

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



**MICROEXTRACCIÓN DE DIVERSOS CONTAMINANTES  
EMERGENTES EN MUESTRAS ACUOSAS UTILIZANDO  
CÁSCARA DE MANÍ COMO MICRO-FASE NATURAL DE  
SORCIÓN**

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

**NATALIA ALEJANDRA TORRES LARA**

**Director de tesis**

**DR. PABLO RICHTER DUK**

**SANTIAGO - CHILE**

**MARZO 2023**

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

**INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER**

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

**NATALIA ALEJANDRA TORRES LARA**

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

**Director de Tesis:**

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

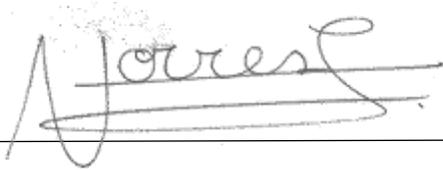
**Comisión Evaluadora de Tesis:**

Dra. Loreto Áscar \_\_\_\_\_

Dra. Ximena Briones \_\_\_\_\_

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

**Alumna**



---

Natalia A. Torres Lara

**Director de Tesis**



---

Dr. Pablo Richter Duk

*“Un poco más de persistencia, un poco más de esfuerzo, y lo que parecía un fracaso sin esperanza puede convertirse en un glorioso éxito”*

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por siempre apoyarme, creer en mí y en mis capacidades, por brindarme siempre un lugar seguro, por animarme todas las veces que las cosas no salieron bien y por siempre estar ahí para mí. A mi mamá, por su amor incondicional, por soportar apaciblemente mi mal genio en los periodos de mayor estrés, por siempre alentarme, por enseñarme desde pequeña a ser responsable, comprometida, dedicada y disciplinada, muchas gracias por todo mamita, sin ti nada de esto sería posible.

A todos mis compañeros y amigos de la facultad, a mis bebitas lindas, Anandi, María Paz, Cata, Javi y Tami, sin duda estos años no hubiesen sido lo mismo sin ustedes, son infinitos los momentos bonitos que atesoro en mi corazón, las largas jornadas de estudio en la biblio junto al tío Julio, todas las clases, almuerzos y breaks compartidos, todos los viernes carreteados, infinitas gracias por hacer de esta etapa una de las mejores de mi vida, las quiero infinito.

A mi director de tesis, profe Pablo, muchas gracias por confiar y creer en mí, por abrirme las puertas del laboratorio, por su gran apoyo, por ser tan buen guía y por siempre estar dispuesto a enseñar.

A las profesoras miembros de la comisión evaluadora, por ser un aporte con sus críticas constructivas e ideas para lograr un buen trabajo de tesis.

Al Laboratorio de Química Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, muchísimas gracias por recibirme tan gentilmente y haberme permitido formar parte de este bonito grupo. A la Ale por enseñarme prácticamente todo lo necesario para realizar esta tesis, nunca terminaré de agradecerle tu buena disposición y desinteresada ayuda siempre que lo necesité. A la Vale y Giovanni, por su gran compañía en todo este periodo, por hacer los días en el lab más entretenidos, por su buena onda, casi que vivimos juntos en el lab estos últimos dos años y sin duda fueron un apoyo fundamental. Al Dani, por su buena disposición para ayudarme siempre que tenía alguna duda y por enseñarme tantas cosas. A la Betsa, por resolver todos los problemas del laboratorio jajaja, por ayudarme entregándome otro punto de vista siempre que lo necesité y por aterrizar mis

ideas, muchas gracias por tanto. A la profe Inma por siempre tener buena disposición para enseñar, o resolver cualquier tipo de inconveniente que tuviésemos los más pequeños del lab, por sus consejos, su buen humor y cariño. A la profe Inés por ayudarme con su gran conocimiento en ambiental cuando lo necesité, y por siempre celebrarnos los cumpleaños a todos, muchas gracias profe.

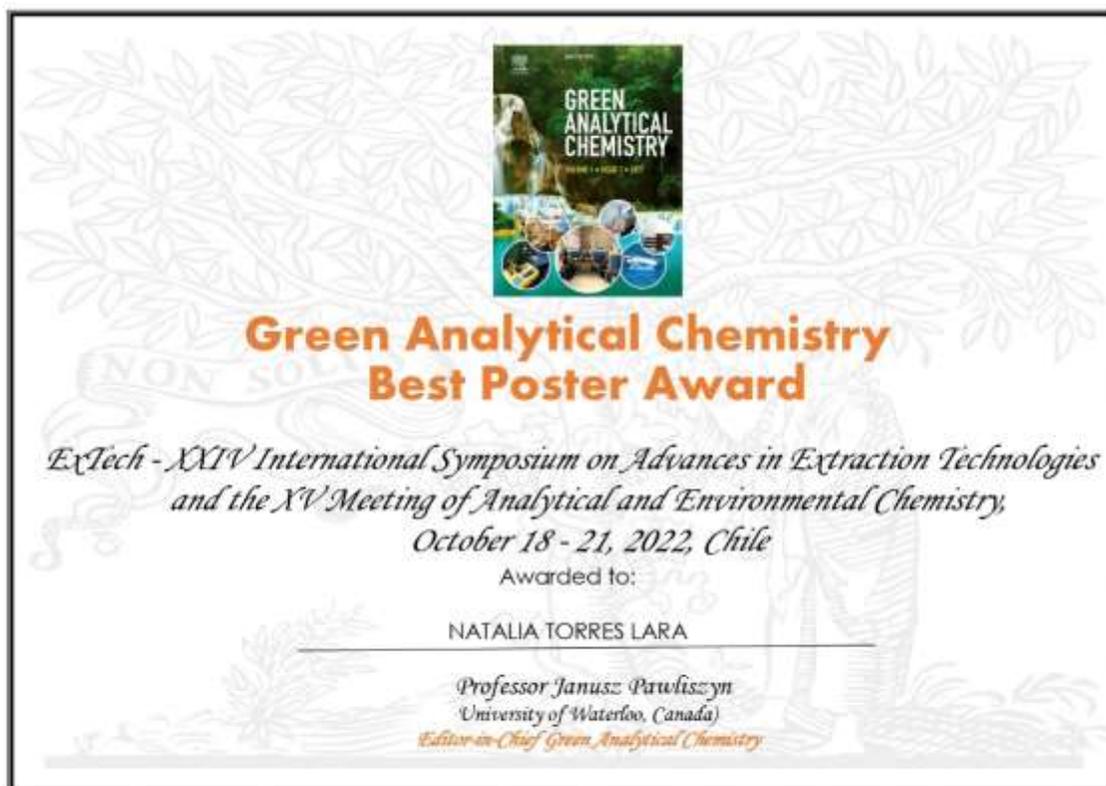
A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile por el gran apoyo al otorgarme la beca interna de arancel estos dos años de Magíster.

Finalmente, agradezco a los proyectos FONDECYT 1180742 y 1220225 por el financiamiento otorgado a esta investigación.

## PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS

**2022** Microextraction of various emerging contaminants in aqueous samples using peanut shells as natural sorption micro-phase. Torres-Lara, N., Molina, A. Arismendi, D. and Richter, P. XXIV International Symposium on Advances in Extraction Technologies. XV Encuentro de Química Analítica y Ambiental, Iquique, Chile.

## PREMIOS RECIBIDOS



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	5
ÍNDICE DE TABLAS .....	9
ABREVIATURAS .....	11
RESUMEN .....	12
ABSTRACT .....	13
1. INTRODUCCIÓN .....	14
1.1 Química analítica verde .....	14
1.2 Contaminantes emergentes .....	15
1.3 Compuestos de interés .....	16
1.4 Preparación de muestras .....	17
1.5 Métodos de microextracción .....	18
1.6 Fases sorbentes naturales .....	21
1.7 Biochar .....	21
1.8 Carbón activado .....	22
1.9 Técnicas de activación CA .....	22
1.10 Cáscara de maní .....	23
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	26
2.1 Hipótesis .....	26
2.2 Objetivo general .....	26
2.3 Objetivos específicos .....	26
3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS .....	28

4. METODOLOGÍA, RESULTADOS Y DISCUSIÓN POR OBJETIVOS .....	30
Análisis cromatográfico .....	30
4.1 Objetivo 1: Preparación de fases sorbentes naturales a partir de cáscara de maní evaluando distintas metodologías, temperaturas y tiempos para la carbonización y activación química con $K_2CO_3$ , $ZnCl_2$ y $HNO_3$ .....	32
4.1.1 Metodología .....	32
4.1.1.1 Fase sorbente cáscara de maní natural .....	32
4.1.1.2 Fase sorbente biochar de cáscara de maní .....	33
4.1.1.3 Fase sorbente carbón de cáscara de maní activado con $K_2CO_3$ y $ZnCl_2$ .....	34
4.1.1.4 Fase sorbente carbón de cáscara de maní activado con $HNO_3$ .....	35
4.1.2 Resultados y discusión .....	36
4.1.2.1 Temperaturas de carbonización para la fase sorbente biochar .....	37
4.1.2.2 Temperaturas de carbonización para la fase sorbente carbón activado con $ZnCl_2$ .....	38
4.1.2.3 Temperaturas de carbonización para la fase sorbente carbón activado con $K_2CO_3$ .....	39
4.1.2.4. Temperaturas de carbonización y concentración de solución activante para la fase sorbente carbón activado con $HNO_3$ .....	40
4.1.2.5 Comparación global de las fases sorbentes preparadas en su condición óptima .....	43
4.2 Objetivo 2: Caracterización de fases sorbentes por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis termogravimétrico (TGA) y otros.....	45

4.2.1 Metodología .....	45
4.2.1.1 FTIR .....	45
4.2.1.2 SEM .....	45
4.2.1.3 TGA .....	45
4.2.1.4 Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP) .....	45
4.2.1.5 Rendimiento de los procesos de carbonización .....	46
4.2.2 Resultados y discusión .....	47
4.2.2.1.1 FTIR cáscara de maní natural .....	47
4.2.2.1.2 FTIR biochar .....	48
4.2.2.1.3 FTIR carbón activado ZnCl <sub>2</sub> .....	49
4.2.2.2.1 SEM cáscara de maní natural .....	50
4.2.2.2.2 SEM biochar .....	51
4.2.2.2.3 SEM carbón activado ZnCl <sub>2</sub> .....	52
4.2.2.3 Estabilidad térmica (TGA y DTG) .....	52
4.2.2.4 Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP) .....	54
4.2.2.5 Rendimiento de los procesos de carbonización .....	56
4.3 Objetivo 3: Optimizar el proceso de extracción de 5 contaminantes emergentes: triclosán, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, diclofenaco, etilparabeno y bisfenol A, a través de microextracción por sorción de disco rotatorio y cuantificación mediante GC-MS .....	56
4.3.1 Metodología .....	56
4.3.2 Resultados y discusión .....	61
4.3.2.1 Cáscara de maní natural .....	61
4.3.2.2 Biochar .....	67

4.3.2.3 <i>Carbón activado ZnCl<sub>2</sub></i> .....	73
4.3.2.4 <i>Condiciones óptimas de extracción RDSE para cada fase sorbente en estudio</i> .....	78
4.4 Objetivo 4: Validar metodologías analíticas utilizando fases sorbentes naturales en la técnica de microextracción RDSE para la determinación de 5 contaminantes emergentes en aguas arriba del río Mapocho (sector Canoa), y posterior aplicación en la determinación de CEs en aguas residuales .....	79
4.4.1 Metodología .....	79
4.4.2 Resultados y discusión .....	83
4.4.2.1 <i>Cáscara de maní natural</i> .....	83
4.4.2.2 <i>Biochar</i> .....	85
4.4.2.3 <i>Carbón activado ZnCl<sub>2</sub></i> .....	87
4.5 Objetivo 5: Comparar la eficiencia de extracción de las fases sorbentes naturales con las fases sorbentes sintéticas Oasis HLB, C18 y St-DVB .....	89
4.5.1 Metodología .....	89
4.5.2 Resultados y discusión .....	90
4.6 Objetivo 6: Aplicar la metodología analítica en la determinación de contaminantes emergentes en aguas residuales de Santiago, Chile .....	93
4.6.1 Metodología .....	93
4.6.2 Resultados y discusión .....	94
5. CONCLUSIONES .....	95
6. BIBLIOGRAFÍA .....	97

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Disco rotatorio.....	19
Figura 2. Disco rotatorio con cavidad central .....	20
Figura 3. a) Cromatograma general (TIC) con todos los CEs, b) cromatograma EP (m/z=238,223), c) cromatograma DC (m/z=214,242), d) cromatograma EE2 (m/z=425,440), e) cromatograma BPA (m/z=357,358) y TCS (m/z=345,347) .....	31
Figura 4. Esquema de preparación de fase sorbente cáscara de maní natural .....	33
Figura 5. Esquema de preparación de fase sorbente biochar de cáscara de maní .....	34
Figura 6. Esquema de preparación de fases sorbentes carbón de cáscara de maní activado con $K_2CO_3$ y $ZnCl_2$ .....	35
Figura 7. Esquema de preparación de fase sorbente carbón de cáscara de maní activado con $HNO_3$ .....	36
Figura 8. Efecto de la temperatura de carbonización del biochar en la extracción de los CEs .....	37
Figura 9. Efecto de la temperatura de carbonización del CA $ZnCl_2$ en la extracción de los CEs .....	38
Figura 10. Efecto de la temperatura de carbonización del CA $K_2CO_3$ en la extracción de los CEs .....	39
Figura 11. Efecto de la temperatura de carbonización del CA $HNO_3$ 2 M en la extracción de los CEs .....	40
Figura 12. Efecto de la temperatura de carbonización del CA $HNO_3$ 4 M en la extracción de los CEs .....	41
Figura 13. Efecto de la temperatura de carbonización del CA $HNO_3$ 6 M en la extracción de los CEs .....	42

Figura 14. Efecto de la concentración de solución activante de HNO <sub>3</sub> en la extracción de los CEs .....	43
Figura 15. Comparación entre todas las fases sorbentes preparadas a partir de la cáscara de maní y su eficiencia de extracción de los CEs en estudio representada por el área .....	44
Figura 16. Esquema de la metodología utilizada para la medición de punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP) de las fases sorbentes .....	46
Figura 17. Espectro FTIR de la cáscara de maní natural .....	47
Figura 18. Espectro FTIR del biochar a 600 °C de cáscara de maní .....	48
Figura 19. Espectro FTIR del carbón activado de cáscara de maní con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C ....	49
Figura 20. Imágenes SEM de la cáscara de maní .....	50
Figura 21. Imágenes SEM del biochar a 600 °C de cáscara de maní .....	51
Figura 22. Imágenes SEM del carbón activado de cáscara de maní con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C ...	52
Figura 23. Análisis termogravimétrico de la cáscara de maní natural (TGA) .....	53
Figura 24. Análisis termogravimétrico derivado de la cáscara de maní natural (DTG) .....	53
Figura 25. Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP) de la cáscara de maní natural .....	55
Figura 26. Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP) del biochar a 600 °C de cáscara de maní .....	55
Figura 27. Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP) del carbón activado de cáscara de maní con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C .....	55
Figura 28. Esquema del procedimiento RDSE y posterior análisis por GC-MS .....	57
Figura 29. Efecto de la cantidad de fase sorbente cáscara de maní natural en la extracción de los CEs .....	61
Figura 30. Efecto del pH de la muestra acuosa en la extracción de los CEs utilizando cáscara de maní natural como sorbente .....	62

Figura 31. Efecto del disolvente de elución en la extracción de los CEs utilizando cáscara de maní natural como sorbente .....	63
Figura 32. Gráfico de Pareto de los efectos principales y las interacciones cruzadas (CN). A: Velocidad [rpm], B: Tiempo [min] y C: Volumen [mL] .....	66
Figura 33. Superficie de respuesta de deseabilidad global para la optimización de variables hidrodinámicas de CEs (CN) .....	67
Figura 34. Efecto de la cantidad de fase sorbente biochar a 600 °C de cáscara de maní en la extracción de los CEs .....	68
Figura 35. Efecto del pH de la muestra acuosa en la extracción de los CEs utilizando biochar a 600 °C de cáscara de maní como fase sorbente .....	69
Figura 36. Efecto del disolvente de elución en la extracción de los CEs utilizando biochar a 600 °C de cáscara de maní como fase sorbente .....	70
Figura 37. Gráfico de Pareto de los efectos principales y las interacciones cruzadas (BC). A: Velocidad [rpm], B: Tiempo [min] y C: Volumen [mL] .....	72
Figura 38. Superficie de respuesta de deseabilidad global para la optimización de variables hidrodinámicas de CEs (BC) .....	73
Figura 39. Efecto de la cantidad de fase sorbente carbón activado de cáscara de maní con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C en la extracción de los CEs .....	73
Figura 40. Efecto del pH de la muestra acuosa en la extracción de los CEs utilizando carbón activado de cáscara de maní con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C como fase sorbente .....	74
Figura 41. Efecto del disolvente de elución en la extracción de los CEs utilizando carbón activado de cáscara de maní con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C como fase sorbente .....	75
Figura 42. Gráfico de Pareto de los efectos principales y las interacciones cruzadas (CA). A: Velocidad [rpm], B: Tiempo [min] y C: Volumen [mL] .....	77
Figura 43. Superficie de respuesta de deseabilidad global para la optimización de variables hidrodinámicas de CEs (CA) .....	78

Figura 44. Comparación entre recuperaciones de cáscara de maní natural y fases sorbentes sintéticas comerciales .....	91
Figura 45. Comparación entre recuperaciones de biochar 600 °C, carbón activado con ZnCl <sub>2</sub> a 400 °C y fases sorbentes sintéticas comerciales .....	92
Figura 46. Mapa del sitio de muestreo .....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de contaminantes emergentes en estudio .....	16
Tabla 2. Estructuras químicas de CEs en estudio .....	17
Tabla 3. Grupos funcionales de biopolímeros presentes en la cáscara de maní .....	23
Tabla 4. Datos de analitos para análisis GC-MS .....	30
Tabla 5. Programas de temperatura para carbonización en mufla .....	33
Tabla 6. Posibles interacciones entre CEs y fase sorbente cáscara de maní natural .....	48
Tabla 7. Punto de carga cero y punto isoeléctrico de las fases sorbentes preparadas .....	54
Tabla 8. Rendimiento de los procesos de carbonización .....	56
Tabla 9. Optimización cantidad de fase sorbente para CN, BC y CA .....	57
Tabla 10. Disolventes de elución en estudio para CN, BC y CA .....	58
Tabla 11. Valores codificados y experimentales para diseño Doehlert .....	60
Tabla 12. ANOVA CN .....	64
Tabla 13. ANOVA BC .....	70
Tabla 14. ANOVA CA .....	75
Tabla 15. Resumen de las condiciones óptimas de extracción RDSE para cada fase sorbente .....	78
Tabla 16. Concentraciones curvas de calibración CEs .....	80
Tabla 17. Curva de calibración en matriz utilizando CN como sorbente .....	83
Tabla 18. Cifras de mérito para la validación de metodología utilizando CN .....	85
Tabla 19. Curva de calibración en matriz utilizando BC como sorbente .....	85
Tabla 20. Cifras de mérito para la validación de metodología utilizando BC .....	87

Tabla 21. Curva de calibración en matriz utilizando CA como sorbente .....	87
Tabla 22. Cifras de mérito para la validación de metodología utilizando CA .....	88
Tabla 23. Concentración de CEs en muestras reales .....	94

## ABREVIATURAS

- \* ACN: Acetonitrilo
- \* AcOEt: Acetato de etilo
- \* AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos
- \* BC: Biochar cáscara de maní
- \* BPA: Bisfenol A
- \* CA: Carbón activado
- \* CEs: Contaminantes emergentes
- \* CN: Cáscara de maní natural
- \* C18: Fase sorbente octadecil
- \* DC: Diclofenaco
- \* Des: Disruptores endocrinos
- \* DTG: Análisis termogravimétrico derivado
- \* EE2: 17- $\alpha$ -etinilestradiol
- \* EP: Etilparabeno
- \* FTIR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
- \* GAC: Química analítica verde
- \* GC-MS: Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas
- \* HAPs: Hidrocarburos aromáticos policíclicos
- \* HLB: Hydrophilic-lipophilic balance
- \* IEP: Punto isoelectrico
- \*  $K_{o/w}$ : Coeficiente de reparto octanol/agua
- \* MeOH: Metanol
- \* MIP: Polímeros de impresión molecular
- \* MOF: Compuestos organometálicos porosos
- \* MTSFA: N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida
- \* OMS: Organización mundial de la salud
- \* PCB-77: 3,3',4,4'-tetraclorobifenilo
- \* PDMS: Polidimetilsiloxano
- \* PZC: Punto de carga cero
- \* RDSE: Extracción por sorción en disco rotatorio
- \* SBSE: Extracción por sorción en barra de agitación
- \* SEM: Microscopía electrónica de barrido
- \* SPE: Extracción en fase sólida
- \* SPME: Microextracción en fase sólida
- \* St-DVB: Estireno divinilbenceno
- \* TCS: Triclosán
- \* TGA: Análisis termogravimétrico

## RESUMEN

Actualmente existe un creciente interés por los CE, aún se desconocen las posibles consecuencias que puedan causar tanto en el medio ambiente como en la salud pública, por lo cual urge un método de análisis eficaz para determinar y monitorear estos contaminantes. Dentro de la preparación de muestras, la técnica de extracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) es una excelente alternativa para la preconcentración de analitos y eliminación de la matriz, ya que es eficiente, simple, económica y además sigue los principios de la GAC. La fase sorbente tiene el papel principal en la microextracción, por esto en los últimos años se han realizado muchos estudios para introducir nuevos sorbentes con el fin de mejorar las propiedades de los métodos analíticos. El uso de fases sorbentes naturales a base de subproductos agrícolas ha ganado gran interés debido al carácter eco-eficiente de estos y sus excelentes características como materiales adsorbentes. En el presente trabajo, se utilizó la cáscara de maní para la preparación de diversas fases sorbentes que fueron utilizadas en RDSE para la determinación de 5 CE (triclosán, bisfenol A, etilparabeno, diclofenaco y 17- $\alpha$ -etinilestradiol), principalmente uno de cada familia, en conjunto con cromatografía gaseosa acoplado a espectrometría de masas. Las cáscaras de maní presentan una alta porosidad y una gran área superficial, últimamente ha habido gran interés en su papel como sorbente debido a su fuerte capacidad de adsorción. Se compone principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, las cuales aportan diversos grupos funcionales al biosorbente, por lo que pueden generar variadas interacciones con los contaminantes. Se prepararon las fases sorbentes cáscara de maní natural, biochar y carbón activado, y se investigaron los factores experimentales que influyen en la eficiencia de la extracción, obteniendo resultados que minimizan la cantidad de fase sorbente, volumen de muestra acuosa y tiempos de extracción. En condiciones óptimas, las metodologías RDSE propuestas se validaron utilizando muestras de aguas arriba del río Mapocho (sector Canoa), exhibiendo límites de detección y cuantificación (LD y LC) en el rango de los [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ], además de recuperaciones relativas entre 91-104% y desviaciones estándar relativas (RSD) entre 3-10%. El carbón activado con  $\text{ZnCl}_2$  presentó las mejores recuperaciones para los CE siendo comparable con fases sintéticas como Oasis HLB, St-DVB y C18. Esta última se utilizó para determinar CE en aguas residuales, encontrándose TCS, EP y BPA en concentraciones de 0,69-0,58, 0,19-0,14 y 0,04-0,03 [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ] en afluente y efluente respectivamente.

## ABSTRACT

There is currently a growing interest in ECs but the possible consequences they may have on both the environment and public health are still unknown, so there is an urgent need for an effective analytical method to determine and monitor these contaminants. Within sample preparation, the rotating disk sorption extraction technique (RDSE) is an excellent alternative for the preconcentration of analytes and elimination of the matrix, since it is efficient, simple, economical and also follows the principles of GAC. The sorbent phase plays the main role in microextraction, so in recent years many studies have been carried out to introduce new sorbents in order to improve the properties of analytical methods. The use of natural sorbent phases based on agricultural by-products has gained great interest due to their eco-efficient character and their excellent characteristics as sorbent materials. In the present work, peanut shells were used for the preparation of various sorbent phases that were used in RDSE for the determination of 5 CEs (triclosan, bisphenol A, ethylparaben, diclofenac and 17- $\alpha$ -ethinylestradiol), mainly one from each family, in conjunction with gas chromatography coupled to mass spectrometry. Peanut shells present high porosity and large surface area, lately there has been great interest in its role as a sorbent due to its strong adsorption capacity. It is mainly composed of cellulose, hemicellulose and lignin, which contribute diverse functional groups to the biosorbent, so they can generate varied interactions with contaminants. The sorbent phases natural peanut shell, biochar and activated carbon were prepared, and the experimental factors that influence extraction efficiency were investigated, obtaining results that minimize the amount of sorbent phase, aqueous sample volume and extraction times. Under optimal conditions, the proposed RDSE methodologies were validated using samples from upstream of the Mapocho River (Canoa sector), exhibiting limits of detection and quantification (LOD and LOQ) in the [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ] range, in addition to relative recoveries between 91-104% and relative standard deviations (RSD) between 3-10%. Activated carbon with  $\text{ZnCl}_2$  presented the best recoveries for CEs being comparable with synthetic phases such as Oasis HLB, St-DVB and C18. The latter was used to determine CEs in wastewater, finding TCS, EP and BPA at concentrations of 0.69-0.58, 0.19-0.14 y 0.04-0.03 [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ] in influent and effluent, respectively.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, uno de los desafíos más relevantes para la humanidad es lograr el desarrollo sostenible de la sociedad, este consta de 3 aristas interdependientes: economía, medio ambiente y sociedad, relación que se traduce en desarrollo económico y social respetuoso con el medio ambiente, es decir, desarrollo soportable en lo ecológico, viable en lo económico, y equitativo en lo social. El ideal que se persigue es un crecimiento a largo plazo sin dañar el medio ambiente ni los ecosistemas y sin consumir sus recursos de forma indiscriminada, logrando así un desarrollo equilibrado haciendo un uso eficiente de los recursos naturales renovables y no renovables [1].

La química analítica es una ciencia que provee ciertas herramientas en la lucha contra la contaminación ambiental, ya que mediante esta podemos determinar potenciales contaminantes, monitorear sus concentraciones en un determinado lugar con el fin de fiscalizar que cumpla con la legislación vigente, así como también proporcionar información de los procesos que tienen lugar en el medio ambiente y los métodos de análisis para el control de estos contaminantes. Sin embargo, los procedimientos y métodos de análisis clásicos también generan cierto impacto negativo en el medio ambiente, y en la salud del químico, ya que en muchos casos las metodologías utilizadas emplean reactivos tóxicos, grandes volúmenes de diversos disolventes y materiales sintéticos.

La química verde es una importante manera de pensar en el campo de la química, y tiene como objetivo conducir procesos de acuerdo con los principios del desarrollo sostenible. Se define como la aplicación de una amplia gama de principios que minimizan el impacto tanto de los procesos químicos como de los productos en el medio ambiente, sin dejar de lado la calidad de estos procedimientos (sensibles, precisos y exactos) [2].

Como extensión de la química verde, nace la química analítica verde (GAC, *Green Analytical Chemistry*), la cual apoya el propósito del desarrollo sostenible, y se refiere al papel de los químicos analíticos en hacer que las prácticas de laboratorio sean más respetuosas con el medio ambiente. En el artículo publicado por Gałuzka [3] se proponen 12 principios de la

GAC, entre los cuales podemos destacar el quinto principio sobre métodos miniaturizados y el décimo que indica el preferir reactivos obtenidos de fuentes renovables.

Actualmente se generan enormes cantidades de aguas residuales provenientes de la actividad de diversas industrias y del uso domiciliario, estas son tratadas en plantas para su depuración, sin embargo existe un grupo de sustancias químicas denominado contaminantes emergentes (CEs), que se definen como compuestos de distinto origen y naturaleza química, cuya presencia en el medio ambiente no se considera significativa en términos de distribución y/o concentración [4], por lo cual no están regulados y por tanto las plantas de tratamiento convencionales de aguas residuales no están diseñadas para eliminarlos, de esta forma gran parte de estos contaminantes emergentes y sus metabolitos ingresan al medio acuático.

Estos contaminantes no necesitan ser compuestos persistentes en el ambiente para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/remoción se compensan con su continua introducción en el ambiente. Los CEs comprenden una amplia gama de compuestos químicos, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, agentes tensoactivos, plastificantes y aditivos industriales de los cuales existe una limitada información disponible sobre el efecto que pueden causar en la salud humana y en la ecología, he aquí la importancia de conocer sus concentraciones en el medio.

Muchos de estos compuestos se pueden clasificar como disruptores endocrinos (DEs), que se definen como una sustancia química ajena al cuerpo humano o a la especie animal a la que afecta, capaz de alterar el equilibrio hormonal de los organismos de una especie [5]. Dentro de los DEs podemos encontrar hormonas sintéticas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), compuestos policlorados (bisfenoles, dioxinas y furanos), compuestos alquilfenólicos, productos farmacéuticos y pesticidas [6].

Diversos estudios han reportado la presencia de CEs en aguas residuales de Santiago de Chile, como antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) [7], parabenos, hormonas, triclosán, bisfenol A [8] entre otros, en concentraciones en el rango de  $[\mu\text{gL}^{-1}]$ . Sin embargo, según se describe en un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS), existe poca evidencia

de que las concentraciones halladas representen un riesgo directo para la salud humana [9], no obstante, se desconocen los riesgos asociados por la exposición prolongada a estos. Debido a esto último, es que se debe realizar un monitoreo constante de CEs en los cuerpos de agua, ya que permitiría implementar acciones a tiempo para evitar que la degradación tanto de la salud de los seres vivos como del ambiente continúe o se incremente.

Para el presente estudio se seleccionaron 5 contaminantes emergentes, principalmente uno de cada familia: etilparabeno, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, diclofenaco, triclosán y bisfenol A. En la Tabla 1 se presentan las propiedades fisicoquímicas, y en la Tabla 2 las estructuras químicas para cada uno de estos CEs.

Tabla 1

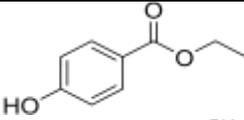
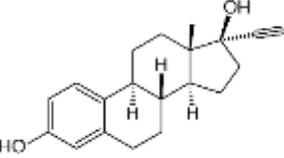
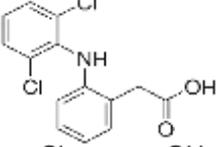
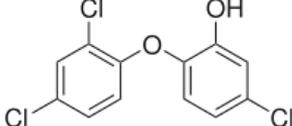
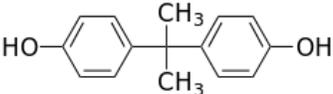
*Propiedades fisicoquímicas de contaminantes emergentes en estudio*

CEs	Uso	Peso molecular [g/mol]	pKa	Log K <sub>ow</sub>
EP	Preservante	166,17	8,34	2,47
EE2	Hormona sintética	296,40	10,33	3,67
DC	Antiinflamatorio N.E.	296,15	4,15	4,51
TCS	Antibacterial	289,54	7,90	4,76
BPA	Plastificante	228,29	9,60	3,32

**Nota.** Fuente: ChemIDplus by SRC, Inc.

Tabla 2

*Estructuras químicas de CEs en estudio*

CE	Estructura química
EP	
EE2	
DC	
TCS	
BPA	

**Nota.** Fuente: ChemIDplus by SRC, Inc.

Todo análisis químico, involucra una serie de pasos, gran parte del tiempo de análisis se dedica a la toma y preparación de muestras, esta última es un paso crítico en el proceso de medición, ya que se le asocia la mayor incertidumbre del resultado final, este paso es fundamental cuando la matriz de la muestra es compleja o cuando el analito se encuentra en concentraciones muy bajas.

Si de preparación de muestras hablamos, la extracción en fase sólida (SPE) es un método bastante popular para la preconcentración de analitos y eliminación de la matriz, esto debido a que es eficiente, simple, económico y que además sigue los principios de la química analítica verde (GAC), ya que se minimiza el uso de disolventes. El principio de la extracción en fase sólida implica una partición de solutos entre dos fases, una fase líquida (matriz de muestra o disolvente con analitos) y una fase sólida (sorbente) [10]. El procedimiento general

para este método consiste en cargar la muestra acuosa en un cartucho que contiene la fase sorbente, y hacer pasar la muestra a través de esta fase mediante la aplicación de vacío, luego se utilizan disolventes adecuados para eliminar analitos no deseados, quedando así retenidos en la fase sólida solos los analitos de interés, finalmente se realiza la elución con pequeñas porciones de disolvente que son recolectadas en un tubo.

Cabe destacar la importancia de la selección de un sorbente de extracción apropiado, para esto debemos comprender los mecanismos de interacción entre el sorbente y el/los analitos de interés, además de la naturaleza de la matriz. Esa comprensión, a su vez, depende del conocimiento de las propiedades hidrofóbicas, hidrofílicas e iónicas tanto del soluto como del sorbente. Los mecanismos de retención más comunes en SPE se basan en fuerzas de Van der Waals (interacciones no polares), enlaces de hidrógeno, fuerzas dipolo-dipolo (interacciones polares) e interacciones iónicas.

Uno de los principios de la GAC menciona la miniaturización de los métodos. La microextracción en fase sólida (SPME) aparece por primera vez en la década de los 90, se introduce como una nueva técnica que viene a corregir las limitaciones inherentes de la SPE. SPME permite la extracción de analitos orgánicos, el procedimiento general para este método se basa en sumergir una fibra de sílice fundida que está recubierta con una película de Polidimetilsiloxano (PDMS) u otro sorbente afín en la muestra líquida o exponiendo la fibra al espacio de cabeza durante un determinado tiempo, posteriormente se realiza la desorción del analito, esta puede ser desorción térmica directamente en el inyector del cromatógrafo de gases que se utilizará para el posterior análisis, así como también mediante el uso de disolventes [11]. Algunas ventajas de la SPME que le otorgaron su gran reconocimiento en el área son su alta sensibilidad, el requerir un pequeño tamaño de muestra, su simplicidad y rapidez, la capacidad de automatización, minimización de costos y eliminación de disolventes en caso de emplear desorción térmica [12]. Sin embargo, esta metodología presenta algunos inconvenientes, ya que el recubrimiento de PDMS es demasiado reducido (0,5  $\mu$ L aprox.), por lo cual su eficiencia se ve limitada. Con el afán de mejorar esta deficiencia, en 1999 se describió la técnica de extracción por sorción con barra de agitación (SBSE), esta consiste en una barra magnética con longitud de 10 y 40 mm (dependiendo del

tamaño de la muestra) recubiertas con 55 y 219  $\mu\text{L}$  de fase líquida PDMS respectivamente, logrando sensibilidades significativamente más altas que las de SPME con PDMS como sorbente [13].

A lo largo del tiempo tanto SPME como SBSE han ido evolucionando, informando aplicaciones en diferentes tipos de muestras y la inmovilización de diversas fases de sorción pudiendo así ampliar la gama de analitos a extraer. En 2009 se propuso un novedoso dispositivo integrado de agitación/microextracción dando lugar a la técnica denominada extracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) [11].

En sus inicios el dispositivo utilizado en RDSE consistió en un disco rotatorio de teflón recubierto con una película de PDMS como fase sorbente en una de sus superficies, tal como se muestra en la Figura 1. La configuración del disco permite inmovilizar un área superficial expuesta más grande de PDMS que con la barra de agitación utilizada en la técnica SBSE, y debido a que no hay contacto entre la fase de extracción y el recipiente mientras gira el disco, este puede rotar a alta velocidad sin dañar la fase, facilitando así la transferencia de masa del analito a la superficie del PDMS [14]. Posteriormente se diseñó un dispositivo para poder utilizar fases particuladas, el cual posee una cavidad central que permite la incorporación de la fase sorbente pulverizada. Para evitar fugas del sorbente, la cavidad se cubre con un filtro de fibra de vidrio y se sella con un anillo de teflón, tal como se muestra en la Figura 2. Esta última configuración será la que utilizaremos en este estudio.

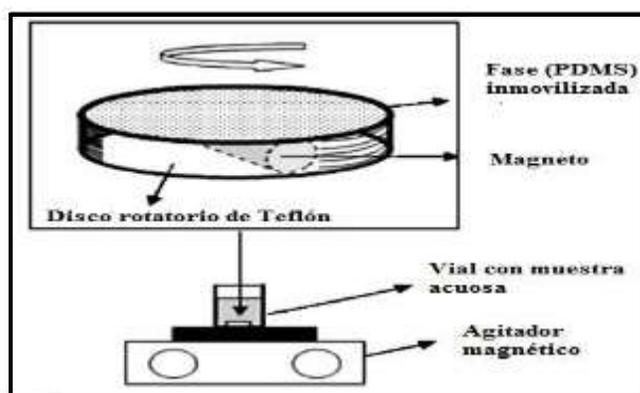


Figura 1. Disco rotatorio [14].

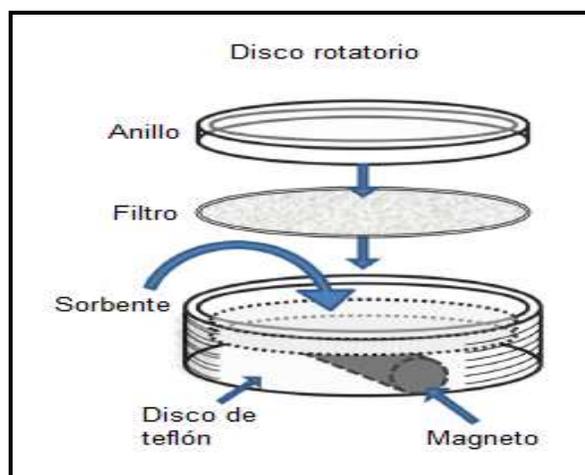


Figura 2. Disco rotatorio con cavidad central [15].

Análoga tanto a SPME como a SBSE, RDSE es una técnica basada en el equilibrio en lugar de una técnica de microextracción exhaustiva. En este contexto, cuando se alcanza el equilibrio de extracción, la siguiente Ecuación (1) es válida y predice la recuperación teórica (cantidad extraída por el PDMS sobre la cantidad total del analito en la muestra) [11]:

$$Recuperación (\%) = \frac{\left(\frac{K_{ow}}{\beta}\right)}{\left(1 + \frac{K_{ow}}{\beta}\right)} * 100 \quad (1)$$

donde  $K_{ow}$  es el coeficiente de partición octanol-agua del analito, similar al coeficiente de distribución entre PDMS y agua ( $K_{PDMS/W}$ ), y  $\beta$  es la relación de volumen ( $\beta = V_W/V_{PDMS}$ , donde  $V_W$  es el volumen de muestra acuosa y  $V_{PDMS}$  es el volumen de PDMS) [11].

En las distintas técnicas de microextracción en fase sólida, la fase sorbente tiene el papel principal. Por lo tanto, se han realizado muchos estudios para introducir nuevos sorbentes con el fin de mejorar las propiedades de los métodos analíticos. En el comercio podemos encontrar una enorme variedad de fases sorbentes con distintas características para diferentes analitos, entre las más utilizadas tenemos fases poliméricas como Oasis HLB (Hydrophilic-lipophilic balanced phase), PDMS (Polidimetilsiloxano), polímeros de impresión molecular (MIP, Molecular Imprinted Polymer), compuestos organometálicos porosos (MOF, Metal-

organic Frameworks), entre otras. Estas fases sorbentes son bastante eficientes para la microextracción de analitos, sin embargo, son materiales costosos, y sintéticos, como alternativa se propone el uso de fases sorbentes naturales incorporando así el décimo principio de la GAC que indica el preferir reactivos obtenidos de fuentes renovables.

Diversos estudios han demostrado que es posible desarrollar materiales con adecuadas capacidades de sorción a partir de fuentes naturales, despertando el interés para explorar estos materiales alternativos considerados “no-convencionales”, que permitan microextraer contaminantes de naturaleza metálica u orgánica desde muestras acuosas. Los sorbentes no-convencionales (verdes o biosorbentes) surgen del aprovechamiento de los materiales de desecho que provienen de la industria alimentaria y agrícola; estos son desechos de fruta, residuos vegetales y plantas. Por ello la utilización de estos residuos, principalmente las cáscaras de las frutas, es un alternativa de gran potencial y de aprovechamiento que presenta diversas ventajas como ser materiales biosorbentes de bajo costo, gran disponibilidad, adecuada capacidad de sorción, factibilidad de mejorar a través de modificación química, susceptible a la regeneración y biodegradabilidad lo que conduce a un menor número de problemas en la disposición final posterior a la sorción [16].

Hasta el momento hay muchos estudios que ofrecen estos sorbentes naturales como alternativa para la remoción de contaminantes aplicada a aguas residuales, sin embargo, existe poca información sobre el uso de estos materiales en análisis de laboratorio como fases sorbentes para la microextracción de contaminantes, lo que lo convierte en una línea de investigación interesante para desarrollar.

Podemos definir el carbón como producto de la pirólisis de materia orgánica en ausencia de oxígeno. El biocarbón o biochar (BC), es básicamente carbón obtenido mediante la pirólisis de una variedad de biomasa proveniente de desechos agrícolas o forestales, el cual luego será utilizado principalmente para rectificar suelos agrícolas o remover contaminantes desde cuerpos de agua [17].

Entre los novedosos sorbentes basados en residuos, los biochars son muy populares. La capacidad de sorción del biochar para diferentes analitos depende en gran medida de la composición del sorbente, y las posibles interacciones que pueda tener con el analito. La materia prima, condiciones de carbonización y otras condiciones ambientales influyen significativamente en las propiedades del biochar.

Por otra parte, el carbón activado (CA), es un material sólido, carbonoso, poroso y negro con un área superficial alta, un adecuado tamaño de poro y un alto grado de reactividad superficial. La síntesis de CA consta de dos pasos básicos: carbonización y activación. El propósito de la carbonización es reducir el contenido volátil de las materias primas mediante la pirólisis de los precursores de carbono en el rango de temperatura de 300–900 °C y crear carbón con porosidad primaria asociada con un alto contenido de carbono fijo. Mientras que el propósito de la activación es aumentar el área superficial o el volumen de poros del CA mediante la apertura de nuevos poros y el desarrollo de los existentes. Además, la activación puede cambiar la naturaleza química de la superficie del CA otorgándole ciertas características únicas. Actualmente, se utilizan 3 técnicas de activación para producir CA: activación física, activación química y activación fisicoquímica [18], las cuales se describen a continuación.

La activación física es un proceso de 2 etapas, la etapa de carbonización en presencia de un gas inerte ( $N_2$  o Ar), seguida de la etapa de activación con la ayuda de un gas oxidante ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2O$  vapor) en el rango de temperatura de 800-1200 °C [19]. La activación química, conocida como “oxidación húmeda”, es un proceso de una sola etapa, durante el cual la carbonización y la activación tienen lugar simultáneamente en el rango de temperatura de 450-850 °C [20]. La activación fisicoquímica es una combinación de procesos físicos y químicos que implican la impregnación química de precursores de carbono con agentes activantes, seguida de un paso de activación física bajo una atmósfera de gas oxidante [18]. De estas 3 técnicas, la activación química se considera el método más prometedor para la producción de CA, debido a su baja temperatura de calentamiento, corto tiempo de procesamiento, alto rendimiento de carbono, porosidad bien controlada y gran área

superficial. Asimismo, cabe destacar que los agentes activantes juegan un papel decisivo en la formación de poros o grupos químicos superficiales durante la activación [18].

La cáscara de maní es un subproducto del procesamiento del maní y su uso tiene grandes ventajas, como proceder de una amplia gama de fuentes, altos volúmenes de producción, bajo costo y el ser amigable con el medio ambiente. China ocupa el primer lugar en la producción de maní en el mundo y se producen anualmente un potencial de 4,5 millones de toneladas de cáscaras de maní. Las cáscaras de maní tienen una alta porosidad y una gran área superficial, en los últimos años ha habido un interés creciente en su papel como sorbente debido a su fuerte capacidad de adsorción. En la actualidad, solo una pequeña parte de cáscaras de maní se recicla como alimento o combustible, mientras que la otra parte se desecha o quema, lo que resulta en un desperdicio de recursos. Varios estudios discuten el uso de cáscaras de maní natural o bien como biochar como material sorbente para metales pesados, tintes, y otros contaminantes [21].

La cáscara de maní se compone por un 95% de materia orgánica y 5% de minerales (generalmente Si, Ca, Mg, K, Al, P, S, Cl). La bibliografía muestra que la cáscara de maní está compuesta principalmente por celulosa, lignina y hemicelulosa [22]. Podemos identificar los siguientes grupos funcionales en cada uno de estos compuestos:

Tabla 3

*Grupos funcionales de biopolímeros presentes en la cáscara de maní*

Biopolímero	Grupos funcionales presentes
Celulosa	R- OH; R-O-R'
Hemicelulosa	R- OH; R-O-R'
Lignina	Ar-O-CH <sub>3</sub> ; Ar-OH; Ar-COOH

**Nota.** Fuente: [22].

Como podemos observar en la Tabla 3, la cáscara de maní presenta variedad de grupos funcionales que la convierten en un potencial sorbente debido a las diversas interacciones que puede generar con diversos analitos. La carbonización de la cáscara de maní (biochar)

implica un cambio a nivel físico y químico, según diversos estudios la carbonización de este material aumenta su área superficial y el tamaño de los poros, estas modificaciones en la estructura del material pueden evaluarse mediante una caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM), cabe destacar que el tamaño de poro contribuye al área superficial y la capacidad de adsorción del material. Por otro lado, los cambios químicos los podemos evaluar analizando los espectros FTIR, y así poder comprender de mejor manera las interacciones moleculares que pudiesen resultar al momento de realizar las extracciones.

En estudios anteriores ya se ha reportado el uso de cáscara de maní como material adsorbente para remover contaminantes en el tratamiento de aguas. En estos artículos, han utilizado tanto la cáscara de maní natural como modificaciones de esta, con el fin de mejorar su capacidad como adsorbente, entre los cuales podemos mencionar la preparación de biochar y carbón activado químicamente con  $\text{HNO}_3$  para remoción de  $\text{Pb}^{+2}$  [23], modificación de la cáscara natural con etilendiamina para remoción de  $\text{Hg}^{+2}$  y  $\text{Cd}^{+2}$  [24], carbón activado fisicoquímicamente con  $\text{KOH}$  y aire para remoción de  $\text{Cr (VI)}$  [25], carbón activado fisicoquímicamente con  $\text{NaOH}$  y  $\text{CO}_2$  para remoción de azul de metileno [26], biochar para remoción de atrazina y nicosulfuron [27], cáscara de maní natural para la remoción de 4 antibióticos sulfamerazina, sulfametazina, sulfatiazol y sulfametoxazol [21], entre otros.

Teniendo en cuenta que los sorbentes naturales han sido poco explorados en los procedimientos de microextracción en general, esta investigación busca desarrollar fases sorbentes naturales a partir de un subproducto agrícola como la cáscara de maní para su posterior aplicación en la microextracción de contaminantes emergentes desde aguas residuales mediante la técnica RDSE.

Se prepararán fases sorbentes derivadas de cáscaras de maní (natural, biochar y carbón activado), las cuales se caracterizarán mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis termogravimétrico (TGA) entre otros, con el fin de evaluar las posibles ventajas que pueda tener cada modificación. Estas se utilizarán en la microextracción de 5 CEs (triclosán, diclofenaco, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, etilparabeno y bisfenol A) desde muestras acuosas mediante la técnica

RDSE. Luego, se investigarán los parámetros que afectan la eficiencia de extracción, incluida la cantidad de fase sorbente, el pH de la muestra acuosa, el disolvente de elución y las variables hidrodinámicas. Las metodologías propuestas ya optimizadas serán validadas, y utilizadas para la determinación de trazas de CEs en aguas arriba (sector Canoa) y aguas abajo (puente Esperanza) del río Mapocho y en afluentes/efluentes de la planta de tratamiento de aguas residuales El Trebal (Aguas Andinas) de Santiago, Chile.

Adicionalmente, se realizará una comparación de la eficiencia de extracción entre las fases sorbentes preparadas y las fases sintéticas comerciales Oasis HLB, C18 y St-DVB.

El análisis de estas muestras se realizará por medio de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).

## **2.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.1 Hipótesis**

Las fases sorbentes naturales, cáscara de maní, cáscara de maní carbonizada y cáscara de maní carbonizada activada, poseen funcionalidades mixtas (polares e hidrofóbicas) que permitirían a estos sustratos microextraer mediante RDSE distintos contaminantes emergentes desde aguas residuales, mostrando resultados comparables con otras fases sintéticas como Oasis HLB.

### **2.2 Objetivo general**

Desarrollar metodologías analíticas para determinar contaminantes emergentes en aguas residuales mediante la técnica de microextracción RDSE utilizando como fase sorbente natural la cáscara de maní.

### **2.3 Objetivos específicos**

1. Preparar fases sorbentes naturales a partir de cáscara de maní evaluando distintas metodologías, temperaturas y tiempos para la carbonización y activación química con  $K_2CO_3$ ,  $ZnCl_2$  y  $HNO_3$ .
2. Caracterizar cada material por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis termogravimétrico (TGA) y otros.
3. Optimizar el proceso de extracción de 5 contaminantes emergentes: triclosán, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, diclofenaco, etilparabeno y bisfenol A, a través de microextracción por sorción de disco rotatorio y cuantificación mediante GC-MS.
4. Validar metodologías analíticas utilizando fases sorbentes naturales en la técnica de microextracción RDSE para la determinación de 5 contaminantes emergentes en aguas arriba del río Mapocho (sector Canoa).
5. Comparar eficiencia de extracción de las fases sorbentes naturales con las fases sorbentes sintéticas Oasis HLB, C18 y DVB.

6. Aplicar la metodología analítica ideada en la determinación de contaminantes emergentes en efluente y afluente de la planta de tratamiento de aguas residuales El Trebal de Santiago de Chile.

### 3. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

#### ➤ Estándares

- Etilparabeno, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, triclosán, bisfenol A, PCB-77, triclosán-2,3,5-D<sub>3</sub> (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Alemania).
- Diclofenaco, etilparabeno-D<sub>4</sub>, bisfenol A-D<sub>16</sub>, 17- $\alpha$ -etinilestradiol-20,21-<sup>13</sup>C<sub>2</sub> y ácido meclofenámico (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, Estados Unidos).

#### ➤ Reactivos

- N-metil-N-trimetil-trifluoroacetamida (MSTFA), cloruro de zinc y carbonato de potasio (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, Estados Unidos).
- Piridina, fosfato ácido de sodio, fosfato diácido de potasio, ácido acético, acetato de sodio, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico 37% y ácido nítrico 65% (Merck).

#### ➤ Solventes y gases

- Metanol, acetonitrilo, acetato de etilo y cloroformo, grado HPLC y grado LC-MS (Merck).
- Agua Millipore Milli-Q Plus (Billerica, MA, Estados Unidos).
- Nitrógeno, N<sub>2</sub> 99,995% (Linde), Helio, He 99,9999% (Indura).

#### ➤ Materiales

- Maní natural con cáscara (adquirido del comercio local).
- Fases sorbentes: Oasis® HLB (Waters corp.). Sílice enlazada a grupos octadecilo (C18) y estireno-divinilbenceno St-DVB (Merck).
- Discos rotatorios de teflón con cavidad y anillo para sellar. Filtros de fibra de vidrio 1,5  $\mu$ m (Rilab). Sacabocado de golpe 14 mm de diámetro, Elora.
- Viales de vidrio color ámbar de 10, 25 y 40 mL.
- Viales de inyección y de derivatización de 2 mL.

- Material de vidrio (vaso de precipitado, pipetas volumétricas, pipetas Pasteur, matraces de aforo, botellas, matraz Kitasato, embudo Buchner, balón fondo redondo, columna refrigerante, extractor soxhlet).
- Papel filtro 125 mm.
- Micropipetas y puntas.
- Crisoles de porcelana con tapa.

➤ Equipos

- Cromatógrafo de Gases (Trace 1300) con detector selectivo de masas (ISQ). Thermo Scientific. Columna capilar Restek RTX-5MS (30m×0.25mm; 0.25µm), 5% phenyl - 95% methylpolysiloxane.
- Espectrofotómetro infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) Nicolet iS5, Thermo Scientific. Acoplado a un accesorio de muestreo inteligente de reflectancia total atenuada (ATR) iTX-iD7 con cristal de diamante.
- Agitador Agimatic-N, Selecta (con placa calefactora), agitador multiposición JEIO TECH MS-52M y agitador horizontal.
- Baño de ultrasonido Power sonic 410.
- pH metro WTW modelo pMX 3000.
- Vortex SCIOLOGEX MX-S.
- Evaporador Biotage y evaporador VWR Analog Heatblock.
- Balanza analítica Precisa 125A. Swiss Quality.
- Estufa WTB Binder.
- Horno mufla Heraeus M110.
- Placa calefactora para derivatización VWR Heatblock.

#### 4. METODOLOGÍA, RESULTADOS Y DISCUSIÓN POR OBJETIVOS

##### ❖ Análisis cromatográfico

Para la determinación y cuantificación múltiple de los contaminantes emergentes en estudio, se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un detector selectivo de masas. La cuantificación de los compuestos se basó en la calibración de la matriz utilizando el espectrómetro de masas en el modo de control selectivo de iones (SIM). La Tabla 4 muestra el tiempo de retención y los iones  $m/z$  utilizados en modo SIM para cada analito. Adicionalmente para la validación de las metodologías se utilizaron estándares subrogantes que permiten corregir el proceso de extracción, los cuales también se indican en la Tabla 4.

Tabla 4

*Datos de analitos para análisis GC-MS*

Analito	Tiempo de retención	$m/z$ ion cualificador	$m/z$ ion cuantificador
Bisfenol A (BPA)	18,79	357	358
Triclosán (TCS)	18,09	345	347
17- $\alpha$ -etinilestradiol (EE2)	23,48	425	440
Etilparabeno (EP)	9,77	238	223
Diclofenaco (DC)	19,08	214	242
3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl (PCB-77)	19,83	290	292
TCS-D <sub>3</sub>	18,05	350	365
EE2- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	23,35	444,5	429,5
EP-D <sub>4</sub>	10,43	242	227
BPA-D <sub>16</sub>	18,55	369	370
Ácido Meclofenámico	19,25	242	244

Debido a que los analitos en estudio no son volátiles, es necesario derivatizar los extractos provenientes de la extracción por RDSE previo a su determinación por GC-MS. Los eluatos

obtenidos del proceso de microextracción se evaporan a sequedad bajo una corriente de  $N_2$ , luego se adicionan alícuotas de 70  $\mu L$  de agente derivatizante (MSTFA), 50  $\mu L$  de piridina, y se agitan en un vórtice para homogeneizar la solución. La reacción de derivatización se lleva a cabo en una placa calefactora a 80 ° C durante 35 min [8]. Después de enfriar, se añaden 20  $\mu L$  de PCB-77 como patrón interno, y se agita en un vórtice para homogeneizar. Luego la solución derivatizada se analiza en GC-MS.

Como se muestra en la Figura 3, todos los compuestos eluyeron en aproximadamente 26 min. Las señales para los analitos se encuentran bien resueltas, además los compuestos se pueden identificar y cuantificar sin interferencias utilizando los iones de cualificación y cuantificación.

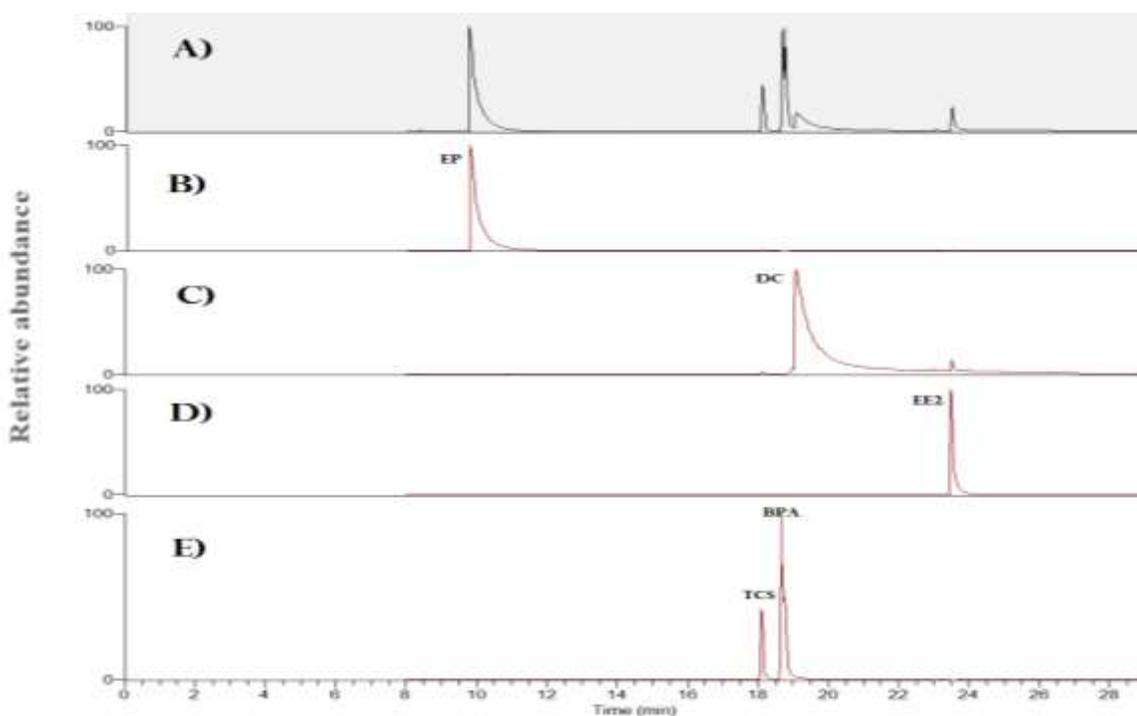


Figura 3. a) Cromatograma general (TIC) con todos los CEs, b) cromatograma EP ( $m/z=238,223$ ), c) cromatograma DC ( $m/z=214,242$ ), d) cromatograma EE2 ( $m/z=425,440$ ), e) cromatograma BPA ( $m/z=357,358$ ) y TCS ( $m/z=345,347$ ).

## **4.1 Objetivo 1: Preparación de fases sorbentes naturales a partir de cáscara de maní evaluando distintas metodologías, temperaturas y tiempos para la carbonización y activación química con $K_2CO_3$ , $ZnCl_2$ y $HNO_3$ .**

### **4.1.1 Metodología**

#### *4.1.1.1 Fase sorbente cáscara de maní natural*

Las cáscaras del maní comprado en el mercado se cortaron en trozos de 1 cm aproximadamente, y se limpiaron cuidadosamente, eliminando restos de piel de maní. Luego se lavaron con abundante agua destilada (5 enjuagues), y se sonicaron en agua por 30 min a 28 °C. Se quitó el exceso de agua y se traspasaron las cáscaras húmedas a bandejas con papel aluminio, las cuales se mantuvieron en la estufa a 80 °C hasta que se secaron por completo (48 horas). Luego las cáscaras se retiraron de la estufa y se procedió a molerlas con un molinillo de café, una vez todas las cáscaras trituradas, quedó un polvo bastante fino color café claro.

Las cáscaras molidas ya lavadas previamente con agua, ahora se lavaron con metanol utilizando un aparato de extracción Soxhlet. Primero se realizó el armado del aparato, luego se introdujo la fase en el cartucho, se adicionó metanol al balón junto con piedras de ebullición, y una vez el aparato completamente armado y con el refrigerante operante, se encendió el manto calefactor a 65 °C. Se realizaron aproximadamente 15 ciclos, se cambió el metanol y se añadió metanol limpio para realizar 5 ciclos más, luego de esos 5 ciclos el disolvente se encontraba transparente, lo cual fue indicio de que las cáscaras ya estaban limpias. Cabe destacar que este lavado se realizó solo una vez para un batch de esta fase sorbente, ya que evidentemente no califica dentro del marco de esta investigación basada en métodos verdes, sin embargo, fue necesario, debido a que la cáscara contiene muchos pigmentos que luego interfieren en los procesos de extracción y cuantificación.

Se enjuagaron las cáscaras con agua milli-Q y se introdujeron en la estufa a 80 °C hasta que se secaron por completo. Una vez secas, se sacaron de la estufa, se pasaron nuevamente por el molinillo, y se tamizaron, se utilizó un agitador horizontal para tamizar. Finalmente, se almacenaron en frascos color ámbar (separados por tamaño de partícula) y se guardaron en el desecador previamente etiquetados.

NOTA: Disolvente utilizado para limpiar las cáscaras se recicló.

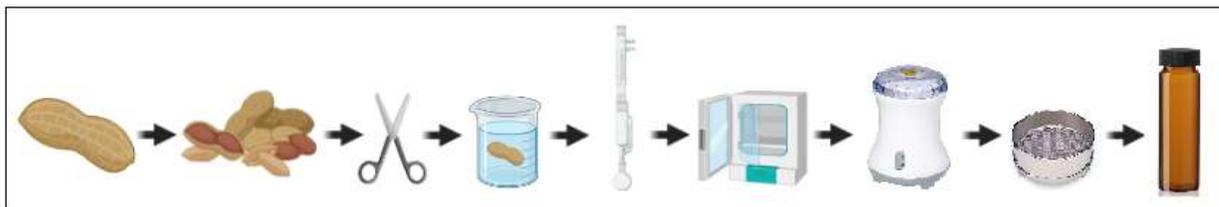


Figura 4. Esquema de preparación de fase sorbente cáscara de maní natural.

#### 4.1.1.2 Fase sorbente biochar de cáscara de maní

Las cáscaras de maní molidas ya lavadas previamente con agua, se secaron en una estufa a 80 °C hasta peso constante. Una vez bien secas, se retiraron de la estufa, se pasaron por un molinillo, y se tamizaron, se utilizó un agitador horizontal para tamizar.

Se pesaron en crisoles de porcelana aproximadamente 3 g de cáscara de maní en cada crisol, se introdujeron dentro de la mufla tapados, esta se cerró y comenzó a purgarse con nitrógeno por 20 min. Transcurrido el tiempo de purga se dio inicio al programa de carbonización respectivo. Se prepararon biochars a 3 temperaturas distintas, 400, 600 y 800 °C bajo una atmósfera inerte de nitrógeno. Los programas de temperatura utilizados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 5

#### *Programas de temperatura para carbonización en mufla*

	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	Velocidad
Carbonización 400 °C	25 °C	400 °C	38 min	30 min	10 °Cmin <sup>-1</sup>
Carbonización 600 °C	25 °C	600 °C	58 min	30 min	10 °Cmin <sup>-1</sup>
Carbonización 800 °C	25 °C	800 °C	78 min	30 min	10 °Cmin <sup>-1</sup>

**Nota.** P<sub>0</sub>: Temperatura inicial, P<sub>1</sub>: Temperatura final, T<sub>1</sub>: Tiempo que tarda en llegar a la temperatura final, T<sub>2</sub>: Tiempo que se mantiene en la temperatura final.

Una vez finalizado el programa y cuando la temperatura de la mufla alcanzó los 250 °C, se abrió y se retiraron los crisoles, estos se dispusieron en un desecador con vacío.

Para retirar cenizas de los biochars, estos se lavaron con HCl 1N [27], se utilizaron 10 mL de solución por cada g de biochar, y se agitaron por 24 horas a 200 rpm. Transcurrido el tiempo se filtraron con ayuda de vacío, y se lavaron con agua destilada hasta pH neutro. Posteriormente se secaron en la estufa a 45 °C hasta peso constante, y se almacenaron en viales de vidrio color ámbar.



Figura 5. Esquema de preparación de fase sorbente biochar de cáscara de maní.

#### 4.1.1.3 Fase sorbente carbón de cáscara de maní activado con $K_2CO_3$ y $ZnCl_2$

Las cáscaras de maní molidas ya lavadas previamente con agua, se secaron en una estufa a 80 °C hasta peso constante. Una vez secas, se retiraron de la estufa, se pasaron por un molinillo, y se tamizaron, se utilizó un agitador horizontal para tamizar.

Se pesaron en un vaso precipitado 3 g de cáscara de maní y se añadieron 30 mL de una solución acuosa al 75% p/p de  $K_2CO_3$  [28]. Posteriormente se agitaron durante 24 horas a 2000 rpm. Una vez transcurrido el tiempo, se traspasó la solución a un crisol de porcelana y se secó en una estufa a 85 °C por 24 horas. Una vez ya seco, se introdujo dentro de la mufla tapado, esta se cerró y comenzó a purgarse con nitrógeno por 20 min. Transcurrido el tiempo de purga se dio inicio al programa de carbonización respectivo. Se prepararon carbones activados con  $K_2CO_3$  a 3 temperaturas distintas, 400, 600 y 800 °C bajo una atmósfera inerte de nitrógeno. Los programas de temperatura utilizados se expusieron en la Tabla 5. Una vez finalizado el programa y cuando la temperatura de la mufla descendió a los 250 °C, se abrió y se retiraron los crisoles, estos se dispusieron en un desecador con vacío.

Para retirar cenizas de los carbones activados, estos se lavaron con HCl 1N, se utilizaron 10 mL de solución por cada gramo de carbón activado, y se agitaron por 24 horas a 200 rpm. Transcurrido el tiempo se filtraron con vacío y se lavaron con agua destilada hasta pH neutro. Posteriormente se secaron en la estufa a 45 °C hasta peso constante, y se almacenaron en viales de vidrio color ámbar.

NOTA: La metodología para la preparación de la fase sorbente carbón activado con  $ZnCl_2$  es idéntica, solo que utilizando 30 mL de solución acuosa al 75% p/p de  $ZnCl_2$  [28].

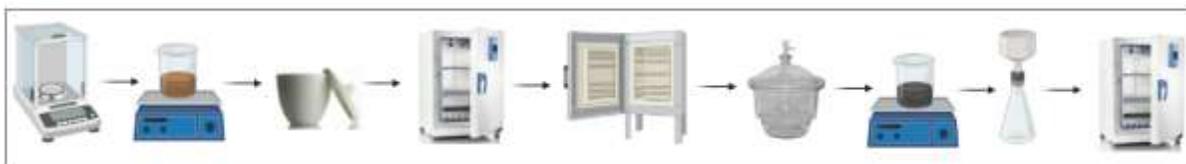


Figura 6. Esquema de preparación de fases sorbentes carbón de cáscara de maní activado con  $K_2CO_3$  y  $ZnCl_2$ .

#### 4.1.1.4 Fase sorbente carbón de cáscara de maní activado con $HNO_3$

Parte del biochar producido con anterioridad a las 3 temperaturas (400, 600 y 800 °C) se activó utilizando  $HNO_3$ . Para esto se calentó a reflujo 1 g de biochar (400, 600 y 800 °C, por separado) con 30 mL de una solución acuosa de  $HNO_3$  2, 4 y 6 M, durante 8 horas a 80 °C [29]. Generándose así 9 fases sorbentes:

- Carbón activado con  $HNO_3$  2 M, a 400 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  2 M, a 600 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  2 M, a 800 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  4 M, a 400 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  4 M, a 600 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  4 M, a 800 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  6 M, a 400 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  6 M, a 600 °C
- Carbón activado con  $HNO_3$  6 M, a 800 °C

Transcurrido el tiempo de reflujo, los carbones activados se filtraron con ayuda de vacío y se lavaron con agua destilada hasta pH neutro. Posteriormente se secaron en la estufa a 45 °C hasta peso constante, y se almacenaron en viales de vidrio color ámbar.

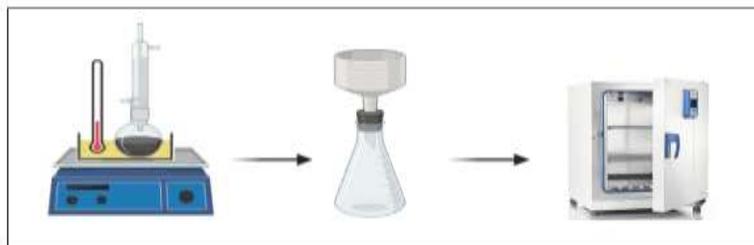


Figura 7. Esquema de preparación de fase sorbente carbón de cáscara de maní activado con  $\text{HNO}_3$ .

#### 4.1.2 Resultados y discusión

Como se mencionó anteriormente, se prepararon distintas fases sorbentes a partir de la cáscara de maní. Se realizaron experimentos basados en extracciones RDSE de los CEs desde muestras acuosas para lograr una comparación entre todas estas fases, y así seleccionar aquellas más prometedoras en función de la capacidad de sorción que presentaron frente a los distintos CEs en estudio, esta se ve reflejada en el área normalizada, resultante de cada pico cromatográfico correspondiente a los analitos, corregida por el estándar interno (PCB-77).

Por tanto, se seleccionaron aquellas condiciones que presentaron las áreas más grandes y desviaciones estándar aceptables para los distintos CEs, esto con el fin de poder optimizar y validar las metodologías analíticas, solo de las fases sorbentes más prometedoras.

El procedimiento de extracción RDSE y posterior análisis cromatográfico utilizado para realizar estos experimentos se encuentra detallado en el punto 4.3.1. Las condiciones de extracción fueron las mismas para las distintas fases sorbentes, y se detallan a continuación:

- Cantidad de fase depositada en el disco: 60 mg.
- Acondicionamiento de fases: MeOH, AcOEt y  $\text{H}_2\text{O}$  (5 min de rotación con cada disolvente).

- Extracción: Muestra acuosa de 20 mL, enriquecida con  $30 \mu\text{gL}^{-1}$  de cada CE. Rotación durante 60 min a 2000 rpm.
- Elución: AcOEt como disolvente, 30 min de rotación.

#### 4.1.2.1 Temperaturas de carbonización para la fase sorbente biochar

Como se puede observar en la Figura 8, las áreas de los CEs son ligeramente mayores al utilizar como fase sorbente la cáscara de maní carbonizada a una temperatura de 600 °C, a excepción del analito BPA que presenta mayor área utilizando el biochar 800 °C, sin embargo, el utilizar la temperatura de 800 °C involucra un gasto energético y de  $\text{N}_2$  (g) mayor. Las desviaciones estándar obtenidas (extracciones fueron realizadas en triplicado para cada condición, 400-600 y 800 °C) en las 3 temperaturas son mínimas para la mayor parte de los CEs, exceptuando el EP que presentó desviaciones un poco mayores, esto se puede asociar a que es uno de los analitos con menor sensibilidad, y por tanto presenta mayores inconvenientes al momento de la cuantificación en áreas pequeñas. Considerando todo lo mencionado anteriormente, la temperatura óptima de carbonización escogida para el biochar fue 600 °C.

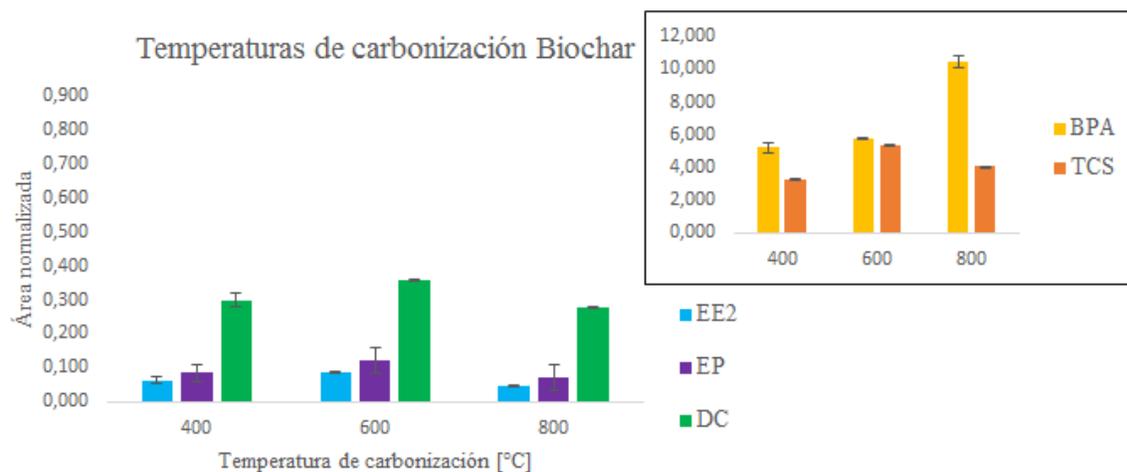


Figura 8. Efecto de la temperatura de carbonización del biochar en la extracción de los CEs.

#### 4.1.2.2 Temperaturas de carbonización para la fase sorbente carbón activado con ZnCl<sub>2</sub>

Tal como se muestra en la Figura 9, las áreas de los CEs BPA, DC y EE2, son notablemente mayores al utilizar como fase sorbente el carbón activado con ZnCl<sub>2</sub> a 400 °C, por otro lado EP y TCS presentan áreas más grandes al utilizar ZnCl<sub>2</sub> 600 °C, sin embargo la diferencia es mínima, y como se mencionó anteriormente el utilizar una mayor temperatura implica un gasto energético y de N<sub>2</sub> (g) mayor, el cual en este caso no es justificable. En cuanto a las desviaciones estándar obtenidas para los CEs, en las 3 temperaturas son similares, por tanto, en este caso no es un factor determinante para la condición óptima. Considerando todo lo expuesto anteriormente, la temperatura óptima seleccionada para la carbonización del carbón activado con ZnCl<sub>2</sub> fue de 400 °C.

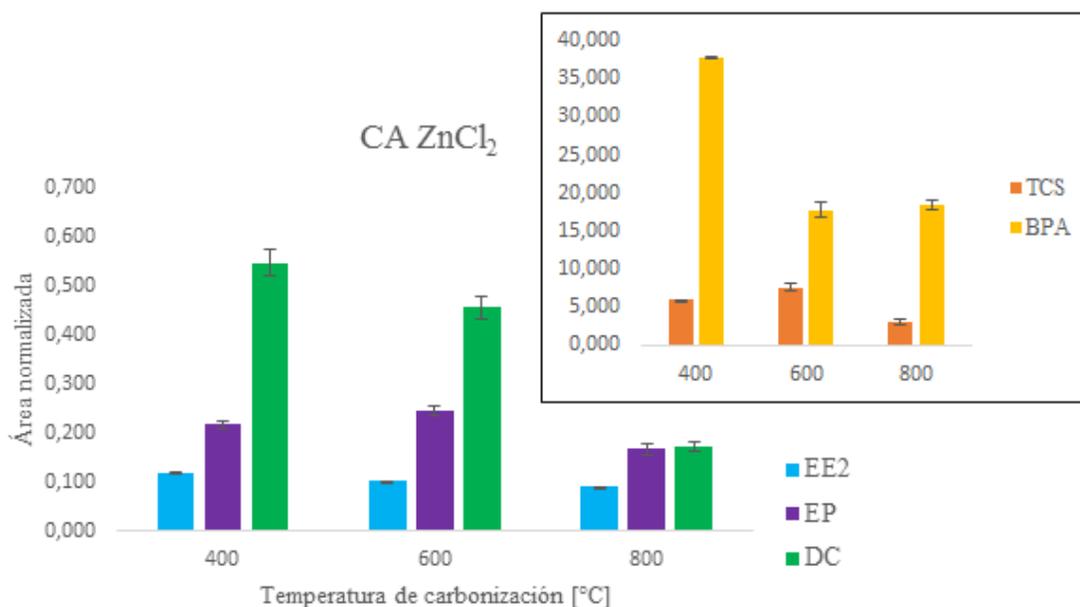


Figura 9. Efecto de la temperatura de carbonización del CA ZnCl<sub>2</sub> en la extracción de los CEs.

#### 4.1.2.3 Temperaturas de carbonización para la fase sorbente carbón activado con $K_2CO_3$

Como se puede observar en la Figura 10, al utilizar la fase sorbente carbón activado con  $K_2CO_3$  a 400 °C se logran mayores áreas para EE2, DC y BPA, mientras que para TCS y EP se logran mayores áreas al utilizar la fase carbonizada a 800 °C. En cuanto a las desviaciones estándar, se logra apreciar que son más grandes que las obtenidas con las fases sorbentes mencionadas anteriormente, esto puede asociarse a que en el proceso de carbonización (independiente de la temperatura utilizada) se observa un gran aumento de volumen de la fase sorbente, debido a que la sal promueve la gasificación del carbón [28], lo cual tal vez impide que la carbonización del material sea homogénea. Teniendo en cuenta todo lo anterior, la temperatura óptima seleccionada para la carbonización del carbón activado con  $K_2CO_3$  fue de 400 °C, ya que favorece la extracción de 3 CEs, y adicionalmente minimiza el gasto energético y de  $N_2$  (g).

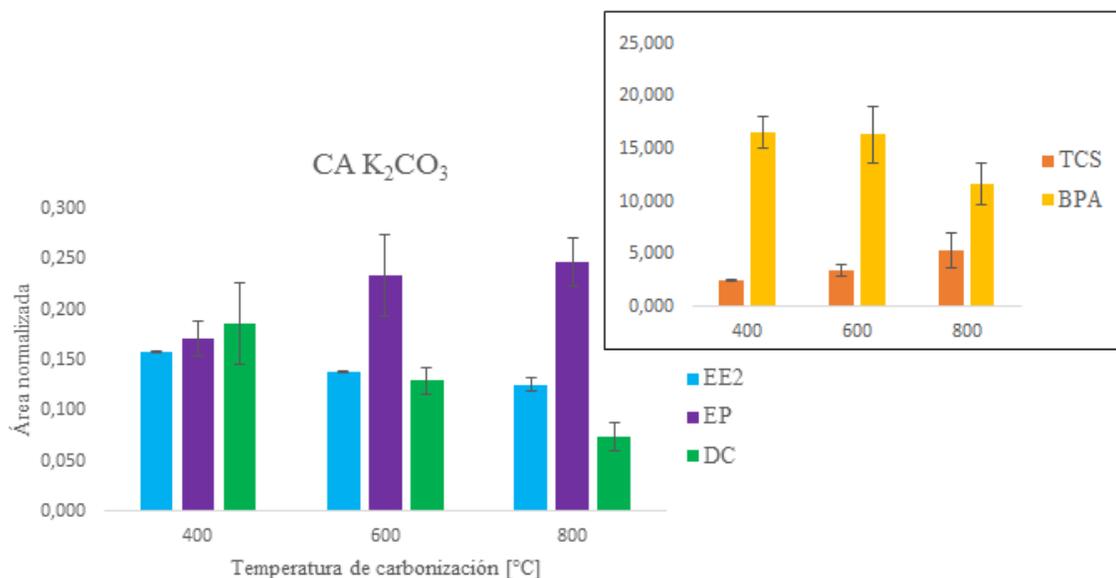


Figura 10. Efecto de la temperatura de carbonización del CA  $K_2CO_3$  en la extracción de los CEs.

#### 4.1.2.4. Temperaturas de carbonización y concentración de solución activante para la fase sorbente carbón activado con $HNO_3$

Se optimizó la activación química con  $HNO_3$  evaluando los parámetros concentración de solución activante, y temperatura de carbonización, seleccionando así las condiciones que presentaron mejor eficiencia de extracción para los CEs.

En la Figura 11, se puede observar que al utilizar la fase sorbente carbón activado con  $HNO_3$  2 M a 400 °C se obtienen las áreas más pequeñas para todos los CEs excepto el EP, las áreas más grandes se obtienen al utilizar los carbones activados a 600 °C (EE2 y DC) y 800 °C (BPA y TCS). En cuanto a las desviaciones estándar, se puede notar que son mayores al utilizar la fase sorbente carbonizada a 600 °C. Por tanto, considerando las observaciones mencionadas, la temperatura óptima seleccionada para la carbonización del carbón activado con  $HNO_3$  2 M fue de 800 °C.

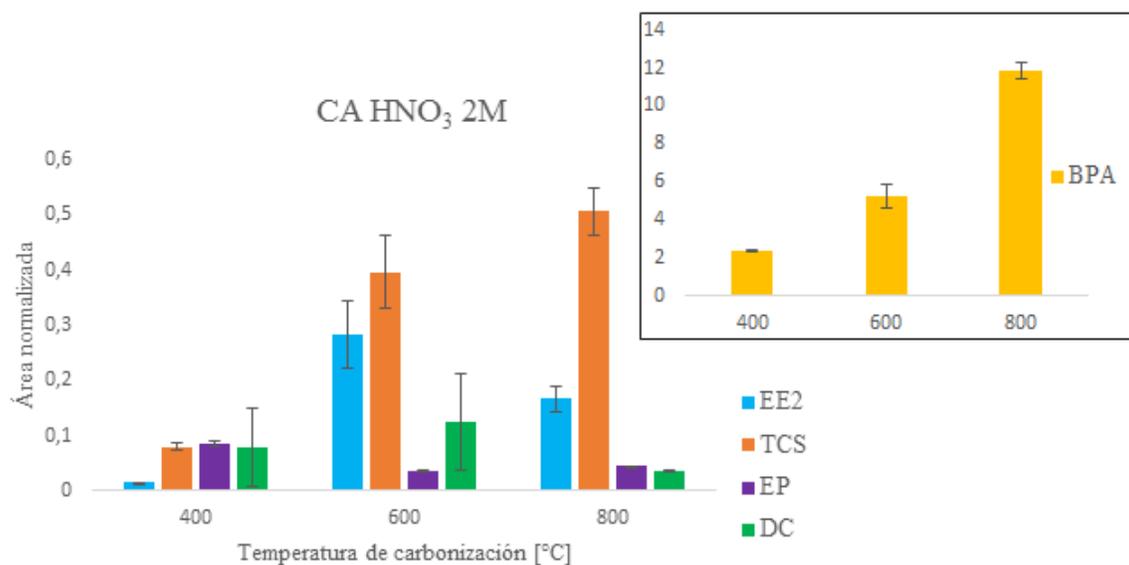


Figura 11. Efecto de la temperatura de carbonización del CA  $HNO_3$  2 M en la extracción de los CEs.

En la Figura 12 se puede observar que al utilizar la fase sorbente carbón activado con HNO<sub>3</sub> 4 M a 800 °C se obtienen áreas un poco más grandes para BPA, TCS y EE2, mientras que para EP y DC esto sucede al utilizar la fase sorbente carbonizada a 600 °C, sin embargo, las desviaciones estándar obtenidas para los CEs utilizando esta última fase, son evidentemente menores. Por tanto, considerando que la diferencia entre áreas al utilizar la fase carbonizada a 600 °C u 800 °C es leve, pero que las desviaciones son muchísimo más grandes en una que la otra, la temperatura óptima seleccionada para la carbonización del carbón activado con HNO<sub>3</sub> 4 M fue de 600 °C.

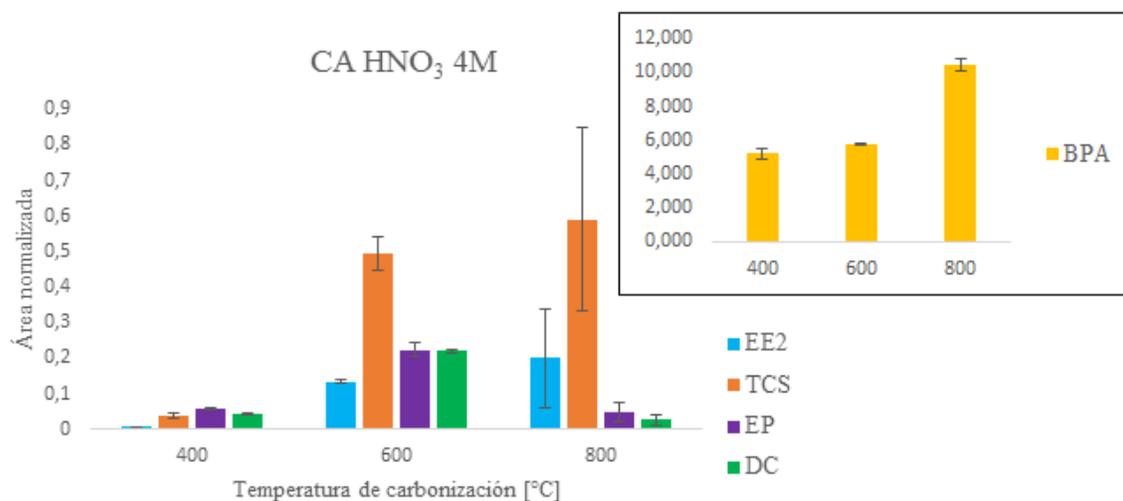


Figura 12. Efecto de la temperatura de carbonización del CA HNO<sub>3</sub> 4 M en la extracción de los CEs.

Como se puede observar en la Figura 13, al utilizar la fase sorbente carbón activado con  $\text{HNO}_3$  6 M a 400 °C se obtienen las áreas más pequeñas para todos los CEs, las áreas más grandes se obtienen al utilizar los carbones activados a 600 °C (EE2, EP y DC) y 800 °C (BPA y TCS). En cuanto a las desviaciones estándar obtenidas para los CEs, en las 3 temperaturas son similares, por tanto, en este caso no es un factor determinante para la condición óptima. Considerando las observaciones mencionadas, la temperatura óptima seleccionada para la carbonización del carbón activado con  $\text{HNO}_3$  6 M fue de 600 °C, ya que favorece la extracción de 3 CEs, y adicionalmente minimiza el gasto energético y de  $\text{N}_2$  (g).

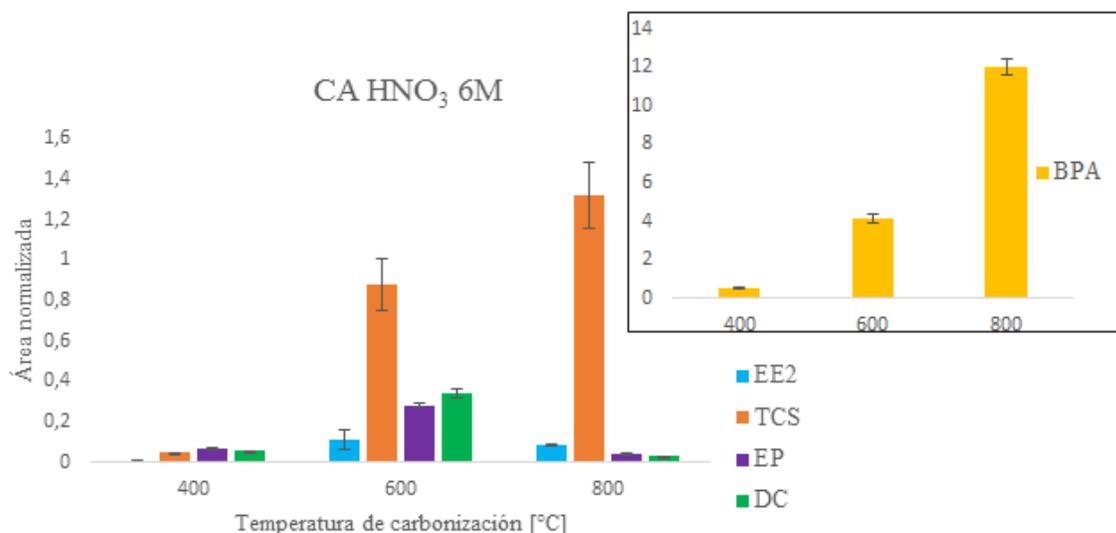


Figura 13. Efecto de la temperatura de carbonización del CA  $\text{HNO}_3$  6 M en la extracción de los CEs.

Por tanto, se obtuvo que la temperatura óptima para CA  $\text{HNO}_3$  2 M fue 800 °C, y para CA  $\text{HNO}_3$  4 y 6 M fue 600 °C. En la Figura 14 estas 3 fases sorbentes seleccionadas, ahora fueron comparadas entre sí, para así conseguir finalmente las condiciones óptimas (temperatura de carbonización y concentración de solución activante) para la fase CA  $\text{HNO}_3$ .

Al utilizar la fase sorbente carbón activado con  $\text{HNO}_3$  4 M a 600 °C, se obtienen las áreas más pequeñas para todos los CEs, las áreas más grandes se obtienen al utilizar los carbones

activados  $\text{HNO}_3$  2 M 800 °C (EE2 y BPA) y  $\text{HNO}_3$  6 M 600 °C (TCS, DC y EP). En cuanto a las desviaciones estándar obtenidas para los CEs, en las 3 concentraciones son similares, por tanto, en este caso no es un factor determinante para la condición óptima. Por tanto, considerando las observaciones mencionadas, las condiciones óptimas para la fase CA  $\text{HNO}_3$  son: solución activante de  $\text{HNO}_3$  de concentración 6 M y temperatura de carbonización de 600 °C, ya que favorece la extracción de 3 CEs, y adicionalmente minimiza el gasto energético y de  $\text{N}_2$  (g).

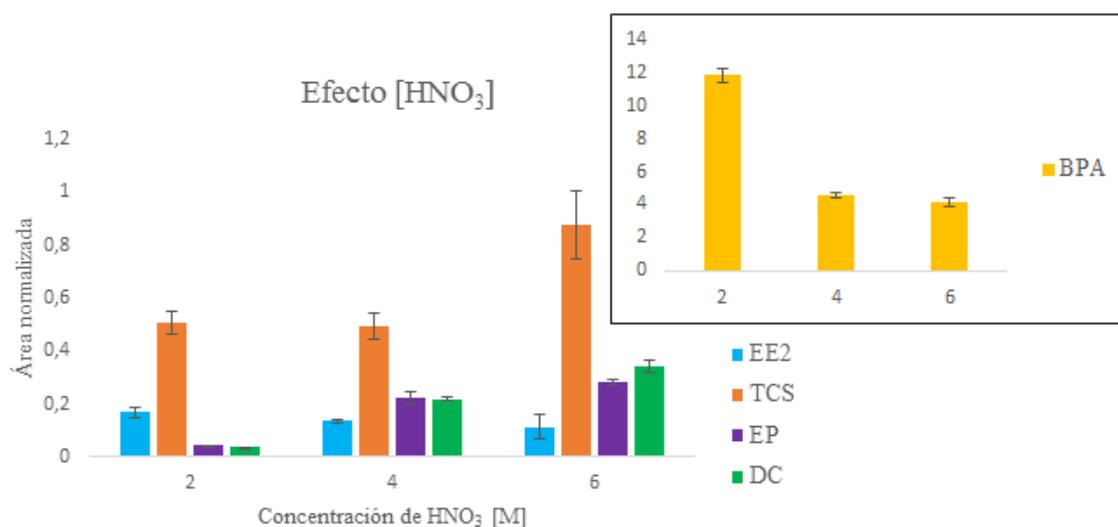


Figura 14. Efecto de la concentración de solución activante de  $\text{HNO}_3$  en la extracción de los CEs.

#### 4.1.2.5 Comparación global de las fases sorbentes preparadas en su condición óptima

Se evaluaron todas las fases sorbentes preparadas, con el fin de conocer las más prometedoras. De todos los carbones activados (CA  $\text{ZnCl}_2$ , CA  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y CA  $\text{HNO}_3$ ) se seleccionó solo uno.

Como se puede observar en la Figura 15, al utilizar carbón activado CA  $\text{ZnCl}_2$  como fase sorbente se obtienen áreas más grandes para los CEs DC, BPA y TCS, mientras que para EE2 y EP esto sucede al utilizar CA  $\text{K}_2\text{CO}_3$  y CA  $\text{HNO}_3$ , respectivamente.

El utilizar CA HNO<sub>3</sub> 6 M 600 °C como fase sorbente resulta en menores recuperaciones para los CEs, además de que como se mencionó anteriormente en el punto 4.1.1.4, el proceso de preparación de esta fase involucra reactivos corrosivos y tóxicos, un gasto energético adicional (se activa posterior a la carbonización), y un gasto mayor de agua para su posterior lavado, ya que la fase debe quedar a pH neutro.

Por otra parte, al utilizar CA K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> también se evidencian menores áreas que con CA ZnCl<sub>2</sub>, además de desviaciones estándar mayores.

Por lo tanto, la fase sorbente carbón activado seleccionada fue CA ZnCl<sub>2</sub> 75% 400 °C. Esta fase junto con el biochar 600 °C y la cáscara de maní natural, se sometieron a diversos experimentos para poder optimizar su proceso de extracción RDSE, y posteriormente validar las metodologías analíticas propuestas para cada una.

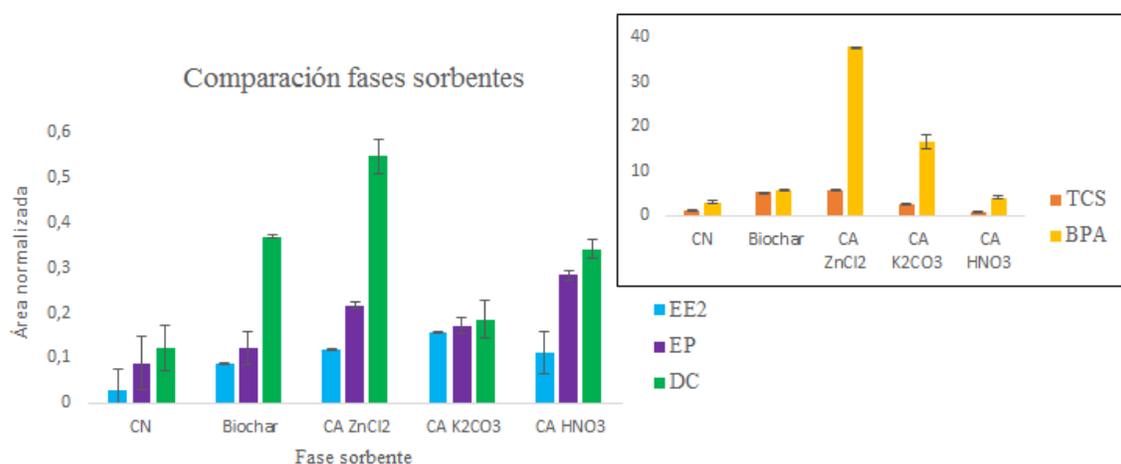


Figura 15. Comparación entre todas las fases sorbentes preparadas a partir de la cáscara de maní y su eficiencia de extracción de los CEs en estudio representada por el área.

## **4.2 Objetivo 2: Caracterización de fases sorbentes por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis termogravimétrico (TGA) y otros.**

### **4.2.1 Metodología**

#### *4.2.1.1 FTIR*

Se realizó un análisis cualitativo de las fases sorbentes mediante espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), este se llevó a cabo utilizando un espectrofotómetro Nicolet iS5 FTIR. Se utilizó un accesorio de muestreo inteligente de reflectancia total atenuada (ATR) iTX-iD7 con cristal de diamante y los espectros se evaluaron con el software OMNIC 8.0 (Thermo Fisher Scientific). Los espectros se midieron en el rango de número de onda de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Se utilizó una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  y 16 escaneos por muestra.

#### *4.2.1.2 SEM*

Para las imágenes SEM se utilizó un microscopio electrónico de barrido de alta resolución, modelo INSPECT-F50, FEI (Holanda).

#### *4.2.1.3 TGA*

Para el análisis termogravimétrico se utilizó un equipo NETZSCH TG 209 F1, y se calentó en el rango de temperatura 25-1000  $^{\circ}\text{C}$ , a una velocidad de 10  $^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ .

#### *4.2.1.4 Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP)*

Adicionalmente se realizó un experimento para conocer el punto de carga cero (PZC) y el punto isoeléctrico (IEP) de las fases sorbentes.

Para cada fase (CN, BC y CA) se prepararon 6 viales que contenían 20 mL de agua ultrapura, y se ajustó el pH de cada solución a 2-4-5-6-7-8-10 y 12 mediante soluciones de HCl y NaOH 1 M y 0,05 M, respectivamente. Una vez ajustado el pH de las soluciones se añadieron 200 mg de fase sorbente a cada vial y se agitaron a 2000 rpm durante 2 horas. Transcurrido el tiempo se procedió a medir el potencial zeta (función disponible en el pHmetro), luego se

continuó con la agitación durante 46 horas más. Transcurrido un total de 48 horas de agitación, se midió el pH final de las soluciones [30].

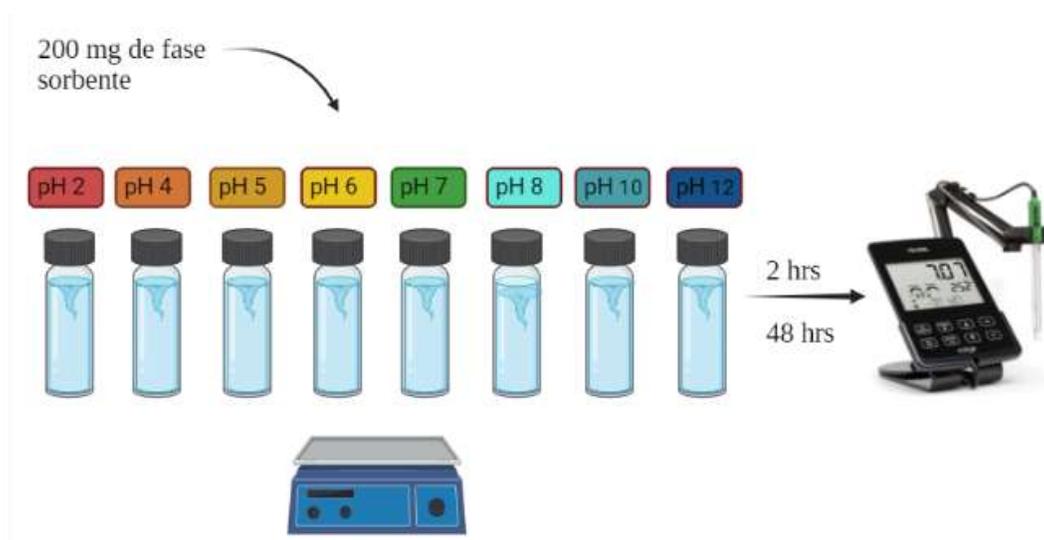


Figura 16. Esquema de la metodología utilizada para la medición de punto de carga cero (PZC) y punto isoelectrico (IEP) de las fases sorbentes.

#### 4.2.1.5 Rendimiento de los procesos de carbonización

El rendimiento de este proceso se define como el peso final del carbón producido, después del lavado y el secado, dividido por el peso inicial de la materia prima, ambos en base seca. La siguiente ecuación (2) se utilizó para calcular el rendimiento de carbones:

$$Re(\%) = \frac{(M_c)}{M_i} * 100 \quad (2)$$

donde  $M_i$  es la masa de la materia prima y  $M_c$  es la masa del carbón seco después del lavado.

## 4.2.2 Resultados y discusión

### 4.2.2.1 FTIR

#### 4.2.2.1.1 Cáscara de maní natural

Como podemos observar en la Figura 17, la banda ancha y fuerte a  $3332\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a la presencia típica de hidroxilo ( $-\text{OH}$ ), y la banda observada a  $2923\text{ cm}^{-1}$  puede asociarse a un estiramiento de  $-\text{CH}_2$ . El pico a  $1632\text{ cm}^{-1}$  se asignó a la vibración de estiramiento del grupo carboxilo asimétrico ( $-\text{COOH}$ ). El pequeño pico observado a  $1507\text{ cm}^{-1}$  corresponde al grupo éter. El pico a  $1421\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a las vibraciones de tensión de los enlaces  $\text{Csp}^2 = \text{Csp}^2$  de los anillos aromáticos. De esta manera, podemos establecer que la fase sorbente a partir de cáscara de maní natural, posee grupos funcionales hidroxilos, éter, ácidos carboxílicos y anillos aromáticos, los cuales favorecen la extracción de los contaminantes emergentes, debido a las diversas interacciones que se generan entre los grupos funcionales presentes en la fase sorbente y los grupos funcionales presentes en los analitos.

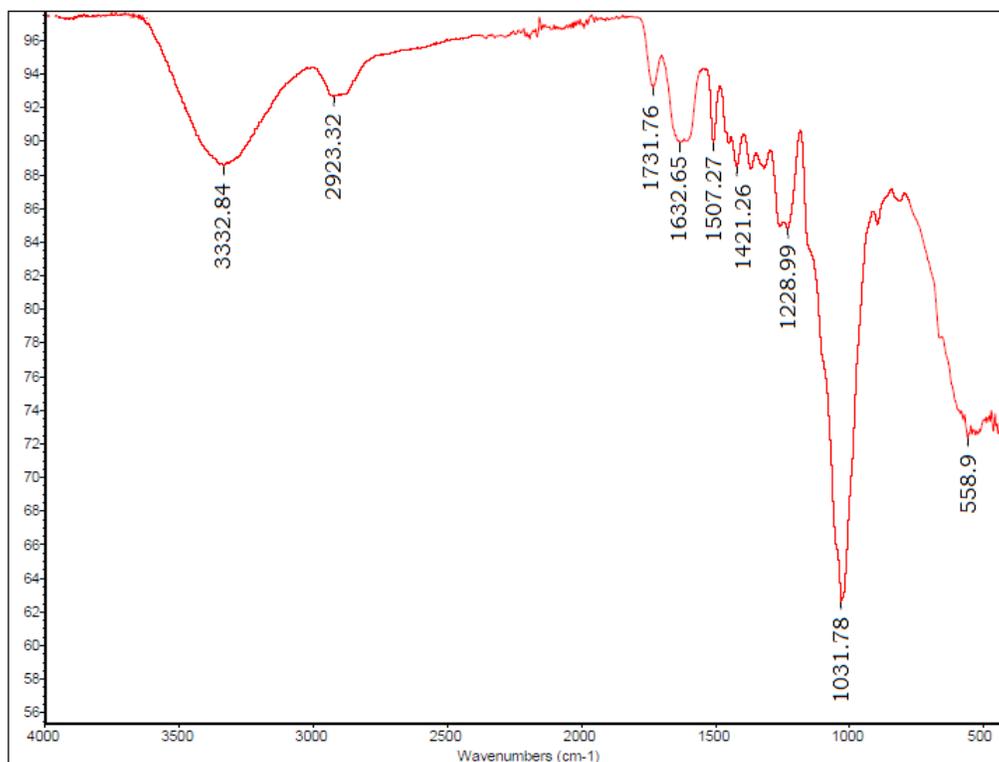


Figura 17. Espectro FTIR de la cáscara de maní natural.

Tabla 6

*Posibles interacciones entre CEs y fase sorbente cáscara de maní natural*

CE	Posibles interacciones
EE2	Interacciones $\pi$ - $\pi$ , puente hidrógeno
TCS	Interacciones $\pi$ - $\pi$ , puente hidrógeno, puente halógeno
EP	Interacciones $\pi$ - $\pi$ , puente hidrógeno
BPA	Interacciones $\pi$ - $\pi$ , puente hidrógeno
DC	Interacciones $\pi$ - $\pi$ , puente hidrógeno, puente halógeno

#### 4.2.2.1.2 Biochar

Como podemos observar en la Figura 18, el espectro FTIR del biochar presenta a simple vista menos grupos funcionales que la cáscara de maní natural, esto debido a que fue sometido a pirólisis a altas temperaturas (600 °C), por lo cual los principales biopolímeros presentes en este material que le otorgaban esta variedad de grupos funcionales se descompusieron en su mayoría. Sin embargo, aún podemos observar algunos picos que corresponden principalmente a señales aromáticas. La banda a 3359 cm<sup>-1</sup> se atribuyó al estiramiento O-H de las moléculas de agua [31]. Los picos a 1700 ~ 1600 cm<sup>-1</sup> son característicos de enlaces aromáticos C=O y C=C [32], y el pico a 1188 cm<sup>-1</sup> se atribuyó al estiramiento del enlace C-O-C.

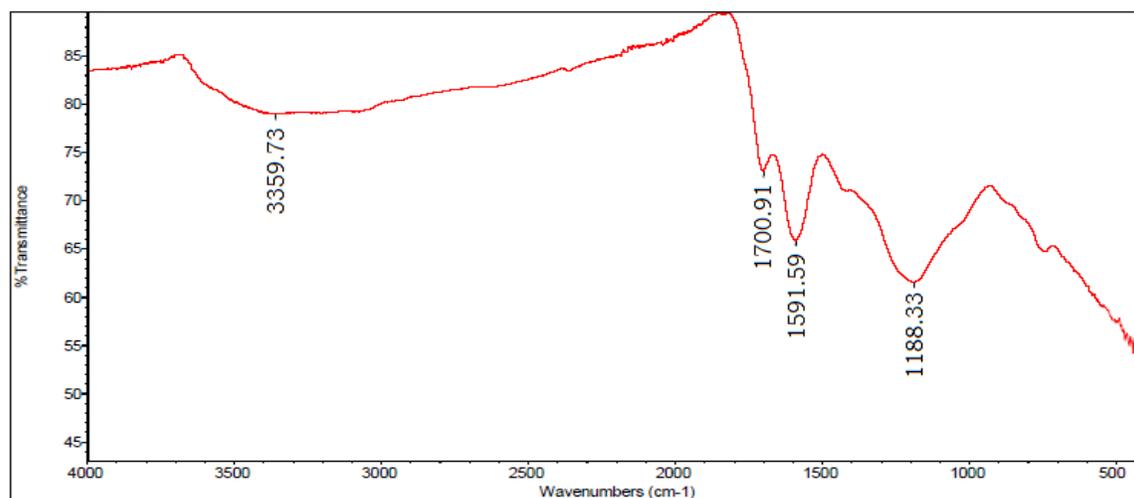


Figura 18. Espectro FTIR del biochar a 600 °C de cáscara de maní.

#### 4.2.2.1.3 Carbón activado $ZnCl_2$

Como podemos observar en la Figura 19, el espectro FTIR del carbón activado con  $ZnCl_2$  a  $400\text{ }^\circ\text{C}$  es similar al del biochar, sin embargo carece del pico en  $1700\text{ cm}^{-1}$  que anteriormente asignamos a enlaces  $C=O$  de anillos aromáticos, esto podemos asociarlo a que la temperatura de pirólisis del biochar fue  $600\text{ }^\circ\text{C}$  mientras que la del CA  $ZnCl_2$  solo fue  $400\text{ }^\circ\text{C}$ , y según varios autores [27][28], al aumentar la temperatura de pirólisis aumenta también el grado de aromaticidad del material. La banda presente en  $2353\text{ cm}^{-1}$  se relacionó con agua, la banda en  $1598\text{ cm}^{-1}$  es característica de enlaces aromáticos  $C=C$ , y la banda en  $1109\text{ cm}^{-1}$  se atribuyó al estiramiento del enlace  $C-O-C$ .

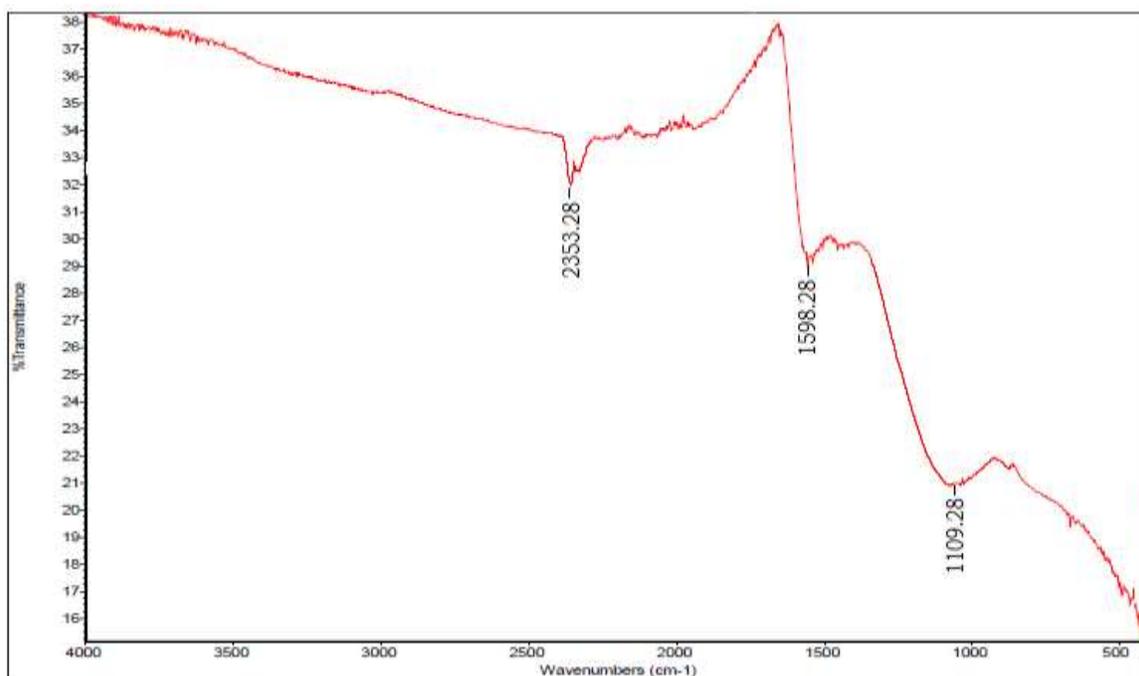


Figura 19. Espectro FTIR del carbón activado de cáscara de maní con  $ZnCl_2$  a  $400\text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 4.2.2.2 SEM

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido para observar la estructura y la morfología de la superficie de las fases sorbentes.

##### 4.2.2.2.1 Cáscara de maní natural

Como podemos observar en la Figura 20, la cáscara de maní natural muestra una superficie homogénea, se puede apreciar una morfología con fibras rígidas, compactas, que se encuentran entrelazadas entre sí. Se pueden vislumbrar algunos poros de tamaño entre 400-600 nm.

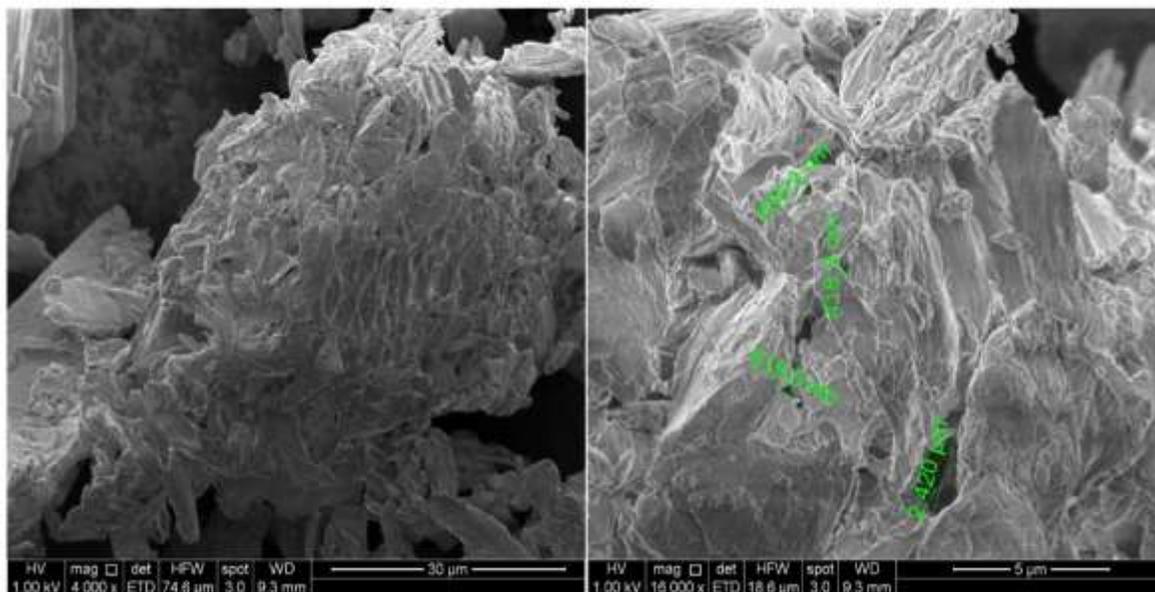


Figura 20. Imágenes SEM de la cáscara de maní natural.

#### 4.2.2.2.2 Biochar

En la Figura 21, se muestran las imágenes SEM de la fase sorbente biochar de cáscara de maní a 600 °C, a diferencia de la cáscara natural, se hace evidente la morfología porosa, la superficie se muestra muy homogénea y presenta poros de tamaño entre 2-4 μm.

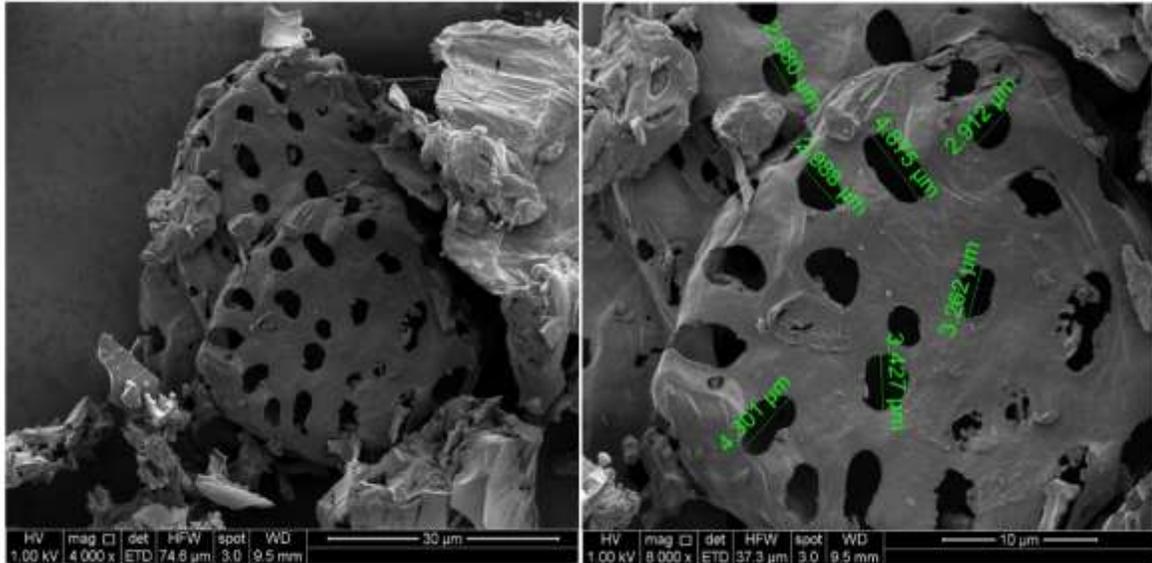


Figura 21. Imágenes SEM del biochar a 600 °C de cáscara de maní.

#### 4.2.2.2.3 Carbón activado $ZnCl_2$

El carbón activado con  $ZnCl_2$  a 400 °C presenta una morfología muy porosa, similar a una esponja, la superficie es un poco menos homogénea que en la CN y BC, presenta más poros, pero más pequeños que BC, de tamaño entre 100-800 nm. La morfología más porosa podemos asociarla a que los iones positivos  $Zn^{+2}$  pueden reaccionar con los átomos de carbono a través de reacciones de reducción, eliminando partes de los átomos de carbono y dejando canales (poros) [18].

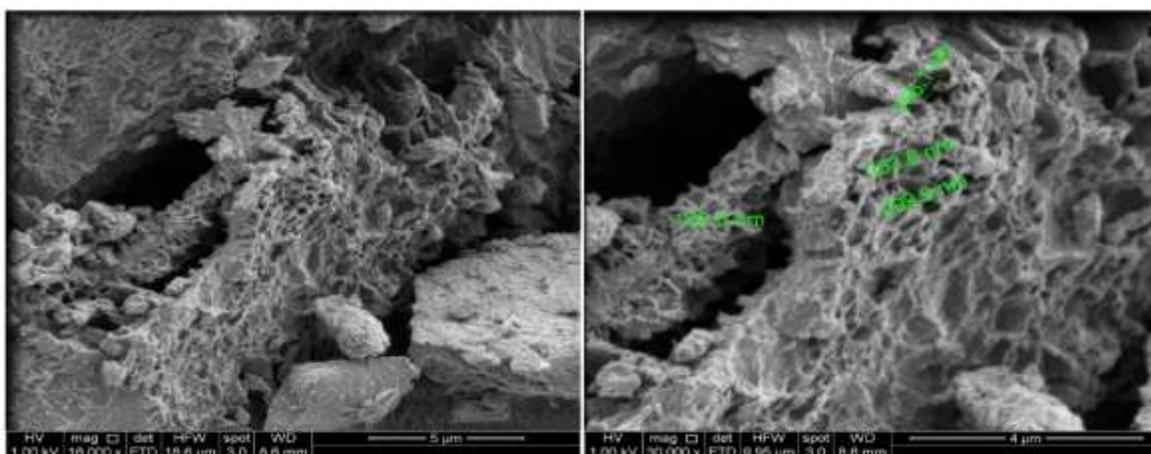


Figura 22. Imágenes SEM del carbón activado de cáscara de maní con  $ZnCl_2$  a 400 °C.

#### 4.2.2.3 Estabilidad térmica (TGA y DTG)

Se estudió la estabilidad térmica de la cáscara de maní mediante un análisis termogravimétrico (TGA). El rango de temperatura utilizado fue de 25 a 1000 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °Cmin<sup>-1</sup>. Las Figuras 23 y 24 muestran las curvas de análisis termogravimétrico (TGA) y termogravimétrico derivado (DTG) de la CN.

La pérdida de masa de la cáscara de maní que se produjo a 100 °C se debió principalmente a la volatilización del agua presente en el material. Según otros investigadores, la pirólisis de la hemicelulosa se produce entre 220–300 °C, la de la celulosa entre 300–340 °C, mientras que la lignina se descompone a temperaturas superiores a 340 °C [33][34]. Al ser la cáscara

de maní una matriz natural no se logra ver claramente la descomposición de cada biopolímero, sin embargo, desde la curva se logran diferenciar diferentes pendientes, que podemos asociarlas a la descomposición de los 3 biopolímeros. Como se señala en la Figura 23, la pirólisis se separa en 3 etapas (A, B y C), que corresponderían a la descomposición térmica de los 3 biopolímeros que componen principalmente la cáscara de maní, hemicelulosa (200-300 °C), celulosa (300-340 °C) y lignina (340-1000 °C). Adicionalmente se realizó la primera derivada de la pérdida de masa con respecto al tiempo (DTG), esto con el objeto de obtener más información a partir de los puntos de inflexión para una mejor interpretación, sin embargo tampoco se logran diferenciar los diferentes compuestos (se observa solo un pico).

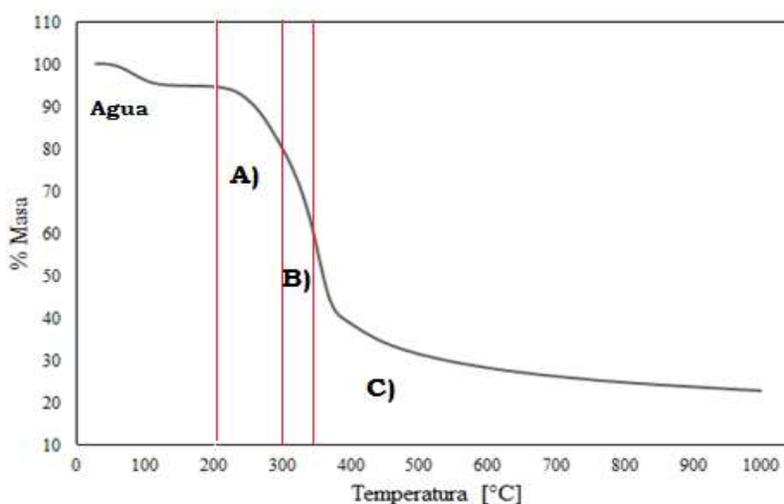


Figura 23. Análisis termogravimétrico de la cáscara de maní natural (TGA).

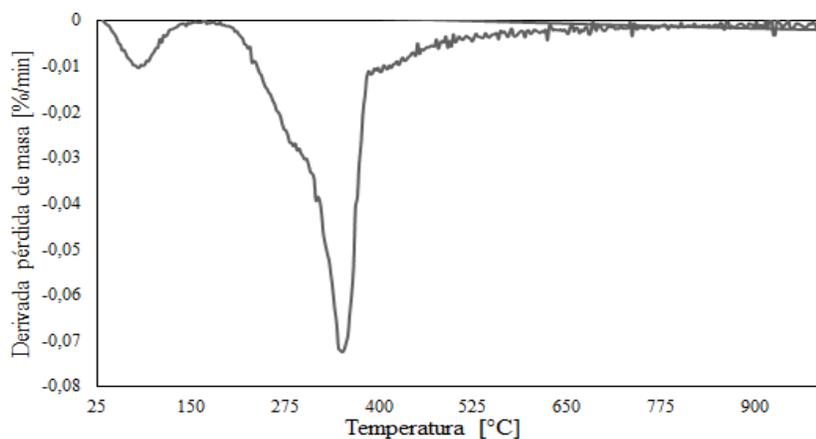


Figura 24. Análisis termogravimétrico derivado de la cáscara de maní natural (DTG).

#### 4.2.2.4 Punto de carga cero (PZC) y punto isoeléctrico (IEP)

El punto de carga cero, PZC, se define como el valor del pH en el cual la carga neta total (externa e interna) de las partículas sobre la superficie del material adsorbente es neutra, es decir, el número de sitios positivos y negativos es igual, mientras que el punto isoeléctrico, IEP, se define como el valor de pH en el cual la carga superficial externa del material es neutra [30].

En los gráficos el PZC corresponde al punto donde la curva de pH final en función del pH inicial corta la diagonal. Por otra parte, el punto isoeléctrico (IEP) corresponde al valor del pH en el cual el potencial zeta es cero. Los valores obtenidos para las distintas fases se resumen a continuación en la Tabla 7.

Tabla 7

*Punto de carga cero y punto isoeléctrico de las fases sorbentes preparadas*

Fase sorbente	PZC	IEP
Cáscara natural (CN)	5,0	9,4
Biochar (BC)	2,8	10,5
Carbón activado ZnCl <sub>2</sub> (CA)	2,5	11,0

Como podemos observar en la Tabla 7 y en las Figuras 26 y 27, los valores y curvas para BC y CA son muy similares, esto debido a que ambos materiales fueron pirolizados a altas temperaturas, por lo cual su composición es prácticamente la misma, solo carbono. La diferencia entre el pH en el cual la carga neta en la superficie del carbón es cero (PZC) de CN y los carbones, podemos asociarla a que al carbonizar el material a temperaturas superiores a 400 °C se descompone por completo la celulosa y la hemicelulosa, quedando solo presenta la lignina, biopolímero que contiene la mayor cantidad de grupos ácidos. CA es ligeramente más ácido que BC, lo cual puede deberse a que las soluciones concentradas de ZnCl<sub>2</sub> son ácidas.

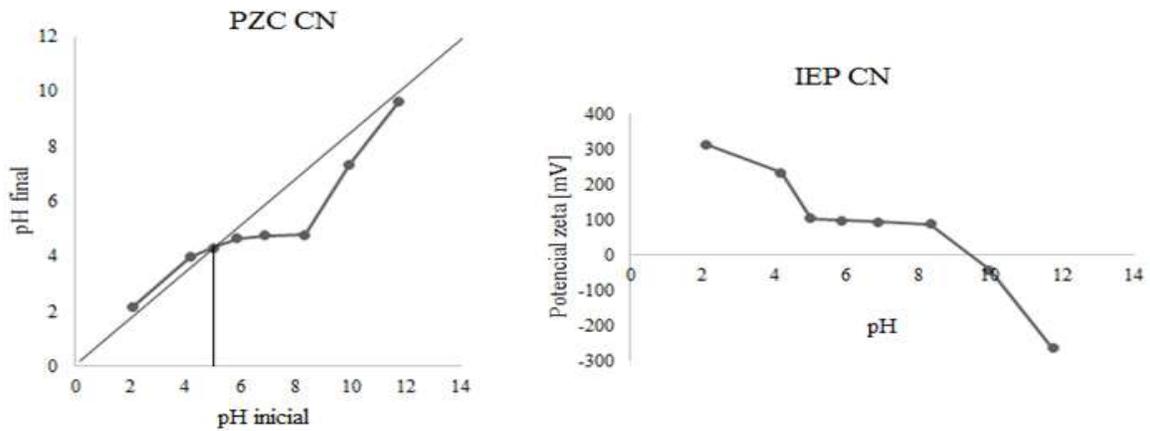


Figura 25. Punto de carga cero (PZC) y punto isoelectrico (IEP) de la cáscara de maní natural.

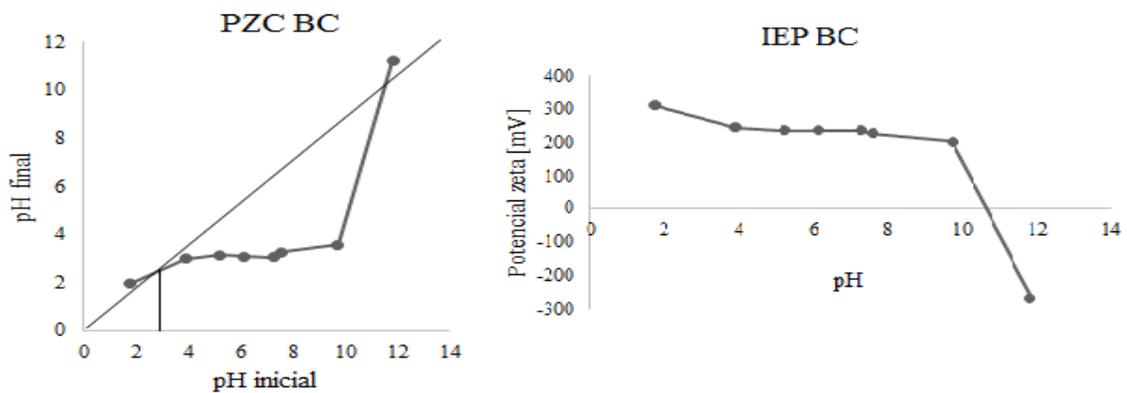


Figura 26. Punto de carga cero (PZC) y punto isoelectrico (IEP) del biochar a 600 °C de cáscara de maní.

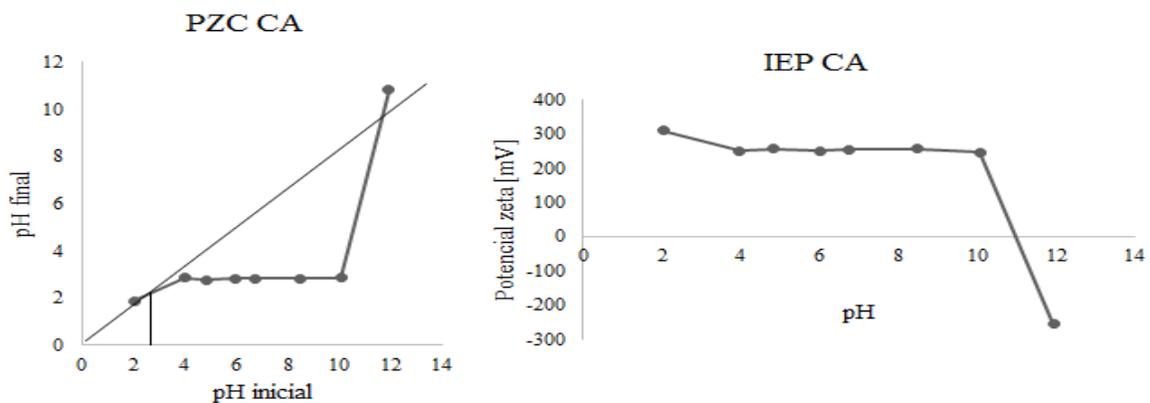


Figura 27. Punto de carga cero (PZC) y punto isoelectrico (IEP) del carbón activado de cáscara de maní con  $ZnCl_2$  a 400 °C.

#### 4.2.2.5 Rendimiento de los procesos de carbonización

En la siguiente tabla se presentan los rendimientos en cuanto a preparación de BC y CA. Para los cálculos de CA  $ZnCl_2$  se consideró como  $M_i$  la suma entre la masa de la cáscara de maní y la masa de sal adicionada para la activación (ambas en base seca).

Tabla 8

##### *Rendimiento de los procesos de carbonización*

Fase sorbente	Masa inicial [g]	Masa final [g]	%Re
Biochar	4,012	1,604	39,98
CA $ZnCl_2$	12,749	2,992	23,47

Se observa una disminución del rendimiento al activar químicamente, esto podemos asociarlo a que la sal promueve la gasificación del carbón y además aumenta la masa total ( $M_i$ ).

### **4.3 Objetivo 3: Optimizar el proceso de extracción de 5 contaminantes emergentes: triclosán, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, diclofenaco, etilparabeno y bisfenol A, a través de microextracción por sorción de disco rotatorio y cuantificación mediante GC-MS.**

#### **4.3.1 Metodología**

##### 4.3.1.2 Optimización del proceso de extracción

- ❖ La metodología detallada para la optimización de las diferentes variables fue la misma para las 3 fases sorbentes en estudio.

##### 4.3.1.2.1 Fase sorbente

Se realizó el procedimiento de extracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) para la optimización de la cantidad de fase sorbente a utilizar. En la Tabla 9 se muestran las cantidades de fase estudiada para los diferentes sorbentes, así como también la concentración a la cual se doparon las muestras acuosas.

Primero se prepararon los discos, para esto se cargaron los discos con las fases sorbentes previamente preparadas, la cavidad se cubrió con un filtro de fibra de vidrio (1,4 cm de diámetro y 1,5  $\mu\text{m}$  tamaño de poro medio) y se selló con un anillo de teflón. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Tabla 9

*Optimización cantidad de fase sorbente para CN, BC y CA*

Fase sorbente	Cantidad de fase estudiada [mg]	Concentración de CEs añadida a la muestra acuosa [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]
CN	40-50-60	30
BC	10-20-30-40	TCS 20, BPA 5, EE2 30, EP 100, DC 150
CA	10-40-70-100	TCS 20, BPA 5, EE2 30, EP 100, DC 150

Luego la fase se acondicionó mediante la rotación del disco secuencialmente en viales, primero con metanol, luego con acetato de etilo y finalmente con agua milli-Q, cada uno a 2000 rpm durante 5 min. Una vez ya acondicionada la fase, se traspasaron los discos a los viales que contenían las muestras y se hicieron rotar a 2000 rpm durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la extracción, los discos se colocaron en otros viales, que contenían acetato de etilo como disolvente para eluir, se rotaron a 2000 rpm durante 30 min. La metodología para su posterior análisis cromatográfico se expuso anteriormente.

NOTA: El disolvente utilizado en el acondicionamiento de todos los discos se reutilizó.

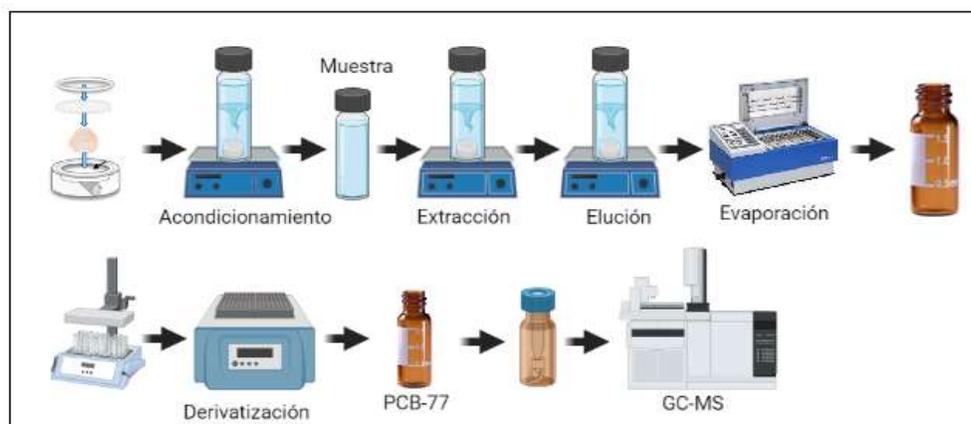


Figura 28. Esquema del procedimiento RDSE y posterior análisis por GC-MS.

#### 4.3.1.2.2 pH muestra acuosa

La metodología para el experimento de optimización del pH de la muestra acuosa fue la misma para las 3 fases sorbentes. Se doparon 12 muestras de agua con las concentraciones expuestas en la Tabla 9 y se ajustó su pH. El procedimiento de extracción RDSE y el de análisis utilizado fue el mismo que en 4.3.1.2.1



Los pH de estudio fueron 2,0-4,0-6,0 y 9,0 (cada uno por triplicado). Las muestras acuosas fueron modificadas con soluciones de hidróxido de sodio 0,05 M y ácido clorhídrico 1 M para valores de pH alcalinos y ácidos respectivamente, mientras que para la muestra a pH 4 se utilizó una solución buffer 0,1 M  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$  de pH experimental 3,95, y para pH 6 una solución buffer 1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$  de pH experimental 6,45.

#### 4.3.1.2.3 Disolvente de elución

La metodología para el experimento de optimización del disolvente de elución fue la misma para las 3 fases sorbentes. Luego de realizar el proceso de extracción RDSE detallado en 4.3.1.2.1 en donde se utilizaron la cantidad de fase y pH de solución acuosa ya optimizada para cada fase sorbente, los discos rotatorios se introdujeron en viales que contenían 10 mL de disolvente orgánico, durante 30 min con rotación constante a 2000 rpm. En la Tabla 10 se muestran los disolventes estudiados para cada fase sorbente. Los experimentos fueron realizados por triplicado.

Tabla 10

*Disolventes de elución en estudio para CN, BC y CA*

Fase sorbente	Disolventes estudiados
CN	MeOH-AcOEt-MeOH/AcOEt (1:1)
BC	MeOH-AcOEt/MeOH (3:1)- $\text{CHCl}_3$ -ACN
CA	MeOH-AcOEt/MeOH (3:1)- $\text{CHCl}_3$ -ACN

#### 4.3.1.2.4 Variables hidrodinámicas

Mediante un diseño experimental se optimizaron tres factores correspondientes a las variables hidrodinámicas del proceso de extracción: A) volumen de la muestra acuosa, B) velocidad de agitación y C) tiempo de extracción.

La metodología de superficie de respuesta (RSM) basada en un diseño Doehlert para la optimización de las variables hidrodinámicas se llevó a cabo en función de los factores más significativos. El diseño de Doehlert permite la descripción de una región alrededor de una respuesta óptima que contiene  $k^2 + k + 1$  puntos para  $k$  variables. Una de las propiedades de este diseño es la distribución uniforme de los experimentos en un espacio tridimensional, lo que permite asignar a cada factor un determinado número de niveles de acuerdo con la significación encontrada en la etapa de cribado. Por ejemplo, considerando que tiempo de extracción fue la variable más significativa para la mayoría de los compuestos, se asignaron 7 niveles de estudio (X2). Siguiendo este esquema, se asignaron 5 niveles a la velocidad de rotación (X1) y solo tres niveles al volumen de la muestra acuosa (X3). Para estas tres variables, se realizó un conjunto de 15 experimentos (incluidos 3 centros). Las áreas normalizadas de los analitos de interés (CEs) se utilizaron como variables de respuesta. Los valores codificados ( $X_i$ ) y experimentales (reales) de estos tres factores se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11

*Valores codificados y experimentales para diseño Doehlert*

Experimento	X1	X2	X3	A) Vel. [rpm]	A') Vel. [rpm]	B) Tiempo [min]	C) Volumen [mL]
1	0,000	0,000	0,000	1500	1100	70	15
2	1,000	0,000	0,000	2000	2000	70	15
3	0,500	0,866	0,000	1750	1550	140	15
4	-0,500	0,866	0,000	1250	650	140	15
5	-1,000	0,000	0,000	1000	200	70	15
6	-0,500	-0,866	0,000	1250	650	0	15
7	0,500	-0,866	0,000	1750	1550	0	15
8	-0,500	-0,289	-0,816	1250	650	46	10
9	0,000	0,577	-0,816	1500	1100	116	10
10	0,500	-0,289	-0,816	1750	1550	46	10
11	-0,500	0,289	0,816	1250	650	93	20
12	0,000	-0,577	0,816	1500	1100	23	20
13	0,500	0,289	0,816	1750	1550	93	20
14	0,000	0,000	0,000	1500	1100	70	15
15	0,000	0,000	0,000	1500	1100	70	15

**Nota.** A) Velocidades utilizadas para CN, A') Velocidades utilizadas para BC y CA. El tiempo 0 se fijó en 10 s.

### 4.3.2 Resultados y discusión

- ❖ A continuación, los resultados de las optimizaciones de todas las variables se presentarán agrupados para cada fase sorbente.

#### 4.3.2.1 Cáscara de maní natural

##### 4.3.2.1.1 Optimización cantidad de fase sorbente CN

En la Figura 29 se resumen los resultados obtenidos, como podemos notar para todos los CEs la extracción se vio favorecida al utilizar 60 mg de fase sorbente, esto se ve reflejado en las áreas normalizadas obtenidas de los cromatogramas. Este resultado era de esperarse, ya que, a mayor cantidad de fase, habrá más sitios activos disponibles para interactuar con los CEs y generar la sorción. La disminución de la sorción con 70 mg podemos asociarla a que el disco queda muy colmado de fase, causando que la fase se compacte demasiado para lograr que el disco cierre, lo cual dificulta la transferencia de masa.

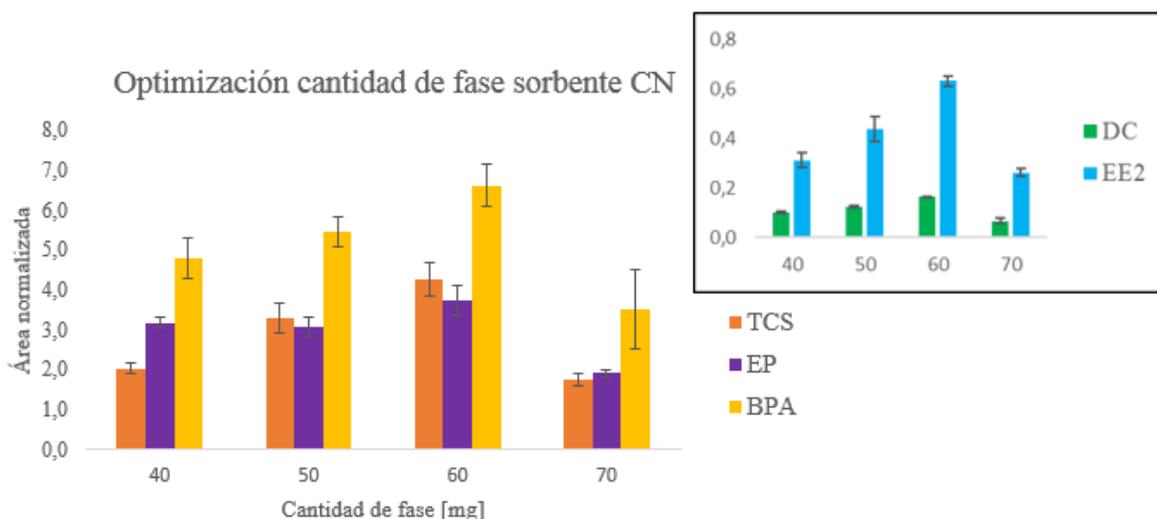


Figura 29. Efecto de la cantidad de fase sorbente cáscara de maní natural en la extracción de los CEs.

#### 4.3.2.1.2 Optimización del pH de la muestra acuosa CN

La optimización del pH en la extracción de CE's es fundamental, ya que estos compuestos adquieren distintas estructuras químicas a valores de pH por sobre o bajo sus  $pK_a$  (Tabla 1), por tanto, dependiendo del pH los analitos pueden experimentar distintas interacciones con la fase sorbente, es por esto que, es vital identificar a que pH existe una mayor recuperación de todos los analitos en estudio. En la Figura 30 se puede observar el efecto del pH en la extracción de los CE's. La muestra acuosa a pH 2 logró obtener las áreas más grandes para casi todos los analitos, excepto para EE2 que la extracción fue mayor a pH 4. Esto era de esperarse, ya que, a pH 2 todos los analitos están protonados lo que facilita la transferencia de masa y refuerza los enlaces de hidrógeno y la interacción  $\pi$ - $\pi$  entre los analitos y la fase sorbente.

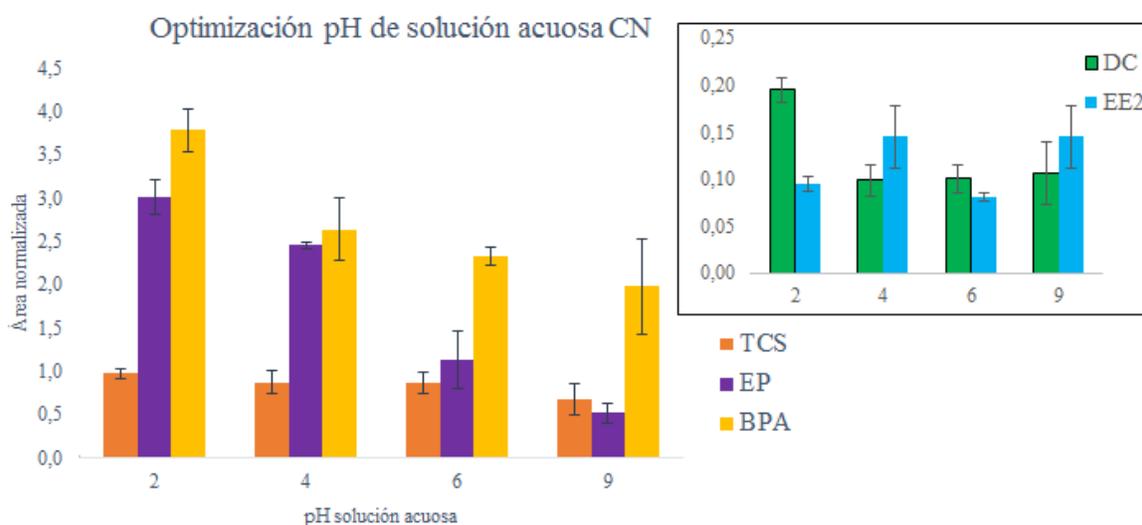


Figura 30. Efecto del pH de la muestra acuosa en la extracción de los CE's utilizando cáscara de maní natural como sorbente.

#### 4.3.2.1.3 Optimización del disolvente de elución CN

Los analitos ya adsorbidos en la fase sorbente se deben eluir para su posterior determinación, para esto es necesario encontrar un disolvente adecuado que permita la desorción de los analitos, este debe cumplir ciertas características, como que sea capaz de solubilizar los analitos en pequeños volúmenes, que la desorción sea rápida y cuantitativa. Adicionalmente, como estamos trabajando con fase sorbentes naturales, que poseen pigmentos propios del material, estos pigmentos deben ser insolubles en el disolvente de elución para así no afectar la posterior determinación de los analitos en el GC-MS.

Los resultados obtenidos se resumen en la Figura 31, como podemos observar en la Tabla 1 sobre propiedades fisicoquímicas de los analitos, todos ellos son mayormente apolares, por lo cual se esperaría que eluyeran de forma más completa utilizando un disolvente con características similares, en este caso el AcOEt, ya que es el disolvente menos polar con un  $\log K_{ow}$  de 0,73. Sin embargo, los resultados no son concluyentes, ya que, como se muestra en el gráfico, para BPA se obtuvieron mayores recuperaciones utilizando AcOEt como disolvente, para TCS y EP las mayores recuperaciones se lograron utilizando una mezcla 1:1 de MeOH/AcOEt, mientras que para EE2 y DC el MeOH fue la mejor opción. Sin embargo, al utilizar MeOH como disolvente de elución se evidenció una leve coloración amarillenta en los eluatos, lo que indicaría que algunos pigmentos presentes en la fase sorbente se solubilizan en MeOH, por tanto, este quedó descartado, ya que podría interferir en el análisis cromatográfico posterior, quedando así seleccionando el AcOEt como disolvente de elución óptimo.

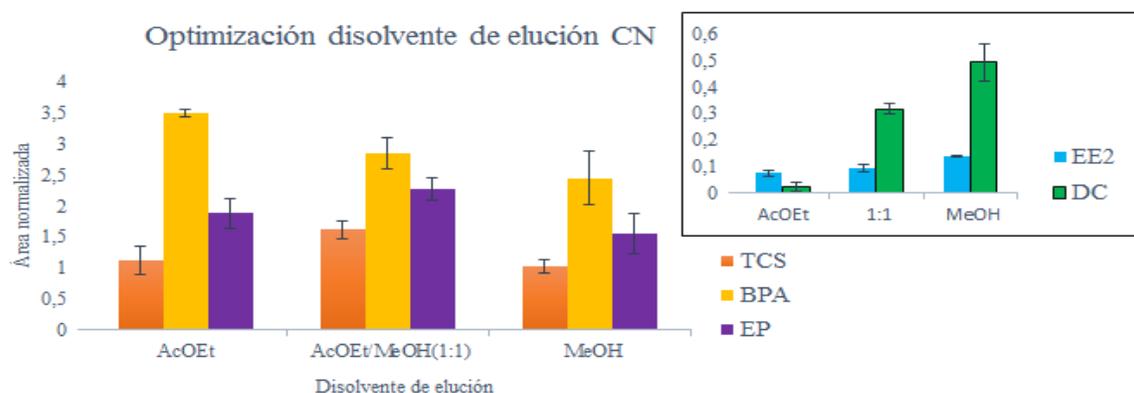


Figura 31. Efecto del disolvente de elución en la extracción de los CEs utilizando cáscara de maní natural como sorbente.

#### 4.3.2.1.4 Optimización de las variables hidrodinámicas CN

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA). La Tabla 12 muestra el poder de predicción del modelo, esto basado en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), coeficiente de determinación ajustado, P-value (regresión/error residual) y Lack of fit (p-value, carencia de ajuste/error puro).

Tabla 12

ANOVA CN

Analito	$R^2$	$R^2$ ajustado	F	P-value	Lack of fit
EE2	84,2398	55,8714	2,9695	0,1217	0,7232
EE2 (-BB y BC)	83,0610	66,1221	4,9035	0,0262	0,8527
TCS	97,0411	91,7152	18,2205	0,0026	0,2873
EP	54,1515	0	0,6562	0,7257	0,0304
BPA	91,8958	77,3083	6,2996	0,0283	0,2637
DC	92,1793	78,102	6,5475	0,0261	0,8195

La comparación entre SCM (suma de cuadrados medios) de la regresión (modelo) y la SCM de los residuos mediante el Test de Fisher nos entregó un P-value inferior a 0,05 (lo deseado) para TCS, DC y BPA, lo que nos indica que existe una diferencia significativa entre la regresión y el residuo, mientras que para EE2 y EP los P-value fueron mayores a 0,05.

Debido a esto último es que se probó excluyendo algunas interacciones para mejorar el ajuste del modelo para estos 2 analitos. Con la exclusión de las interacciones BB (tiempo<sup>2</sup>) y BC (tiempo-volumen) se obtuvo un P-value menor a 0,05 para EE2, sin embargo, no se logró un mejor ajuste al excluir interacciones para EP. Cuatro de los cinco CEs mostraron diferencias significativas entre la SCM del modelo con respecto al residuo lo que demuestra la viabilidad del modelo.

Por otro lado, la prueba de carencia de ajuste mide la idoneidad de los modelos cuadráticos comparando la variación por ajuste con la variación por error analítico [35], considerando que el valor deseado es mayor a 0,05, lo que nos indica que no se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la carencia de ajuste y el error puro, podemos destacar

que casi todos los compuestos presentaron valores superiores, con excepción del EP por tanto, mediante este criterio el modelo resulta adecuado para describir los datos.

Finalmente, el valor  $R^2$  ajustado a los grados de libertad, nos indica el ajuste del modelo con respecto a la ecuación polinomial [36], en este caso, la mayoría de los analitos (excepto EE2 y EP) presentaron buena adaptación al polinomio de ajuste (superior al 77%), mientras que para EE2 y EP el ajuste a la ecuación polinomial no fue el ideal. Sin embargo, se consideró aceptable, ya que estos contaminantes provienen de familias con propiedades muy diferentes.

En la Figura 32 podemos observar los diagramas de Pareto para las distintas respuestas (áreas de CEs). Si analizamos la variable tiempo de extracción, esta fue la más significativa, (significativa para TCS, BPA y DC), presentó un efecto positivo (+) para EE2, TCS, BPA y DC, por tanto, a mayor tiempo de extracción aumenta la respuesta (áreas de los analitos en estudio) mientras que para el EP su efecto es negativo (-). La variable volumen de la muestra acuosa fue significativa solo para el TCS, y tiene un efecto positivo (+) en todos los analitos, por tanto, a mayor volumen, mayor respuesta. Finalmente, la variable velocidad de rotación, fue la menos significativa, presentando para casi todos los analitos un efecto negativo (-), por tanto, a menor velocidad, mayor respuesta, esta poca significancia puede deberse a que se estudió un rango muy acotado [1000-2000 rpm], en estudios posteriores se evaluará un rango más amplio.

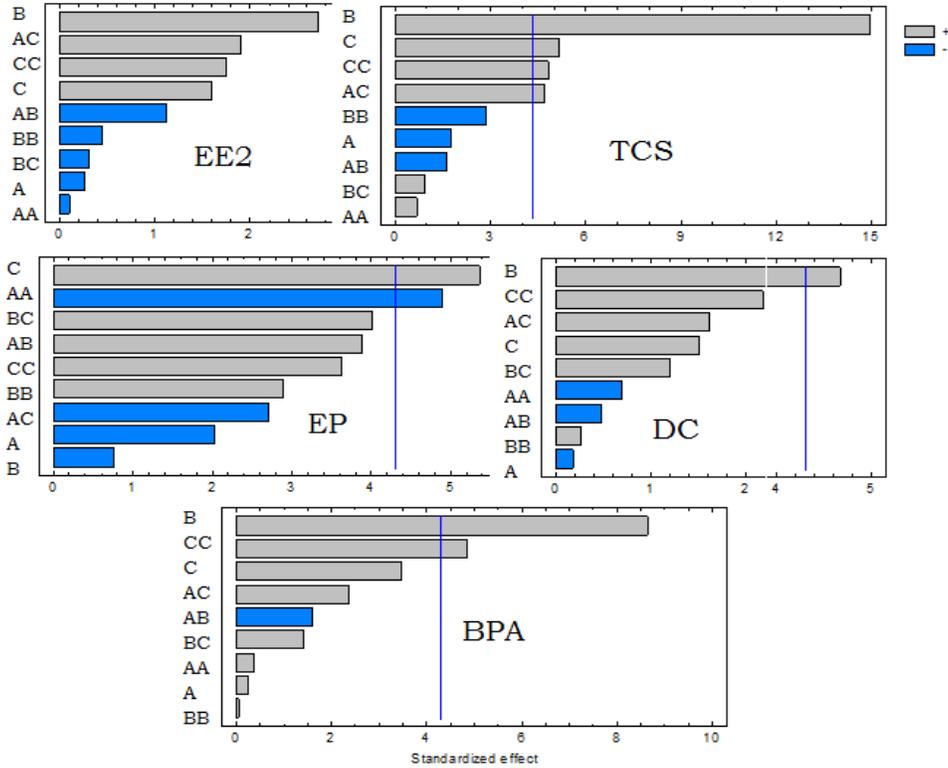


Figura 32. Gráfico de Pareto de los efectos principales y las interacciones cruzadas (CN).

A: Velocidad [rpm], B: Tiempo [min] y C: Volumen [mL].

Para encontrar los valores óptimos de los factores que resultarán en una mejor respuesta para todos los analitos, se utilizó la optimización de respuestas múltiples basada en la función de deseabilidad de Derringer. Las funciones de deseabilidad de los analitos se combinaron utilizando la media geométrica (dando igual importancia a cada uno de ellos), para obtener la deseabilidad global D. La Figura 33 muestra la superficie de respuesta global (velocidad de rotación frente al tiempo de extracción) en el punto de volumen más alto (se utilizó este valor porque es la condición óptima para este factor). Los valores óptimos extraídos de este análisis de superficie de respuesta global fueron una velocidad de rotación de 2000 rpm, un tiempo de extracción de 60 min y un volumen de muestra de 20 mL.

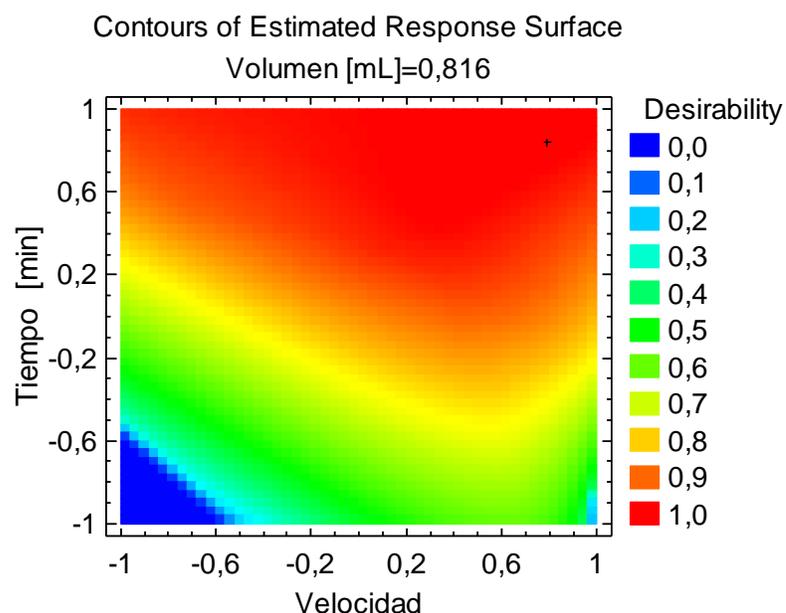


Figura 33. Superficie de respuesta de deseabilidad global para la optimización de variables hidrodinámicas de CEs (CN).

#### 4.3.2.2 Biochar

##### 4.3.2.2.1 Optimización cantidad de fase sorbente BC

En la Figura 34 se resumen los resultados obtenidos. Como podemos notar, a diferencia de CN, utilizando BC como fase sorbente la eficiencia de extracción de los CEs se maximiza utilizando la menor cantidad de fase, que en este caso son 10 mg. Esto puede asociarse a que como los carbones son tan buenos adsorbentes, la cantidad de fase no es una condicionante al momento de la extracción, por otra parte, al utilizar menor cantidad de fase, queda más espacio libre en la cavidad del disco rotatorio, lo que favorece la interacción de la fase sorbente con la muestra acuosa, y por tanto la transferencia de masa entre la solución y la fase. Además, una cantidad de fase tan pequeña es un buen indicativo de la superioridad de la metodología propuesta. Por lo tanto, se seleccionó 10 mg de biochar derivados de cáscaras de maní como la cantidad de sorbente óptima.

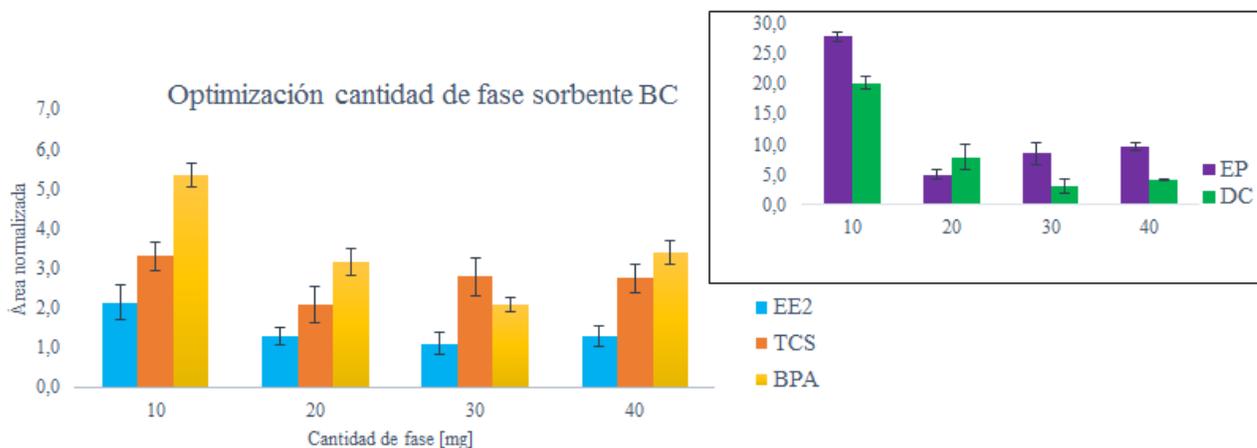


Figura 34. Efecto de la cantidad de fase sorbente biochar a 600 °C de cáscara de maní en la extracción de los CEs.

#### 4.3.2.2.2 Optimización del pH de la muestra acuosa BC

Como ya se mencionó anteriormente, la optimización del pH en la extracción de CEs es fundamental, ya que estos compuestos y los sitios de unión presentes en la superficie de la fase sorbente adquieren distintas estructuras químicas a valores de pH por sobre o bajo sus  $pK_a$  (Tabla 1). El efecto del pH de la muestra acuosa se exploró variando el valor de pH de 2 a 9, y los resultados se muestran en la Figura 35.

La más alta eficiencia de extracción se logró a pH 2 para TCS, EP y DC, mientras que para EE2 y BPA las áreas más grandes se lograron a pH 4. Coincidentemente estos últimos dos analitos son los que presentan mayor  $pK_a$  (10,3 y 9,6 respectivamente), y a pH 4 se encuentran mayormente protonados. Generalmente, cuando el pH es más alto que el  $pK_a$ , los analitos cargados negativamente (desprotonados) sufren interacciones de repulsión electrostática con la superficie cargada negativamente del biochar, lo que da como resultado una débil adsorción de los CEs y por tanto una menor eficiencia de extracción, tal como se evidencia en la Figura 37 a pH 9. A pH 2 (por debajo del valor de  $pK_a$  de todos los CEs), todos los analitos están protonados, lo que facilita la transferencia de masa y refuerza los enlaces de hidrógeno y la interacción  $\pi$ - $\pi$  entre los analitos y los adsorbentes, por tanto, este fue el pH óptimo seleccionado.

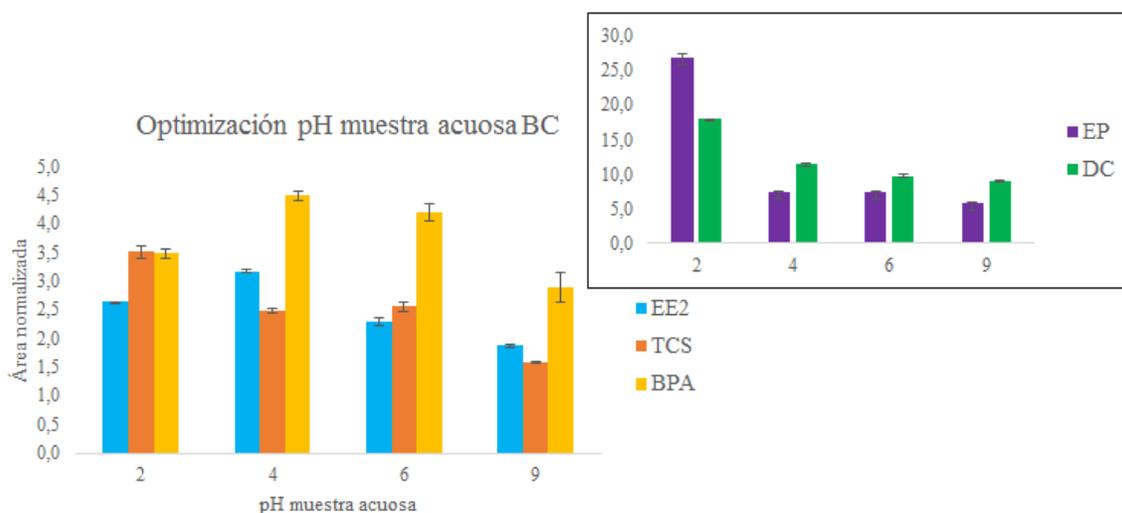


Figura 35. Efecto del pH de la muestra acuosa en la extracción de los CEs utilizando biochar a 600 °C de cáscara de maní como fase sorbente.

#### 4.3.2.2.3 Optimización del disolvente de elución BC

Los resultados obtenidos se resumen en la Figura 36, como podemos observar las mejores recuperaciones de CEs se lograron al utilizar  $\text{CHCl}_3$  como disolvente de elución, esto era de esperarse, ya que como vimos en la Tabla 1 sobre propiedades fisicoquímicas de los analitos, todos ellos son mayormente apolares, por lo cual se esperaría que eluyeran de forma más completa utilizando un disolvente con características similares, en este caso el  $\text{CHCl}_3$ , ya que es un disolvente medianamente apolar con  $\log K_{ow}$  de 1,97. Se podría pensar que al estar la fase mojada con  $\text{H}_2\text{O}$  antes de entrar al vial con  $\text{CHCl}_3$ , la elución se vería dificultada por la diferencia de polaridad entre ambos disolventes, sin embargo, la velocidad de rotación es tan grande (2000 rpm) que la fuerza centrípeta que se genera permite la salida del  $\text{H}_2\text{O}$  y el ingreso del  $\text{CHCl}_3$ . Teniendo en cuenta todo lo anterior, se determinó que el disolvente óptimo de elución utilizando biochar como fase sorbente es el cloroformo.

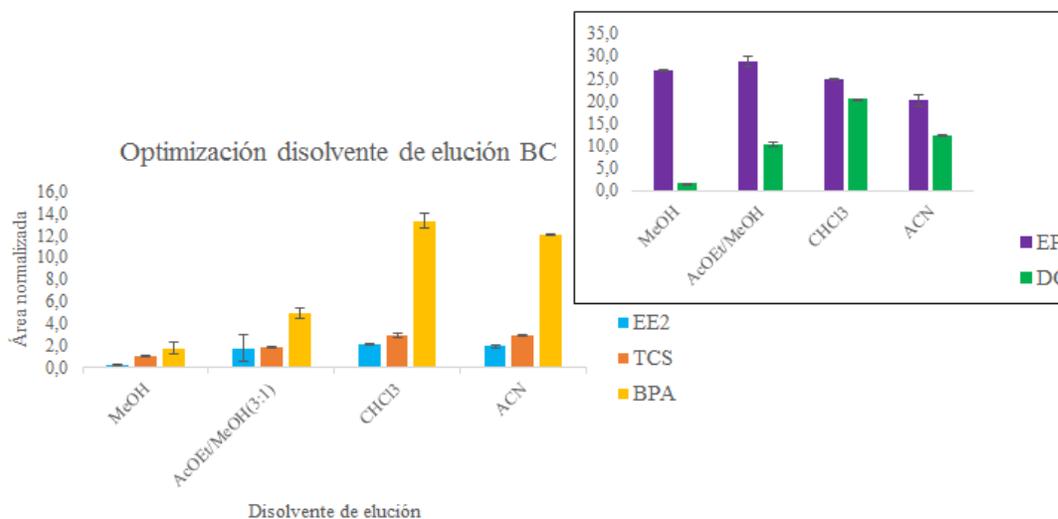


Figura 36. Efecto del disolvente de elución en la extracción de los CEs utilizando biochar a 600 °C de cáscara de maní como fase sorbente.

#### 4.3.2.2.4 Optimización de las variables hidrodinámicas BC

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA). La Tabla 13 muestra el poder de predicción del modelo, esto basado en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), coeficiente de determinación ajustado, P-value (regresión/error residual) y Lack of fit (p-value, carencia de ajuste/error puro).

Tabla 13

#### ANOVA BC

Analito	$R^2$	$R^2$ ajustado	F	P-value	Lack of fit
EE2	94,9294	85,8023	10,3929	0,0095	0,1338
TCS	96,6384	90,5875	15,9703	0,0035	0,1807
EP	98,5142	95,8397	36,8351	0,0005	0,2223
BPA	97,5212	93,0594	21,8568	0,0017	0,5623
DC	87,5533	65,1494	3,9079	0,0738	0,2760
DC (-C y BC)	80,3382	60,6763	4,0860	0,0416	0,2789

La comparación entre SCM (suma de cuadrados medios) de la regresión (modelo) y la SCM de los residuos mediante el Test de Fisher nos entregó un P-value inferior a 0,05 (lo deseado) para EE2, TCS, EP y BPA, lo que nos indica que existe una diferencia significativa entre la regresión y el residuo, mientras que para DC el P-value fue mayor a 0,05. Debido a esto último es que se probó excluyendo algunas interacciones para mejorar el ajuste del modelo. Con la exclusión solo de interacciones el valor de P-value no mejoró, por lo cual se tuvo que eliminar también la variable C (volumen), además de la interacción BC (tiempo-volumen), para obtener un P-value de 0,0416. Por tanto, todos los CEs mostraron diferencias significativas entre la SCM del modelo con respecto al residuo lo que demuestra la viabilidad del modelo.

Por otro lado, la prueba de carencia de ajuste mide la idoneidad de los modelos cuadráticos comparando la variación por ajuste con la variación por error analítico [35], considerando que el valor deseado es mayor a 0,05, lo que nos indica que no se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la carencia de ajuste y el error puro, podemos destacar que todos los compuestos presentaron valores superiores, por tanto, mediante este criterio el modelo resulta adecuado para describir los datos.

Finalmente, el valor  $R^2$  ajustado a los grados de libertad, nos indica el ajuste del modelo con respecto a la ecuación polinomial [36], en este caso, la mayoría de los analitos (excepto DC) presentaron buena adaptación al polinomio de ajuste (superior al 77%).

En la Figura 37 podemos observar los diagramas de Pareto para las distintas respuestas (áreas de CEs). Si analizamos la variable tiempo de extracción (B), esta fue significativa para todos los CEs, presentando un efecto (+) en ellos, esto quiere decir que, a mayor tiempo de extracción aumenta la respuesta (áreas de los CEs en estudio). La variable velocidad de rotación (A) fue significativa para la mayor parte de los CEs, con excepción del BPA, y tiene un efecto positivo (+) en todos los analitos, por tanto, a mayor velocidad de rotación, mayor respuesta. Finalmente, la variable volumen de la muestra acuosa (C), fue la menos significativa, presentando para todos los analitos un efecto negativo (-), por tanto, a menor volumen de muestra, mayor respuesta.

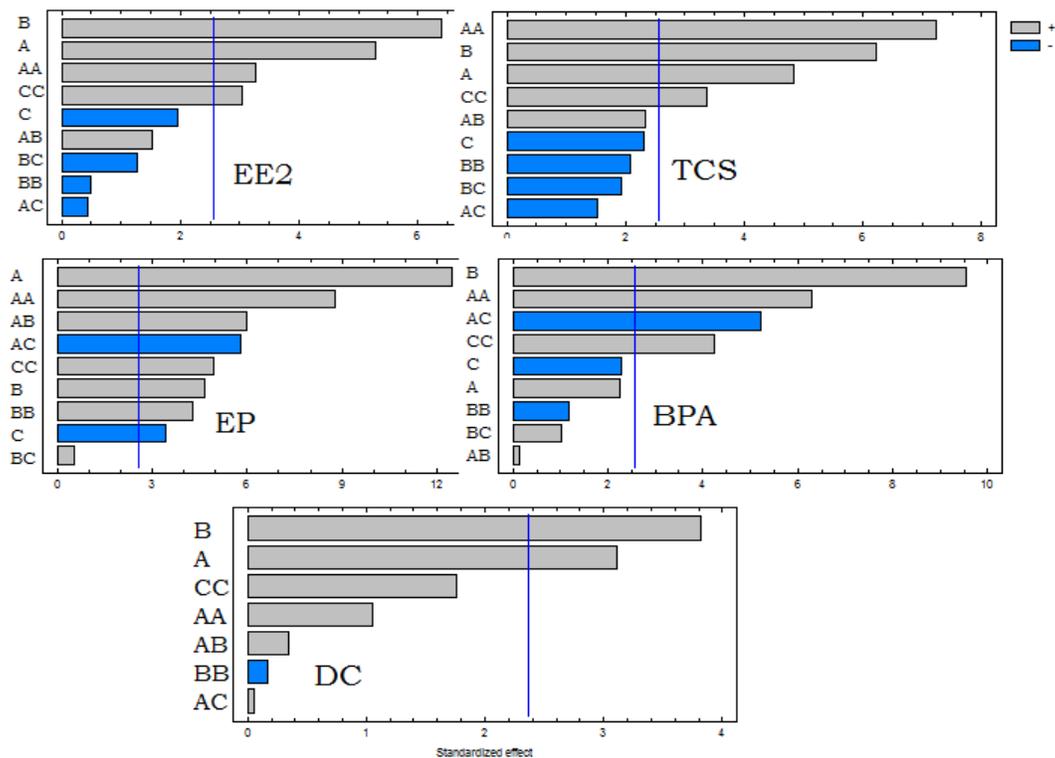


Figura 37. Gráfico de Pareto de los efectos principales y las interacciones cruzadas (BC).  
 A: Velocidad [rpm], B: Tiempo [min] y C: Volumen [mL].

Para encontrar los valores óptimos de los factores que resultarán en una mejor respuesta para todos los CEs, se utilizó la optimización de respuestas múltiples basada en la función de deseabilidad de Derringer. Las funciones de deseabilidad de los analitos se combinaron utilizando la media geométrica (dando igual importancia a cada uno de ellos), para obtener la deseabilidad global D. La Figura 38 muestra la superficie de respuesta global (velocidad de rotación frente al tiempo de extracción). El experimento que presentó la mayor deseabilidad fue el número 2, con una deseabilidad de 0,9223 (muy cercana a 1), por tanto, se tomaron esas condiciones como las óptimas, estas fueron una velocidad de rotación de 2000 rpm, un tiempo de extracción de 70 min y un volumen de muestra de 15 mL.

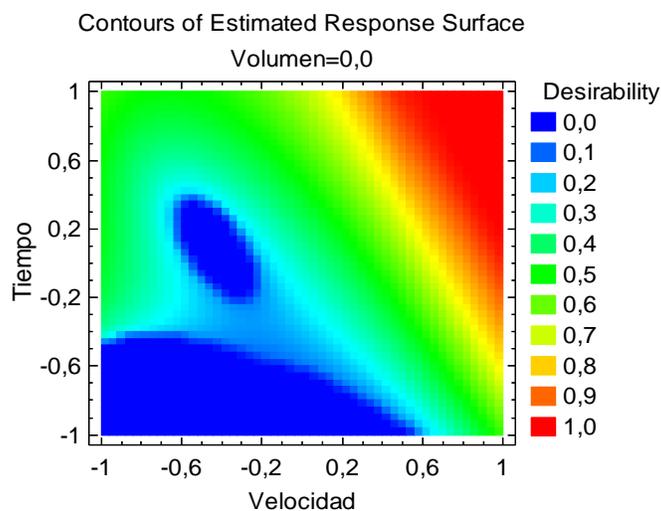


Figura 38. Superficie de respuesta de deseabilidad global para la optimización de variables hidrodinámicas de CEs (BC).

#### 4.3.2.3 Carbón activado $ZnCl_2$

##### 4.3.2.3.1 Optimización cantidad de fase sorbente CA

En la Figura 39 se resumen los resultados obtenidos, como podemos notar, al igual que utilizando BC como fase sorbente, la extracción de los CEs se maximiza utilizando la menor cantidad de fase (10 mg), lo cual asociamos a la mayor interacción de la fase sorbente con la muestra acuosa. Por lo tanto, se determinaron 10 mg de carbón activado con  $ZnCl_2$  derivado de cáscaras de maní como la cantidad de fase sorbente óptima.

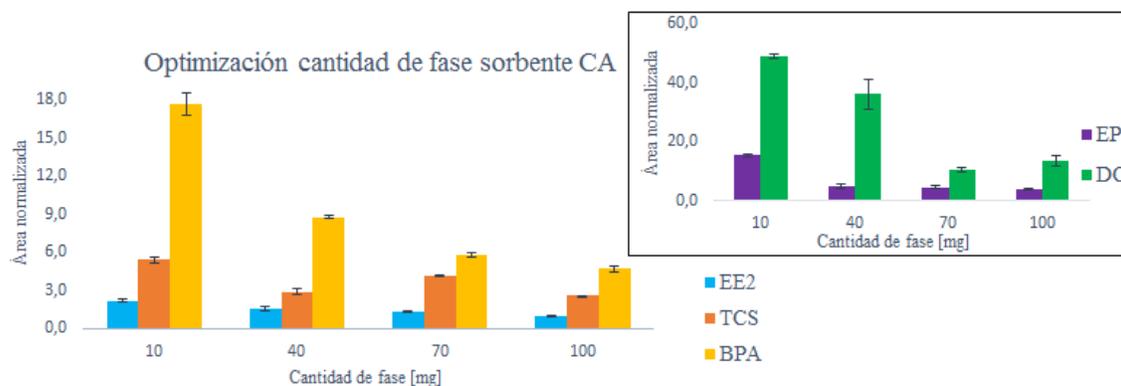


Figura 39. Efecto de la cantidad de fase sorbente carbón activado de cáscara de maní con  $ZnCl_2$  a 400 °C en la extracción de los CEs.

#### 4.3.2.3.2 Optimización del pH de la muestra acuosa CA

Los resultados de la optimización del pH de la muestra acuosa para RDSE utilizando fase sorbente carbón activado con  $ZnCl_2$  se muestran en la Figura 40. La eficiencia de extracción más alta se logró a pH 2 para todos los CE, y luego fue disminuyendo conforme iba aumentando el pH de la muestra. Por tanto, el pH óptimo para la muestra acuosa utilizando CA como fase sorbente fue pH 2.

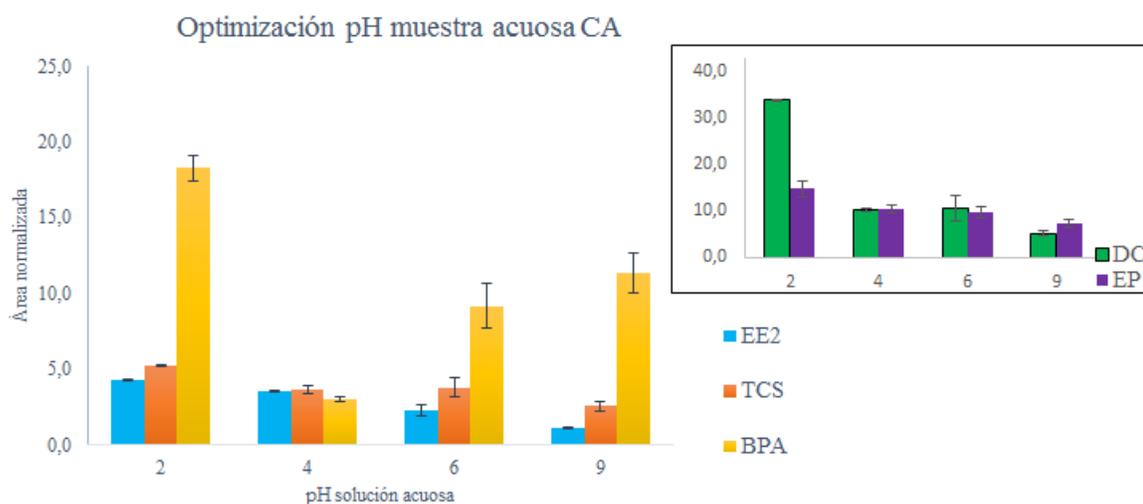


Figura 40. Efecto del pH de la muestra acuosa en la extracción de los CE utilizando carbón activado de cáscara de maní con  $ZnCl_2$  a 400 °C como fase sorbente.

#### 4.3.2.3.3 Optimización del disolvente de elución CA

Los resultados obtenidos se resumen en la Figura 41, como podemos observar, al igual que en BC las mejores recuperaciones de CE se lograron al utilizar  $CHCl_3$  como disolvente de elución, ya que es el disolvente con polaridad más similar a los CE. Por tanto, se determinó que el disolvente óptimo de elución utilizando CA  $ZnCl_2$  como fase sorbente es el cloroformo.

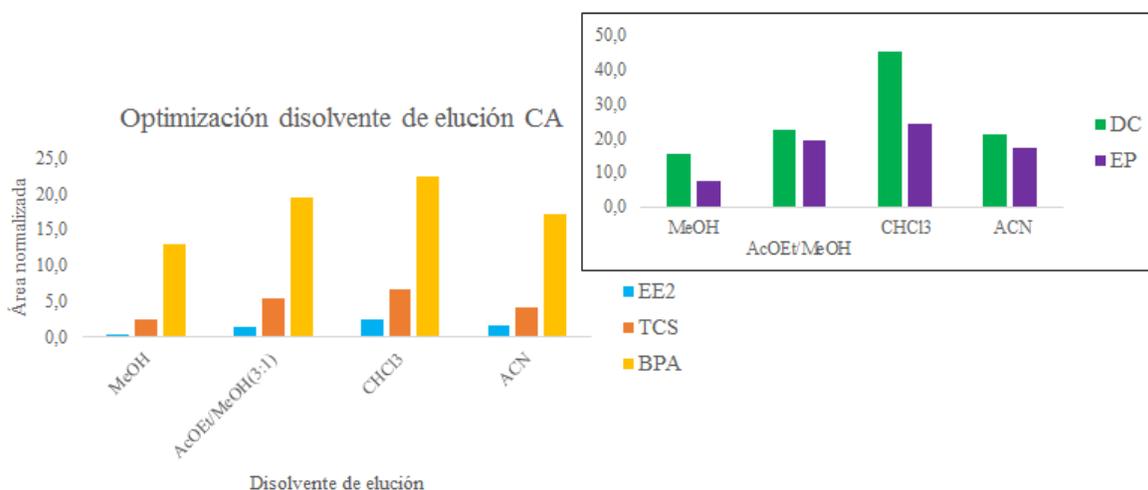


Figura 41. Efecto del disolvente de elución en la extracción de los CEs utilizando carbón activado de cáscara de maní con  $ZnCl_2$  a  $400\text{ }^{\circ}C$  como fase sorbente.

#### 4.3.2.3.4 Optimización de las variables hidrodinámicas CA

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA). La Tabla 14 muestra el poder de predicción del modelo, esto basado en el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), coeficiente de determinación ajustado, P-value (regresión/error residual) y Lack of fit (p-value, carencia de ajuste/error puro).

Tabla 14

ANOVA CA

Analito	$R^2$	$R^2$ ajustado	F	P-value	Lack of fit
EE2	96,1301	89,1643	13,8198	0,0048	0,9779
TCS	90,1505	72,4213	5,6345	0,0357	0,0529
EP	89,5424	70,7186	4,9587	0,0463	0,0526
BPA	92,9607	80,2619	7,3249	0,0205	0,1693
DC	98,0258	94,4772	27,585	0,0010	0,7143

La comparación entre SCM (suma de cuadrados medios) de la regresión (modelo) y la SCM de los residuos mediante el Test de Fisher nos entregó un P-value inferior a 0,05 (lo deseado) para todos los CEs, lo que nos indica que existe una diferencia significativa entre la regresión y el residuo, lo que demuestra la viabilidad del modelo.

Por otro lado, la prueba de carencia de ajuste mide la idoneidad de los modelos cuadráticos comparando la variación por ajuste con la variación por error analítico [35], considerando que el valor deseado es mayor a 0,05, lo que nos indica que no se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la carencia de ajuste y el error puro, podemos destacar que todos los compuestos presentaron valores superiores, por tanto, mediante este criterio el modelo resulta adecuado para describir los datos.

Finalmente, el valor  $R^2$  ajustado a los grados de libertad, nos indica el ajuste del modelo con respecto a la ecuación polinomial [36], en este caso, la mayoría de los analitos (excepto TCS y EP) presentaron buena adaptación al polinomio de ajuste (superior al 77%).

En la Figura 42 podemos observar los diagramas de Pareto para las distintas respuestas (áreas de CEs). Si analizamos la variable tiempo de extracción (B), esta fue significativa para todos los CEs, presentando un efecto (+) en ellos, esto quiere decir que, a mayor tiempo de extracción aumenta la respuesta (áreas de los CEs en estudio). La variable velocidad de rotación (A) fue significativa para la mayor parte de los CEs, con excepción del BPA, y tiene un efecto positivo (+) en todos los analitos, por tanto, a mayor velocidad de rotación, mayor respuesta. Finalmente, la variable volumen de la muestra acuosa (C), fue la menos significativa, presentando para todos los analitos un efecto negativo (-), por tanto, a menor volumen de muestra, mayor respuesta.

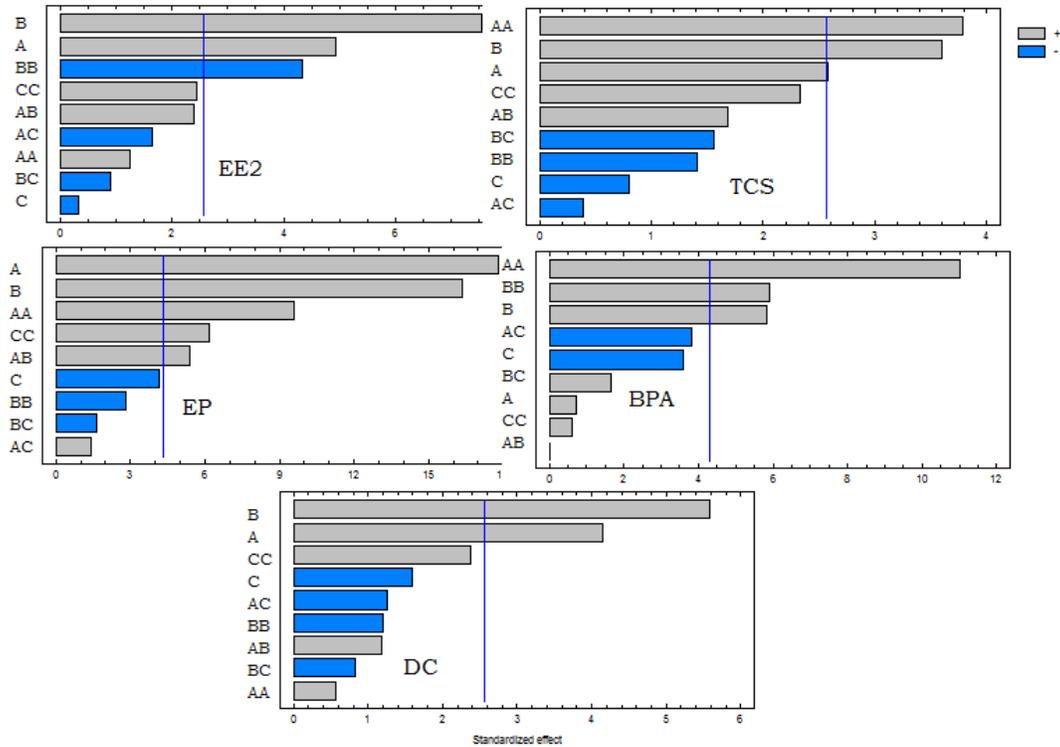


Figura 42. Gráfico de Pareto de los efectos principales y las interacciones cruzadas (CA).

A: Velocidad [rpm], B: Tiempo [min] y C: Volumen [mL].

Para encontrar los valores óptimos de los factores que resultarán en una mejor respuesta para todos los CEs, se utilizó la optimización de respuestas múltiples basada en la función de deseabilidad de Derringer. Las funciones de deseabilidad de los analitos se combinaron utilizando la media geométrica (dando igual importancia a cada uno de ellos), para obtener la deseabilidad global D. La Figura 43 muestra la superficie de respuesta global (velocidad de rotación frente al tiempo de extracción). El experimento que presentó la mayor deseabilidad fue el número 2, con una deseabilidad de 1, por tanto, se tomaron esas condiciones como las óptimas, estas fueron, una velocidad de rotación de 2000 rpm, un tiempo de extracción de 70 min y un volumen de muestra de 15 mL.

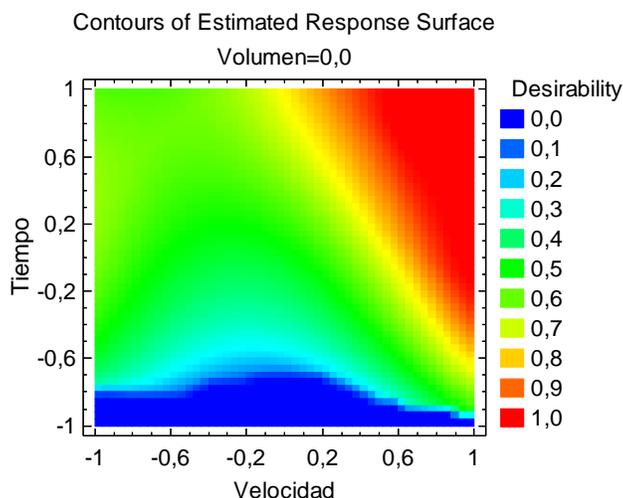


Figura 43. Superficie de respuesta de deseabilidad global para la optimización de variables hidrodinámicas de CEs (CA).

#### 4.3.2.4 Condiciones óptimas de extracción RDSE para cada fase sorbente en estudio

A continuación, se presenta una tabla resumen para las condiciones óptimas de extracción RDSE encontradas para cada fase sorbente en estudio.

Tabla 15

*Resumen de las condiciones óptimas de extracción RDSE para cada fase sorbente*

Fase sorbente	Cantidad de fase [mg]	pH muestra acuosa	Disolvente de elución	Tiempo de extracción [min]	Velocidad de rotación [rpm]	Volumen de muestra [mL]
CN	60	2	AcOEt	60	2000	20
BC	10	2	CHCl <sub>3</sub>	70	2000	15
CA	10	2	CHCl <sub>3</sub>	70	2000	15

**4.4 Objetivo 4: Validar metodologías analíticas utilizando fases sorbentes naturales en la técnica de microextracción RDSE para la determinación de 5 contaminantes emergentes en aguas arriba del río Mapocho (sector canoa), y posterior aplicación en la determinación de CEs en aguas residuales.**

#### **4.4.1 Metodología**

Para validar la metodología se deben conocer las propiedades analíticas. Los resultados de linealidad, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), precisión (replicabilidad, %RSD) y la recuperación (%Re) se consideraron como los parámetros esenciales para garantizar la validación del método analítico. Para la realización de los experimentos se utilizaron muestras reales de aguas arriba del río Mapocho, sector Canoa. Mapa del sector de muestreo se presenta en 4.6.1.

##### *4.4.1.1 Curva de calibración*

La curva de calibración fue obtenida a partir de la señal analítica medida de la microextracción RDSE utilizando las fases sorbentes preparadas en muestras acuosas (matriz) dopadas a 5 niveles de concentración. Al graficar la concentración de cada analito versus el área resultante, se determinó la ecuación de la recta (Ecuación 3), donde m y b son los coeficientes de pendiente e intercepto respectivamente. En la Tabla 16 se detallan las concentraciones de la curva de calibración para cada contaminante, cabe destacar que no se utilizó una misma curva para todos los analitos, ya que poseen sensibilidades muy distintas, por lo cual los menos sensibles a bajas concentraciones no se logran cuantificar. La linealidad fue expresada en función de los valores de los coeficientes de determinación ( $R^2$ ).

$$y = mx + b \quad (3)$$

Tabla 16

*Concentraciones curvas de calibración CEs*

CE	Puntos de la curva de calibración [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]	Rango [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]
TCS	5-10-20-30-50	5-50
BPA	0,5-1-5-10-20	0,5-20
EE2	7,5-15-30-45-75	7,5-75
EP	50-75-100-150-200	50-200
DC	100-150-200-250-300 (CN)	100-300
	50-100-150-200-250 (BC Y CA)	50-250

*4.4.1.2 Sensibilidad*

Para determinar la sensibilidad del método, se obtuvieron desde las curvas de calibración las pendientes de éstas.

*4.4.1.3 Precisión*

Para evaluar la precisión a nivel de replicabilidad, se aplicó el método de extracción a seis muestras acuosas (matriz) dopadas a la misma concentración, correspondiente al tercer punto de la curva de calibración, en las mismas condiciones en un corto intervalo de tiempo. La precisión fue expresada como la desviación estándar relativa (RSD) y calculada según la Ecuación 4.

$$\% RSD = (S/\bar{X}) * 100 \quad (4)$$

- S: Desviación estándar de la serie de mediciones de las muestras.
- X: Concentración media de las muestras.

#### 4.4.1.4 Exactitud

La exactitud del método fue determinada a partir de la recuperación, al aplicar el método de extracción a tres muestras de aguas (matriz) dopadas a una concentración conocida correspondiente al tercer punto de la curva de calibración. La recuperación fue calculada según la Ecuación 5.

$$\% \text{ Recuperación} = [(C_s - C) / C_a] * 100 \quad (5)$$

- Cs: Concentración de las muestras fortificadas.
- C: Concentración en las muestras no fortificadas.
- Ca: Concentración agregada.

Se utilizaron estándares subrogantes para corregir el proceso de extracción, estos fueron añadidos a las muestras acuosas en la misma concentración que los CEs obteniéndose así una recuperación relativa.

#### 4.1.5 Límite de detección

Este fue calculado para CN integrando 6 señales con S/N entre 1-2 cercanas al pico del analito a la concentración en la cual la S/N del analito fuese de 3. Mientras que para BC y CA se utilizaron 6 muestras de agua de la llave, las cuales pasaron por todo el proceso de extracción RDSE y posterior análisis GC-MS, luego se integraron los picos presentes en el tiempo de retención de cada uno de los CEs. La metodología para CN y BC/CA fue distinta debido a que las fases carbonizadas retienen más los CEs, y por tanto dentro de la curva no había ninguna concentración en la cual la S/N del analito fuese de 3.

La señal analítica correspondiente al límite de detección se calculó según la Ecuación 6, este valor fue interpolado en la curva de calibración para obtener la concentración del límite de detección.

$$YLD = \bar{X} + 3 * S \quad (6)$$

- S: Desviación estándar de las 6 señales analíticas antes integradas.
- $\bar{X}$ : Promedio de las 6 señales analíticas (áreas) antes integradas.
- YLD: Señal analítica correspondiente al límite de detección.

#### 4.1.6 Límite de cuantificación

Este fue calculado de igual forma que el límite de detección, pero la señal analítica correspondiente a la desviación estándar fue multiplicada por un factor de 10, como muestra la Ecuación 7, este valor fue interpolado en la curva de calibrado, para obtener la concentración del límite de cuantificación.

$$YLC = \bar{X} + 10 * S \quad (7)$$

#### 4.1.7 Efecto matriz

Este fue evaluado mediante la comparación entre las áreas normalizadas de los CEs en un estándar preparado en solvente orgánico y un estándar preparado en la matriz de estudio, el cual fue elaborado utilizando una muestra blanco que pasó por todo el proceso de extracción RDSE y luego fue enriquecido con los CEs. Era posible que en la muestra real en estudio estuvieran presentes los CEs, lo cual provocaría una sobreestimación en el estándar en matriz, por tanto, se agregó un blanco para realizar la corrección. La concentración utilizada en ambos estándar fue el tercer punto de la curva de calibración, y los experimentos se realizaron en triplicado. La Ecuación utilizada para el cálculo se muestra a continuación:

$$E. M. = \frac{AxS_2 - AxS_3}{AxS_1} \quad (8)$$

- $AxS_1$ : Área de solución multiestándar.
- $AxS_2$ : Área de multiestándar en matriz.
- $AxS_3$ : Área de blanco de matriz.

## 4.4.2 Resultados y discusión

### 4.4.2.1 Cáscara natural de maní

#### 4.4.2.1.1 Curva de calibración

En la Tabla 17 se presentan las curvas de calibración de los CEs preparadas en matriz (aguas arriba del río Mapocho, sector Canoa). La linealidad se evaluó en términos del coeficiente de determinación  $R^2$ , se logró una linealidad aceptable para todos los CEs entre sus concentraciones y la señal obtenida en el GC-MS. Como se puede observar, se utilizaron rangos de concentraciones distintos para cada analito, esto debido a que estos CEs son muy diferentes entre sí, por tanto, presentan distinta afinidad por la fase sorbente y como resultado de esto, diferentes recuperaciones, sumado a eso, EP y DC son mucho menos sensibles al método de cuantificación empleado que BPA, TCS y EE2, y por tanto al utilizar las concentraciones adecuadas para estos últimos, las señales de EP y DC no se logran cuantificar, es por esto que realizar la validación utilizando el mismo rango de calibración para todos los CEs no fue posible.

Tabla 17

*Curva de calibración en matriz utilizando CN como sorbente*

Analito	Sensibilidad [ $L\mu g^{-1}$ ]	$R^2$	Rango calibración [ $\mu gL^{-1}$ ]
EE2	0,0016	0,9805	7,5-75
TCS	0,0969	0,9947	5-50
EP	0,0007	0,9938	50-200
BPA	0,7479	0,9943	0,5-20
DC	0,0009	0,9543	40-300

#### 4.4.2.1.2 Cifras de mérito

Los resultados obtenidos para las cifras de mérito de esta validación analítica se presentan en la Tabla 18. Como se mencionó anteriormente, se puede observar la sensibilidad de los CEs a través de sus pendientes ( $m$ ), siendo el más sensible el que presenta una mayor pendiente (BPA) y el menos sensible el que presenta la menor (EP).

La precisión intradiaria ( $n=6$ ) expresada como la desviación estándar relativa (%RSD) fue medida a una concentración correspondiente al tercer punto de la curva de calibración de cada analito en agua (matriz), encontrando valores menores a 9,1%. Los LD y LC encontrados para el método tienen valores que varían de 0,003 a 0,676 y de 0,0036 a 1,642 [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ], respectivamente. Se puede observar que el límite de detección más alto corresponde al EP, seguido del DC lo que es consecuente con la menor sensibilidad, debido a que se necesita mayor cantidad del analito, para provocar un cambio en la señal analítica que sea diferenciable del blanco [37]. En general se obtuvieron límites de detección y cuantificación aceptables, considerando que estos analitos generalmente están presentes en el medio en concentraciones superiores a estos valores límites.

El efecto matriz (E.M.) consiste en una disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes. En otras palabras, para la misma concentración de analito, el análisis de una muestra real o de una disolución estándar del analito puro no proporciona la misma respuesta instrumental [39]. Como se observa en la Tabla 18, no se evidenció un efecto matriz para los CEs, ya que la relación entre el estándar preparado en disolvente orgánico y el preparado en matriz es muy cercana a 1 para todos los analitos.

Por otra parte, evaluando la exactitud, se encontraron recuperaciones aceptables para la mayoría de los analitos en estudio, particularmente para el DC, EE2 y el BPA. Se obtuvieron bajas recuperaciones para los compuestos TCS y EP. Es importante señalar que la RDSE es una técnica de extracción basada en el equilibrio de partición (no exhaustiva), de manera similar a otras como SPME y SBSE, esto significa que después del equilibrio de extracción parte de los analitos pueden permanecer en la muestra acuosa. Teniendo esto en cuenta, las recuperaciones absolutas inferiores al 50% son comunes en este tipo de técnicas [37], por

esto, adicionalmente se usaron estándares subrogantes para mostrar la eficiencia del método, obteniéndose recuperaciones relativas entre 97-103%.

Tabla 18

*Cifras de mérito para la validación de la metodología utilizando CN*

CE	R <sup>2</sup>	m	%RSD	%Re abs.	%Re rel.	E.M.	LD [µgL <sup>-1</sup> ]	LC [µgL <sup>-1</sup> ]
EE2	0,9805	0,0016	6,6	13,6	102,9	1,316	0,110	0,218
TCS	0,9947	0,0969	8,5	6,8	99,5	1,157	0,019	0,032
EP	0,9938	0,0007	5,7	1,7	97,7	1,094	0,676	1,641
BPA	0,9943	0,7479	5,4	20,0	96,7	0,989	0,003	0,004
DC	0,9543	0,0009	9,1	43,3	98,5	0,864	0,234	0,943

#### 4.4.2.2 Biochar

En la Tabla 19 se presentan las curvas de calibración de los CEs preparadas en matriz (aguas arriba del río Mapocho, sector Canoa). La linealidad al igual que en CN se evaluó en términos del coeficiente de determinación R<sup>2</sup>, se logró una linealidad aceptable para todos los CEs entre sus concentraciones y la señal obtenida en el GC-MS.

Tabla 19

*Curva de calibración en matriz utilizando BC como sorbente*

Analito	Sensibilidad [Lµg <sup>-1</sup> ]	R <sup>2</sup>	Rango calibración [µgL <sup>-1</sup> ]
EE2	0,0682	0,9819	7,5-75
TCS	0,1825	0,9795	5-50
EP	0,2753	0,9981	50-200
BPA	3,2100	0,9911	0,5-20
DC	0,1311	0,9892	50-250

Los resultados obtenidos para las cifras de mérito de esta validación analítica se presentan en la Tabla 20. Como se mencionó anteriormente, se puede observar la sensibilidad de los CEs a través de sus pendientes (m), siendo el más sensible el que presenta una mayor pendiente (BPA) y el menos sensible el que presenta la menor (EE2). Además, se puede observar una mayor sensibilidad de la señal analítica respecto a la obtenida con CN para todos los CEs, esto puede asociarse a que el biochar tiene un mayor carácter apolar, y una porosidad mucho mayor, por tanto, presentan mayor afinidad por la fase, resultando en una mayor recuperación y área de los CEs.

Se observa un leve efecto matriz por supresión para los CEs, con excepción del EP.

La precisión intradiaria (n=6) expresada como la desviación estándar relativa (%RSD) fue medida a una concentración correspondiente al tercer punto de la curva de calibración de cada analito en agua (matriz), encontrando valores menores a 7% lo que significa que el método sería adecuado para la determinación de CEs en muestras acuosas. Los LD y LC encontrados para el método presentan valores entre 0,002 a 0,079 y de 0,004 a 0,145 [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ], respectivamente. El límite de detección más alto corresponde al EE2, lo que es consecuente con la menor sensibilidad que este presenta al utilizar esta fase sorbente. En general se obtuvieron límites de detección y cuantificación muy buenos para todos los CEs, y bastante menores en comparación con la fase sorbente CN.

Los valores de exactitud del método obtenidos a través de la recuperación de los CEs y su precisión a nivel de replicabilidad (n=6) se pueden observar también en la Tabla 20, en comparación con CN, los valores de recuperación fueron mayores para todos los CEs lo cual era de esperarse por la mayor afinidad en cuanto a polaridad entre la fase sorbente y los analitos.

Tabla 20

*Cifras de mérito para la validación de la metodología utilizando BC*

Analito	R <sup>2</sup>	m	%RSD	%Re abs.	%Re rel.	E.M.	LD [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]	LC [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]
EE2	0,9819	0,0682	6,399	15,578	91,505	0,853	0,079	0,145
TCS	0,9795	0,1825	3,196	35,697	93,197	0,808	0,013	0,017
EP	0,9981	0,2753	4,590	7,413	101,576	1,041	0,058	0,078
BPA	0,9911	3,2100	6,244	56,877	103,988	0,888	0,002	0,004
DC	0,9892	0,1311	6,428	12,457	93,630	0,896	0,013	0,042

#### 4.4.2.3 Carbón activado $\text{ZnCl}_2$

En la Tabla 21 se presentan las curvas de calibración de los CEs preparadas en matriz (aguas arriba del río Mapocho, sector Canoa). La linealidad al igual que en CN y BC, se evaluó en términos del coeficiente de determinación R<sup>2</sup>, se logró una linealidad aceptable para todos los CEs entre sus concentraciones y la señal obtenida en el GC-MS.

Tabla 21

*Curva de calibración en matriz utilizando CA como sorbente*

Analito	Sensibilidad [ $\text{L}\mu\text{g}^{-1}$ ]	R <sup>2</sup>	Rango calibración [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]
EE2	0,0964	0,9796	7,5-75
TCS	0,336	0,9922	5-50
EP	0,318	0,9718	50-200
BPA	5,672	0,9854	0,5-20
DC	0,2723	0,9975	50-250

Los resultados obtenidos para las cifras de mérito de esta validación analítica se presentan en la Tabla 22. En cuanto a sensibilidad, al igual que en BC el más sensible es BPA y el menos sensible EE2. Además, se puede observar una mayor sensibilidad de la señal analítica

respecto a la obtenida con CN y BC para todos los CEs, esto puede asociarse a que el carbón activado presenta mayor área superficial que puede resultar en una mayor adsorción de los CEs, y por tanto mayor recuperación.

La precisión intradiaria (n=6) expresada como la desviación estándar relativa (%RSD) fue medida a una concentración correspondiente al tercer punto de la curva de calibración de cada analito en agua (matriz), encontrando valores menores a 10,5 % lo que significa que el método sería adecuado para la determinación de CEs en muestras acuosas. Los LD y LC encontrados para el método presentan valores entre 0,003 a 0,088 y de 0,005 a 0,0108 [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ], respectivamente. En general se obtuvieron límites de detección y cuantificación muy buenos para todos los CEs, y muy menores en comparación con la fase sorbente BC (excepto para DC).

La mayor parte de los CEs presenta un leve efecto matriz por supresión, a excepción del EP, en el cual se evidencia un efecto matriz un poco más grande por intensificación.

Los valores de exactitud del método obtenidos a través de la recuperación de los CEs se pueden observar también en la Tabla 22, en comparación con CN y BC, los valores de recuperación fueron mayores para todos los CEs, lo cual era de esperarse por la mayor área superficial que contiene esta fase sorbente, lo que permite una mayor adsorción de los CEs.

Tabla 22

*Cifras de mérito para la validación de la metodología utilizando CA  $\text{ZnCl}_2$*

Analito	$R^2$	m	%RSD	%Re abs.	%Re rel.	E.M.	LD [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]	LC [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]
EE2	0,9796	0,0964	8,292	18,398	98,393	0,892	0,022	0,035
TCS	0,9922	0,336	2,282	39,769	99,281	0,928	0,011	0,028
EP	0,9718	0,318	7,490	15,893	104,216	1,382	0,088	0,108
BPA	0,9854	5,672	3,394	86,905	96,328	0,852	0,003	0,005
DC	0,9975	0,2723	10,428	18,988	91,290	0,867	0,078	0,092

## **4.5 Objetivo 5: Comparar la eficiencia de extracción de las fases sorbentes naturales con las fases sorbentes sintéticas Oasis HLB, C18 y St-DVB.**

### **4.5.1 Metodología**

Se realizó una comparación de la eficiencia de extracción de las 3 fases sorbentes naturales ya optimizadas y validadas (cáscara de maní natural, biochar y carbón activado  $ZnCl_2$ ) con 3 fases sorbentes sintéticas comerciales: Oasis HLB, C18 y estireno-divinilbenceno (St-DVB). Para esto se realizaron 2 experimentos, la comparación se realizó utilizando las variables de extracción RDSE ya optimizadas para cada fase sorbente natural las cuales fueron aplicadas a las 3 fases sorbentes comerciales.

Experimento 1: Extracción RDSE utilizando cáscara de maní, Oasis HLB, C18 y St-DVB como fases sorbentes para la extracción de CEs desde muestras acuosas. Se pesaron 60 mg de cada fase sorbente en los discos rotatorios (por triplicado), luego se taparon con un filtro de fibra de vidrio y se sellaron con un anillo de teflón. Los discos se acondicionaron, y luego se realizó la extracción. Se utilizaron 20 mL de una muestra acuosa a pH 2 dopada con el tercer punto de la curva de calibración, y se agitaron durante 60 min a 2000 rpm. Luego de la extracción, se realizó la elución con AcOEt.

Experimento 2: Extracción RDSE utilizando biochar, carbón activado  $ZnCl_2$ , Oasis HLB, C18 y St-DVB como fases sorbentes para la extracción de CEs desde muestras acuosas. Se pesaron 10 mg de cada fase sorbente en los discos rotatorios (por triplicado), luego se taparon con un filtro de fibra de vidrio y se sellaron con un anillo de teflón. Los discos se acondicionaron, y luego se realizó la extracción. Se utilizaron 15 mL de una muestra acuosa a pH 2 dopada con el tercer punto de la curva de calibración, y se agitaron durante 70 min a 2000 rpm. Luego de la extracción, se realizó la elución con  $CHCl_3$ .

Nota: BC y CA se evaluaron en el mismo experimento ya que sus condiciones óptimas de extracción RDSE son las mismas.

## 4.5.2 Resultados y discusión

Los materiales sintéticos comerciales como Oasis HLB, C18 y estireno divinilbenceno (St-DVB) son comúnmente utilizados como fases de sorción en diferentes técnicas de microextracción según las características de los analitos en estudio. Sin embargo, estas fases son muy costosas y, dependiendo del formato del dispositivo de extracción, en su preparación pueden estar involucrados un número no trivial de procesos químicos [38].

Los resultados obtenidos en la extracción de CEs por RDSE utilizando cáscara de maní y sus derivados como fase de sorción se compararon en las mismas condiciones con los obtenidos utilizando otras fases sintéticas para demostrar la eficacia de estos materiales en el proceso de extracción de estos analitos desde muestras acuosas.

### 4.5.2.1 Cáscara de maní natural versus fases sorbentes comerciales

Los resultados de recuperación muestran que la cáscara de maní alcanza una mayor eficiencia de sorción que C18 y St-DVB, y muy similar a la obtenida con Oasis HLB, pero sólo para el contaminante DC. Sin embargo, para el resto de los CEs, la cáscara de maní presenta recuperaciones entre 3-23% versus un 40-83% de recuperación que logra el Oasis HLB. Por lo tanto, la cáscara de maní no demostró ser una alternativa a las fases sintéticas comerciales mencionadas anteriormente, ya que se obtienen recuperaciones muy bajas.

Adicionalmente se realizó un procedimiento de comparación múltiple entre las fases sorbentes para determinar qué medias son significativamente diferentes de las demás. En la Figura 46 podemos observar letras sobre cada barra, letras distintas entre fases sorbentes para un mismo analito indica que estos muestran diferencias estadísticamente significativas al nivel de confianza del 95%. El método que se utilizó para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método, existe un riesgo del 5% de que uno o más pares se consideren significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.

Considerando estos últimos datos, podemos notar que las recuperaciones obtenidas con CN presentan diferencias significativas con el resto de las fases comerciales para casi todos los analitos excepto para DC, en donde no se aprecia diferencia significativa en las recuperaciones al emplear una fase natural como CN o una fase sintética comercial.

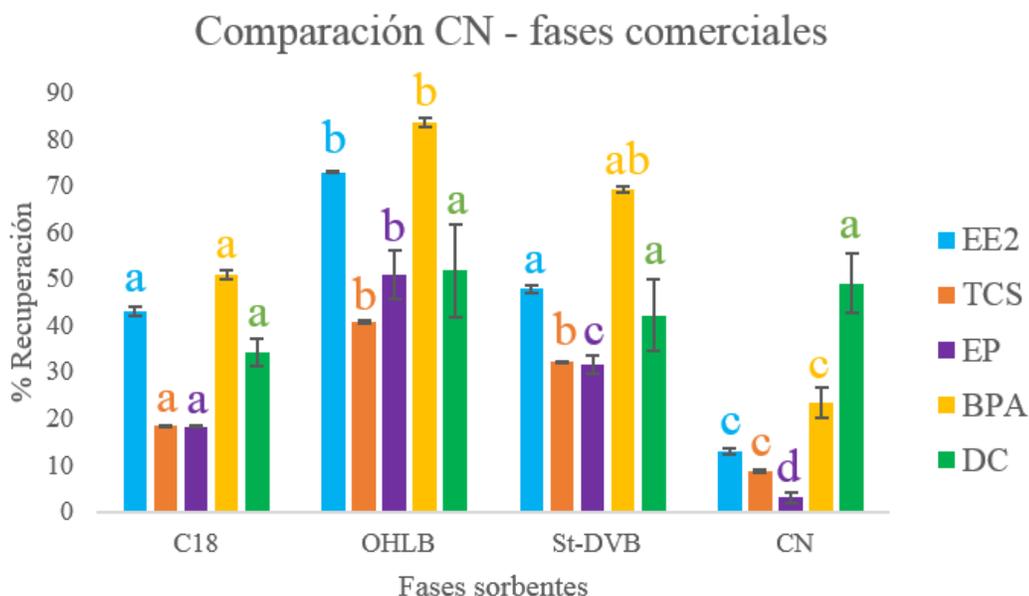


Figura 44. Comparación entre recuperaciones de cáscara de maní natural y fases sorbentes sintéticas comerciales. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa para un nivel de significancia del 5% (Test de Tukey).

#### 4.5.2.2 Biochar y carbón activado versus fases sorbentes comerciales

En la Figura 45 se muestran los resultados de las recuperaciones obtenidas para las fases biochar, carbón activado con  $ZnCl_2$  y las fases comerciales a comparar.

Considerando solo los resultados de recuperación, podemos observar que el carbón activado alcanza una mayor eficiencia de sorción que C18, St-DVB y OHLB para el contaminante BPA, alcanzando un 85% de recuperación, mientras que para el resto de los CE's la mayor recuperación se obtiene al emplear OHLB, que es una de las fases sintéticas más utilizadas y versátiles porque retiene analitos de diferentes polaridades [38], sin embargo, el carbón activado presenta recuperaciones similares a St-DVB y C18, entre el 17 y el 85%, lo cual es bastante bueno considerando que la técnica de extracción RDSE no es exhaustiva.

En cuanto al biochar, este presenta recuperaciones entre el 7-53%, y valores superiores a los obtenidos por C18 y St-DVB para los contaminantes BPA y TCS.

Al analizar la significancia estadística mediante Test de Tukey, no se encontró diferencia significativa en las recuperaciones de TCS al utilizar Oasis HLB o CA, así como tampoco entre St-DVB, OHLB y BC. En cuanto a EP no existe diferencia significativa entre utilizar BC, CA o C18. Por lo que toca a BPA no se encontró diferencia significativa entre utilizar BC, C18 u OHLB como fase sorbente, así mismo entre CA u OHLB. Finalmente, para DC no existe diferencia significativa entre emplear BC, CA o C18.

El que no exista diferencia significativa en las recuperaciones de los CE al utilizar una fase sorbente natural y una sintética comercial, nos indica que las fases naturales preparadas en base a cáscara de maní no solo son una buena alternativa a las fases sintéticas comerciales mencionadas anteriormente, sino que sus resultados son comparables con estas, presentando la ventaja de lograr recuperaciones similares, a un menor costo, aprovechando los residuos de la agricultura, y siendo respetuoso con el medio ambiente.

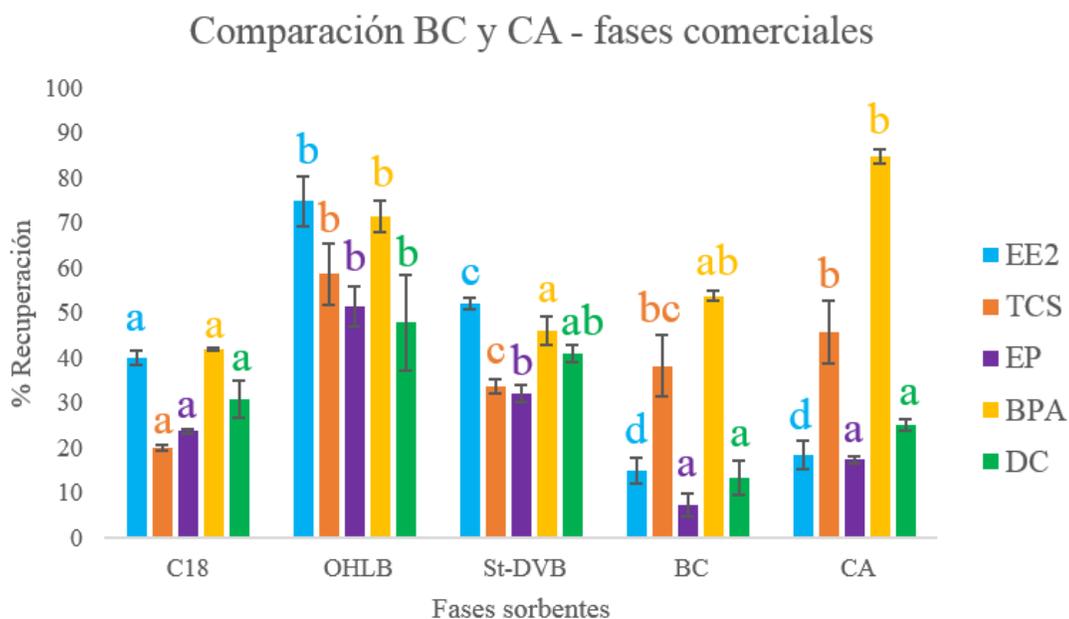


Figura 45. Comparación entre recuperaciones de biochar 600 °C, carbón activado con ZnCl<sub>2</sub> a 400 °C y fases sorbentes sintéticas comerciales. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa para un nivel de significancia del 5% (Test de Tukey).

## 4.6 Objetivo 6: Aplicar la metodología analítica en la determinación de contaminantes emergentes en una planta de tratamiento de aguas residuales de Santiago, Chile.

### 4.6.1 Metodología

La metodología ya optimizada y validada que mostró los mejores resultados en cuanto a recuperación de los CE mediante RDSE, fue en la que se utilizó como fase sorbente el carbón activado con  $ZnCl_2$ . Por tanto, esta última se utilizó para extraer CE desde muestras reales.

Las muestras reales utilizadas para este estudio se recogieron entre 2018 y 2021, desde el río Mapocho (Santiago de Chile). En concreto, en este estudio se evaluaron las aguas arriba (sitio Canoa) y aguas abajo (puente Esperanza), y también el afluente y efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales El Trebal (Aguas Andinas) [40]. Los sitios de muestreo se indican en la Figura 46. La Tabla 23 muestra las concentraciones de CE encontradas en los distintos puntos de muestreo. La cuantificación se realizó utilizando una curva de calibración en matriz.

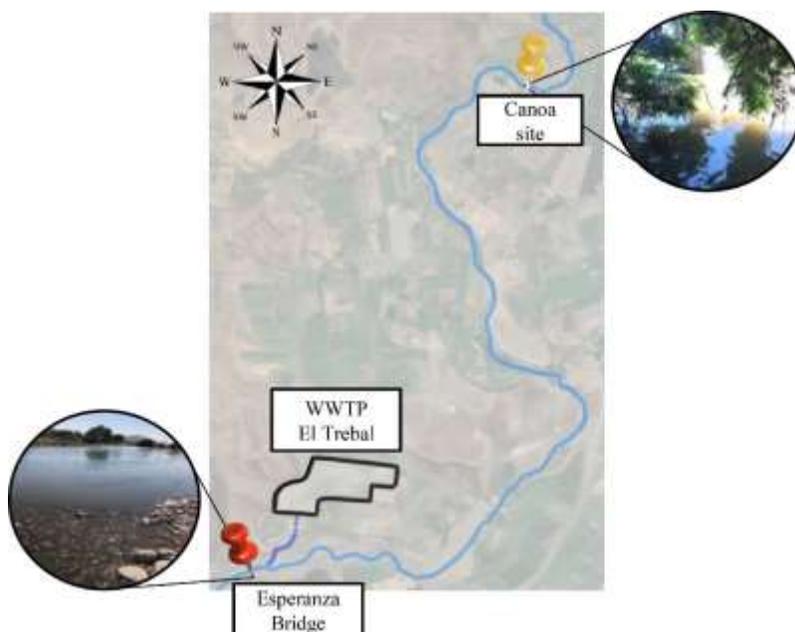


Figura 46. Mapa del sitio de muestreo [40].

#### 4.6.2 Resultados y discusión

Como podemos observar en la Tabla 23, se encontraron casi todos los CE's (excepto EE2 y DC) en concentraciones en el rango de [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ] tanto en el efluente como en el afluente. La presencia de CE's en el efluente de la PTAR (casi en la misma concentración que en afluente), es un indicativo de que la planta y sus procesos de depuración no están diseñados para la eliminación de estos contaminantes. Por otra parte, es preocupante la presencia de TCS y BPA incluso en aguas naturales (Canoa), ya que estos compuestos se clasifican como disruptores endocrinos, por tanto todo organismo que se exponga a estas aguas, también se expone a los efectos nocivos de estos contaminantes. Es por esto que urge una regulación de estos compuestos, para que las plantas de tratamiento incorporen procesos que permitan su eliminación, y así poder reducir y/o eliminar la presencia de estos contaminantes en los cuerpos de agua.

Tabla 23

*Concentración de CE's en muestras reales [ $\mu\text{gL}^{-1}$ ]*

CE	Afluente	Efluente	Canoa	Esperanza
EE2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
TCS	0,689	0,578	0,329	0,728
EP	0,185	0,136	<LOD	<LOD
BPA	0,035	0,034	0,013	0,045
DC	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

## 5. CONCLUSIONES

El trabajo investigativo de esta tesis de maestría tuvo como base el desarrollo de metodologías para la extracción RDSE de CEs desde muestras acuosas, utilizando como fase sorbente natural la cáscara de maní. Considerando los resultados presentados anteriormente, es posible concluir lo siguiente:

Se prepararon diversas fases sorbentes naturales a partir de la cáscara de maní, de todas las activaciones químicas realizadas para obtener carbones activados, la que utiliza  $ZnCl_2$  al 75% presentó mejor eficiencia de extracción para los CEs en estudio. Las temperaturas óptimas de carbonización fueron 400 y 600 °C para el carbón activado y biochar respectivamente, en tiempos relativamente cortos de 38 y 58 min.

Mediante las caracterizaciones de los materiales fue posible determinar que la cáscara de maní presenta diversos grupos funcionales en su estructura (R-OH, R-O-R', R-COOH, R-Ar), mientras que en las fases carbonizadas únicamente se aprecian estructuras aromáticas. El TGA evidenció que la descomposición de los biopolímeros que componen la cáscara de maní ocurre principalmente entre los 220-340 °C. Además, se demostró que el biochar y el carbón activado presentan una morfología mucho más porosa que la cáscara de maní natural.

Se optimizaron los procesos de extracción de los CEs mediante RDSE utilizando los 3 materiales (CN, BC y CA). Para todas las fases el pH óptimo para la muestra acuosa fue 2. En cuanto a la cantidad de fase, para CN el valor óptimo fueron 60 mg mientras que para BC y CA fueron 10 mg, por tanto, se demostró el mayor poder de adsorción de las fases carbonizadas. Los tiempos óptimos de extracción fueron relativamente cortos (60-70 min).

Al comparar las fases sorbentes naturales con fases sorbentes sintéticas comerciales, se observó que CN presentaba recuperaciones similares a las obtenidas por las fases comerciales solo para DC. El biochar presentó recuperaciones comparables con las obtenidas con St-DVB y C18, mientras que el carbón activado fue el que obtuvo las mejores recuperaciones (17-85%), similares a las obtenidas con OHLB, St-DVB y C18. Mediante el Test de Tukey fue posible demostrar que no existe diferencia significativa en las recuperaciones de los CEs al utilizar las fases sorbentes naturales biochar, carbón activado y las fases sorbentes sintéticas comerciales. Lo cual indica que las fases naturales preparadas en base a cáscara de maní no

solo son una buena alternativa a las fases sintéticas comerciales, sino que sus resultados son comparables con estas, presentando la ventaja de lograr recuperaciones similares, a un menor costo, aprovechando los residuos de la agricultura, y siendo respetuoso con el medio ambiente. De esta manera la hipótesis planteada al inicio de esta investigación fue confirmada.

Fue posible la determinación de los CEs en estudio en muestras de aguas residuales de una planta de tratamiento de la ciudad de Santiago, utilizando carbón de cáscara de maní activado con  $ZnCl_2$  como fase sorbente, encontrando niveles de concentración del orden de los  $[\mu gL^{-1}]$  en el afluente y efluente de la planta, así como también en aguas naturales.

En resumen, se desarrollaron metodologías eficientes, económicas y respetuosas con el medio ambiente, basadas en la utilización de fases sorbentes naturales a partir de cáscara de maní para la extracción RDSE de CEs desde muestras acuosas, presentando un gran potencial para extraer y monitorear CEs en los cuerpos de agua.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Zarta Ávila, P. (2018). La sustentabilidad o sostenibilidad: un concepto poderoso para la humanidad. *Tabula Rasa*, (28), 409-423. Doi: <https://doi.org/10.25058/20112742.n28.18>
- [2] Płotka-Wasyłka, J., Mohamed, H., Kurowska-Susdorf, A., Dewani, R., Fares, M. & Andruch, V. (2021). Green analytical chemistry as an integral part of sustainable education development. *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.*, (31), 100508. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100508>
- [3] Gałuszka, A., Migaszewski, Z. & Namieśnik, J. (2013). The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC-Trends Analyt. Chem.*, (50), 78-84. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>
- [4] Gil, M., Soto, A., Usma, J. & Gutierrez, O. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + limpia*, 7(2), 52-73.
- [5] Cao, X., Hua, X., Xiong, J., Zhu, W., Zhang, J., & Chen, L. (2018). Impact of Triclosan on Female Reproduction through Reducing Thyroid Hormones to Suppress Hypothalamic Kisspeptin Neurons in Mice. *Front. Mol. Neurosci.*, (11), 1–12. Doi: [10.3389/fnmol.2018.00006](https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00006)
- [6] Fauzan, T., Omar, T., Ahmad, A., Aris, A.Z. & Yusoff, F. (2016). Endocrine disrupting compounds (EDCs) in environmental and biota matrices: review of analytical strategies for pharmaceuticals, estrogenic hormones and alkylphenol compounds. *Trends Anal. Chem.* (85C), 241-259. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.08.004>
- [7] Manzo, V., Honda, L., Navarro, O., Ascar, L. & Richter, P. (2014). Microextraction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs from wastewater samples by rotating-disk sorptive extraction. *Talanta*, (128), 486-492. Doi: <https://doi.org/dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.06.003>
- [8] Arismendi, D., Becerra-Herrera, M., Cerrato, I. & Richter, P. (2019). Simultaneous determination of multiresidue and multiclass emerging contaminants in waters by rotating-disk sorptive extraction–derivatization–gas chromatography/mass spectrometry. *Talanta*, (201), 480-489. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.120>
- [9] World Health Organization (2012). Pharmaceuticals in drinking-water. *Pharm. Drink.* 1–52. Doi: [https://doi.org/ISBN 978 92 4 1502085](https://doi.org/ISBN%20978%2092%204%201502085)
- [10] Żwir-Ferenc, A. & Biziuk, M. (2006). Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications. *Polish J. of Environ. Stud.*, 15(5), 677-690.
- [11] Richter, P., Arismendi, D. & Becerra-Herrera, M. (2021). The fundamentals, chemistries and applications of rotating-disk sorptive extraction. *TrAC-Trends Analyt. Chem.*, (137), 116209. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116209>

- [12] Płotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de la Guardia, M. & Namieśnik, J. (2015). Miniaturized solid-phase extraction techniques. *TrAC-Trends Analyt. Chem.*, (73), 19-38. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.026>
- [13] Baltussen, E., Sandra, P., David, F., & Cramers, C. (1999). Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. *J. microcolumn sep.*, 11(10), 737-747. Doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-667X\(1999\)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-667X(1999)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4)
- [14] Richter, P., Leiva, C., Choque, C., Giordano, A. & Sepúlveda, B. (2009). Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples. *J. Chromatogr. A*, (1216), 8598-8602. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.10.044>
- [15] Cañas, A., Valdebenito, S. & Richter, P. (2014). A new rotating-disk sorptive extraction mode, with a copolymer of divinylbenzene and N-vinylpyrrolidone trapped in the cavity of the disk, used for determination of florfenicol residues in porcine plasma. *Anal. Bioanal. Chem.*, (406), 2205-2210. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7628-8>
- [16] Valladares-Cisneros, M., Cárdenas, C., de la Cruz, P. & Melgoza, R. (2016). Adsorbentes no-convencionales, alternativas sustentables para el tratamiento de aguas residuales. *Rev. ing. univ. Medellín*, 16(31), 55-73. Doi: <https://doi.org/10.22395/rium.v16n31a3>.
- [17] Zhou, J., Chen, H., Huang, W., Arocena, J. M., & Ge, S. (2015). Sorption of Atrazine, 17 $\alpha$ -Estradiol, and Phenanthrene on Wheat Straw and Peanut Shell Biochars. *Water, Air, & Soil Pollut.*, (7), 227. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2699-5>
- [18] Gao, Y., Yue, Q., Gao, B. & Li, A. (2020). Insight into activated carbon from different kinds of chemical activating agents: A review. *Sci. Total Environ.*, (746), 141094. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141094>
- [19] Balahmar, N., Al-Jumaily, A.S. & Mokaya, R. (2017). Biomass to porous carbon in one step: directly activated biomass for high performance CO<sub>2</sub> storage. *J. Mater. Chem. A*, 5(24), 12330-12339. Doi: <https://doi.org/10.1039/C7TA01722G>
- [20] González-García, P. (2018). Activated carbon from lignocellulosics precursors: a review of the synthesis methods, characterization techniques and applications. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, (82), 1393-1414. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.04.117>
- [21] Li, R., Zhang, Y., Chu, W., Chen, Z. & Wang, J. (2018). Adsorptive removal of antibiotics from water using peanut shells from agricultural waste. *R. Soc. Chem.*, (8), 13546-13555. Doi: <https://doi.org/10.1039/C7RA11796E>
- [22] Gatani, M., Argüello, R. & Sesín, S. (2010). Effect of chemical treatments on the mechanical properties of peanut shell and cement blends. *Mater. Constr.*, 60(298), 137-147. Doi: <https://doi.org/10.3989/mc.2010.46908>

- [23] XU, T. & LIU, X. (2008). Peanut Shell Activated Carbon: Characterization, Surface Modification and Adsorption of  $Pb^{2+}$  from Aqueous Solution. *Chin. J. Chem. Eng.*, 16(3), 401-406. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(08\)60096-8](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(08)60096-8)
- [24] Liu, Y., Sun, X. & Li, B. (2010). Adsorption of  $Hg^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  by ethylenediamine modified peanut shells. *Carbohydr. Polym.*, 81(2), 335-339. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.02.020>
- [25] AL-Othman, Z.A., Ali, R. & Naushad, M. (2012). Hexavalent chromium removal from aqueous medium by activated carbon prepared from peanut shell: Adsorption kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. *Chem. Eng. J.*, (184), 238-247. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.01.048>
- [26] Azmier-Ahmad, M., Mohamad-Yusop, M. F., Zakaria, R., Karim, J., Yahaya, N. K., Mohamed-Yusoff, M. A., Fazlin-Hashim, N. H. & Nor Salmi, A. (2021). Adsorption of methylene blue from aqueous solution by peanut shell based activated carbon. *Mater. Today: Proc.* 47(6), 1246-1251. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.789>
- [27] Wang, P., Liu, X., Yu, B., Wu, X., Xu, J., Dong, F. & Zheng, Y. (2020). Characterization of peanut-shell biochar and the mechanisms underlying its sorption for atrazine and nicosulfuron in aqueous solution. *Sci. Total Environ.*, (702), 134767. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134767>
- [28] Kılıç, M., Apaydın-Varol, E. & Eren-Pütün, A. (2012). Preparation and surface characterization of activated carbons from *Euphorbia rigida* by chemical activation with  $ZnCl_2$ ,  $K_2CO_3$ ,  $NaOH$  and  $H_3PO_4$ . *Appl. Surf. Sci.* (261), 247-254. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2012.07.155>
- [29] Lei, L., Qing-Fang, D., Yu-Ping, L., Tie-Zhen, R. & Zhong-Yong, Y. (2011).  $HNO_3$ -activated mesoporous carbon catalyst for direct dehydrogenation of propane to propylene. *Catal. Commun.*, 16(1), 81-85. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2011.09.005>
- [30] Amaringo, F. & Hormaza, A. (2013). Determination of the point of zero charge and isoelectric point of two agricultural wastes and their application in the removal of colorants. *RIAA*, 4(2). ISSN 2145-6097. Doi: <https://doi.org/10.22490/21456453.982>
- [31] Keiluweit, M., Nico, P., Johnson, M. & Kleber, M. (2010). Dynamic Molecular Structure of Plant Biomass-Derived Black Carbon (Biochar). *Environ. Sci. Technol.* (44), 1247-1253. Doi: <https://doi.org/10.1021/es9031419>
- [32] Chen, B., Zhou, D. & Zhu, L. (2008). Transitional adsorption and partition of nonpolar and polar aromatic contaminants by biochars of pine needles with different pyrolytic temperatures. *Environ. Sci. Technol.* (42), 5137-5143. Doi: <https://doi.org/10.1021/es8002684>
- [33] Yang, H., Yan, R., Chin, T., Liang, D., Chen, H. & Zheng, C. (2004). Thermogravimetric analysis-Fourier transform infrared analysis of palm oil waste pyrolysis. *Energy Fuels*, (18), 1814-1821. Doi: <https://doi.org/10.1021/ef030193>

- [34] Tao, W., Duan, W., Liu, C., Zhu, D., Si, X., Zhu, R., Patryk, O. & Pan, B. (2020). Formation of persistent free radicals in biochar derived from rice straw based on a detailed analysis of pyrolysis kinetics. *Sci. Total Environ.* (715), 136575. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136575>
- [35] Bekele, E.A., Annaratone, C.E.P., Hertog, M.L.A.T.M., Nicolai, B.M. & Geeraerd, A.H. (2014). Multi-response optimization of the extraction and derivatization protocol of selected polar metabolites from apple fruit tissue for GC-MS analysis. *Anal. Chim. Acta*, (824), 42-56. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.03.030>
- [36] Christian, J., Shah, P., Patel, M., Patel, K. & Gandhi, T. (2017). Optimizing derivatization conditions using an experimental design and simultaneous estimation of artemether and lumefantrine by ratio first order derivative spectrophotometric method. *J. Taibah Univ. Sci.*, (11), 729-740. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2016.08.003>
- [37] Manzo, V. (2015). Microextracción por sorción con disco rotatorio (RDSE) de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) desde muestras acuosas. [Tesis doctoral, Universidad de Chile]. Repositorio académico de la Universidad de Chile.
- [38] Manzo, V., Goya-Pacheco, J., Arismendi, D., Becerra-Herrera, M., Castillo-Aguirre, A., Castillo-Felices, R., Rosero-Moreano, 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. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.08.069>
- [39] Becerra-Herrera, M., Honda, L. & Richter, P. (2015). Ultra-high-performance liquid chromatography—Time-of-flight high resolution mass spectrometry to quantify acidic drugs in wastewater. *J. Chromatogr. A*, (1423), 96-103. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.071>
- [40] Cerrato, I., Molina-Balmaceda, A., Arismendi, D., Ahumada, I. & Richter, P. (2022). Cork-based passive samplers for monitoring triclosan in water samples. *Green Anal. Chem.* (1), 100008. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100008>