación del muestreador pasivo con muestreador automático y/o puntual				X		X		
Estudio de Isotropía y otros estudios					X	X		
Cálculo de Rs in situ						X		
Estadía investigación en el exterior							X	
Redacción tesis							X	X

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Directiva 2013/39/UE/ del parlamento europeo y del consejo del 12 de Agosto de 2013 L226/1. Diario oficial de la Unión Europea.
- [2] Gil, M.J.; Soto, A. M.; Usma, J.I.; and Gutiérrez O.D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + limpia*. 7(2) 52-73.
- [3] Xinying, G.;Ke, L.; Chenlu, W.; and Nongwen, S. (2018). Passive sampling for monitoring polar organic pollutants in water by three typical Samplers. *Trends in Environ Anal Chem*. 17, 23-33.
- [4] L Barceló D.; López de Alda M.J. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC. Barcelona. España. Fundación Nueva Cultura del Agua. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas. Convenio Universidad de Sevilla-Ministerio de Medio Ambiente.
- [5] Instituto Nacional de Estadística de Chile, 2017.
- [6] Ruhí, A. Acuña V.; Barceló, D.; Huerta, B.; Mor, J.; Rodriguez-Moraz, S.; and Sabater, S. (2015). Bioaccumulation and trophic magnification of pharmaceutical and endocrine disruptors in a Mediterranean river food web. *Science total environ*. 540, 250-259.
- [7] Muñoz Peña, M.J. Eliminación de contaminantes parabenos en aguas mediante procesos químicos y electroquímicos. Departamento de Ingeniería Química y Química Física. Universidad Extremadura. España. (2015).
- [8] Dias A.; Da Silva A.; Simao; Merib J.; and Carasek E. (2015). A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. *Anal Chim Acta*. 888,59-66.
- [7] Reglamento del boletín oficial de la Unión Europea. "Directiva 2013/ 39/ UE del parlamento europeo y del consejo del 12 De Agosto del 2013.
- [9] Magi, E.; Di Carro M.; Mirasole C.; and Benedetti B. (2018). Combining passive sampling and tandem mass spectrometry for determination of pharmaceuticals and other emerging pollutants in drinking water. *Microchem J*. 136, 56-60.
- [10] Vrana B.; Mills G.A.; Allan I.J.; Dominiak F.; Svensson K.; Knutsson J.; Morrison G.; and Greenwood R. (2005). Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *Trends Analyt Chem*. 24(10), 845-868.
- [11] Nowak K.; Ratajczak-Wrona W.; Gorska M.; and Jablonska E. (2018). Parabens and their effects on the endocrine system. *Mol Cell Endocrinol*. 474, 238-251.
- [12] Vaede, D.; Baudouin, C.; Warnet, J.-M.; and Brignole- Baudouin, F. (2010). Les conservateurs del collyres: vers une prise de conscience de leur toxicite. *J Fr Optalmol France*.33, 505-524.

- [13] Darbre, P. D.; Aljarrah, A.; Miller, W.R.; Coldham, N.G. Sauer, M. J.; and Pope, G. S. (2004). Concentrations of Parabens in human Breast Tumours. *JAppl toxicol.* 24, 5-13.
- [14] Adoamnei E.; Mendiola J.; Moñino-García M.; Vela-Soria F.; Iribarne-Durán L.; Fernández M.; Olea N.; Jorgensen N.; Swan S.; and Torres-Cantero A. (2018). Urinary concentrations of parabens and reproductive parameters in young men. *Sci Total Environ.* 621, 201-209.
- [15] Xue J.; Kannan K. (2016). Accumulation profiles of parabens and their metabolites in fish, black bear, and birds, including bald eagles and albatrosses. *Environ Int.* 94, 546-553.
- [16] Freire C.; Molina-Molina J.M.; Iribarne-Duran L.; Jiménez-Díaz I.; Vela-Soria F., Mustieles V.; Arrebola J.P.; Fernández M.F.; Artacho-Cordón F.; Olea N. (2019). Concentration of parabens in socks for infants and young children in Spain and their hormones-like activities. *Environ Int.* 127, 592-600.
- [17] Carpinteiro I.; Schophfer A.; Stoppey N.; Fong C.; Grandjean D.; and Alencastro L. Evaluation of performance reference compounds (PRCs) to monitor emerging polar contaminants by polar organic chemical integrative samplers (POCIS) in rivers. (2016). *Anal Bioanal Chem.* 408; 1067-1078.
- [18] Manzo V. Tesis doctoral. *Microextracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (aines) desde muestras acuosas.* (2015). Universidad de Chile.
- [19] Becerra-Herrera, M.; Honda, L. and Richter, P. (2015). Ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight high resolution mass spectrometry to quantify acidic drugs in waste waters. *J of Chromatogr A.* 1423, 96-103.
- [20] Macleod, S.L.; McLure E.L.; and Wong, C. S. (2007). Laboratory calibration and field deployment of the polar organic chemical integrative sample for the pharmaceuticals and personal care products in waste water and surface water. *Environ Toxicol and Chem.* 26(12), 2517-2529.
- [21] Togola A.; Budzinski H. (2007). Development of polar organic integrative samplers for analysis of pharmaceuticals in aquatic systems. *Anal Chem.*, 79, 6734-6741.
- [22] Pérez, R. L.; Escandar, G. M. Estudio de las propiedades fluorescentes de los Estrógenos en medio organizados acuosos y sus potenciales aplicaciones analíticas. Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Instituto de Química Rosario (IQUIR-CONICET) V Congreso iberoamericano de Química Analítica. II Congreso Uruguayo de Química Analítica.
- [23] Yildirim N.; Long F.; Gao C.; He M.; Shi H. and Gu A. (2012). Aptamer-Based optical biosensor for rapid and sensitive detection of 17 $\beta$ - Estradiol in water samples. *Environ Sci Technol.* 46, 3288-3294.
- [24] Jobling S.; Willians R. Johnson A.; Taylor A.; Gross-Sorokin M.; Nolan M.; Tyler C.; Van Aerle R.; Santos E. and Brighty G. Predicted Exposures to Steroid Estrogens in U.K. Rivers Correlate with Widespread Sexual Disruption in Wild Fish Populations.(2006). *Environ HealthP.* April, 32-39.
- [25] Bittencourt S.; Mansur Aisse M.; Monte Serrat B.; Rodrigues de Azevedo J. (2016). Sorption of emerging organic pollutants on wastewater sludge. *Eng. Sanit. Ambient.*, 21, 1, Rio de Janeiro..Jan./Mar.

- [26] Chu S.; Metcalfe D. (2007). Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1164, 212-218.
- [27] Ricart M.; Guasch H.; Alberch M.; Barceló D.; Bonninau C.; Geiszinger A.; Farre M.; Ferrer J.; Ricciardi F.; Romani A.M.; Morin S.; Proia L.; Sala L.; Sureda D.; and Sabater S. (2010). Triclosan persistence through waste water treatment plants and its potential toxic effects on river biofilms. *Aquat. Toxicol.* 100, 346-353.
- [28] Schinizler J. G.; Frederich B.; Dussenne M.; Klaren P.H.M.; Silvestre F.; and Das K. (2016). Triclosan exposure results in alterations of thyroid hormone status and retarded early development and metamorphosis in cyprinodont variegates. *Aquat. Toxicol.* 181, 1-10.
- [29] Gorecki T.; and Namiesnik J. (2002). Passive sampling. *Trends in anal.Chem.* 21(4), 276-291.
- [30] Alvarez, D.A.; Petty, J.D.; Huckins, J.N.; Jones-lepp, T. L.; Getting, D.T.; Goddard, J.P. and Manahan, S. E. (2004). Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. *Environ Toxicol Chem.* 23(7) 1640-1648.
- [31] Bayen S.; Segovia E.; Loh L.L.; Burger D.F.; Eikaas H.S.; Kelly B.C. (2014). Application of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) to monitor emerging contaminants in tropical waters. *Sci Total Environ* 482, 15-22.
- [32] Męczykowska H.; Kobylis P.; Stepnowski P. and Caban M. (2018). Effect of salinity and pH on the calibration of the extraction on pharmaceuticals form water by PASSIL. *Talanta*.179, 271-278.
- [33] Męczykowska H.; Kobylis P.; Stepnowski P. and Caban M. (2017). *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. Calibration of passive sampler for the monitoring of pharmaceuticals in water-sampling rate variation. *Crit Rev Anal Chem.* 47(3), 204-222.
- [34] Xinying Gong, Ke Li, Chenlu Wu, Lei Wang and Honwen Sun. (2018). Passive sampling for monitoring polar organic pollutants in water by three typical samplers. *Trends in Environ Anal Chem.*17,23-33.
- [35] Booij K.; Vrana B.; and Juckins J.N. (2007). Theory, modeling and calibration of passive Samplers use in waters monitoring. *Comp Anal Chem.* Elsevier, Amsterdam, the Netherlands. Chapter 7.141-169.
- [36] Harman C.; Allan I. J. and Veimeisen E. L. M. Calibration and use of the polar Organic Chemical integral Sampler. A critical review. (2012). *Environ Toxicol Chem.* 31(2) 2724-2738.
- [37] Ouyang G.; Pawliszyn J. (2007). Configurations and calibration methods for passive sampling techniques. *J Chromatogr A*, 1168. 226-235.
- [38] Posada-Ureta O.; Olivares M.; Delgado A.; Prieto A.; Vallejo A.; Irazola M.; Paschke A.; and Etxebarria N. (2017). Applicability of polydimethylsiloxane (PDMS) and polyethersulfone (PES) as passive Samplers of more hydrophobic Organic compounds in intertidal estuarine environments. *Sci Total Environ.* 578,392-398.

- [39] Arismendi D.; Becerra-Herrera M; Cerrato I.; Richter P. (2019). Simultaneous determination of multiresidue and multiclass emerging contaminant in water by rotating-disk sorptive extraction-derivatization-gas-chromatography, mass spectrometry. *Talanta* 201. 480-489.
- [40] Amdany R.; Chimuka L.; and Cukrowska E. (2014). Determination of naproxen, ibuprofen and triclosan in waste water using the polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS): A laboratory calibration and field application. *Water SA*. 40, 407-414.
- [41] Di Carro M.; Bono L.; and Emanuelle M. (2014). A simple recirculating flow system for the calibration of Polar Organic Chemical Integrative Samplers (POCIS) to monitor emerging contaminants in tropical waters. *Sci Total Environ*. 482, 15-22.
- [42] Vallejo A.; Prieto A.; Moender M.; Usobiaga A.; Zuloaga O.; Etxebarria N.; Paschke A. (2013). Calibration and field test of the Polar Organic Chemical Integrative Samplers for the determination of 15 endocrine disrupting compounds in waste water with special focus of performance reference compounds (PRC). *Water Res*. 47, 2851-2862.
- [43] Ahmadi F.; Sparham C.; Boyaci E.; and Pawliszyn J. (2017). Time Weighted Average Concentration Monitoring Based on thin Film Solid Phase Microextraction. *Environ Sci Technol*. 51, 3929-3937.
- [44] Criquet J.; Dumoulin D.; Howsam M.; Mondamert L.; Goossens J.; Prygiel J.; and Billon G. (2017). Comparison of POCIS Samplers vs. composite water sampling: A case study. *Sci Total Environ*. 609, 982-991.
- [45] Vrana B.; Smedes F.; Prokes R.; Loos R.; Mazzella N.; Miede C.; Budzinski H.; Veirmeirssen E. Ocelka T.; Gravell A.; Kaserzon S. (2016). An interlaboratory study on passive sampling of emerging water pollutants. *Trends Analyt Chem*. 76, 153-165.
- [46] Zhang Z.; Hibberd A.; Zhou J. (2008). Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling. *Anal Chim Acta*. 607, 37-44.
- [47] Manzo V.; Goya-Pacheco J.; Arismendi D.; Becerra-Herrera M.; Castillo-Aguirre A.; Castillo-Felices R.; Rosero-Moreno M.; Carasek E.; Richter P. (2019). Cork sheet as a sorptive phase to extract hormones from water by rotating-disk sorptive extraction (RDSE). *Anal Chim Acta*. 1087, 1-10.
- [48] Neves Dias A.; Simã V.; Merib J.; Carasek E. (2015). Use of green (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electrode detection. *Talanta*. 134:409-414.
- [49] Vieira C.; Mafra G.; Brognoli R.; Richter P.; Rosero-Moreno M.; Carasek E. (2020). A high throughput approach to rotating-disk sorptive extraction (RDSE) using laminar cork for the simultaneous determination of multiclass organic micropollutants in aqueous sample by GC-MS. *Talanta* 208, 120459.

[50] Roeges Noël. (1994). A guide to the complete interpretation of infrared spectral of organic structures. Published by Wiley.

[51] Jaumot J.; Gargallo R. de Juan A.; Tauler R. (2015). A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: a new tool for multivariate curve resolution in Matlab. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*. 76, 101-110.

[52] Vrana V.; Rusina T.; Okonsky K.; Prokes R.; Carlsson P.; Kopp R.; and Smedes F. (2019). Chasing equilibrium passive sampling of hydrophobic Organic compounds in water. *SciTotal Enviro*. 664, 424-435.