



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA.

ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN QUÍMICA

TESIS

**DISEÑO DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA
DETERMINACIÓN Y REMOCIÓN DE ALFA-NAFTOL Y
BETA-NAFTOL EN MUESTRAS ACUOSAS**

Para obtener el grado de

MAESTRO EN QUÍMICA

PRESENTA

Q. David Aurelio Soria

Director

Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega

Comité tutorial

Dra. María Elena Páez Hernández

Dra. Irma Pérez Silva

Dr. José Antonio Rodríguez Ávila

Mineral de la Reforma, Hgo., México., julio 2024



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
School of Engineering and Technology
Área Académica de Química
Department of Chemistry

Número de control: ICBI-AAQ/785/2024
Asunto: Autorización de impresión

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.

El Comité Tutorial de la Tesis de Maestría titulada “DISEÑO DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN Y REMOCIÓN DE ALFA-NAFTOL Y BETA-NAFTOL EN MUESTRAS ACUOSAS”, realizada por el sustentante **David Aurelio Soria** con número de cuenta **382193** perteneciente al programa de Maestría en Química, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 21 de junio de 2024

El Comité Tutorial



Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega
Director de Tesis



José Antonio Rodríguez Ávila





Dra. María Elena Páez Hernández



Dra. Irma Pérez Silva

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
Área Académica de Química



Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40088, 40087
aaq_icbi@uaeh.edu.mx, nandrade@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

David Aurelio Soria agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada para la realización de sus estudios de maestría (Número de registro 1231133).

Este trabajo se realizó en el laboratorio 2 del Área Académica de Química en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Parte de este trabajo se presentó en:

- XXXV Congreso Nacional de Química Analítica y XXV Simposio Estudiantil (2023) con el trabajo:
“Desarrollo de una metodología analítica en la separación de 1-naftol y 2-naftol por electroforesis capilar”

Parte de este trabajo se publicó en:

- Aurelio-Soria, D., Rodriguez, J. A., Paez-Hernandez, M. E., Perez-Silva, I., Camacho-Mendoza, R. L., & Ibarra, I. S. (2023). Determination of α -Naphthol and β -Naphthol in water samples by capillary electrophoresis coupled with large volume sample stacking. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-11.

Agradecimientos

A mis padres: Blanca y Jorge, gracias por su amor y apoyo incondicional, sus sacrificios y enseñanzas me han convertido en la persona que soy hoy, estoy agradecido por cada momento a su lado y son mi ejemplo a seguir. Su amor es el más grande regalo que la vida me ha dado.

A mi hermano Jorge, gracias por estar siempre a mi lado, por ser mi compañero de aventuras y mi apoyo en momentos difíciles.

Al Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega, gracias por darme la oportunidad de trabajar con usted, por la paciencia que me ha tenido en el transcurso de estos dos años, gracias por confiar en mí, asimismo le agradezco todo el aprendizaje y amistad que me ha brindado. Lo admiro profundamente.

A mis sinodales: Dra. María Elena Páez Hernández y Dra. Irma Pérez Silva, gracias por sus consejos y apoyo durante la realización de este trabajo.

A Alfredo, gracias por tu amistad y por todos los momentos compartidos, espero que la vida te depare muchas cosas buenas y que siempre sigamos estando el uno para el otro de forma incondicional.

A Hernán, gracias por la amistad y el apoyo que me has brindado desde el momento que te conocí, gracias por todo lo que me has enseñado.

A Cecilia, gracias por tu apoyo incondicional.

A Fernanda, gracias por tu amistad, gracias estar presente en momentos difíciles.

A Ricardo, Josephine, Fernanda, Natalia y Katherine, gracias por su amistad, gracias por siempre estar.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Dr. Francisco, Dra. Gabriela, Dr. Giaan, Dr. Daniel, Dra. Luz, Tanese, Jessica, Yair, Abril, Carlos, Xóchitl, Rodrigo, Josué y Valeria, agradezco a la vida por coincidir con ustedes.

Índice

1. Introducción	1
1.1 Hidrocarburos aromáticos policíclicos.....	1
1.1.1 Fuentes de emisión y presencia en el ambiente.....	1
1.1.2 Clasificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos	2
1.1.3 Propiedades fisicoquímicas de los HAPs.....	2
1.2 Naftaleno.....	5
1.3 α -naftol y β -naftol.....	6
1.3.1 Aplicaciones de α -NAP y β -NAP	6
1.4 Técnicas analíticas en la determinación de α -NAP y β -NAP	10
1.4.1 Espectroscopia UV-Vis	10
1.4.2 Electroquímica	10
1.4.3 Cromatografía de gases	12
1.4.4 Cromatografía de líquidos de alta resolución.....	15
1.4.5 Electroforesis capilar.....	17
1.6 Referencias.....	20
2. Objetivos	26
2.1 Objetivo general.....	26
2.2 Objetivos específicos.....	26
3. Pre-concentración <i>on-line</i>	28
3.1 Electroforesis capilar	28
3.2 Técnicas de pre-concentración <i>on-line</i>	29
3.2.1 Pre-concentración por campo amplificado	30
3.2.2 Pre-concentración por inyección en campo amplificado.....	30
3.2.3 Pre-concentración por volumen de muestra	30
3.3 Metodología experimental	32
3.3.1 Reactivos.....	32
3.3.2 Instrumentación.....	32
3.3.3 Electroforesis capilar.....	32
3.3.4 Optimización de la separación por CE	33
3.3.5 Optimización de la pre-concentración por LVSS	33
3.3.6 Pretratamiento de la muestra	33
3.4 Resultados y discusión.....	34

3.4.1 Evaluación de la separación de α -NAP y β -NAP por CE.....	34
3.4.2 Optimización del sistema de pre-concentración LVSS	39
3.4.3 Parámetros analíticos	44
3.4.4 Aplicación en muestras reales.....	46
3.4.5 Comparación de la metodología.....	47
3.5 Conclusiones	49
3.6 Referencias.....	50
4. Remoción	55
4.1 Remoción de contaminantes orgánicos	55
4.2 Hidróxidos dobles laminares	56
4.3 Metodología experimental	59
4.3.1 Reactivos.....	59
4.3.2 Equipos	59
4.3.3 Síntesis del LDH	60
4.3.4 Aplicación del método.....	60
4.4 Resultados y discusión.....	61
4.4.1 Caracterización del adsorbente.....	61
4.4.2 Evaluación de la composición del LDH en la remoción de NAPs.....	65
4.4.3 Optimización de la elución.....	68
4.4.4 Optimización del sistema de micro-extracción en fase sólida dispersiva.....	70
4.4.5 Efecto de la fuerza iónica.....	72
4.4.6 Análisis de interferentes.....	73
4.4.7 Aplicación en muestras reales.....	74
4.4.8 Comparación del método de remoción.....	75
4.5 Conclusiones	77
4.6 Referencias.....	78
5. Conclusiones generales	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I: Introducción

Figura 1.1	Clasificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos: A) peso molecular y B) estructura.	2
Figura 1.2	Reacción de Molisch.	7
Figura 1.3	Prueba de Sakaguchi.	7
Figura 1.4	Estructura química de ligantes derivados del β -NAP.	8
Figura 1.5	Estructura química de colorantes azoicos que emplean α -NAP y β -NAP en su síntesis.	9

Capítulo III: Pre-concentración *on-line*

Figura 3.1	Esquema de pre-concentración LVSS: A) inyección hidrodinámica de la muestra, B) aplicación del voltaje en polaridad inversa (pre-concentración), C) inversión de la polaridad a normal y D) separación CE en polaridad normal.	31
Figura 3.2	Evaluación del pH de trabajo en la separación: A) pH 8.5, B) 9.0, C) 9.5, D) 10.0, E) 10.5 y F) 11.0. Condiciones de análisis: concentración de ES = 20 mM, 18 kV a $\lambda=214$ nm.	35
Figura 3.3	Efecto de la concentración del ES: A) 5mM, B) 10mM, C) 15mM, D) 20 mM, E) 25 mM y F) 30 mM. Condiciones de análisis: pH = 9.5, 18 kV, a $\lambda=214$ nm.	36
Figura 3.4	Evaluación del voltaje aplicado en la separación: A) 8 kV, B)10 kV, C) 12 kV, D) 14 kV, E) 16 kV y F) 18 kV. Condiciones de análisis: pH = 9.5, concentración de ES= 10mM a $\lambda=214$ nm.	38
Figura 3.5	Electroferogramas de soluciones estándar de α -naftol, β -naftol y ácido α -naftalenacético: A) 10 mg L ⁻¹ α -naftol, 5 mg L ⁻¹ β -naftol, 10 mg L ⁻¹ ácido α -naftalenacético, B) 5 mg L ⁻¹ α -naftol, 10 mg L ⁻¹ β -naftol, 10 mg L ⁻¹ ácido α -naftalenacético y C) 10 mg L ⁻¹ α -naftol, 10 mg L ⁻¹ β -naftol, 10 mg L ⁻¹ ácido α -naftalenacético.	39

Figura 3.6	Superficies de respuesta: A) evaluación del tiempo de inyección con el tiempo de pre-concentración, B) evaluación del tiempo de inyección con el voltaje de pre-concentración y C) evaluación del tiempo de pre-concentración con el voltaje de pre-concentración.	43
Figura 3.7	Comparación de las intensidades de señal: A) solución estándar de α -NAP 0.1 mg L ⁻¹ y β -NAP 0.1 mg L ⁻¹ analizada por LVSS-CE y B) solución estándar de α -NAP 1.0 mg L ⁻¹ y β -NAP 1.0 mg L ⁻¹ analizada por CE.	44
Figura 3.8	Análisis de α -NAP y β -NAP en muestra de agua de grifo por LVSS-CE: A) muestra blanco dopada con EI 50 μ g L ⁻¹ y B) muestra blanco dopada con α -NAP 100 μ g L ⁻¹ , β -NAP 100 μ g L ⁻¹ y EI 50 μ g L ⁻¹ .	47

Capítulo IV: Remoción

Figura 4.1	Esquema micro-extracción en fase sólida dispersiva.	56
Figura 4.2	Estructura de un hidróxido doble laminar.	57
Figura 4.3	Proceso de micro-extracción en fase sólida empleando LDH.	61
Figura 4.4	Espectro FITR del LDH MgAl/Cl.	62
Figura 4.5	Curvas TGA-DTG del LDH.	63
Figura 4.6	Microscopía electrónica de barrido del LDH.	64
Figura 4.7	Efecto de la intercapa en la remoción de α -NAP y β -NAP.	68
Figura 4.8	Efecto de la relación molar en la capacidad de remoción de α -NAP y β -NAP.	69
Figura 4.9	Optimización del proceso de elución empleando acetona/HCl.	70
Figura 4.10	Efecto del pH sobre la capacidad de remoción.	71
Figura 4.11	Efecto de la cantidad de adsorbente en la eficiencia de la remoción.	71
Figura 4.12	Efecto del tiempo de dispersión en la eficiencia de la remoción.	72
Figura 4.13	Efecto de la fuerza iónica en la eficiencia de la remoción.	73
Figura 4.14	Electroferogramas obtenidos en el análisis de NAPs e interferentes: A) solución estándar de α -NAP 1mg L ⁻¹ , β -NAP 1mg L ⁻¹ , bisfenol A 1mg L ⁻¹ y fenol 1mg L ⁻¹ analizada por CE y B) solución estándar de	74

α -NAP 1 mg L^{-1} , β -NAP 1 mg L^{-1} , bisfenol A 1 mg L^{-1} y fenol 1 mg L^{-1} tratada por el proceso DSPME desarrollado y analizado por CE.

Figura 4.15 Electroferogramas obtenidos en la remoción de naftoles por la metodología DSPME: A) muestra de agua de grifo dopada con α -NAP $25\ \mu\text{g L}^{-1}$, β -NAP $25\ \mu\text{g L}^{-1}$ y EI $50\ \mu\text{g L}^{-1}$ analizada por LVSS-CE (180 s de inyección (0.5 psi), 180 s de pre-concentración y -6 kV de voltaje de pre-concentración) y B) muestra de agua de grifo dopada con α -NAP $25\ \mu\text{g L}^{-1}$, β -NAP $25\ \mu\text{g L}^{-1}$ y EI $50\ \mu\text{g L}^{-1}$, tratada por la metodología DSPME propuesta y analizada por LVSS-CE (180 s de inyección (0.5 psi), 180 s de pre-concentración y -6 kV de voltaje de pre-concentración). 75

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo I: Introducción

Tabla 1.1	Propiedades fisicoquímicas de HAPs representativos.	3
Tabla 1.2	Propiedades fisicoquímicas del α -NAP y β -NAP.	6
Tabla 1.3	Determinación de α -NAP y β -NAP en muestras complejas mediante cromatografía de gases.	14
Tabla 1.4	Determinación de α -NAP y β -NAP en muestras complejas mediante HPLC.	16

Capítulo III: Preconcentración *on-line*

Tabla 3.1	Diseño Box-Behnken.	40
Tabla 3.2	Resultados ANOVA en la pre-concentración de α -NAP y β -NAP por LVSS-CE.	41
Tabla 3.3	Parámetros analíticos CE-UV y LVSS-CE.	45
Tabla 3.4	Análisis de α -NAP y β -NAP en muestras de agua.	46
Tabla 3.5	Comparación de la técnica LVSS-CE con metodologías de pre-concentración reportadas.	48

Capítulo IV: Remoción

Tabla 4.1	Parámetros de adsorción para α -NAP y β -NAP.	65
Tabla 4.2	Pruebas de elución empleando diferentes solventes orgánicos para LDHs con proporciones 4:1 y 3:1.	69
Tabla 4.3	Comparación de la metodología de remoción desarrollada con metodologías reportadas en la literatura.	76

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrilo
AFM	Microscopía de fuerza atómica
AuNPs	Nano partículas de oro
BBD	Diseño Box-Behnken
BBD	Diseño de experimentos Box-Behnken
BenO⁻	Benzoato de sodio
BPA	Bisfenol A
CE	Electroforesis capilar
CPE	Extracción por punto nube
DAD	Detector de arreglo de diodos
DER	Desviación estándar relativa
DPV	Voltamperometría de pulso diferencial
DSPE	Extracción en fase sólida dispersiva
DSPME	Micro-extracción en fase sólida dispersiva
EI	Estándar interno
ES	Electrolito soporte
EtOH	Etanol
FAAS	Espectroscopía de absorción atómica de flama
FASI	Pre-concentración por inyección por campo amplificado
FASS	Pre-concentración por campo amplificado
FID	Detector de ionización de llama
FP	Factor de pre-concentración
GC	Cromatografía de gases
HAPs	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
HNCMS	Micro esferas de carbono dopadas con nitrógeno
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
HS-B-CS	β -ciclodextrina tiolada
K	Kelvin
LDH	Hidróxidos dobles laminares
LIF	Fluorescencia inducida por láser
LLE	Extracción líquido-líquido

LODs	Límites de detección
LOQ	Límite de cuantificación
LOQ	Límite de cuantificación
LVSS	Pre-concentración por volumen de muestra
MeOH	Metanol
MIPs	Polímeros de impresión molecular
MS	Espectrometría de masas
MSPE	Extracción en fase sólida magnética
NAP	Naftaleno
PH_{PZC}	pH de punto de carga cero
Q_{MAX}	Capacidad máxima de saturación
SAALLME	Extracción líquido-líquido asistida por aire y sal
SALLE	Extracción líquido-líquido asistida por sal
SDS⁻	Dodecilsulfato de sodio
SEM	Microscopía electrónica de barrido electrónico
SPE	Extracción en fase sólida
TEM	Microscopía de transmisión electrónica
TGA	Análisis termogravimétrico
α-NAP	α-Naftol
β-NAP	β-naftol

Capítulo 1: Introducción

1. Introducción

1.1 Hidrocarburos aromáticos policíclicos

La contaminación ambiental es un problema inherente del crecimiento poblacional que conlleva una serie de desafíos en la planificación urbana, el desarrollo demográfico y la salud pública (Manzetti, 2013). La salud pública es uno de los pilares de la sociedad moderna y es afectada por la contaminación, siendo la principal causa del desarrollo de diferentes afecciones. El tráfico automovilístico, actividades industriales, así como otras actividades de la era moderna representan la principal fuente de emisión de contaminantes al medio ambiente y dentro de estas emisiones, se destaca la presencia de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Abdel-Shafy y Mansour, 2016).

Los HAPs consisten en dos o más anillos de benceno fusionados en ordenamientos lineares o angulares, por definición contienen exclusivamente carbono (C) e hidrógeno (H) y son formados por procesos de combustión incompleta y/o pirólisis a elevadas temperaturas (Hu et al., 2020). Estos contaminantes se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente y pueden ser encontrado en el agua, suelo y aire (Baek et al., 1991).

1.1.1 Fuentes de emisión y presencia en el ambiente

Las fuentes de emisión naturales incluyen: reacciones en organismos vivos, incendios forestales y erupciones volcánicas, mientras que las emisiones antropogénicas son debidas principalmente a la combustión de materia orgánica durante actividades como: tabaquismo, tráfico vehicular, incineración de residuos, quema de biomasa, uso de carbón y derivados de petróleo (Rubio-Clemente et al., 2014).

Los HAPs son liberados principalmente a través de emisiones gaseosas y transportados al suelo y agua, sin embargo, existen otras fuentes como filtraciones de fuentes naturales y a través de derrames intencionales o accidentales durante el transporte y refinación del petróleo (Rao et al., 2008).

1.1.2 Clasificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

Existen dos clasificaciones de los HAPs basadas en:

1. Peso molecular. Los HAPs de bajo peso molecular son aquellos que contienen 2 o 3 anillos aromáticos, mientras que los de alto peso molecular son aquellos que contienen 4 o más anillos aromáticos (figura 1.1 A) (Kim et al., 2013).

2. Estructura. Los HAPs alternantes están formados exclusivamente por anillos aromáticos de 6 miembros, mientras que los HAPs no alternantes contienen en su estructura anillos no aromáticos de 4, 5 y 6 miembros (figura 1.1 B) (Vassura et al., 2005).

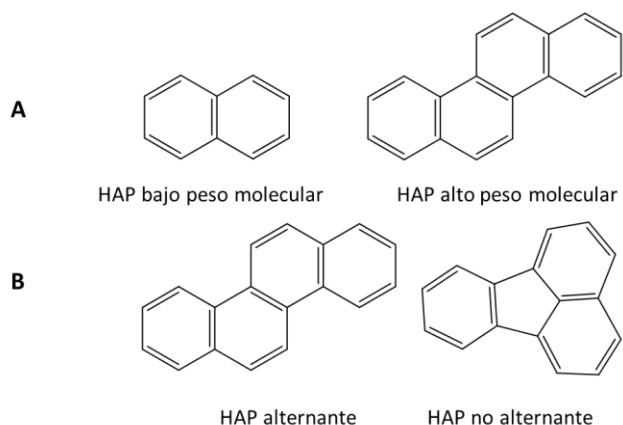


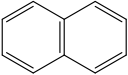
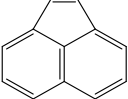
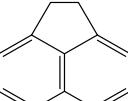
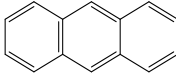
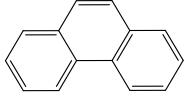
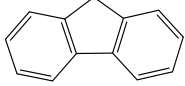
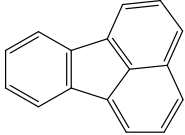
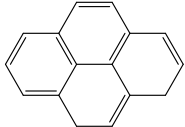
Figura 1.1. Clasificación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos: A) peso molecular y B) estructura.

1.1.3 Propiedades fisicoquímicas de los HAPs

Los HAPs son compuestos coloridos y cristalinos a temperatura ambiente, altamente lipófilos y miscibles en solventes orgánicos algunas de sus propiedades físicas varían conforme a su peso molecular y estructura, por ejemplo, su presión de vapor disminuye conforme incrementa su peso molecular y su solubilidad en agua decrece con el aumento de anillos aromáticos en la estructura (Eldos et al., 2022).

Los HAPs presentan sensibilidad a la luz, resistencia al calor, conductividad y presentan espectros UV únicos y la mayoría de estos presentan fluorescencia. La tabla 1.1, resume algunas de las propiedades fisicoquímicas más importantes para los HAPs más representativos (Kim et al., 2013).

Tabla 1.1. Propiedades fisicoquímicas de HAPs representativos.

Nombre	Estructura	Fórmula	PM (g mol ⁻¹)	Presión de vapor (Pa)	Punto de ebullición (°C)	Solubilidad en agua (mg L ⁻¹)	Log K _{ow}
Naftaleno		C ₁₀ H ₈	128	11.9	218	320	3.5
Acenaftileno		C ₁₂ H ₈	152	3.86	280	3.93	3.94
Acenafteno		C ₁₂ H ₁₀	154	5 x 10 ⁻¹	279	5.30	3.95
Antraceno		C ₁₄ H ₁₀	178	3.4 x 10 ⁻³	340	6.40 x 10 ⁻¹	5.33
Fenantreno		C ₁₄ H ₁₀	178	9.07 x 10 ⁻²	339-340	1.24	5.62
Fluoreno		C ₁₃ H ₁₀	166	4.32 x 10 ⁻¹	295	1.85	4.28
Fluoranteno		C ₁₆ H ₁₀	202	1.08 x 10 ⁻³	373-393	2.5 x 10 ⁻¹	4.62
Pireno		C ₁₆ H ₁₀	202	5.67 x 10 ⁻⁴	360-404	1.40 x 10 ⁻¹	4.47

1.1.4 Exposición humana a los HAPs

Las principales fuentes de exposición a los HAPs son el aire y el tabaquismo, sin embargo, algunos alimentos son una fuente considerable de exposición debido a la elevada temperatura durante los procesos de cocción (asado, rostizado y freído) que favorecen la formación de HAPs (Rose et al., 2015). Por otro lado, algunos cultivos (trigo, centeno y lentejas) pueden sintetizar HAPs durante su crecimiento o bien absorberlo del agua, aire y suelo (Kim et al., 2014). Conforme la bibliografía, la concentración de HAPs suele encontrarse en niveles traza o ultratrazas (mg L^{-1} y $\mu\text{g L}^{-1}$) en función de la matriz analítica (Kim et al., 2014).

Una fuente de exposición crítica, es la denominada exposición ocupacional, la cual hace alusión al contacto con contaminantes como resultado del lugar de trabajo de una persona, en este caso, las personas mayormente expuestas, son aquellas que se desempeñan en industrias mineras, metalúrgicas y petroquímicas. Las rutas de exposición, incluyen inhalación, ingestión y contacto dérmico (Sousa et al., 2022).

Los efectos sobre la salud humana dependen del tiempo de exposición, concentración, ruta de exposición, así como la preexistencia de enfermedades y la edad. Para personas expuestas por exposición ocupacional, se ha documentado el desarrollo de cáncer de piel, pulmón, vejiga y estómago (Kim et al., 2013). Adicionalmente, existe información de ensayos en animales que demuestran la naturaleza teratogénica y genotóxica de los HAPs (Sogbanmu et al., 2016).

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos, USEPA por sus siglas en inglés ha identificado 16 HAPs como contaminantes prioritarios, estos incluyen: Acenaftileno, acenafteno, antraceno, fenantreno, fluoreno, fluoranteno, pireno, benzo(a)-antraceno, criseno, benzo(a)-pireno, benzo[b]-fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo(ghi)-perileno, dibenzo[a,h]antraceno y naftaleno (Emoyan et al., 2020).

1.2 Naftaleno

El naftaleno (NAP) es un compuesto químico que pertenece a la familia de los HAPs y es el compuesto más común de este grupo; es un sólido blanco cristalino con fórmula $C_{10}H_8$, contiene dos anillos aromáticos de benceno en su estructura, así como un punto de fusión y ebullición de 80.5 y 218 °C, respectivamente (Alshabib, 2022). El NAP es encontrado principalmente en repelentes de polillas, cigarrillos y desodorantes; asimismo, es un constituyente del diésel y combustible para aviones, sin embargo, su principal fuente de emisión son los procesos incompletos de combustión industriales, domésticos y naturales (Alshabib, 2022).

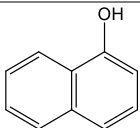
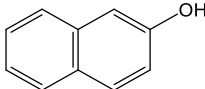
La producción industrial de NAP está basada en la destilación del alquitrán de hulla, posteriormente, las fracciones colectadas del destilado son procesadas para obtener NAP con diferente pureza, de acuerdo a su aplicación industrial como precursor en la producción de anhídrido ftálico, naftoles, colorantes, surfactantes, pesticidas, plastificantes, resinas, etc (Preuss et al., 2003; Jia y Batterman, 2010)

A pesar de ser un importante precursor en diversas industrias, el NAP puede inducir daño en el sistema respiratorio e inmune (Omidi et al., 2020). En 2002 el NAP se categorizó como posible carcinógeno por el centro internacional de investigaciones sobre el cáncer y en ese mismo año, la conferencia americana de higienistas industriales estableció al α -naftol (α -NAP) y β -naftol (β -NAP) como los marcadores biológicos de la exposición al NAP (Preuss et al., 2003).

1.3 α -naftol y β -naftol

El α -NAP y β -NAP son isómeros derivados del NAP que difieren entre sí por la posición del grupo hidroxilo sobre el NAP. La tabla 1.2 resume las propiedades fisicoquímicas de estos contaminantes.

Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas del α -NAP y β -NAP.

Nombre	Estructura	Fórmula	PM (g mol ⁻¹)	Densidad (g mL ⁻¹)	Punto de ebullición (°C)	Solubilidad en agua (g L ⁻¹)	Log K _{ow}
α -naftol		C ₁₀ H ₈ O	144	1.28	288	0.1	2.85
β -naftol		C ₁₀ H ₈ O	144	1.27	285	1	2.7

1.3.1 Aplicaciones de α -NAP y β -NAP

El α -NAP y β -NAP tienen aplicaciones analíticas, así como industriales y se estima que la producción mundial de α -NAP y β -NAP supera las 65 000 toneladas al año (Zhu et al., 2012).

1.3.1.1 Aplicaciones analíticas del α -NAP y β -NAP

Reacción de Molisch

Prueba cualitativa que permite evidenciar la presencia de carbohidratos en una disolución; la reacción utiliza una solución de α -NAP al 5% (p/v) en etanol. Los polisacáridos y disacáridos se hidrolizan con ácido sulfúrico concentrado hasta monosacáridos que posteriormente son deshidratados para formar 5-hidroximetilfurfural, el cual reacciona con α -NAP formando un compuesto de color púrpura. La figura 1.2 muestra las etapas en la reacción de Molisch (Singh, 2000).

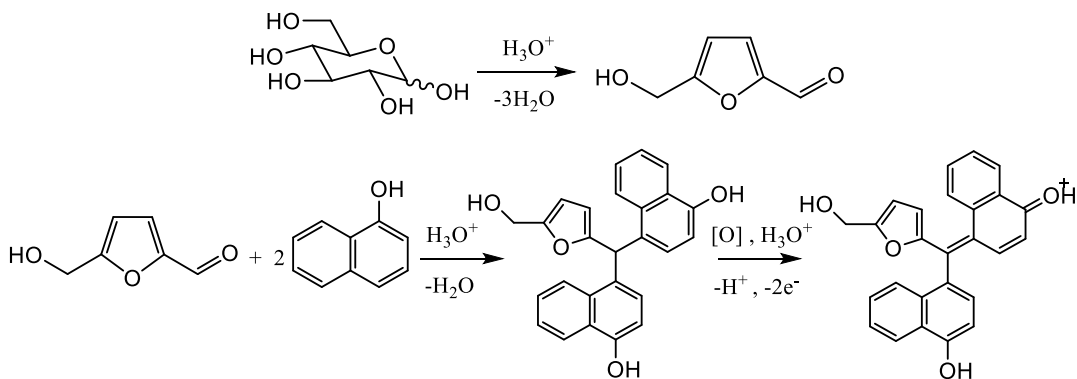


Figura 1.2. Reacción de Molisch.

Prueba de Sakaguchi

La prueba de Sakaguchi es útil en la detección de L-arginina y se utiliza con el objetivo de identificar proteínas debido a que la mayoría de las proteínas contienen a éste aminoácido. El reactivo de Sakaguchi consiste en α -NAP e hipobromito de sodio. El grupo guanidina en la arginina reacciona con el reactivo de Sakaguchi para formar un compuesto color rojo. La figura 1.3 ilustra la prueba de Sakaguchi (Patil y Muskan, 2009).

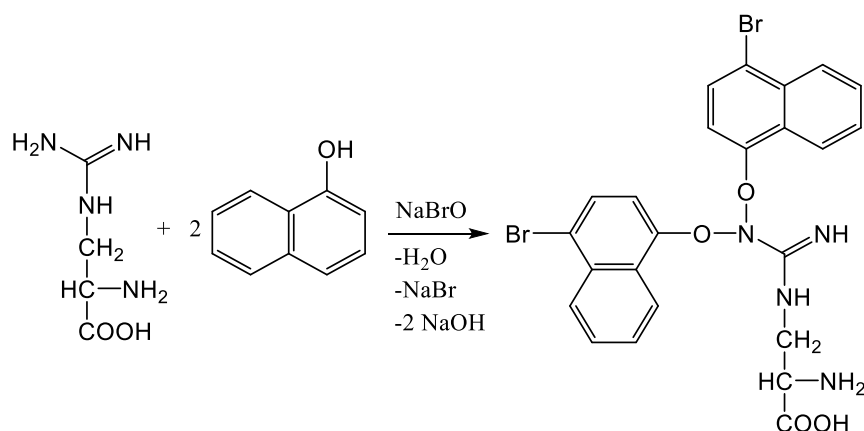


Figura 1.3. Prueba de Sakaguchi.

Síntesis de reactivos derivatizantes

El β -NAP ha sido empleado en la formación de ligandos orgánicos como el 1-(2-piridilazo)- β -naftol y el 1-(2-tiazololazo)- β -naftol que son empleados como

reactivos derivatizantes para la formación de complejos coloridos (figura 1.4) en la determinación de metales como Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} y Zn^{2+} (Tarighat y Afkami, 2012).

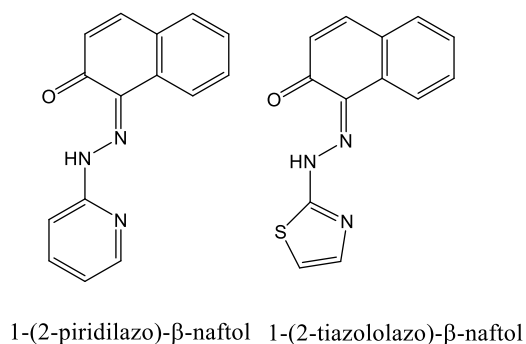


Figura 1.4. Estructura química de ligantes derivados del β -NAP.

Finalmente, una de las aplicaciones analíticas más importantes del α -NAP y β -NAP es que estos son los biomarcadores de la exposición al NAP, y la determinación de estos compuestos en muestras biológicas es la forma más acertada de estimar la cantidad de naftaleno a la que una persona está expuesta (Omidi et al., 2020).

1.3.1.2 Aplicaciones industriales del α -NAP y β -NAP

El α -NAP y β -NAP son empleados en la síntesis de productos de alto valor agregado, por ejemplo, el α -NAP es empleado en la producción de carbaril, el cual es uno de los plaguicidas más utilizados para la protección de jardines domésticos, agricultura y silvicultura, sin embargo, en años recientes se demostró su toxicidad hacia los humanos y se clasificó como un potencial carcinógeno de acuerdo a la EPA, razón por la cual fue prohibido en Europa (Brocenschi et al., 2017).

Una de las aplicaciones más importantes del α -NAP y β -NAP es la producción de colorantes azoicos, los cuales son el grupo de colorantes químicos más importantes en la industria, empleados en la tinción de fibras (naturales y sintéticas), alimentos, cosméticos y bebidas (Chung, 2016).

La producción de colorantes azoicos se lleva a cabo a través de una reacción de diazotación, donde una amina es transformada en una sal de diazonio, que posteriormente reacciona con un reactivo de acoplamiento, en este caso el α -NAP

y β -NAP (Dabbagh et al., 2007). En la figura 1.5 se muestra la estructura química de los colorantes azoicos más representativos que emplean α -NAP y β -NAP en su producción.

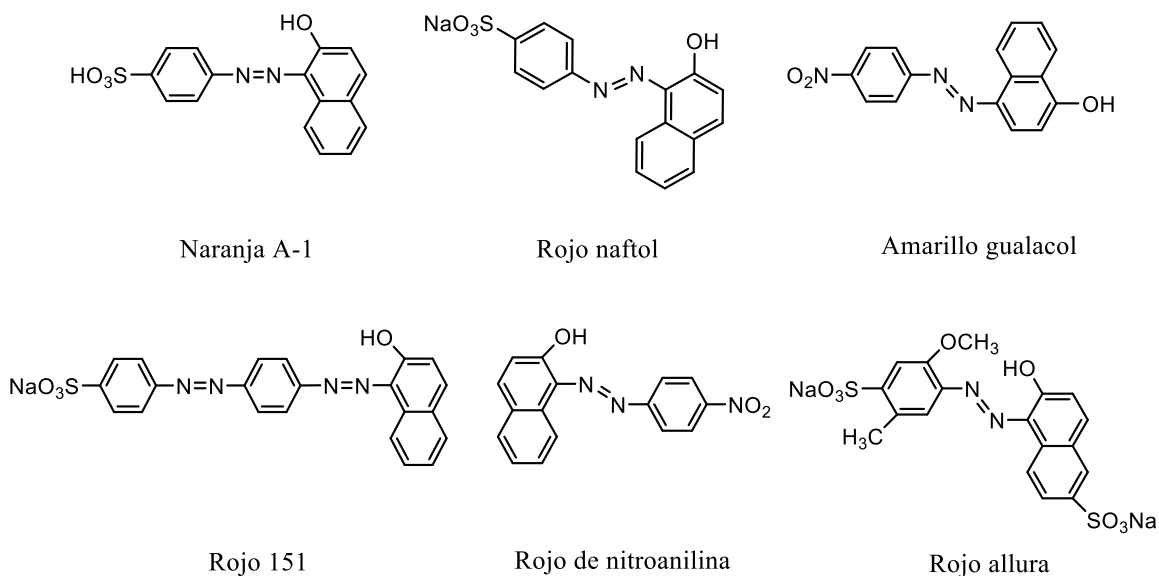


Figura 1.5. Estructura química de colorantes azoicos que emplean α -NAP y β -NAP en su síntesis.

De acuerdo a datos de la UNESCO, se ha documentado que en países desarrollados hasta el 90% de las aguas residuales provenientes de la industria son descargadas al medio sin algún tratamiento previo (Bhaduri et al., 2016). Debido a la extensa aplicación del α -NAP y β -NAP, estos inevitablemente se encuentran presentes en cuerpos de agua, lo cual es consecuencia principalmente de procesos de contaminación cruzada (proceso mediante el cual un contaminante pasa de una matriz a otra) (Peng et al., 2016).

El problema de la exposición a estos contaminantes reside en su elevada toxicidad, con efectos mutagénicos, teratogénicos, y potencialmente carcinógenos (Omidi et al., 2020; Liu et al., 2021).

Dichos efectos adversos han motivado gran cantidad de investigaciones dentro de las cuales podemos encontrar dos principales vertientes, la primera es la cuantificación de α -NAP y β -NAP en muestras ambientales y biológicas empleando

técnicas instrumentales, mientras que la segunda tiene que ver con la aplicación de nanomateriales con el objetivo de remover dichos contaminantes de cuerpos de agua.

A continuación, se hace una revisión bibliográfica del estado del arte de las técnicas analíticas en la cuantificación de α -NAP y β -NAP.

1.4 Técnicas analíticas en la determinación de α -NAP y β -NAP

1.4.1 Espectroscopia UV-Vis

En 1955 Parsons y colaboradores desarrollaron una metodología para la determinación de α -NAP en presencia de β -NAP, la cual se basa en las diferentes velocidades de reacción del α -NAP y β -NAP con la sal de diazonio del ácido 2-naftilamino-5,7-disulfónico. La determinación se realiza a 485 nm y permite la determinación de α -NAP en mezclas de composición 0.00 a 0.50% de α -NAP con β -NAP respectivamente (Parsons et al., 1955).

En 1963 Pearse desarrolló una metodología para la determinación de α -NAP que se basa en la reacción del α -NAP con KI en medio básico, lo que conlleva a la formación de un compuesto colorido que posteriormente es extraído con xileno. La determinación se lleva a cabo a 528 nm y el método es útil para análisis cuantitativo en el intervalo de 5 a 35 mg L⁻¹ siendo selectivo a α -NAP en presencia de β -NAP y otros compuestos fenólicos (Pearse, 1963).

1.4.2 Electroquímica

Los métodos electroquímicos se han implementado con éxito en el análisis de α -NAP y β -NAP. Las metodologías reportadas se basan en la modificación de electrodos (pasta de carbono y carbón vítreo con el fin de mejorar la sensibilidad y selectividad en las determinaciones).

En 2007 Tsai y colaboradores, describieron la modificación de un electrodo de carbón vítreo con una membrana de intercambio aniónico (Tosflex IE-SA 48) para

la determinación de β -NAP, esto basado en la observación de que en una solución alcalina se forman aniones de β -NAP que pueden ser intercambiados en la membrana, lo que permite mejorar la sensibilidad analítica. La modificación del electrodo permite obtener un límite de detección (LOD) de 200 nmol L^{-1} utilizando voltamperometría diferencial de pulso (DPV). La selectividad del electrodo se evaluó en presencia de diferentes aniones y surfactantes demostrando que no representan interferencia en la medición. La determinación de β -NAP se realizó en muestras de agua de grifo y subterránea, obteniendo porcentajes de recuperación absoluta cercanos al 100% en todos los casos (Tsai y Chen, 2007).

En 2012 Zhu y colaboradores modificaron un electrodo de carbón vítreo con nano partículas de oro (AuNPs), micro esferas de carbono dopadas con nitrógeno (HNCMS) y β -ciclodextrina tiolada (HS- β -CS)) al que denominaron HS- β -CD/AuNPs/HNCMS/GC, dicho electrodo demostró mejorar la intensidad de corriente en el proceso de oxidación del α -NAP y β -NAP cuando es comparado con los electrodos AuNPs/HNCMS/GC, HNCMS/GC y el electrodo de carbón vítreo sin modificar. La determinación se lleva a cabo por DPV y provee LODs de 1 y 1.2 nmol L^{-1} para α -NAP y β -NAP, respectivamente. La selectividad del electrodo se evaluó en presencia de diferentes iones así como compuestos orgánicos y se determina que la señal analítica no presenta interferencias. Por otra parte, la reproducibilidad en la fabricación del electrodo obtuvo porcentajes de desviación estándar relativa (%DER) inferiores al 3.78% y la metodología se aplicó en muestras de agua de río (Zhu et al., 2012).

En 2016 Pang y colaboradores reportaron la modificación de un electrodo de pasta de carbono con óxido de grafeno. Dicha modificación, permite la acumulación de α -NAP y β -NAP en el electrodo, lo que conlleva a mejoras en la sensibilidad con respecto del electrodo sin modificar. La determinación se realiza por DVP y bajo las condiciones óptimas de análisis, el método provee de LODs de hasta 0.43 nmol L^{-1} y puede ser aplicado en muestras de orina (Pang et al., 2016).

En 2017 Brocenschi y colaboradores reportaron el uso de un electrodo de diamante dopado con boro para la determinación de α -NAP y β -NAP por DPV. La metodología

proporciona LODs de 50 y 100 nmol L⁻¹ para α -NAP y β -NAP, respectivamente, la precisión de la metodología se evaluó en términos de la repetitividad y reproducibilidad, obteniendo %DER inferiores al 5.2% en todos los casos, la exactitud del método se evaluó a través del porcentaje de recuperación absoluta en el análisis de muestras dopadas y no se encontraron diferencias significativas entre la cantidad de analito agregada y la determinada por la metodología (Brocenschi et al., 2017).

1.4.3 Cromatografía de gases

En 1996 Bieniek, reportó el desarrollo de una metodología que permite la determinación simultánea de compuestos fenólicos, así como del α -NAP y β -NAP, dicha metodología está basada en la combinación de un proceso de hidrólisis, al que prosigue un proceso de extracción en fase sólida utilizando una columna C₁₈ y el posterior análisis por cromatografía de gases (GC) con detector de ionización de llama SPE-CG-FID. Bajo las condiciones óptimas de análisis la metodología proporciona LODs en el intervalo de 0.1-0.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$, la precisión y exactitud de la metodología se evaluó en 3 niveles de concentración, obteniendo %DER de 2.6 a 16.6% y porcentajes de recuperación de 74 a 100% en muestras de orina (Bieniek, 1996).

En 2011 Shin y Lim, describieron el desarrollo de una metodología para la determinación de 1-hidroxipireno y α -NAP por cromatografía de gases acoplado a un detector de espectrometría de masas. La metodología consiste en una hidrólisis enzimática utilizando la enzima β -Glucuronidasa/arilsulfatasa y una extracción líquido-líquido con pentano, para finalmente llevar a cabo la derivatización de los analitos utilizando el reactivo N-Metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida. Bajo las condiciones óptimas de análisis, es posible alcanzar LODs de 0.01-0.07 $\mu\text{g L}^{-1}$, la metodología permite obtener porcentajes de recuperación de 96.9 a 109% con %DER inferiores al 15%. La metodología fue aplicada en 20 muestras de orina, recolectadas de trabajadores expuestos al naftaleno por exposición ocupacional encontrando muestras positivas en concentraciones de 0.01-0.88 y 0.07-13.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para α -NAP y 1-hidroxipireno, respectivamente (Shin y Lim, 2011).

En 2013 Lim y Shin, realizaron modificaciones a su metodología reportada en 2011 para hacerla apta en el análisis de 1-hidroxipireno y α -NAP en muestras de pescado. La metodología permite obtener LODs de $0.01 \mu\text{g kg}^{-1}$ con porcentajes de recuperación entre 86.1 y 105% en muestras dopadas, con %DER inferiores a 5.1%. La metodología fue aplicada en 22 muestras de pescado expuestas a un derrame de petróleo. El α -NAP y 1-hidroxipireno fueron encontrados en concentraciones de 0.09-12.42 y 0.03-0.06 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente (Lim y Shin, 2013).

La tabla 1.3, presenta información detallada referente a la preparación de la muestra, así como de la instrumentación utilizada.

Tabla 1.3. Determinación de α -NAP y β -NAP en muestras complejas mediante cromatografía de gases.

Analito	Matriz	Preparación de muestra	Condiciones instrumentales	LODs	Recuperación (%)	Ref
Fenol, cresol, isómeros de xileno, α -NAP y β -NAP	Orina	1 mL de orina + 0.4 mL de HCl concentrado en un tubo de vidrio (95°C, 90 min), la muestra es eluida a través de una columna SPE (C ₁₈) acondicionada con 5 mL de metanol + 8 mL de agua destilada. La columna es lavada con 5 mL de agua destilada y la elución es llevada a cabo con 1 mL de acetonitrilo-metanol (1:10 v/v) (1 mL min ⁻¹).	CG-FID Fase estacionaria: Columna capilar (25 m x 0.32 mm i.d, 0.52 μ m) Fase móvil: gas acarreador: helio (flujo 2.5 mL min ⁻¹) Temperatura del inyector: 270°C Gradiente de temperatura: 50°C (1 min), 5°C min ⁻¹ hasta 90°C, 2°C min ⁻¹ hasta 104 °C, 10°C min ⁻¹ hasta 250°C.	0.10-0.20 μ g mL ⁻¹	74.0-100.0	Biniak, 1996
1-hidroxipireno y β -NAP	Orina	2 mL de orina + 2 mL de un buffer de acetatos + 10 μ L de β -Glucuronidasa/arilsulfatasa (37°C, 3 H), los analitos son extraídos con 5 mL de pentano (20 min), posteriormente al extracto orgánico se agregan 50 μ L de MTBDMSTFA, la mezcla es evaporada a sequedad y reconstituida en 50 μ L de MTBDMSTFA (60°C, 30 min)	CG-MS Fase estacionaria: Columna HP-5MS (30 m x 0.22 mm i.d, 0.25 μ m) Fase móvil: NR Temperatura del inyector: NR Gradiente de temperatura: 80°C (1 min), 20°C min ⁻¹ hasta 320°C MS: 70 eV y 230°C	0.01-0.07 μ g L ⁻¹	96.8-109.0	Shin y Lim, 2011
1-hidroxipireno y β -NAP	Alimentos (pescado)	2 g de muestra + 5 mL de KOH 2M, la muestra es homogeneizada durante 10 min (90°C, 90 min), extracción con 10 mL de pentano, se agregan 5 mL de HCl 2M a la fase acuosa que de manera subsecuente es extraída con pentano (10 mL x 2). Finalmente, se agregan 50 μ L de MTBDMSTFA al extracto orgánico y la mezcla es evaporada a sequedad y reconstituida en 50 μ L de MTBDMSTFA (60°C, 30 min).	CG-MS Fase estacionaria: Columna HP-5MS (30 m x 0.22 mm i.d, 0.25 μ m) Fase móvil: NR Temperatura del inyector: NR Gradiente de temperatura: 80°C (1 min), 20°C min ⁻¹ hasta 320°C MS: 70 eV y 230°C	0.01 μ g kg ⁻¹	86.1-105.0	Limy y Shin, 2013

NR: No reportado

1.4.4 Cromatografía de líquidos de alta resolución

En 1995 Massey y colaboradores desarrollaron una metodología para la determinación de carbaril y α -NPA en muestras de agua subterránea. La metodología consiste en una hidrólisis básica seguida de un proceso de dilución para el posterior análisis con cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con detección de fluorescencia. Se realizó un estudio sistemático de los factores que influyen el proceso de fluorescencia (pH, solventes, longitud de onda de excitación y emisión). Se evaluó la composición de la fase móvil para llevar a cabo la separación y bajo las condiciones óptimas, la metodología provee LODs de 1.0-1.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ y puede ser aplicada de manera eficiente en muestras de agua subterránea con porcentajes de recuperación de 90 a 93% (Massey et al., 1995).

En 1999 Wang y Kuo, describieron la combinación de un proceso de extracción líquido-líquido utilizando éter y el posterior análisis por HPLC-UV. La metodología permite llevar a cabo la determinación en 7 min y no presenta interferencias en presencia de 7 colorantes que se reportan en la composición del tinte de cabello. Bajo las condiciones óptimas la metodología provee de LODs 0.95 a 1.25 mg L^{-1} y porcentajes de recuperación entre 98 y 101% con %DER inferiores al 5%. La metodología desarrollada fue aplicada en 9 productos comerciales encontrando a los analitos en concentraciones de 1.4 a 5% (p/p) (Wang y kuo, 1999).

En 2014 Zhou y colaboradores aplicaron una micro-extracción dispersiva líquido-líquido para la pre-concentración de 2,4-dinitronaftol, Bisfenol A (BPA), α -NAP y β -NAP utilizando una mezcla de acetona y clorobenceno y el posterior análisis por HPLC-UV. Bajo las condiciones óptimas la metodología permite alcanzar LODs de 0.11 a 0.62 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando 10 mL de muestra. La exactitud de la metodología se evaluó al analizar el porcentaje de recuperación en muestras reales de agua de nieve derretida en dos niveles de concentración, obteniendo resultados entre 86.8 y 118.0% con %DER inferiores a 9.3% (Zhou et al., 2014).

La tabla 1.4, resume el proceso de preparación de muestras y brinda información de la instrumentación utilizada.

Tabla 1.4. Determinación de α -NAP y β -NAP en muestras complejas mediante HPLC.

Analito	Matriz	Preparación de muestra	Condiciones instrumentales	LODs	Recuperación (%)	Ref
Carbaryl y α -NAP	Agua subterránea	Muestra + 1 mL de NaOH 2M/MeOH incubada durante 15 min, posteriormente se agrega 1 mL de HCl 2M y se diluye con MeOH grado HPLC.	HPLC Fase estacionaria: Zorbax C ₈ Fase móvil: 55% agua: 45% acetonitrilo, pH 10, isocrático, (flujo: NR) Detector: fluorescencia, λ_{ex} = 330 nm, λ_{em} = 472 nm Volumen de inyección: NR	1.00-1.40 $\mu\text{g L}^{-1}$	90.0-93.0	Massey et al., 1995
Resorcinol y α -NAP	Tinte de cabello	0.5 g de tinte solubilizados en 10 mL de una mezcla A (etanol/agua (50:50 v/v)), la mezcla A fue extraída con 15 mL de éter, y la fracción orgánica se evapora a sequedad y es reconstituida en 10 mL de la mezcla A, la solución resultante es filtrada con una membrana de 0.45 μm y en una segunda ocasión con una de 0.20 μm .	HPLC Fase estacionaria: μ Bondpack C ₁₈ (150 mm x 3.9 mm) Fase móvil: 50% agua: 50% metanol, isocrático, (flujo: 1 mL/min) Detector: UV, λ = 270nm Volumen de inyección: 25 μL	0.95-1.25 mg L^{-1}	98.0-101.0	Wang y kuo, 1999
α -NAP, β -NAP 2,4-dinitronaftol y BPA	Agua de nieve	10 mL de muestra + 500 μL de acetona + 100 μL de clorobenceno (2 min), separación por centrifugación, la fracción orgánica es evaporada a sequedad y reconstituida en 200 μL de MeOH.	HPLC Fase estacionaria: VP-ODS C ₁₈ , (250 mm x 4.6 mm, 5 mm) Fase móvil: 45% agua: 55% metanol (1% HAcO), isocrático, (flujo: 0.8 mL/min) Detector: UV, λ = 275nm Volumen de inyección: 10 μL	0.11–0.62 $\mu\text{g L}^{-1}$	86.8-118.0	Zhou et al., 2014

1.4.5 Electroforesis capilar

En 2011 Zhong et al., describieron el desarrollo de una metodología de preconcentración para el análisis de BPA, α -NAP y β -NAP en muestras de agua utilizando una extracción por punto nube y el posterior análisis por electroforesis capilar (CE). La metodología consiste en la adición del surfactante Triton X-114 el cual actúa como la fase extractante; una vez completa la extracción se realiza la separación de las fases a través de centrifugación y el extracto de surfactante es diluido con acetonitrilo para ser inyectado. Se realizó un estudio sistemático de los factores que influyen en el proceso de extracción (pH, concentración de Triton X-114, temperatura y tiempo de extracción), así como de la separación electroforética (concentración del electrolito soporte, solventes orgánicos y pH). La metodología provee LODs de 0.20 a 0.50 $\mu\text{g L}^{-1}$. Se analizaron muestras de agua de río y al no encontrar resultados positivos, se realizó el dopaje de las muestras obteniendo porcentajes de recuperación de 92.43 a 104.4% (Zhong et al., 2011).

En 2016 Xu et al., describieron una metodología para la determinación de α -NAP y β -NAP en muestras de agua de río y orina. En este trabajo el electrolito soporte contenía un complejo fluorescente Ni(IV)-luminol, y la determinación de los analitos se basa en una detección indirecta a través de la inhibición de la intensidad de fluorescencia del complejo presente en el electrolito soporte. La metodología provee LODs de 2.7 a 3.1 $\mu\text{g L}^{-1}$, permitiendo obtener porcentajes de recuperación de 89.2 a 107.5%. La metodología se aplicó en 14 muestras de orina encontrando 3 muestras positivas a los analitos en concentraciones de 8.4 a 57.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Xu et al., 2016).

En 2016 Peng et al., desarrollaron una metodología de pre-concentración en línea basada en la inyección en campo amplificado (FASI) para la determinación de BPA, α -NAP y β -NAP en muestras de agua de lago y refrescos. Se realizó un estudio sistemático de los factores que influyen la pre-concentración en línea (concentración de ácido trifluoroacético (TFA) en la muestra, efecto de solventes orgánicos, efecto de la concentración de NaCl, longitud de inyección de agua y longitud de inyección de la muestra). Bajo las condiciones óptimas de análisis es

posible obtener LODs de 38 a 71 $\mu\text{g L}^{-1}$, finalmente, se realizó el análisis de muestras reales dopadas obteniendo porcentajes de recuperación de 82 a 109.3% (Peng et al., 2016).

1.5 Nanomateriales empleados en la remoción de α -NAP y β -NAP

En 2011 se llevó a cabo la investigación de la cinética y termodinámica de la adsorción del α -NAP empleando grafeno sulfonado como adsorbente. La morfología del adsorbente fue caracterizada a través de microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía de transmisión electrónica (TEM), así como microscopía de fuerza atómica (AFM), y en todos los casos se verifica la morfología laminar característica del grafeno. Se construyeron las isothermas de adsorción en 3 temperaturas y de acuerdo al modelo de Langmuir, existe una dependencia entre la cantidad máxima de adsorción y la temperatura, pues ésta varía de 2.3 mmol g^{-1} a 7.1 mmol g^{-1} cuando la temperatura aumenta de 293.15 a 333.15 K, esto debido al aumento en la velocidad de difusión del α -NAP en el adsorbente. Finalmente, se evalúa la termodinámica de la adsorción y se corrobora la espontaneidad de la adsorción al obtener valores de ΔG negativos en las 3 temperaturas evaluadas, además, se determina que la adsorción es un proceso endotérmico, lo cual explica porqué al aumentar la temperatura se mejora la capacidad máxima de adsorción (Zhao et al., 2011).

En 2013 se describe el uso de una resina constituida de estireno y divinilbenceno, para la remoción de β -NAP en muestras de agua. Se evaluaron los factores cantidad de resina, pH, así como la presencia de diferentes aniones en la eficiencia de la remoción. Bajo las condiciones óptimas de trabajo se construyeron las isothermas de adsorción, los datos experimentales se ajustan al modelo de Langmuir y se determina que la capacidad máxima de adsorción es de 210 mg g^{-1} , por otra parte, el valor de ΔG corrobora la espontaneidad de la adsorción, la cual es también un proceso endotérmico. Una de las principales ventajas del uso de esta resina, reside en que puede ser regenerada con una solución 1% NaOH (p/v) y 50% etanol (v/v) y

la eficiencia de la extracción solo decrece en 9% tras cuatro ciclos de uso (Huang et al., 2013).

Por otro lado, el uso de magnetita recubierta con polianilina ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PANI}$) en la remoción de BPA, α -NAP y β -NAP fue descrita en 2016. A través de SEM y TEM se hizo una comparación entre la magnetita pura y la magnetita recubierta, encontrando diferencias en la morfología y el tamaño de partícula. La polimerización fue verificada utilizando espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), encontrando las bandas características de polianilina en el espectro. Se realizó un estudio sistemático de los factores que influyen el proceso de adsorción (cantidad de adsorbente, pH, fuerza iónica y concentración de ácidos húmicos), bajo las condiciones óptimas se realizó el estudio cinético y termodinámico de la adsorción. De acuerdo al sistema de caracterización se establece la dependencia de la cantidad máxima de adsorción con respecto de la temperatura, (9.34 mg g^{-1} hasta 20.083 mg g^{-1}) cuando la temperatura se incrementa de 298 a 318 K. La espontaneidad del proceso de adsorción se verifica con el valor negativo de ΔG y se determina que dicho proceso es de naturaleza endotérmica (Zhou et al., 2016).

De acuerdo a la revisión anterior, es necesario el desarrollo de metodologías analíticas que permitan la determinación de α -NAP y β -NAP, asimismo, es necesario la continua exploración de diferentes nanomateriales con el objetivo de proveer de alternativas en la cuantificación y remoción de α -NAP y β -NAP en muestras complejas. Es por esto que el presente trabajo se divide en dos partes, en primera instancia se describe el desarrollo y aplicación de una metodología de pre-concentración *on-line* para la determinación de α -NAP y β -NAP en muestras de agua y posteriormente, se describe el desarrollo de una técnica de micro-extracción en fase sólida dispersiva para la remoción de α -NAP y β -NAP empleando LDHs como adsorbentes.

1.6 Referencias

Abdel-Shafy, H. I., & Mansour, M. S. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian journal of petroleum*, 25(1), 107-123.

Alshabib, M. (2022). Removal of naphthalene from wastewaters by adsorption: a review of recent studies. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(5), 4555-4586.

Baek, S. O., Field, R. A., Goldstone, M. E., Kirk, P. W., Lester, J. N., & Perry, R. (1991). A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. *Water, air, and soil pollution*, 60, 279-300.

Bhaduri, A., Bogardi, J., Siddiqi, A., Voigt, H., Vörösmarty, C., Pahl-Wostl, C., & Osuna, V. R. (2016). Achieving sustainable development goals from a water perspective. *Frontiers in Environmental Science*, 4, 64-77.

Bieniek, G. (1996). Simultaneous determination of phenol, cresol, xylene isomers and naphthols in urine by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 682(1), 167-172.

Brocenschi, R. F., Silva, T. A., Lourenco, B. C., Fatibello-Filho, O., & Rocha-Filho, R. C. (2017). Use of a boron-doped diamond electrode to assess the electrochemical response of the naphthol isomers and to attain their truly simultaneous electroanalytical determination. *Electrochimica Acta*, 243, 374-381.

Chung, K. T. (2016). Azo dyes and human health: A review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 34(4), 233-261.

Dabbagh, H. A., Teimouri, A., & Chermahini, A. N. (2007). Green and efficient diazotization and diazo coupling reactions on clays. *Dyes and pigments*, 73(2), 239-244.

Eldos, H. I., Zouari, N., Saeed, S., & Al-Ghouti, M. A. (2022). Recent advances in the treatment of PAHs in the environment: Application of nanomaterial-based technologies. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(7), 103918-103946.

Emoyan, O. O., Onocha, E. O., & Tesi, G. O. (2020). Concentration assessment and source evaluation of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from selected vehicle-parks in southern Nigeria. *Scientific African*, 7, 296-309.

Hu, Y., Xia, Y., Di Maio, F., Yu, F., & Yu, W. (2020). Investigation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) formed in three-phase products from the pyrolysis of various wastewater sewage sludge. *Journal of hazardous materials*, 389, 122045-122053.

Huang, J., Wu, X., Zha, H., Yuan, B., & Deng, S. (2013). A hypercrosslinked poly (styrene-co-divinylbenzene) PS resin as a specific polymeric adsorbent for adsorption of 2-naphthol from aqueous solutions. *Chemical engineering journal*, 218, 267-275.

Jia, C., & Batterman, S. (2010). A critical review of naphthalene sources and exposures relevant to indoor and outdoor air. *International journal of environmental research and public health*, 7(7), 2903-2939.

Kim, K. H., Jahan, S. A., Kabir, E., & Brown, R. J. (2013). A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment international*, 60, 71-80.

Lim, H. H., & Shin, H. S. (2013). Simultaneous determination of 2-naphthol and 1-hydroxypyrene in fish and shellfish contaminated with crude oil by gas chromatography–mass spectrometry. *Food chemistry*, 138(2-3), 791-796.

Liu, Y., Wang, R., Wang, H., Yu, X., Liu, X., He, P., & Zhan, T. (2021). Electrochemical sensing for naphthol isomers based on the in situ growth of zeolitic imidazole framework-67 on ultrathin CoAl layered double hydroxide nanosheets by a reaction-diffusion technique. *Journal of Colloid and Interface Science*, 599, 762-772.

Manzetti, S. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment: environmental fate and transformation. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 33(4), 311-330.

Massey, K. A., Van Engelen, D. L., & Warner, I. M. (1995). Determination of carbaryl as its primary metabolite, 1-naphthol, by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. *Talanta*, 42(10), 1457-1463.

Omidi, F., Dehghani, F., & Shahtaheri, S. J. (2020). N-doped mesoporous carbon as a new sorbent for ultrasonic-assisted dispersive micro-solid-phase extraction of 1-naphthol and 2-naphthol, the biomarkers of exposure to naphthalene, from urine samples. *Journal of Chromatography B*, 1160, 122353-122360.

Pang, Y., Zhang, Y., Li, W., Ding, H., & Shen, X. (2016). Synergetic accumulation and simultaneous determination of naphthol isomers on electrochemically reduced graphene oxide modified electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 769, 89-96.

Parsons, J. S., Seaman, W., & Woods, J. T. (1955). Spectrophotometric Determination of 1-Naphthol in 2-Naphthol Utilizing Difference in Reaction Rates. *Analytical Chemistry*, 27(1), 21-24.

Patil, U. K., & Muskan, K. (2009). *Essentials of biotechnology*. IK International Publishing House Pvt. Ltd.

Peng, X., Wang, H., Yang, B., Zhan, X., & Wu, Y. (2016). Field-amplified sample injection-capillary electrophoresis for the determination of bisphenol A, α -naphthol and β -naphthol in drinks and lake water. *Chromatographia*, 79, 327-333.

Pearse, G. A. (1963). Spectrophotometric Determination of 1-Naphthol. *Analytical Chemistry*, 35(12), 1954-1955.

Preuss, R., Angerer, J., & Drexler, H. (2003). Naphthalene-an environmental and occupational toxicant. *International archives of occupational and environmental health*, 76, 556-576.

Rao, P. S., Ansari, M. F., Pipalatkhar, P., Kumar, A., Nema, P., & Devotta, S. (2008). Measurement of particulate phase polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) around a petroleum refinery. *Environmental monitoring and assessment*, 137, 387-392.

Rose, M., Holland, J., Dowding, A., Petch, S. R., White, S., Fernandes, A., & Mortimer, D. (2015). Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 1-9.

Rubio-Clemente, A., Torres-Palma, R. A., & Peñuela, G. A. (2014). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous environment by chemical treatments: a review. *Science of the total environment*, 478, 201-225.

Shin, H. S., & Lim, H. H. (2011). Simultaneous determination of 2-naphthol and 1-hydroxy pyrene in urine by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography B*, 879(7-8), 489-494.

Singh, R. (2000). *Introductory practical biochemistry*. Alpha Science International Ltd.

Sogbanmu, T. O., Nagy, E., Phillips, D. H., Arlt, V. M., Otitoloju, A. A., & Bury, N. R. (2016). Lagos lagoon sediment organic extracts and polycyclic aromatic hydrocarbons induce embryotoxic, teratogenic and genotoxic effects in *Danio rerio* (zebrafish) embryos. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 14489-14501.

Sousa, G., Teixeira, J., Delerue-Matos, C., Sarmiento, B., Morais, S., Wang, X., & Oliveira, M. (2022). Exposure to PAHs during firefighting activities: a review on skin levels, in vitro/in vivo bioavailability, and health risks. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(19), 12677-12699.

Tarighat, M. A., & Afkhami, A. (2012). Simultaneous spectrophotometric determination of Cu (II), Co (II) and Ni (II) using ratio spectra-continuous wavelet transformation in some food and environmental samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23, 1312-1319.

Tsai, M. C., & Chen, P. Y. (2007). Electrochemical Detection of 2-Naphthol at a Glassy Carbon Electrode Modified with Tosflex Film. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 19(12), 1315-1321.

Vassura, I., Foschini, F., Baravelli, V., & Fabbri, D. (2005). Distribution of alternant and non-alternant polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and clams of the Pialassa Baiona Lagoon (Ravenna, Italy). *Chemistry and Ecology*, 21(6), 415-424.

Wang, L. H., & Kuo, Y. P. (1999). Simultaneous quantitative determination of resorcinol and 1-naphthol in haircolor products by high-performance liquid chromatography. *Chromatographia*, 49, 208-211.

Xu, X., Li, N., Li, X., Shi, H., Ma, C., Kang, W., & Cong, B. (2016). Capillary electrophoresis chemiluminescence assay of naphthol isomers in human urine and river water using Ni (IV) complex-luminol system. *Electrophoresis*, 37(22), 2992-3001.

Zhao, G., Li, J., & Wang, X. (2011). Kinetic and thermodynamic study of 1-naphthol adsorption from aqueous solution to sulfonated graphene nanosheets. *Chemical Engineering Journal*, 173(1), 185-190.

Zhou, Q., Wang, G., & Xie, G. (2014). Preconcentration and determination of bisphenol A, naphthol and dinitrophenol from environmental water samples by dispersive liquid-phase microextraction and HPLC. *Analytical methods*, 6(1), 187-193.

Zhong, S., Tan, S. N., Ge, L., Wang, W., & Chen, J. (2011). Determination of bisphenol A and naphthols in river water samples by capillary zone electrophoresis after cloud point extraction. *Talanta*, 85(1), 488-492.

Zhu, G., Gai, P., Yang, Y., Zhang, X., & Chen, J. (2012). Electrochemical sensor for naphthols based on gold nanoparticles/hollow nitrogen-doped carbon microsphere hybrids functionalized with SH- β -cyclodextrin. *Analytica chimica acta*, 723, 33-38.

Capítulo 2: Objetivos

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Desarrollar metodologías analíticas acopladas a electroforesis capilar para la cuantificación y remoción de α -naftol y β -naftol en muestras acuosas.

2.2 Objetivos específicos

- Desarrollar un sistema de pre-concentración *on-line* por electroforesis capilar para la determinación de α -naftol y β -naftol en muestras acuosas.
- Diseñar, sintetizar y caracterizar hidróxidos dobles laminares (LDH-MgAl, NiAl y CoAl) para la remoción de α -naftol y β -naftol.
- Optimizar un método de micro-extracción en fase sólida dispersiva basado en la aplicación de hidróxidos dobles laminares (LDH-MgAl, NiAl y CoAl) como adsorbentes para la remoción de α -naftol y β -naftol en muestras acuosas.

Capítulo 3: Pre-concentración *on-line*

3. Pre-concentración *on-line*

3.1 Electroforesis capilar

La electroforesis capilar (CE) es una técnica de separación que se basa en las diferentes movilidades electroforéticas que adquieren las partículas cargadas en un medio conductor, en este caso, el electrolito soporte (ES) (Harstad et al., 2016). La CE provee de elevada resolución en las separaciones, tiempos cortos de análisis, además de minimizar la cantidad de reactivos y muestra empleados en el proceso. La versatilidad de la CE reside en que permite realizar diferentes modalidades de separación utilizando la misma instrumentación, permitiendo así el análisis de moléculas cargadas y neutras (Voeten et al., 2018).

A pesar de las bondades ofrecidas por la CE, su aplicación en la industria se ha visto limitada debido a la baja sensibilidad que provee (Breadmore et al., 2019). El problema de la sensibilidad en CE es debido a que los capilares utilizados tienen una longitud, entre 25 y 150 cm con diámetro interno de 25-150 μm , lo cual limita la cantidad de muestra que puede ser inyectada para mantener la eficiencia de la separación (Osbourn et al., 2000).

Dicho problema ha sido abordado desde 3 principales perspectivas: 1) incorporación de sistemas de detección altamente sensibles, 2) técnicas de pre-concentración *off-line* y 3) técnicas de pre-concentración *on-line* (Kitagawa y Otsuka, 2014).

La incorporación de sistemas de detección altamente sensibles permite el uso de detectores como es la fluorescencia inducida por láser (LIF) y la espectrometría de masas (MS). Estos detectores han conseguido mejorar la sensibilidad analítica, sin embargo, la complejidad de la instrumentación ha limitado sus aplicaciones (Klepárník, 2015; Couder et al., 2017).

Por otro lado, en años recientes se han desarrollado una gran cantidad de técnicas de pre-concentración *off-line*, término que hace alusión al proceso de preparación de muestra previo al análisis instrumental. Este tiene como objetivo la limpieza y pre-concentración de la muestra, lo cual se consigue al aislar al analito de un gran

volumen de muestra y reconstituirlo en un volumen inferior. Entre las técnicas más comunes de pre-concentración *off-line* se tienen: extracción líquido-líquido (LLE), extracción en fase sólida (SPE), extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) y extracción en fase sólida magnética (MSPE) (Kanu, 2021). Las técnicas de pre-concentración *off-line* han encontrado profunda aplicación en la pre-concentración de una gran cantidad de contaminantes, sin embargo, la principal limitante es que son procesos lentos y difíciles de automatizar (Kitagawa y Otsuka, 2014). Por contraparte, las técnicas de pre-concentración *on-line* generalmente son procesos rápidos que, al ser llevados a cabo dentro del capilar, minimizan la manipulación de la muestra.

3.2 Técnicas de pre-concentración *on-line*

Las técnicas de pre-concentración *on-line* son sencillas desde el punto de vista operacional, debido a que el proceso se lleva a cabo dentro del capilar, permitiendo mejorar la sensibilidad analítica mediante la inyección de un volumen de muestra superior al de la inyección tradicional (Britz-McKibbin y Terabe, 2003).

El principio de la mayoría de las técnicas de pre-concentración *on-line* es la manipulación de la velocidad de migración de los analitos en la región de interfase muestra-ES, este cambio en la velocidad de migración es causado por el cambio en la fuerza de campo eléctrico experimentado por los analitos cuando pasan de la muestra al ES (Osbourn et al., 2000; Simpson et al., 2008).

La velocidad de migración es directamente proporcional a la fuerza de campo y esta es inversamente proporcional a la conductividad, de esta manera, la fuerza de campo eléctrico experimentado por el analito en una solución de baja conductividad, es elevada, lo que conlleva a que los analitos adquieran una gran velocidad de migración, y al llegar a la interfase del ES donde existe una alta conductividad, los analitos experimentan una drástica disminución en la velocidad de migración lo que permite que se lleve a cabo la pre-concentración. Entre las técnicas de pre-concentración que se basan en este principio se tiene la pre-concentración por campo amplificado (FASS), pre-concentración por inyección en campo amplificado

(FASI) y pre-concentración por volumen de muestra (LVSS) (Osbourn et al., 2000; Simpson et al., 2008).

3.2.1 Pre-concentración por campo amplificado

La pre-concentración por campo amplificado o FASS por sus siglas en inglés, tiene como fundamento la inyección hidrodinámica de una muestra de baja conductividad en el capilar con ES. Debido a las diferencias de fuerza de campo eléctrico experimentado en la muestra y el ES, una vez se aplica el voltaje, los analitos iónicos migran a una velocidad elevada en la muestra hasta llegar a la zona de ES donde son concentrados (Osbourn et al., 2000). Ésta técnica ha sido aplicada en el análisis de diuréticos, vitaminas, drogas ilícitas y fármacos, entre otros (Xu et al., 2006; Zheng et al., 2008; Dziomba et al., 2012; Alshana et al., 2013)

3.2.2 Pre-concentración por inyección en campo amplificado

La pre-concentración por inyección en campo amplificado (FASI) utiliza el mismo principio que FASS con la diferencia de que en esta técnica, la inyección es electrocinética. Esto confiere de cierta selectividad, pues solo los analitos iónicos (aniones o cationes) pueden ser pre-concentrados (Kitagawa y Otsuka, 2014). Esta técnica ha sido implementada en la determinación de clorofenoles, péptidos y fármacos, entre otros (Yang et al., 2006; Martínez-Villalba et al., 2013; Gao et al., 2019).

3.2.3 Pre-concentración por volumen de muestra

La pre-concentración por volumen de muestra (LVSS por sus siglas en inglés) puede ser descrita como sigue: el primer paso es la inyección hidrodinámica de la muestra (figura 3.1 A), posteriormente se invierte la polaridad y se aplica un voltaje; esta etapa tiene como objetivo la eliminación de la matriz y la pre-concentración de los analitos (figura 3.1 B). Finalmente se detiene la aplicación del voltaje y la

polaridad se regresa a la normalidad para llevar a cabo la separación (figura 3.1 C,D) Osbourn et al., 2000.

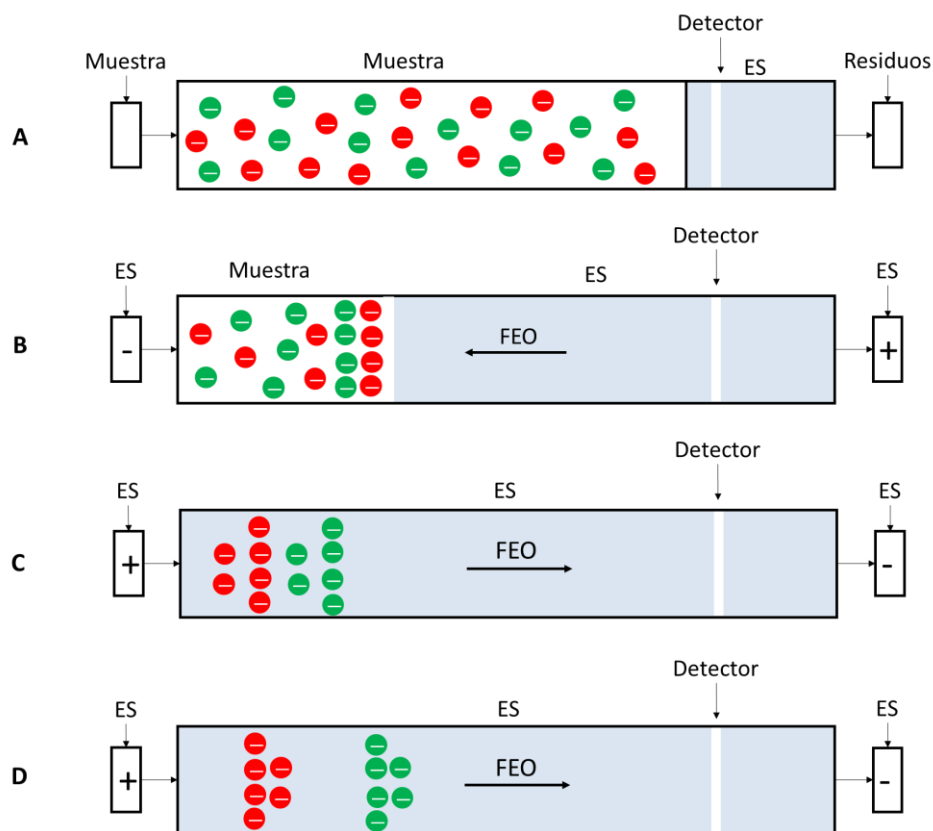


Figura 3.1. Esquema de pre-concentración LVSS: A) inyección hidrodinámica de la muestra, B) aplicación del voltaje en polaridad inversa (pre-concentración), C) inversión de la polaridad a normal y D) separación CE en polaridad normal.

Actualmente, LVSS se ha consolidado como un referente de las técnicas de pre-concentración *on-line* debido a la simplicidad del proceso y los factores de pre-concentración que se pueden obtener, lo que permite su aplicación en la determinación de contaminantes en concentraciones traza y ha sido implementada con éxito en el análisis de iones metálicos, fármacos, colorantes y biomoléculas (Chen et al., 2016; Wu et al., 2016; Flores-Aguilar et al., 2019; Chu et al., 2023).

De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo describe el desarrollo de una técnica de pre-concentración *on-line* mediante LVSS para la determinación de los isómeros α -NAP y β -NAP en muestras de agua potable.

3.3 Metodología experimental

3.3.1 Reactivos

Todas las soluciones fueron preparadas por disolución de los reactivos grado analítico en agua desionizada con una resistividad no menor a 18.2 MΩ. El α -naftol (α -NAP) (99.5%), β -naftol (β -NAP) (99.5%), y el ácido α -naftalenacético empleado como estándar interno (EI) (99.5%) fueron obtenidos de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). Tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) (99.0%), hidróxido de sodio (NaOH) (98.5%) y ácido clorhídrico (HCl) (36.0%), metanol (MeOH) grado HPLC y acetonitrilo (ACN) grado HPLC fueron obtenidos de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, EE. UU.).

El electrolito soporte (ES) consistió de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 10 mM ajustado a pH 9.5, utilizado durante la separación analítica.

3.3.2 Instrumentación

Los análisis se realizaron en un equipo de electroforesis capilar Beckman Coulter P/ACE 5500 con detector de arreglo de diodos (DAD). Los datos fueron analizados a través del software P/ACE MDQ versión 2.3. El agua desionizada fue obtenida de un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EE. UU.) y el pH de las disoluciones se ajustó con un potenciómetro (modelo 450; Corning Science Products, NY, EE. UU.)

3.3.3 Electroforesis capilar

La separación se llevó a cabo en un capilar de sílice fundida (41.7 cm x 75 μm de diámetro interno), inyección hidrodinámica (0.5 psi, 5s) y la detección se realizó a una longitud de onda (λ) de 214 nm.

Al inicio de cada día de trabajo el capilar fue acondicionado conforme la siguiente secuencia: NaOH 1.0 M durante 15 min, NaOH 0.1 M durante 10 min, agua desionizada durante 10 min y finalmente la solución ES durante 10 min.

Entre cada análisis el capilar se lavó conforme la secuencia: NaOH 1.0 M durante 4, NaOH 0.1 M durante 2 min, agua desionizada durante 2 min y finalmente ES durante 4 min.

3.3.4 Optimización de la separación por CE

Para determinar las condiciones óptimas de separación del α -NAP y β -NAP se realizó un estudio sistemático de la composición del ES; en primera instancia se evaluó el efecto del pH sobre la separación electroforética, posteriormente, se evaluó la concentración del ES y finalmente se evaluó el efecto del voltaje aplicado durante la separación. Finalmente, bajo las condiciones óptimas de separación se obtuvieron los parámetros analíticos de acuerdo a las recomendaciones de la IUPAC (Currie, 1995).

3.3.5 Optimización de la pre-concentración por LVSS

La optimización del sistema de pre-concentración LVSS se realizó utilizando un diseño de experimentos Box-Behnken (BBD) de 3 factores y 3 niveles, mientras que el promedio de los factores de pre-concentración calculados como el cociente de áreas obtenidos por CE y LVSS fue seleccionado como la variable de salida. Para esto, se empleó una solución estándar que contenía a los analitos en concentración de 1.0 mg L⁻¹. Bajo las condiciones óptimas encontradas por el diseño BBD, se obtuvieron los parámetros analíticos de la técnica de pre-concentración y se procedió al análisis de muestras reales.

3.3.6 Pretratamiento de la muestra

1 mL de muestra fue diluido a 10 mL con agua desionizada y pasado a través de un cartucho de extracción en fase sólida (SPE Oasis HLB, 500 mg). El cartucho se acondicionó previamente conforme la siguiente secuencia: 5 mL de metanol, 5 mL de agua desionizada con flujo de 1.0 mL min⁻¹. Posterior a la carga del analito, el cartucho se lavó con 5 mL de agua desionizada para eliminar el exceso de sales. La elución de los analitos se realizó con 3 mL de acetonitrilo, mismo que fue evaporado a sequedad a través de calentamiento y una corriente de aire, finalmente,

los analitos se reconstituyeron en 1 mL de una solución que contenía al EI en concentración de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para su posterior análisis por LVSS.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Evaluación de la separación de α -NAP y β -NAP por CE

En CE las separaciones se originan por las diferentes movilidades electroforéticas que los analitos adquieren en un medio conductor, en este caso, el ES. La movilidad electroforética a su vez depende del tamaño, forma, carga de los analitos, composición del ES (pH y concentración) y del voltaje aplicado durante la separación (Harstad et al., 2016).

3.4.1.1 Efecto del pH

El α -NAP y β -NAP tienen asociados valores de pKa de 9.30 y 9.76, respectivamente, esto da pauta a modificar la movilidad electroforética a través de la imposición de diferentes valores de pH de trabajo en el ES, de este modo, el efecto del pH se evaluó en el intervalo de 8.5 a 11 empleando sales de boratos o fosfatos. Los experimentos se realizaron empleando una solución estándar que contenía α -NAP, β -NAP y EI en concentración de 10 mg L^{-1} cada uno. Los electroferogramas obtenidos se muestran en la figura 3.2.

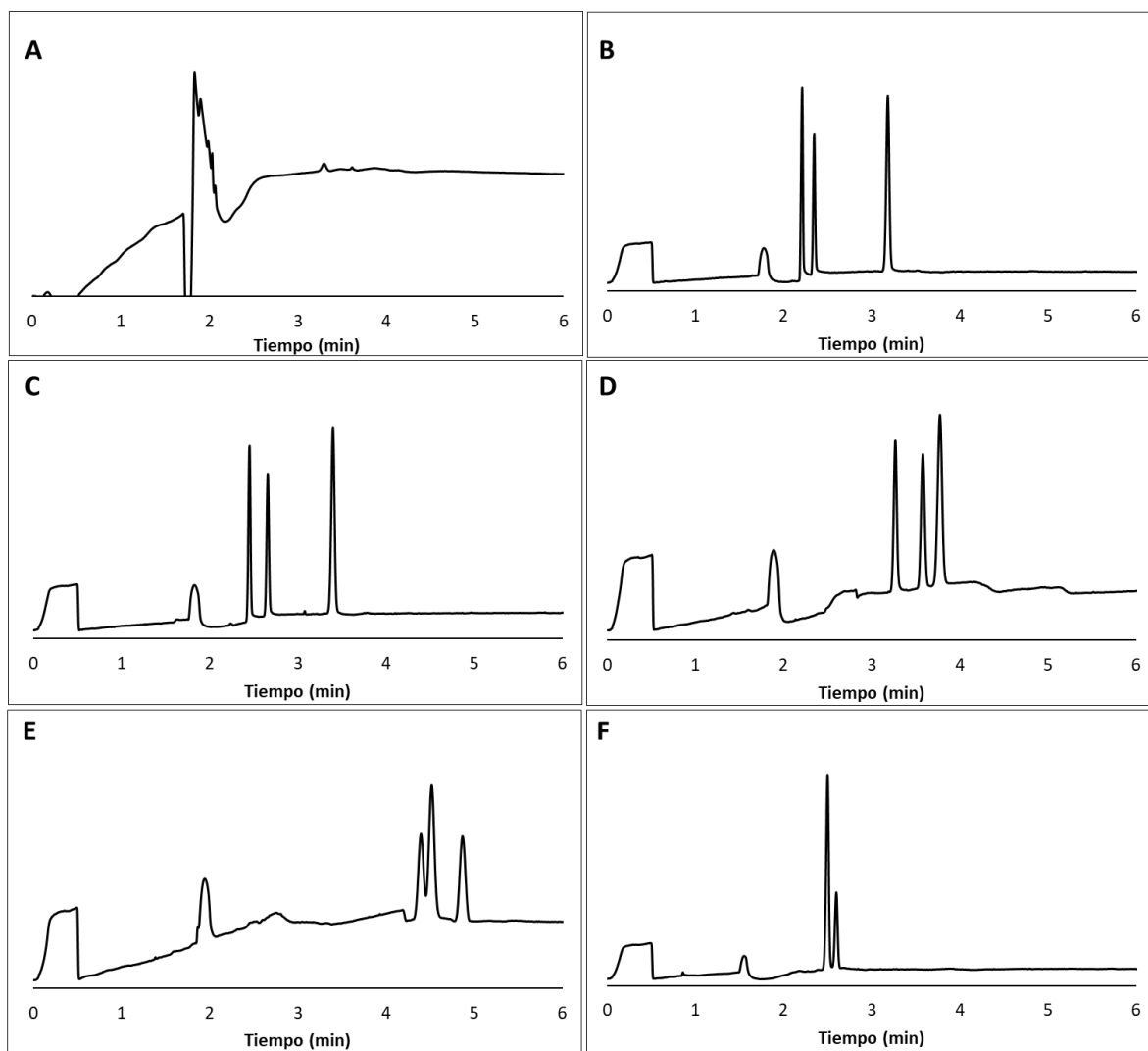


Figura 3.2. Evaluación del pH de trabajo en la separación: A) pH 8.5, B) 9.0, C) 9.5, D) 10.0, E) 10.5 y F) 11.0. Condiciones de análisis: concentración de ES = 20 mM, 18 kV a $\lambda=214$ nm.

En la figura 3.2 se observa que a valores de pH inferiores a 9 (figura 3.2 A) los analitos no se encuentran ionizados, por tanto, no existe una migración diferencial y la separación no es factible. Por otra parte, a valores de pH superiores a 10 (figura 3.2 E-F) el α -NAP y β -NAP se encuentran totalmente ionizados y al no tener diferencias en su carga y peso molecular, presentan la misma movilidad electroforética lo que conduce al solapamiento total de las señales (Smith y Khaledi, 1993). Finalmente, se observa que la separación es factible en el intervalo de pH 9

a 10 (figura 3.2 B-D), sin embargo, se elige pH 9.5 (figura 3.2 C) como óptimo debido a la resolución de señales y a que existe una mayor capacidad de amortiguamiento con respecto al pH 10 de acuerdo al valor de pKa del ácido bórico (9.24).

3.4.1.2 Concentración del electrolito soporte

La evaluación de la concentración del electrolito soporte permite modificar la velocidad de migración de los analitos durante la separación (Issaq et al., 1991). Es por esto que se evalúa la concentración del ES en el intervalo de 5 a 30 mM. Los electroferogramas obtenidos se muestran en la figura 3.3.

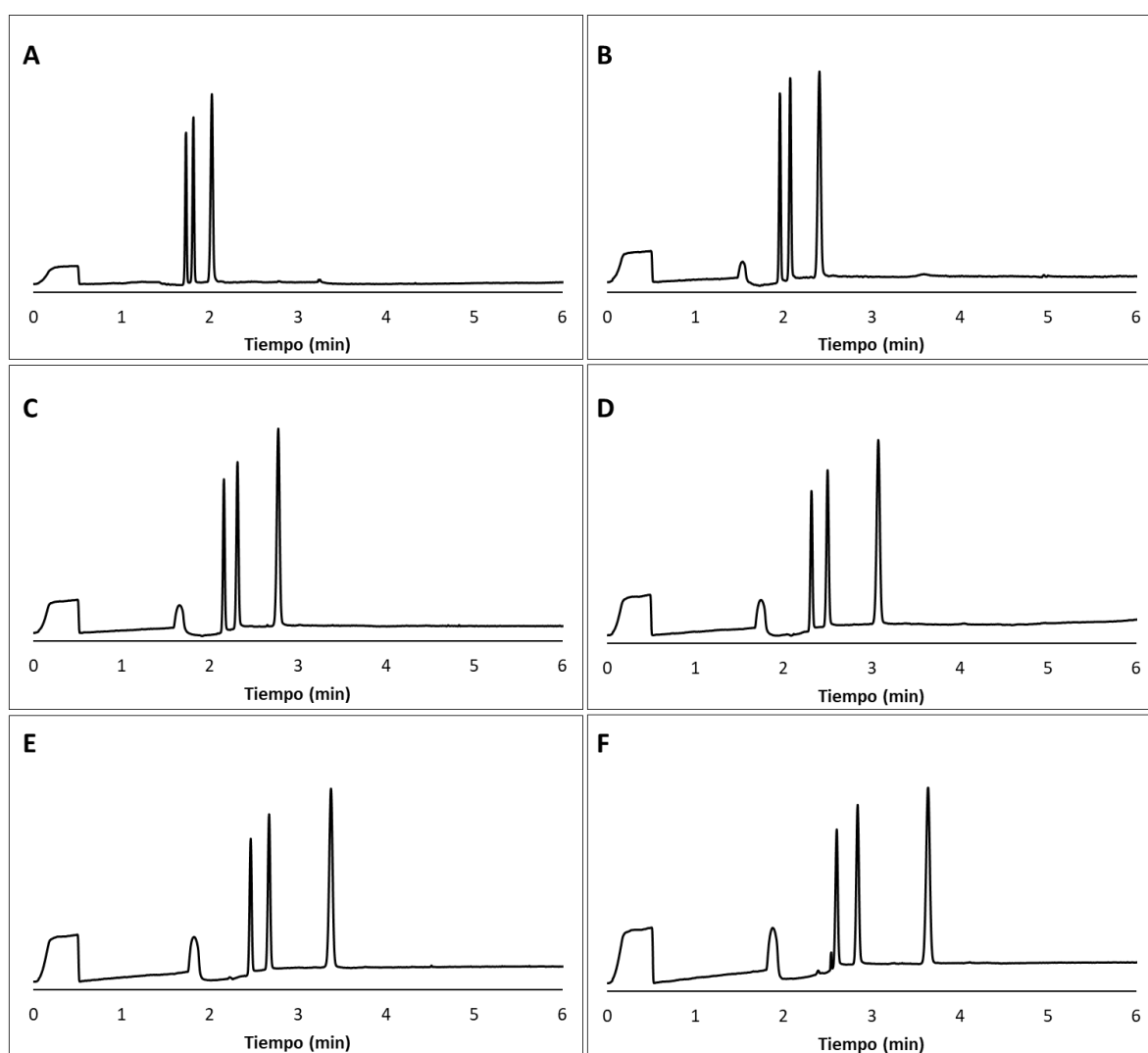


Figura 3.3. Efecto de la concentración del ES: A) 5mM, B) 10mM, C) 15mM, D) 20 mM, E) 25 mM y F) 30 mM. Condiciones de análisis: pH = 9.5, 18 kV, a $\lambda=214$ nm.

En la figura 3.3 se observa que conforme aumenta la concentración del ES aumentan los tiempos de análisis, lo cual es debido al aumento de la fuerza iónica del medio y la dependencia inversamente proporcional que existe entre la fuerza iónica y la movilidad electroforética (Ibrahim et al., 2012).

De acuerdo a los electroferogramas obtenidos, se observa que la resolución analítica es adecuada en todos los casos para concentraciones de ES ≥ 10 Mm (figura 3.3 B-F), por tanto, 10 mM (figura 3.3 B) es elegida como óptima para estudios subsecuentes.

3.4.1.3 Efecto del voltaje de separación

Como se mencionó anteriormente, el voltaje aplicado durante la separación es directamente proporcional a la movilidad electroforética, por lo que se evalúa el efecto del voltaje en el intervalo de 8 a 18 kV.

En la figura 3.4 se observa que los tiempos de análisis disminuyen conforme aumenta el voltaje aplicado, no obstante, este aumento en la movilidad electroforética conduce a la pérdida de la resolución analítica (figura 3.4 D-F). Por otra parte, es posible separar a los analitos con una resolución adecuada en el intervalo de 8 a 12 kV (figura 3.4 A-C), de este modo, se selecciona 12 kV (figura 3.4 C) como voltaje óptimo debido a que provee de una resolución adecuada, priorizando así el tiempo de análisis; minimizando problemas asociados a la aplicación de voltajes elevados (calor Joule y reducción de la vida útil del capilar) (Xuan et al., 2006).

Como resultado de los experimentos descritos anteriormente, se establece que las condiciones óptimas para la separación de α -NAP y β -NAP son: pH 9.5, Concentración ES de 10 mM y un voltaje de 12 kV.

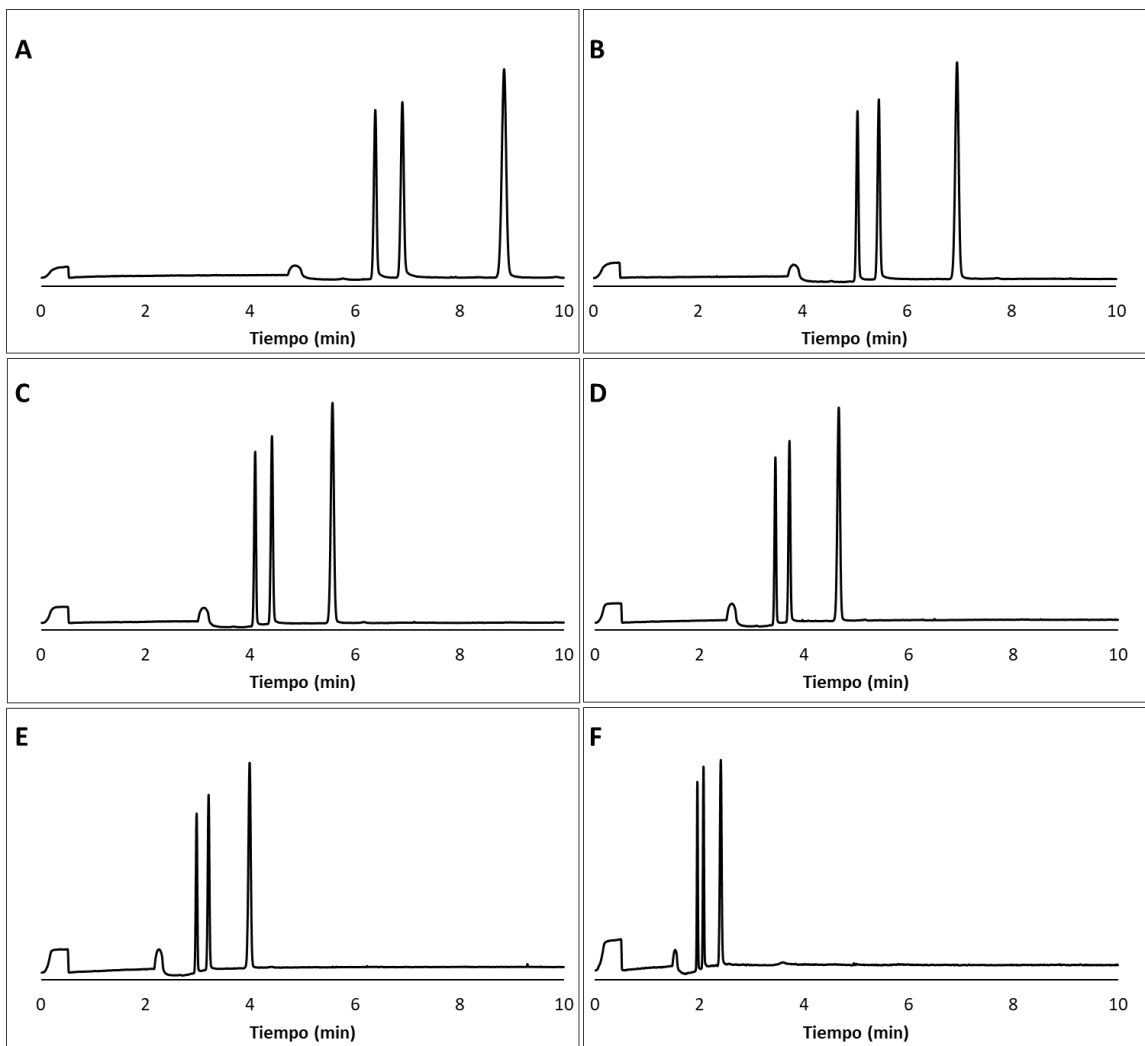


Figura 3.4. Evaluación del voltaje aplicado en la separación: A) 8 kV, B) 10 kV, C) 12 kV, D) 14 kV, E) 16 kV y F) 18 kV. Condiciones de análisis: pH = 9.5, concentración de ES= 10mM a $\lambda=214$ nm.

3.4.1.4 Identificación de las señales

Bajo las condiciones óptimas de separación se realizó la identificación de las señales, para lo cual se analizaron soluciones estándar que contenían a los analitos en diferentes concentraciones. La identificación se realizó a través de los cambios en las intensidades de señal. Los electroferogramas obtenidos se muestran en la figura 3.5.

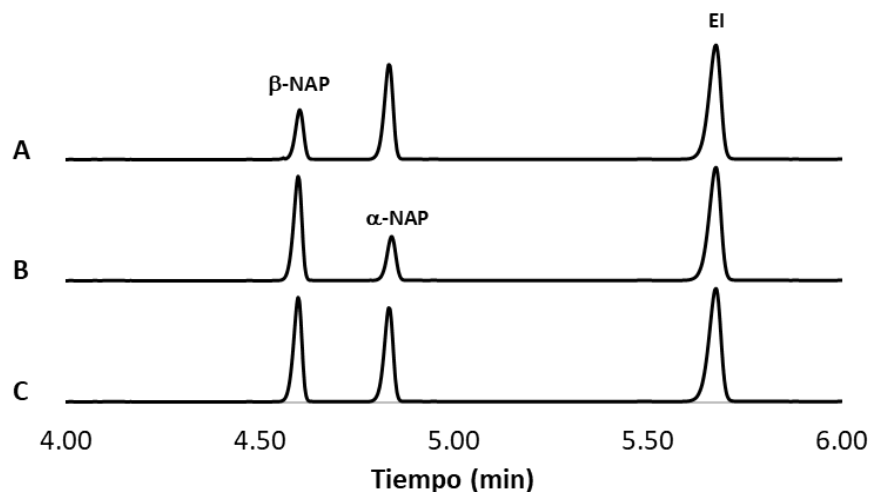


Figura 3.5. Electroferogramas de soluciones estándar de α -naftol, β -naftol y ácido α -naftalenacético: A) 10 mg L^{-1} α -naftol, 5 mg L^{-1} β -naftol, 10 mg L^{-1} ácido α -naftalenacético, B) 5 mg L^{-1} α -naftol, 10 mg L^{-1} β -naftol, 10 mg L^{-1} ácido α -naftalenacético y C) 10 mg L^{-1} α -naftol, 10 mg L^{-1} β -naftol, 10 mg L^{-1} ácido α -naftalenacético.

3.4.2 Optimización del sistema de pre-concentración LVSS

En el desarrollo de una técnica de pre-concentración LVSS es necesario analizar la optimización de las variables críticas: tiempo de inyección, voltaje de pre-concentración y tiempo de pre-concentración (Flores-Aguilar et al., 2019). Previo a la implementación de un diseño de experimentos, es necesario establecer el intervalo de trabajo de dichas variables, de esta manera, se realizaron experimentos utilizando el método univariable considerando el promedio de los factores de pre-concentración (FP) como variable de respuesta.

La inyección se realizó de forma hidrodinámica (0.5 psi) en el intervalo de 60 a 240 s. El voltaje y tiempo de pre-concentración se evaluaron de forma simultánea en el intervalo de 5 a 10 kV y 60 a 240 s, respectivamente. Se obtuvieron resultados favorables con tiempos de inyección en el intervalo de 60 a 180 s, mientras que para voltajes superiores de 7 kV y tiempos de pre-concentración mayores de 180 s, la respuesta es escasa e incluso nula, debido a la migración parcial o total de los

analitos al vial en el extremo catódico durante la pre-concentración (Yu et al., 2015). Como resultado de los experimentos descritos anteriormente, se establecieron los siguientes intervalos de trabajo, A: tiempo de inyección (60-180 s), B: tiempo de pre-concentración (60-180 s) y C: voltaje de pre-concentración (5-7 kV).

Para optimizar el proceso de pre-concentración LVSS se seleccionó un diseño Box-Behnken. Los experimentos fueron realizados empleando una solución estándar de α -NAP y β -NAP a una concentración de 1.0 mg L⁻¹. Los FP fueron calculados como el cociente de áreas obtenidas con la técnica CE y LVSS-CE, respectivamente. La tabla 3.1 resume los resultados.

Tabla 3.1. Diseño Box-Behnken

Exp	Variables codificadas			Variables decodificadas			FP		Respuesta
	A	B	C	A (s)	B (s)	C (kV)	α -NAP	β -NAP	Promedio FP
1	-1	-1	0	60	60	6	6.32	7.29	6.81
2	1	-1	0	180	60	6	1.44	4.64	3.04
3	-1	1	0	60	180	6	0	0	0
4	1	1	0	180	180	6	10.37	11.75	11.06
5	-1	0	-1	60	120	5	0	0	0
6	1	0	-1	180	120	5	0	2.43	1.22
7	-1	0	1	60	120	7	0	0	0
8	1	0	1	180	120	7	0	0	0
9	0	-1	-1	120	60	5	0	1.53	0.77
10	0	1	-1	120	180	5	0	0	0
11	0	-1	1	120	60	7	0	0.58	0.29
12	0	1	1	120	180	7	0	0	0
13	0	0	0	120	120	6	8.69	9.64	9.17
14	0	0	0	120	120	6	8.17	8.94	8.56
15	0	0	0	120	120	6	8.43	9.87	9.15

Los resultados se analizaron con MINITAB® versión 19 y la tabla 3.2 muestra el análisis de ANOVA para los datos experimentales. Los datos se ajustan a un modelo cuadrático, el cual explica el 98.15% de la varianza. La ecuación 3.1 representa la superficie de respuesta con las variables codificadas.

Ecuación 3.1. Ecuación de superficie de respuesta con variables codificadas.

$$Y_1 = 8.963 + 0.708 \mathbf{A} + 0.375 \mathbf{B} - 0.212 \mathbf{C} - 2.204 \mathbf{A}^2 - 2.244 \mathbf{B}^2 - 6.454 \mathbf{C}^2 + 4.420 \mathbf{AB} - 0.305 \mathbf{AC} + 0.120 \mathbf{BC}$$

A; Tiempo de inyección (s), B) Tiempo de pre-concentración (s) y C) Voltaje de pre-concentración (kV).

Tabla 3.2. Resultados ANOVA en la pre-concentración de α -NAP y β -NAP por LVSS-CE.

Fuente	G.L	SC	CM	Valor F	Valor p
Modelo	9	258.572	28.73	29.48	0.001
Lineal	3	5.491	1.83	1.88	0.251
A	1	4.004	4.004	4.11	0.098
B	1	1.125	1.125	1.15	0.332
C	1	0.361	0.361	0.37	0.569
Cuadrático	3	174.506	58.169	59.68	0
A*A	1	17.939	17.939	18.4	0.008
B*B	1	18.596	18.596	19.08	0.007
C*C	1	153.808	153.808	157.8	0
Interacción de 2 vías	3	78.575	26.192	26.87	0.002
A*B	1	78.146	78.146	80.17	0
A*C	1	0.372	0.372	0.38	0.564
B*C	1	0.058	0.058	0.06	0.818
Error	5	4.874	0.975		
Falta de ajuste	3	4.641	1.547	13.32	0.071
Error puro	2	0.232	0.116		
Total	14	263.446			

Las superficies de respuesta obtenidas indican una clara interacción entre las variables críticas del sistema LVSS. La figura 3.6 A muestra la evaluación del tiempo de inyección (A) con el tiempo de pre-concentración (B) y se observan 3 comportamientos principales: 1) la combinación de tiempos altos de inyección con tiempos cortos de pre-concentración producen una baja respuesta, esto debido a

que el tiempo de pre-concentración no es suficiente para remover la matriz analítica, 2) tiempos cortos de inyección con altos tiempos de pre-concentración conllevan a la pérdida de la respuesta debido a la migración total de los analitos al extremo catódico y 3) cuando se combinan tiempos de inyección y tiempos de pre-concentración equivalentes se observa un notable incremento en la respuesta.

La figura 3.6 B muestra la evaluación del tiempo de inyección (A) con el voltaje de pre-concentración (C), mientras que la figura 3.6 C ilustra la evaluación del tiempo de pre-concentración (B) con el voltaje de pre-concentración (C). En ambos casos se observan dos tendencias: 1) la combinación de los niveles (+1, -1) y (-1,+1) así como las combinaciones (+1,+1) y (-1,-1) producen una baja respuesta analítica y 2) la combinación de los niveles (0,0) provee de los mejores resultados en términos de factores de pre-concentración. El valor- p ($p < 0.05$) obtenido durante el análisis de ANOVA (tabla 2.2) fue utilizado como criterio para verificar la variable con mayor contribución, siendo ésta la interacción de dos vías entre las variables A-B (tiempo de inyección y voltaje de pre-concentración) (Deng et al., 2015).

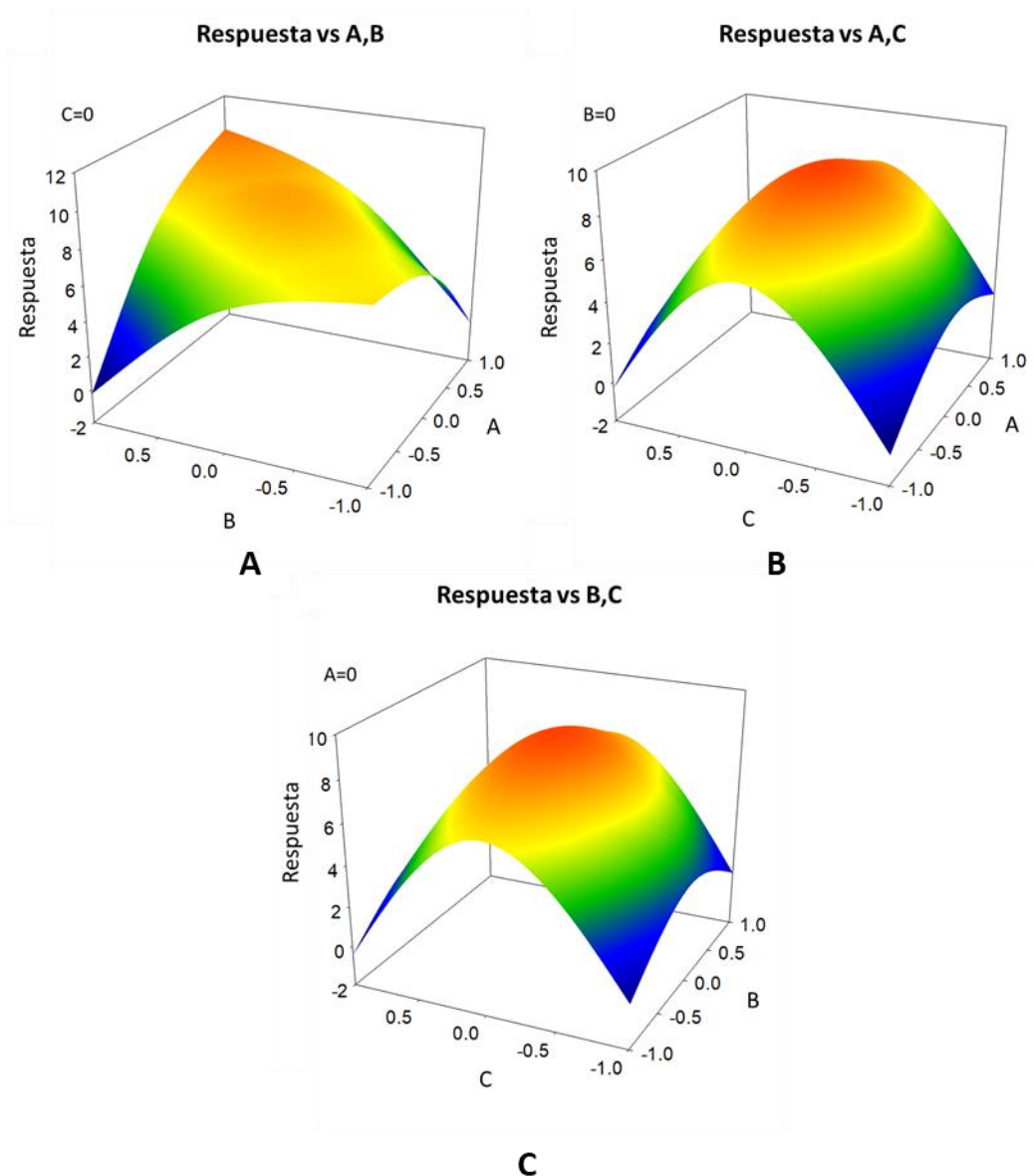


Figura 3.6. Superficies de respuesta: A) evaluación del tiempo de inyección con el tiempo de pre-concentración, B) evaluación del tiempo de inyección con el voltaje de pre-concentración y C) evaluación del tiempo de pre-concentración con el voltaje de pre-concentración.

Finalmente, de acuerdo al BBD, las condiciones óptimas de la técnica LVSS son: tiempo de inyección = 180 s, tiempo de pre-concentración = 180 s y voltaje de pre-concentración = 6 kV. La figura 2.7 muestra los electroferogramas obtenidos por

CE y por LVSS-CE en las condiciones óptimas y se puede observar una notable mejora en la sensibilidad analítica provista por la técnica LVSS.

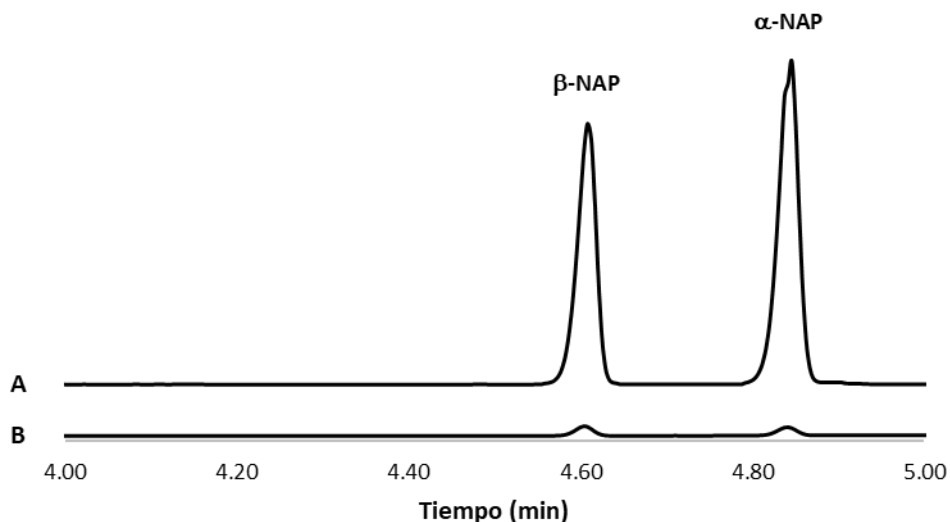


Figura 3.7. Comparación de las intensidades de señal: A) solución estándar de α -NAP 0.1 mg L^{-1} y β -NAP 0.1 mg L^{-1} analizada por LVSS-CE y B) solución estándar de α -NAP 1.0 mg L^{-1} y β -NAP 1.0 mg L^{-1} analizada por CE.

3.4.3 Parámetros analíticos

Conforme a las condiciones óptimas de separación y pre-concentración, se construyeron las rectas de calibrado. El intervalo de trabajo fue de 0.10 a 15.00 mg L^{-1} (EI 10 mg L^{-1}) y 5.00 a $150.00 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ (EI $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) para CE y LVSS-CE, respectivamente. Las curvas de calibración resultaron de graficar la relación de áreas entre los analitos y el EI, mientras que los límites de detección (LODs) y límites de cuantificación (LOQs) se calcularon de acuerdo a recomendaciones de la IUPAC. Los resultados se muestran en la tabla 3.3 (Currie, 1995).

La precisión de los sistemas de detección desarrollados se evaluó en términos de reproducibilidad y repetitividad en dos niveles de concentración ($n=3$); se calcularon los %DER a través de la determinación de la media y la desviación estándar de los análisis realizados, obteniendo %DER inferiores al 10% en todos (tabla 3.3).

Finalmente, se utilizó una prueba t de comparación de pendientes para comparar la sensibilidad analítica provista por ambas metodologías, de acuerdo a los resultados obtenidos: $t_{\text{calc}} > t_{\text{crit}}$ se confirma que la técnica LVSS-CE provee de mejor sensibilidad analítica.

Tabla 3.3. Parámetros analíticos CE-UV y LVSS-CE.

Parámetros analíticos CE-UV			
		α-NAP	β-NAP
Coefficiente de determinación, r^2		0.9999	0.9999
Ordenada al origen			
	$b_0 \pm ts(b_0)$	-0.0038 ± 0.0035	-0.0032 ± 0.0039
Pendiente			
	$b_1 \pm ts(b_1)$	0.6648 ± 0.0006	0.6386 ± 0.0006
Repetitividad (%DER, n=3)	5.00 mg L ⁻¹	3.81	4.15
	10.00 mg L ⁻¹	1.75	1.72
Reproducibilidad (%DER, n=3)	5.00 mg L ⁻¹	8.30	2.64
	10.00 mg L ⁻¹	7.86	3.41
Rango lineal (mg L⁻¹)		0.50-15.00	0.55-15.00
LOD (mg L⁻¹)		0.17	0.18
LOQ (mg L⁻¹)		0.5	0.55
Parámetros analíticos LVSS-CE			
Coefficiente de determinación, r^2		0.9992	0.9995
Ordenada al origen			
	$b_0 \pm ts(b_0)$	-0.0309 ± 0.0181	-0.0154 ± 0.0098
Pendiente			
	$b_1 \pm ts(b_1)$	6.9549 ± 0.3200	4.7070 ± 0.1486
Repetitividad (%DER, n=3)	50.00 µg L ⁻¹	2.56	5.65
	75.00 µg L ⁻¹	3.68	2.91
Reproducibilidad (%DER, n=3)	50.00 µg L ⁻¹	9.18	6.91
	75.00 µg L ⁻¹	6.13	8.21
Rango lineal (µ L⁻¹)		19.68-150.00	13.88-150.00
LOD (µ L⁻¹)		6.56	4.63
LOQ (µ L⁻¹)		19.68	13.88

3.4.4 Aplicación en muestras reales

La técnica LVSS-CE fue aplicada en la determinación de α -NAP y β -NAP en 17 muestras de agua: 10 muestras de agua embotellada y 7 muestras de agua de grifo. No se encontraron muestras positivas a α -NAP y β -NAP, por lo que se procedió a realizar el análisis de muestras dopadas con α -NAP y β -NAP en dos niveles de concentración. La exactitud del análisis se evaluó en términos del porcentaje de recuperación absoluta. La tabla 3.4 resume los resultados y la figura 3.8 muestra los electroferogramas obtenidos en el análisis de una muestra blanco de agua de grifo y una muestra dopada con α -NAP y β -NAP.

Tabla 3.4. Análisis de α -NAP y β -NAP en muestras de agua.

Muestra	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	α -NAP		β -NAP	
		% Recuperación	%DER	% Recuperación	%DER
Agua embotellada	0.00	ND	-	ND	-
	50.00	95.82	8.76	95.67	7.38
	100.00	97.46	7.89	97.36	6.32
Agua de grifo	0.00	ND	-	ND	-
	50.00	92.98	8.54	93.38	7.45
	100.00	94.35	7.95	94.79	7.36

ND: no detectado

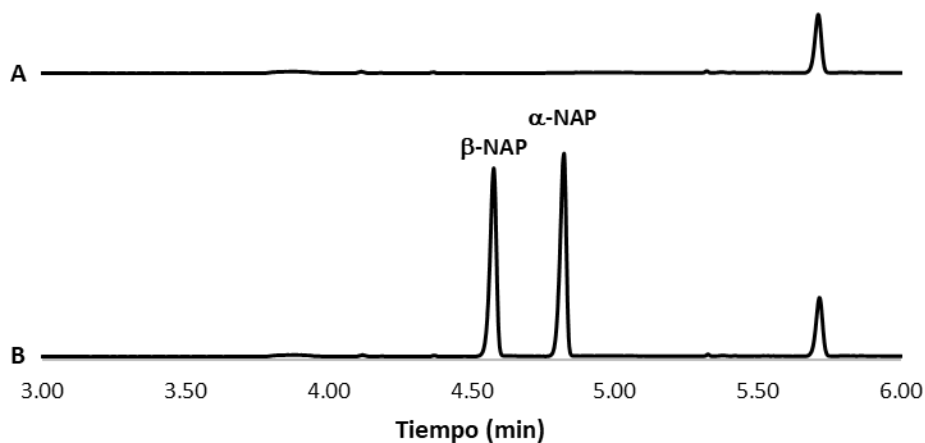


Figura 3.8. Análisis de α -NAP y β -NAP en muestra de agua de grifo por LVSS-CE: A) muestra blanco dopada con EI 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ y B) muestra blanco dopada con α -NAP 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, β -NAP 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ y EI 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.4.5 Comparación de la metodología

La metodología desarrollada fue comparada con las metodologías previamente reportadas en la literatura (tabla 3.5). La metodología propuesta provee LODs de 6.56 y 4.63 $\mu\text{g L}^{-1}$ para α -NAP y β -NAP, respectivamente. Dichos LODs, son superiores comparados con la técnica de pre-concentración *on-line* (FASI) previamente reportada (Peng et al., 2016), la cual provee LODs de 38 a 81 $\mu\text{g L}^{-1}$. Por otra parte, las técnicas de pre-concentración *off-line* acopladas a HPLC y CE proveen de LODs más bajos que la técnica propuesta, sin embargo, tienen como principales desventajas el alto volumen de muestra necesario, la manipulación de muestra es excesiva y generalmente son procesos que emplean gran cantidad de tiempo; de esta manera, la técnica LVSS-CE minimiza el costo y tiempo de análisis, tiene un bajo consumo de solventes por lo que es ambientalmente amigable y es apta para ser aplicada en muestras reales de agua.

Tabla 3.5. Comparación de la técnica LVSS-CE con metodologías de pre-concentración reportadas.

Metodología	Muestra	Técnica de pre-concentración	Analitos	LODs ($\mu\text{g L}^{-1}$)	%DER	Ref
FASI-CE-UV	Agua potable y de lago	FASI	α -NAP	38.00	5.30	Peng et al., 2016
			β -NAP	81.00	7.30	
			Bisphenol A	71.00	8.40	
CE-UV	Agua de río	CPE	α -NAP	0.24	5.60	Zhong et al., 2011
			β -NAP	0.20	5.60	
			Bisphenol A	0.50	0.40	
HPLC-UV	Agua y suelo	SALLE	β -NAP	4.25	8.20	Heydari et al., 2017
HPLC-UV	Agua y suelo	SAALLME	β -NAP	4.25	7.20	Heydari y Zarabi, 2014
LVSS-CE	Agua embotellada y de grifo	LVSS	α -NAP	6.56	7.90	Este trabajo
			β -NAP	4.63	3.40	

CPE: extracción por punto nube, SALLE: extracción líquido-líquido asistida por sal, SAALLME: micro-extracción líquido-líquido asistida por aire y sal.

3.5 Conclusiones

- Las condiciones óptimas de análisis para la determinación de los isómeros α -NAP y β -NAP son: ES (10 mM de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ y pH 9.5), voltaje de 12 kV durante la separación a una longitud de onda de 214 nm.
- Las condiciones óptimas de la técnica LVSS son: inyección hidrodinámica durante 180 s a 0.5 psi, 180 s de tiempo de pre-concentración y 6 kV de voltaje de pre-concentración.
- La técnica LVSS permite la separación y pre-concentración de α -NAP y β -NAP permitiendo obtener LODS de 4.63 a 6.56 $\mu\text{g L}^{-1}$.
- La técnica LVSS fue aplicada en la determinación de α -NAP y β -NAP en muestras de agua embotellada y de grifo. Se realizó el análisis de muestras dopadas en dos niveles de concentración y se obtienen porcentajes de recuperación superiores al 90% con %DER inferiores al 10%.
- La técnica propuesta es simple, rápida, tiene un mínimo consumo de muestra y solventes, por lo que puede ser considerada ambientalmente amigable. Debido a esto, es una técnica competitiva cuando es comparado con técnicas de pre-concentración reportadas en la literatura.

3.6 Referencias

Almeda, S., Arce, L., & Valcárcel, M. (2008). Combination of solid-phase extraction and large-volume stacking with polarity switching in micellar electrokinetic capillary chromatography for the determination of traces of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in saliva. *Electrophoresis*, 29(14), 3074-3080.

Alshana, U., Göğçer, N. G., & Ertaş, N. (2013). Dispersive liquid-liquid microextraction combined with field-amplified sample stacking in capillary electrophoresis for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in milk and dairy products. *Food chemistry*, 138(2-3), 890-897.

Breadmore, M. C., Grochocki, W., Kalsoom, U., Alves, M. N., Phung, S. C., Rokh, M. T., & Quirino, J. P. (2019). Recent advances in enhancing the sensitivity of electrophoresis and electrochromatography in capillaries and microchips (2016-2018). *Electrophoresis*, 40(1), 17-39.

Britz-McKibbin, P., & Terabe, S. (2003). *On-line* preconcentration strategies for trace analysis of metabolites by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1000(1-2), 917-934.

Chen, C., Li, X., Xie, X., Chang, F., Li, M., & Zhu, Z. (2016). Highly sensitive detection of copper (I) and copper (II) in cell specimens by CE-UV with large-volume sample stacking. *Analytical methods*, 8(21), 4272-4276.

Chu, Z., Chen, J., Zhang, J., Xie, Q., Zhang, F., & Wang, Q. (2023). Detection of *Escherichia coli* by capillary electrophoresis assisted by large volume sample stacking and nicking endonuclease signal amplification. *Journal of Chromatography A*, 1706, 464275-464282.

Currie, L. A. (1995). Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Pure and applied chemistry*, 67(10), 1699-1723.

Deng, B. C., Yun, Y. H., & Liang, Y. Z. (2015). Model population analysis in chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 149, 166-176.

- Dziomba, S., Kowalski, P., & Bączek, T. (2012). Field-amplified sample stacking-sweeping of vitamins B determination in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1267, 224-230.
- Flores-Aguilar, J. F., Medrano, L. C., Perez-Escalante, E., Rodriguez, J. A., Camacho-Mendoza, R. L., & Ibarra, I. S. (2019). Large-volume sample stacking with polarity switching for analysis of azo dyes in water samples by capillary electrophoresis. *International journal of environmental analytical chemistry*, 99(13), 1255-1267.
- Gao, F., Chen, X., Li, X., Li, J., Liu, H., & Chen, L. (2019). Field-amplified sample injection combined with capillary electrophoresis for the simultaneous determination of five chlorophenols in water samples. *Electrophoresis*, 40(14), 1771-1778.
- Harstad, R. K., Johnson, A. C., Weisenberger, M. M., & Bowser, M. T. (2016). Capillary electrophoresis. *Analytical chemistry*, 88(1), 299-319.
- Heydari, R., Hosseini, M., & Rezaeepour, R. (2017). Semi-automated salt-assisted liquid-liquid extraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine three aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *Journal of Iranian Chemical Society*, 14, 1691-1699.
- Heydari, R., & Zaraibi, S. (2014). Development of combined salt and air assisted liquid-liquid microextraction as a novel sample preparation technique. *Analytical Methods*, 6(21), 8469-8498.
- Ibrahim, A., Allison, S. A., & Cottet, H. (2012). Extracting information from the ionic strength dependence of electrophoretic mobility by use of the slope plot. *Analytical chemistry*, 84(21), 9422-9430.
- Issaq, H. J., Atamna, I. Z., Muschik, G. M., & Janini, G. M. (1991). The effect of electric field strength, buffer type and concentration on separation parameters in capillary zone electrophoresis. *Chromatographia*, 32, 155-161.

- Kanu, A. B. (2021). Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. *Journal of Chromatography A*, 1654, 462444-462465.
- Kitagawa, F., & Otsuka, K. (2014). Recent applications of *on-line* sample preconcentration techniques in capillary electrophoresis. *Journal of chromatography A*, 1335, 43-60.
- Klepárník, K. (2015). Recent advances in combination of capillary electrophoresis with mass spectrometry: methodology and theory. *Electrophoresis*, 36(1), 159-178.
- Martínez-Villalba, A., Núñez, O., Moyano, E., & Galceran, M. T. (2013). Field amplified sample injection-capillary zone electrophoresis for the analysis of amprolium in eggs. *Electrophoresis*, 34(6), 870-876.
- Osborn, D. M., Weiss, D. J., & Lunte, C. E. (2000). *On-line* preconcentration methods for capillary electrophoresis. *Electrophoresis: An International Journal*, 21(14), 2768-2779.
- Peng, X., Wang, H., Yang, B., Zhan, X., & Wu, Y. (2016). Field-amplified sample injection-capillary electrophoresis for the determination of bisphenol A, α -naphthol and β -naphthol in drinks and lake water. *Chromatographia*, 79, 327-333.
- Simpson, S. L., Quirino, J. P., & Terabe, S. (2008). *On-line* sample preconcentration in capillary electrophoresis: Fundamentals and applications. *Journal of Chromatography A*, 1184(1-2), 504-541.
- Smith, S. C., & Khaledi, M. G. (1993). Optimization of pH for the separation of organic acids in capillary zone electrophoresis. *Analytical chemistry*, 65(3), 193-198.
- Voeten, R. L., Ventouri, I. K., Haselberg, R., & Somsen, G. W. (2018). Capillary electrophoresis: trends and recent advances. *Analytical chemistry*, 90(3), 1464-1481.
- Wu, X., Xu, Z., Huang, Z., & Shao, C. (2016). Large volume sample stacking of cationic tetracycline antibiotics toward 10 ppb level analysis by capillary electrophoresis with UV detection. *Electrophoresis*, 37(22), 2963-2969.

Xu, Y., Gao, Y., Wei, H., Du, Y., & Wang, E. (2006). Field-amplified sample stacking capillary electrophoresis with electrochemiluminescence applied to the determination of illicit drugs on banknotes. *Journal of Chromatography A*, 1115(1-2), 260-266.

Xuan, X., Hu, G., & Li, D. (2006). Joule heating effects on separation efficiency in capillary zone electrophoresis with an initial voltage ramp. *Electrophoresis*, 27(16), 3171-3180.

Yang, Y., Boysen, R. I., & Hearn, M. T. (2006). Optimization of field-amplified sample injection for analysis of peptides by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 78(14), 4752-4758.

Yu, L., Lin, S., Sha, M., Sun, Z., Xu, H., Wang, L., & Chen, G. (2015). Simultaneous determination of effective components in Gualou Guizhi granules using microemulsion electrokinetic chromatography coupled with large volume sample stacking. *Analytical methods*, 7(22), 9489-9494.

Zheng, X., Lu, M., Zhang, L., Chi, Y., Zheng, L., & Chen, G. (2008). An online field-amplification sample stacking method for the determination of diuretics in urine by capillary electrophoresis-amperometric detection. *Talanta*, 76(1), 15-20.

Zhong, S., Tan, Swee Ngin., Ge, L., Wang, W., & Chen, J. (2011). Determination of bisphenol A and naphthols in river water samples by capillary zone electrophoresis after cloud point extraction. *Talanta*, 85, 488-492.

Capítulo 4: Remoción

4. Remoción

4.1 Remoción de contaminantes orgánicos

La remoción de contaminantes orgánicos se lleva a cabo a través de tratamientos aeróbicos y anaeróbicos, reacciones enzimáticas, procesos de coagulación-precipitación, oxidación avanzada, filtración y adsorción, entre otras (Hanafi y Sapawe, 2020).

La adsorción es un proceso de superficie que describe la transferencia de moléculas de un fluido (líquido o gas) a una superficie sólida, donde dicha transferencia de moléculas es debida a interacciones físicas y/o químicas entre las moléculas y la superficie del sólido (Alaqarbeh, 2021). La remoción se lleva a cabo a través de sistemas de extracción como la extracción en fase sólida (SPE) (Dąbrowski, 2001).

La extracción en fase sólida tiene su fundamento en el reparto de un analito entre una fase líquida (muestra que contiene el analito) y una fase sólida (adsorbente) empacada en una columna, a pesar de la extensa aplicación de la SPE. Está tiene como principal inconveniente el tiempo prolongado de preparación de muestra y la obstrucción de los cartuchos, lo que condujo al desarrollo de otras modalidades de extracción como la micro-extracción en fase sólida dispersiva (DSPME) (Żwir-Ferenc y Biziuk, 2006; Socas-Rodríguez et al., 2015).

La micro-extracción en fase sólida dispersiva tiene el mismo fundamento que la SPE, con la principal diferencia de que el adsorbente es directamente agregado a la solución, permitiendo un mayor contacto entre el adsorbente y los analitos, reduciendo el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. La figura 4.1 ilustra el proceso DSPE (Socas-Rodríguez et al., 2015).

Con el objetivo de mejorar la eficiencia y selectividad de las extracciones, se han incorporado una gran cantidad de nanomateriales en sistemas DSPME, entre ellos nanofibras a base de carbón activado (Dimpe y Nomngongo, 2019), nanomateriales a base de grafeno (Wu et al., 2013), polímeros de impresión molecular (MIPs) (Lu et al., 2016), y en años recientes se ha explorado el uso de los hidróxidos dobles laminares o LDH por sus siglas en inglés.

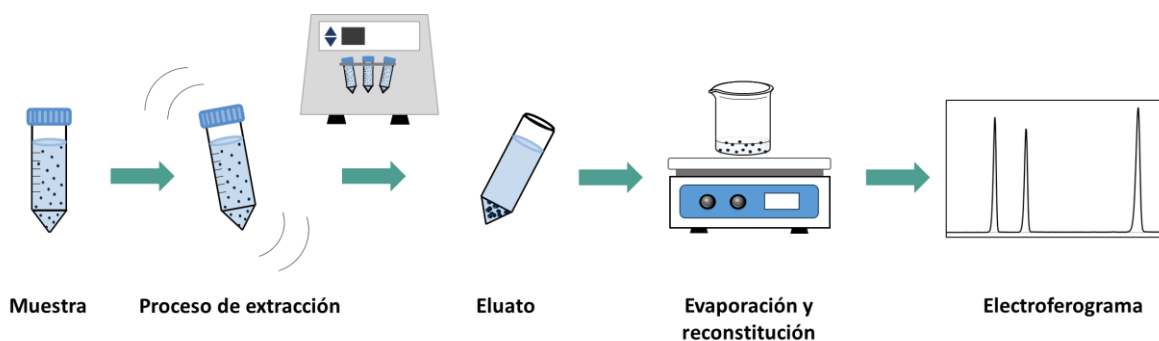


Figura 4.1. Esquema micro-extracción en fase sólida dispersiva.

4.2 Hidróxidos dobles laminares

Los LDH son una clase de nanomateriales que se asemejan estructuralmente a la hidrotalcita ($[Mg_6Al_2(OH)_{16}]CO_3 \cdot 4H_2O$), mineral que ocurre de forma natural en la naturaleza y fue descubierto en 1842 (Mills et al., 2012). La síntesis de la hidrotalcita en un laboratorio fue reportada por primera vez en 1942, sin embargo, fue en la década de 1960 gracias a los estudios de difracción de rayos X de monocristal conducidos por Allman, Taylor y colaboradores que se obtuvo información acerca de la estructura de este mineral (Mohapatra y Parida, 2016; Mishra et al., 2018).

Los LDH tienen tres características estructurales principales: 1) tienen estructura laminar, 2) las láminas presentes en la estructura están constituidas de cationes metálicos y 3) contienen aniones entre las láminas (Tang et al., 2020).

La estructura laminar de los LDH es debida a que cada ion metálico está coordinado octaédricamente por iones OH^- , y que cada unidad octaédrica comparte sus aristas con la unidad adyacente, lo que hace que la lámina se extienda de forma infinita, mientras que la presencia de aniones es necesaria para balancear el exceso de densidad de carga positiva que las láminas adquieren como consecuencia de la presencia de cationes trivalentes en las láminas (Goh et al., 2008; Mishra et al., 2018).

Los LDH son representados con la fórmula general $[M_{1-x}M_x(OH)_2]^{x+}(A^{n-})_{x/n}mH_2O$, donde M^{2+} y M^{3+} son cationes metálicos divalentes y trivalentes que se encuentran

uniformemente distribuidos, x representa la proporción molar de los cationes y A^{n-} son los aniones de valencia n presentes en la intercapa (Bukhtiyarova, 2019). La figura 4.2 representa la estructura de un LDH donde se señalan dos regiones importantes: 1) espacio basal, distancia entre dos centros metálicos en láminas adyacentes y 2) intercapa, espacio entre dos láminas adyacentes y donde se encuentran los aniones que balancean el exceso de carga positiva (Goh et al., 2008).

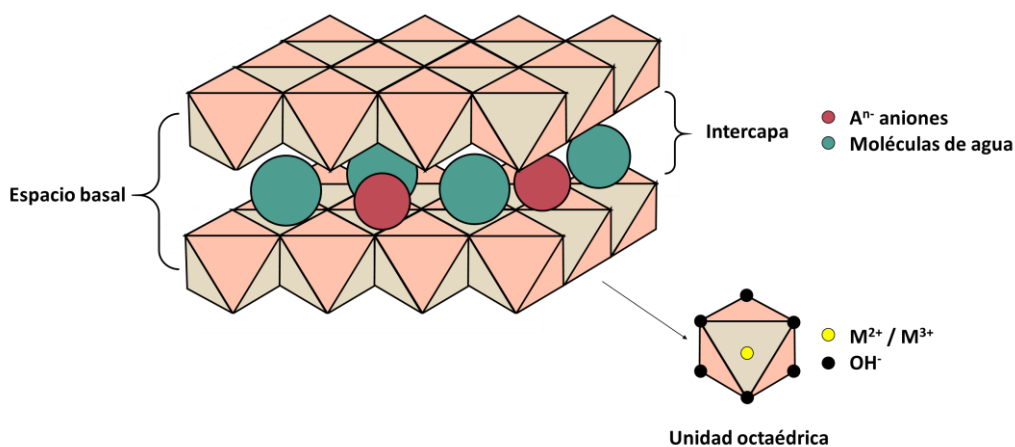


Figura 4.2. Estructura de un hidróxido doble laminar.

Diferentes cationes metálicos divalentes (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} y Co^{2+}) así como cationes trivalentes (Al^{3+} , Fe^{3+} y Cr^{3+}) pueden utilizarse para sintetizar LDHs. El parámetro a tener en cuenta en la selección de cationes metálicos para la síntesis de un LDH es el radio iónico, el cual debe estar entre 0.65-0.80 Å para M^{2+} y 0.62-0.69 Å para M^{3+} con la única excepción del Al^{3+} (0.50 Å); los cationes metálicos con radios iónicos fuera de este rango, son incompatibles en la formación de LDHs (Mishra et al., 2018). La relación molar de los cationes metálicos, determina la densidad de carga positiva que el LDH contendrá en su estructura y debe considerarse dentro del proceso de síntesis debido a que esto es determinante en las propiedades fisicoquímicas del LDH (Johnston et al., 2021).

La región de Intercapa contiene moléculas de agua y aniones que pueden ser incorporados durante el proceso de síntesis como contra iones de los precursores

metálicos o bien de forma posterior. La modificación del anión en la intercapa se lleva a cabo principalmente a través de dos metodologías:

1) Intercambio iónico: una determinada cantidad de LDH es dispersado en una solución que contiene el anión deseado con el fin de promover el intercambio iónico al desplazar el anión inicial e incorporar el que se encuentra en solución (Mishra et al., 2018).

2) Calcinación-rehidratación: el LDH es calcinado con el objetivo de remover los aniones en la intercapa y obtener óxidos metálicos, posteriormente al secado, estos óxidos metálicos son puestos en contacto con una solución que contiene al analito de interés y se lleva a cabo la regeneración del LDH que ahora contendrá al anión presente en solución (Ye et al., 2022).

A través de síntesis directa o tratamientos posteriores, se han incorporado a la intercapa aniones inorgánicos (F^- , Cl^- , Br^- , CO_3^{2-} , NO_3^- , ClO_4^- , SO_4^{2-} , etc), aniones orgánicos (ácidos carboxílicos y surfactantes) y biomoléculas (aminoácidos y vitaminas) (Johnston et al., 2021). La amplia combinación de metales y aniones que pueden ser empleados para obtener LDHs, permite la obtención de una amplia gama de materiales isoestructurales, con propiedades de acuerdo al fin para el que son desarrolladas (Zhang et al., 2004).

La razón detrás de la extensa aplicación de los LDH en sistemas de remoción y preconcentración reside en que los LDH presentan elevada área superficial, porosidad y capacidad de intercambio aniónico a través de la movilidad de los aniones presentes en la intercapa (Chubar et al., 2017). Los LDH han sido empleados con éxito en la remoción de metales, colorantes, pesticidas y fármacos (Chaara et al., 2011; Mittal, 2021; Nava-Andrade et al., 2021; Guan et al., 2022).

De acuerdo a lo anterior, el presente capítulo describe el desarrollo de una metodología analítica para la remoción de α -NAP y β -NAP en muestras de agua empleando tres sistemas LDH (MgAl, NiAl y CoAl). Se realizó un estudio sistemático del efecto del anión en la intercapa, así como de la proporción de los cationes metálicos sobre la capacidad de remoción y una vez que se encuentra la

composición óptima del LDH, se realiza una optimización univariable de los parámetros que afectan el proceso DSPME de remoción.

4.3 Metodología experimental

4.3.1 Reactivos

Nitrato de magnesio hexahidratado ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (98.0%), cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (98.0%), cloruro de cobalto hexahidratado ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (98.0%), cloruro de níquel hexahidratado ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (98.0%), nitrato de aluminio nonahidratado ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (98.0%), nitrato de sodio (NaNO_3) (98.0%), cloruro de sodio (NaCl) (98.0%), carbonato de sodio (Na_2CO_3) (98.0%), dodecilsulfato de sodio (SDS^-) (98.0%) y benzoato de sodio (BenO^-) (98.0%) empleados en la síntesis de los LDH fueron obtenidos de Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, EE. UU.). Metanol (MeOH), etanol (EtOH), acetonitrilo (ACN) y acetona grado HPLC empleados en el proceso de elución fueron obtenidos de Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, EE. UU.).

4.3.2 Equipos

La caracterización del adsorbente se realizó empleando un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier Perkin Elmer 400 FT-IR (Perkin-Elmer inc., Wellesley, MA, EE.UU.) con un Pike Gladi ATR (Pike Technologies, Inc., EE.UU.). El contenido de metales en el adsorbente fue terminado a través de espectroscopía de absorción atómica de flama (FAAS) utilizando un equipo SpectrAA 880 (Varian).

La morfología del adsorbente se evaluó con un microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM-820. La estabilidad térmica del adsorbente se determinó utilizando un equipo Universal TGA Analyzer 200 con software Universal V4.7A, en el intervalo de temperatura de 25 a 700 °C ($10^\circ\text{C min}^{-1}$).

La separación electroforética fue realizada utilizando un equipo Beckman Coulter P/ACE 5500 (Fullerton, CA, EE.UU.) con detector de arreglo de diodos (DAD),

empleando un capilar de sílice fundida (41.7 cm x 0.75 μm i.d.). Los datos obtenidos se analizaron con el software Beckman P/ACE system MDQ versión 2.3.

4.3.3 Síntesis del LDH

Los LDH fueron sintetizados empleando el método de co-precipitación, para este fin, se disolvió la cantidad necesaria de las sales de los respectivos cationes metálicos (Mg-Al, Ni-Al y Co-Al) con diferente relación molar (4:1 a 1:4) en 40 mL de agua desionizada, empleando NO_3^- , Cl^- y CO_3^{2-} en la intercapa, de forma subsecuente, el pH de las soluciones se ajustó a 10 utilizando una solución de NaOH 6M. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 1 h a 80 °C en atmosfera inerte (N_2) (He et al., 2006).

Los LDH obtenidos fueron reservados en el medio de reacción a temperatura ambiente durante 3 días, posteriormente, fueron lavados en 5 ocasiones con 10 mL de agua desionizada y secados a 80 °C durante 24 h. Los LDH con intercapa de SDS^- y BenO^- fueron obtenidos mediante intercambio iónico. Para ello una determinada cantidad de LDH con de nitratos (MgAl/NO_3^- , NiAl/NO_3^- , y CoAl/NO_3^-) es dispersada durante 15 min en 10 mL de una solución que contiene al anión de interés (SDS^- y BenO^-) en una concentración 40% (P/V), una vez concluido el tiempo de dispersión, los LDH obtenidos son lavados en 5 ocasiones con 10 mL de agua desionizada para remover el exceso de aniones y finalmente fueron secados a 80 °C durante 24 h (He et al., 2006).

4.3.4 Aplicación del método

En una primera etapa, 5 mg del LDH fueron dispuestos en un tubo Eppendorf de 1.5 mL y dispersado durante 3 min con 1 mL de agua desionizada, posteriormente, el LDH fue aislado por centrifugación (5000 rpm, 3 min) y el sobrenadante fue removido. Subsecuentemente, se agregó 1 mL de la muestra de agua al tubo Eppendorf que contenía al LDH previamente acondicionado y se dispersó durante 2.5 min, finalmente, la mezcla fue centrifugada y el sobrenadante fue dopado con El en una concentración final de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ser analizado por LVSS-CE, la figura 3.3 ilustra el proceso.

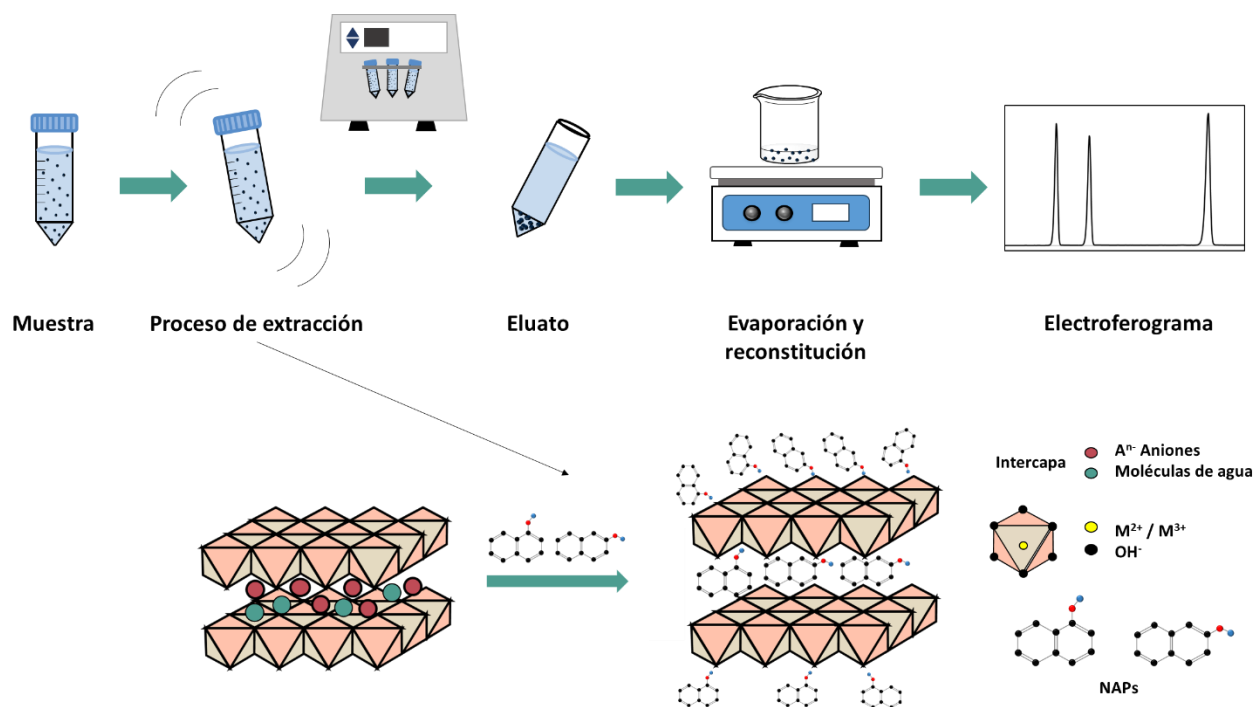


Figura 4.3. Proceso de micro-extracción en fase sólida empleando LDH.

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Caracterización del adsorbente

4.4.1.1 Infrarrojo

El espectro de infrarrojo del LDH MgAl/Cl⁻ es mostrado en la figura 4.4. En el espectro se observa una banda centrada entre 3465 y 3500 cm⁻¹ correspondiente al grupo hidroxilo (O-H) presente en las esferas de coordinación de los centros metálicos Mg²⁺ y Al³⁺ así como de las moléculas de agua presentes en la intercapa del LDH, las bandas alrededor de 950 y 555 cm⁻¹ son asociadas al estiramiento de los enlaces Al-O. Finalmente, la banda en la región de 1370 cm⁻¹ corresponde a los aniones carbonato presentes en la intercapa debido a la contaminación por el método de síntesis empleado (Violante et al., 2009; Conterosito et al., 2018).

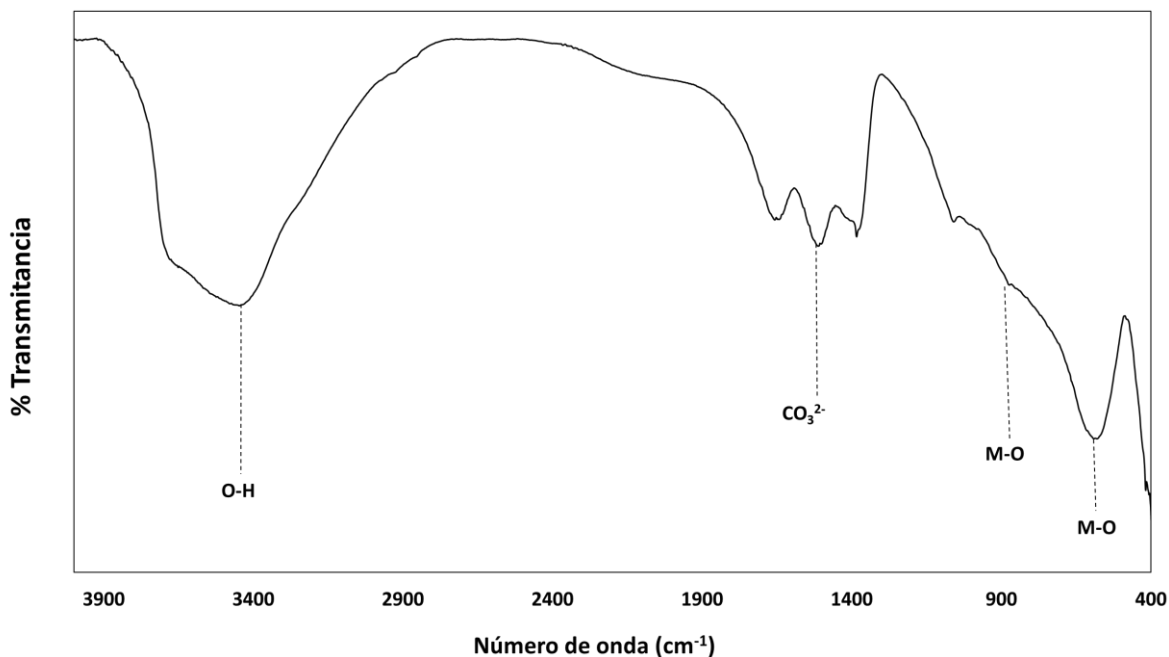


Figura 4.4. Espectro FITR del LDH MgAl/Cl⁻.

4.4.1.2 Análisis termogravimétrico

La figura 4.5 muestra las curvas TGA-DTG. Se observan dos diferentes fases en la degradación del LDH MgAl/Cl⁻, la primera pérdida de masa ocurre entre 60 y 236 °C y representa el 22.18% de la masa total, atribuida a la remoción del agua adsorbida de forma superficial, así como al agua presente en la intercapa. Finalmente, la segunda pérdida de masa ocurre entre 300 y 690 °C que representa el 34.82% de la masa total, atribuida a la pérdida de los aniones presentes en la intercapa, así como a la deshidroxilación de las esferas de coordinación presentes en las láminas del LDH (Theiss et al., 2013).

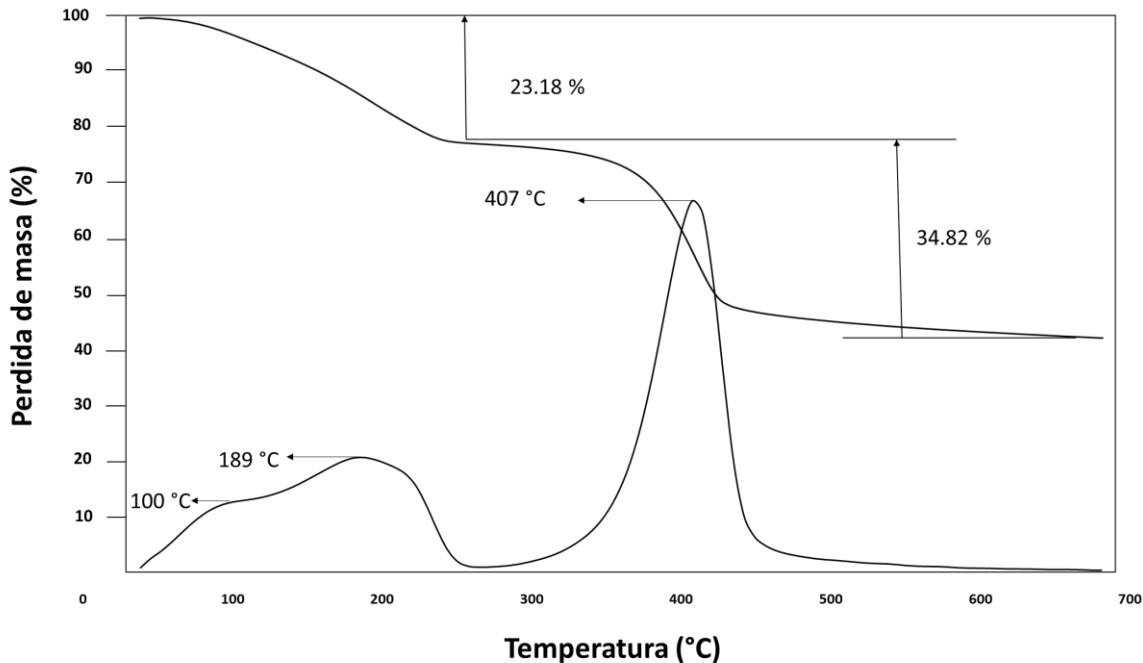


Figura 4.5. Curvas TGA-DTG del LDH.

4.4.1.3 Absorción atómica de flama

A través de FAAS se determinó que la relación Mg:Al en el LDH óptimo es 2.5:1.0 la diferencia entre la relación molar en el LDH obtenido y la relación molar en la mezcla de reacción se atribuye a la disolución de las láminas durante el proceso de síntesis y los cambios de temperatura durante el proceso de cristalización (Villegas et al., 2003; Iqbal y Fedel, 2019).

4.4.1.4 Microscopía electrónica de barrido

La morfología del LDH MgAl/Cl⁻ fue investigada a través de microscopía electrónica de barrido (SEM). La figura 4.6 muestra las microfotografías obtenidas donde se aprecia la morfología laminar con la característica forma hexagonal (Tao et al 2006; Iyi et al., 2004).

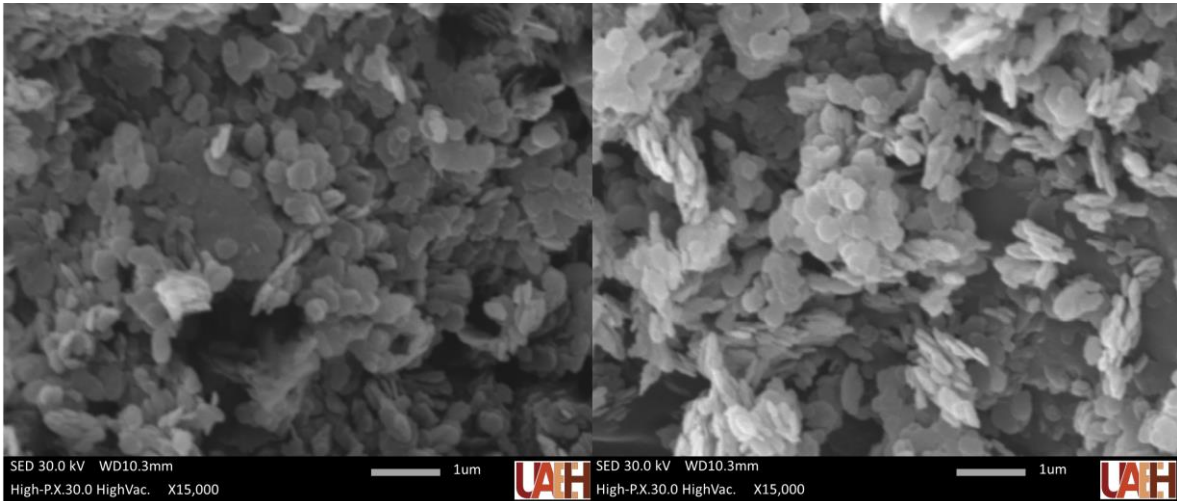


Figura 4.6. Microscopía electrónica de barrido del LDH.

4.4.1.5 Isotermas de adsorción

El modelo de Langmuir (ecuaciones 4.1 y 4.2) describe el proceso de adsorción de moléculas en superficies sólidas considerando que las moléculas son adsorbidas en una monocapa, que todos los sitios de la superficie tienen la misma probabilidad de ser ocupados y que no existe interacción entre las moléculas adsorbidas (Liu, 2015). El modelo de Langmuir se empleó en la obtención del parámetro Q_{max} el cual representa la capacidad máxima de saturación, mientras que la factibilidad del proceso de adsorción se evaluó a través del parámetro R_L ; así que el proceso de adsorción es factible cuando el valor de R_L oscila entre 0 y 1, mientras que si el valor de $R_L > 1$ el proceso de adsorción no es factible y si el valor de $R_L = 0$ el proceso de adsorción es irreversible (Dada et al., 2012; Flores-Aguilar et al., 2020).

$$\frac{1}{Q_e} = \frac{1}{Q_{max}K_L C_e} + \frac{1}{Q_{max}} \quad (4.1)$$

$$R_L = \frac{1}{1+K_L C_0} \quad (4.2)$$

El modelo de Dubinin-Radushkevich (ecuación 4.3-4.5) es usado para determinar el mecanismo de adsorción en superficies homogéneas y heterogéneas. La constante

β representa la energía libre asociada al proceso de adsorción, ϵ es el potencial Polanyi, R denota la constante de los gases ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T es la temperatura absoluta del sistema en Kelvin (K). De acuerdo a los valores de energía obtenidos es posible clasificar el proceso de adsorción como adsorción física si $E < 8 \text{ kJ mol}^{-1}$, mientras que se trata de un proceso de adsorción química si E cumple que $8 \text{ kJ mol}^{-1} < E < 16 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Dada et al., 2012; Flores-Aguilar et al., 2020).

$$\ln Q_e = \ln Q_m - \beta \epsilon^2 \quad (4.3)$$

$$\epsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad (4.4)$$

$$E = \frac{1}{\sqrt{2\beta}} \quad (4.5)$$

La tabla 4.1 muestra los resultados obtenidos. Los datos experimentales se ajustan al modelo de Langmuir con un coeficiente de determinación $r^2 > 0.99$, de este modo, se determina que la capacidad máxima de adsorción (Q_{\max}) es de 3.766 a 4.020 mg g^{-1} , mientras que los valores de R_L de 0.620 a 0.674 corroboran la factibilidad del proceso de adsorción. Finalmente, el modelo de Dubinin-Radushkevich indica que el proceso de adsorción es un proceso químico con valores de E de 10.783 kJ mol^{-1} a 11.471 kJ mol^{-1} .

Tabla 4.1. Parámetros de adsorción para α -NAP y β -NAP.

	Langmuir			Dubinin-Radushkevich	
	$Q_{\max} (\text{mg g}^{-1})$	R_L	r^2	$E (\text{kJ mol}^{-1})$	r^2
α -NAP	3.766	0.620	0.991	11.471	1.000
β -NAP	4.020	0.674	0.996	10.783	0.941

4.4.2 Evaluación de la composición del LDH en la remoción de NAPs

El anión presente en la intercapa, así como la proporción de los cationes metálicos M^{2+} y M^{3+} son los factores críticos que determinan la capacidad de remoción y esto ha sido motivo de diversas investigaciones. Sin embargo, al momento de la publicación de este trabajo, no existe un trabajo reportado que estudie el efecto de

diferentes cationes metálicas M^{2+} en la remoción de algún contaminante bajo las mismas condiciones experimentales, a continuación, se realiza un estudio sistemático de la remoción de NAPs empleando 3 diferentes sistemas LDH (MgAl, CoAl y NiAl).

4.4.2.1 Efecto del anión de intercapa

Para evaluar el efecto del anión presente en la intercapa sobre la capacidad de adsorción, se sintetizaron diferentes LDH con proporción molar $M^{2+}:M^{3+}$ (3:1) utilizando intercapas inorgánicas (NO_3^- , Cl^- , y CO_3^{2-}) la figura 4.7 muestra los resultados. Se observa que la capacidad de adsorción disminuye conforme aumenta la densidad de carga negativa en los aniones, este efecto es debido al aumento en la intensidad de las interacciones electrostáticas entre los aniones presentes en la intercapa y las láminas cargadas positivamente, lo que inhibe la capacidad de intercambio aniónico conforme el siguiente orden $NO_3^- > Cl^- > CO_3^{2-}$, sin embargo, para el sistema LDH MgAl se obtienen porcentajes de remoción similares para los aniones NO_3^- así como Cl^- (>92.80%, %DER < 10%, n=3) (Abdolmohammad-Zadeh et al., 2013; Johnston et al., 2021).

De manera frecuente se reporta que la incorporación de aniones inorgánicos mejora la capacidad de adsorción de los LDH a través de incrementar el espacio basal y promoviendo interacciones hidrofóbicas (Yu et al., 2017; Deng et al., 2018), de acuerdo a lo anterior, se evaluó el efecto de la incorporación de los aniones SDS^- y $BenO^-$ a la intercapa sobre la capacidad de adsorción. De acuerdo a los resultados mostrados en la figura 4.7, la incorporación de $BenO^-$ provee porcentajes de remoción en el rango de 19.09 a 27.04% (%DER <10%, n=3), a pesar del anillo aromático presente en la estructura del $BenO^-$ que puede promover interacciones de tipo $\pi-\pi$ con los anillos aromáticos de los analitos. Dichas interacciones no son suficientes para mejorar el porcentaje de remoción, esto debido quizá a que existe una elevada afinidad del $BenO^-$ hacia el LDH que afecta la eficiencia de la adsorción (Yu et al., 2017). La incorporación del SDS^- permite obtener porcentajes de remoción de 57.82 a 63.64% (%DER <10%, n=3; en este caso, la incorporación de

dicho anión mejora los porcentajes de remoción a través de incrementar el espacio basal y de la promoción de interacciones σ - π entre la cadena alifática del SDS⁻ y de los anillos aromáticos en los NAPs (Xiong et al., 2019).

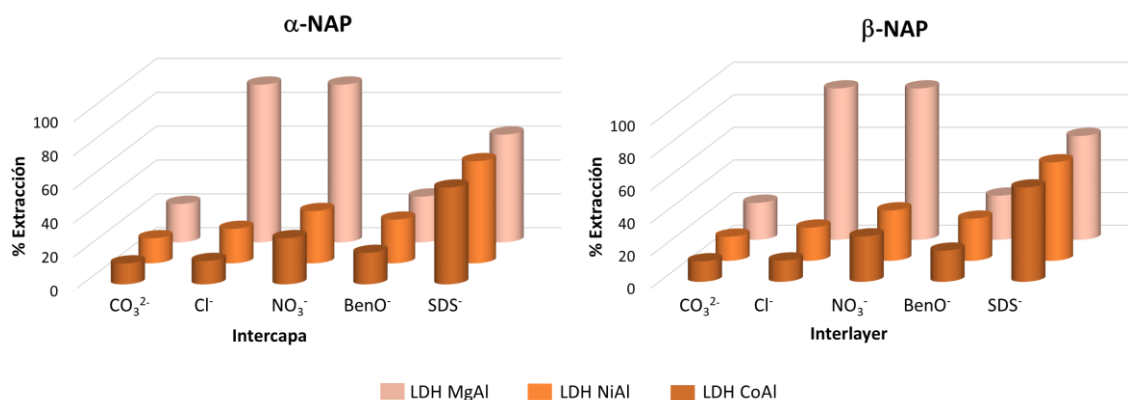


Figura 4.7. Efecto de la intercapa en la remoción de α -NAP y β -NAP.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta etapa, se selecciona al LDH MgAl con intercapa de Cl⁻ y a los LDH de NiAl y CoAl con intercapa de SDS⁻ como adsorbentes óptimos para estudios subsecuentes.

4.4.2.2 Efecto de la relación molar de los cationes metálicos

En esta etapa se evaluó la capacidad de adsorción de los diferentes LDH manteniendo la intercapa óptima obtenida en la sección 4.4.2.1, para esto, se sintetizaron LDHs con relaciones molares desde 4:1 hasta 1:4 ($M^{2+}:M^{3+}$) y los resultados se muestran en la figura 4.8. Se observa una tendencia y esta es que la capacidad de adsorción disminuye a medida que aumenta la proporción de M^{3+} ; este efecto es atribuido al exceso de carga positiva en las láminas generado por el alto contenido del catión M^{3+} , lo que conlleva a un aumento en la intensidad de las interacciones electrostáticas, inhibiendo así el proceso de intercambio aniónico (Chen et al., 2019). De forma adicional, se observa que para los LDH con relaciones molares de 1:1 a 1:4 una pérdida de la capacidad de adsorción, así como la pérdida de homogeneidad del material (Sui et al., 2012).

Finalmente, se observa que los mejores porcentajes de adsorción (57.23 a 92.80%, %DER <10%, n=3) son provistos por los sistemas LDH de relación 4:1 y 3:1, por esto, son seleccionados como óptimos para estudios posteriores.

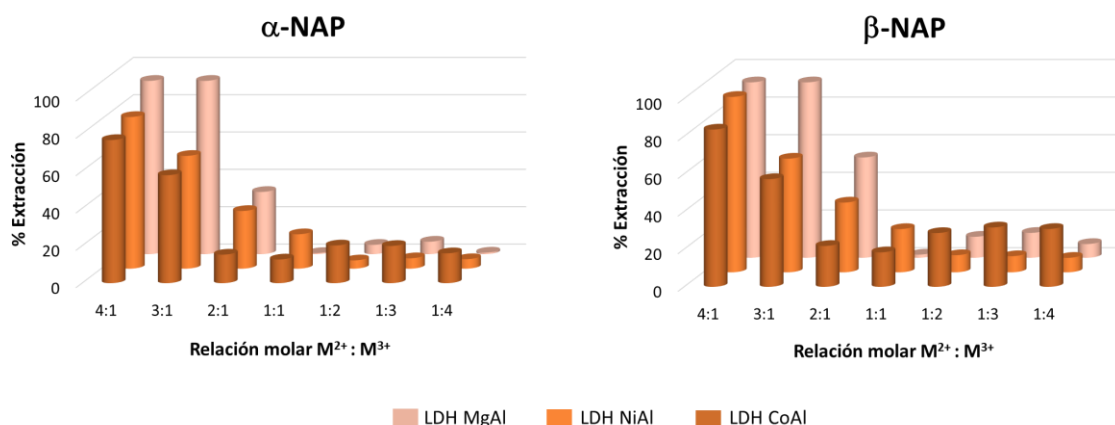


Figura 4.8. Efecto de la relación molar en la capacidad de remoción de α -NAP y β -NAP.

4.4.3 Optimización de la elución

Para evaluar la potencial aplicación de los LDH en un sistema de preconcentración para NAPs, ahora se evalúa el proceso de elución a través del porcentaje de recuperación absoluta empleando soluciones de concentración conocida.

El proceso de elución implica la dispersión de los LDH posterior a la extracción con 1 mL de solvente orgánico (MeOH, EtOH, ACN y acetona) durante 5 min, posteriormente se lleva a cabo la separación de las fases a través de centrifugación, el solvente orgánico es aislado y evaporado a sequedad bajo una corriente de aire, para posteriormente ser reconstituido en 1 mL de una solución que contiene al EI en una concentración de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para su análisis por LVSS-CE.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 4.2. Se observa que el proceso de elución se lleva de manera adecuada exclusivamente cuando se utiliza acetona como solvente en el sistema LDH MgAl/ Cl^- , este comportamiento puede ser

explicado por la baja polaridad de la acetona que promueve la solubilidad de los analitos con carácter hidrofóbico, obteniendo porcentajes de recuperación absoluta de 23.46 y 58.25% (%DER <10%, n=3) para los LDH de MgAl (4:1) y (3:1), respectivamente (Ballesteros-Gómez et al., 2010). Por otra parte, no es posible llevar a cabo el análisis por LVSS-CE posterior al proceso de extracción-elución con los LDH de Ni²⁺ y Co²⁺ que contienen intercapa de SDS⁻, esto atribuido a que, durante el proceso de elución, el SDS⁻ presente en la intercapa puede ser lixiviado al eluato y debido al elevado volumen de inyección que implica la técnica LVSS-CE, el surfactante puede ser adsorbido en la pared del capilar lo que afecta la movilidad electroforética (Zhong et al., 2011). De acuerdo a lo anterior el LDH de MgAl/Cl⁻ (3:1) es seleccionado para pruebas de elución subsecuentes.

Tabla 4.2. Pruebas de elución empleando diferentes solventes orgánicos para LDHs con proporciones 4:1 y 3:1.

Eluyentes	LDH					
	MgAl/Cl ⁻	MgAl/Cl ⁻	NiAl/SDS ⁻	NiAl/SDS ⁻	CoAl/SDS ⁻	CoAl/SDS ⁻
	(4:1)	(3:1)	(4:1)	(3:1)	(4:1)	(3:1)
Metanol	x	X	X	X	x	X
Etanol	x	X	X	X	x	X
Acetonitrilo	x	X	X	X	x	X
Acetona	23.45 ± 6.68	58.25 ± 5.99	X	X	x	X

Se evaluó el efecto de acetona acidificada (acetona/HCl) a 3 niveles de concentración de HCl: [0.001 M], [0.01 M], y [0.1 M] para mejorar la eficiencia de la elución. La figura 4.9 muestra los resultados. Se observa que el porcentaje de recuperación absoluta mejora desde 58.25 hasta 96.49% (%DER <10%, n=3) cuando la concentración de HCl aumenta a 0.1M, de esta manera, el eluyente óptimo es acetona/HCl [0.1 M].

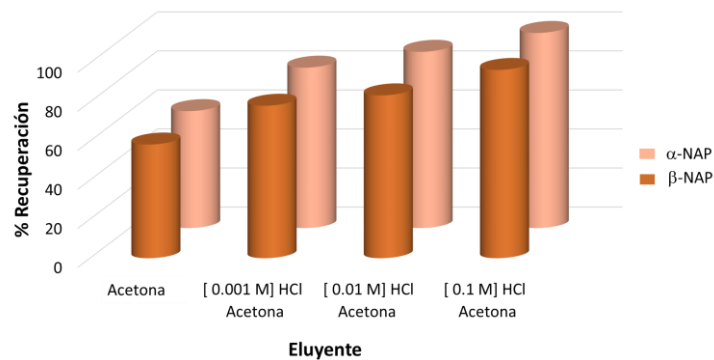


Figura 4.9. Optimización del proceso de elución empleando acetona/HCl.

4.4.4 Optimización del sistema de micro-extracción en fase sólida dispersiva

4.4.4.1 Efecto del pH

Los NAPs así como el LDH pueden adquirir diferentes cargas netas dependiendo del pH de trabajo y esta carga neta es determinante en la forma de cómo interaccionan los analitos con el adsorbente, de esta manera, el efecto del pH se evaluó en el intervalo de pH de 4 a 12. Los resultados son mostrados en la figura 4.10.

Se observa que en el intervalo de pH 4 a 10 se obtienen porcentajes de remoción superiores al 92.80% en todos los casos, debido a que el grupo hidroxilo presente en los NAPs polariza la molécula y permite la interacción con los grupos hidroxilo presentes en la superficie de los LDH a través de fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno (Nava-Andrade et al., 2021). Por otra parte, las repulsiones electrostáticas entre las bases conjugadas de los NAPs y la superficie cargada negativamente del LDH afectan el proceso de remoción a partir de valores de pH de 10, esto de acuerdo al pH de punto de carga cero ($\text{pH}_{\text{PZC}}=9.6$) y los valores de pKa 9.30 y 9.76 para α -NAP y β -NAP, respectivamente (Li et al., 2018; Sirajudheen et al., 2020). De acuerdo a lo anterior, pH 7 fue seleccionado como óptimo (Abdolmohammad-Zadeh et al., 2013).

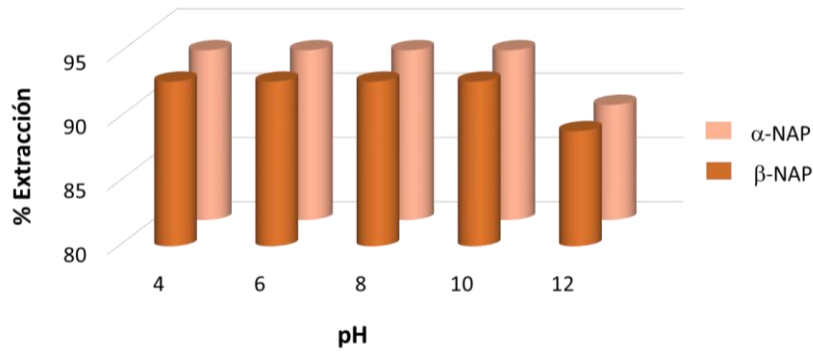


Figura 4.10. Efecto del pH sobre la capacidad de remoción.

4.4.4.2 Efecto de la cantidad de LDH

La cantidad de LDH determina la disponibilidad de sitios activos en el sistema, es por esto, que se evalúa el efecto de la cantidad de LDH sobre la eficiencia de la remoción en el intervalo de 1 a 30 mg. En los resultados mostrados en la figura 4.11, se observa que los porcentajes de remoción aumentan desde 40.39% cuando se emplea 1 mg de LDH hasta 92.80% (%DER <10%, n=3) cuando se utilizan 5 mg, de este modo, para minimizar la cantidad de LDH empleada, se seleccionan 5 mg como cantidad óptima para pruebas posteriores.

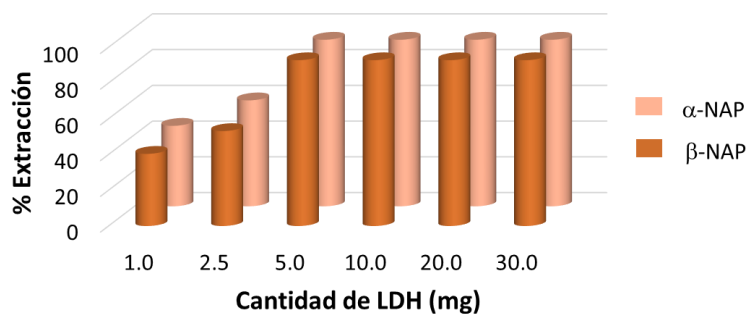


Figura 4.11. Efecto de la cantidad de adsorbente en la eficiencia de la remoción.

3.4.4.3 Efecto del tiempo de dispersión

La eficiencia de la remoción está influenciada por el tiempo de contacto, que es el tiempo necesitado para garantizar el equilibrio (Loutfi et al., 2023). El tiempo de

contacto fue evaluado en el intervalo de 1 a 15 min de tiempo de dispersión. En la figura 4.12 se observan porcentajes de remoción de 70.09% con %DER <10% en todos los casos, cuando el tiempo de dispersión es de 1 minuto y se obtienen porcentajes de remoción superiores a 92.80% (%DER <10%, n=3) a partir de 2.5 min. Para priorizar el número de análisis en el tiempo, se seleccionan 2.5 min de tiempo de dispersión como óptimo.

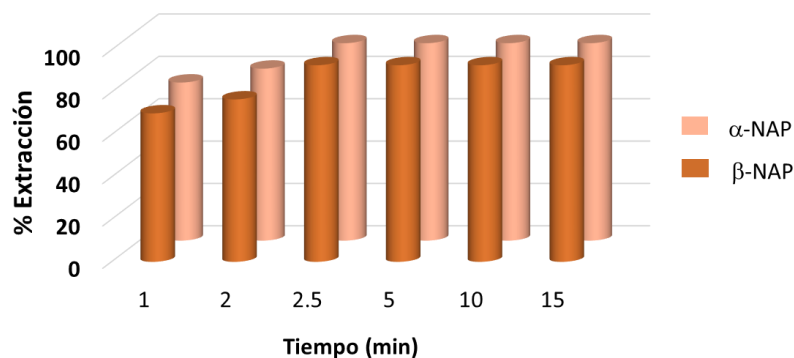


Figura 4.12. Efecto del tiempo de dispersión en la eficiencia de la remoción.

Como resultado de esta etapa, se determina que las condiciones óptimas del sistema DSPME son: pH 4 - 10, 5 mg de LDH y 2.5 min de tiempo de dispersión.

4.4.5 Efecto de la fuerza iónica

Se evaluó el efecto de la fuerza iónica en la eficiencia de la remoción. Para ello se emplearon soluciones estándar que contenían al analito y concentraciones conocidas de NaCl en el rango de 1×10^{-5} a 1×10^{-1} M y la figura 4.13 muestra los resultados obtenidos. Se tiene que el porcentaje de remoción disminuye desde 92.80 hasta 29.42% (%DER <10%, n=3) cuando la concentración de NaCl incrementa de 1×10^{-5} a 1×10^{-1} M, lo cual es atribuido a la saturación de los sitios activos del LDH (Zhou et al., 2016; Sirajudheen et al., 2020).

La fuerza iónica es una de las principales limitantes en la aplicación de la metodología, sin embargo, el contenido de Cl^- en muestras de agua potable y de grifo oscila entre 10 mg L^{-1} y 200 mg L^{-1} , por tanto, la metodología puede ser

aplicada, sin embargo, presenta limitaciones en muestras de agua de mar donde el contenido de Cl^- se encuentra alrededor de $19,348 \text{ mg L}^{-1}$ afectando el porcentaje de remoción (Burlingame et al., 2007).

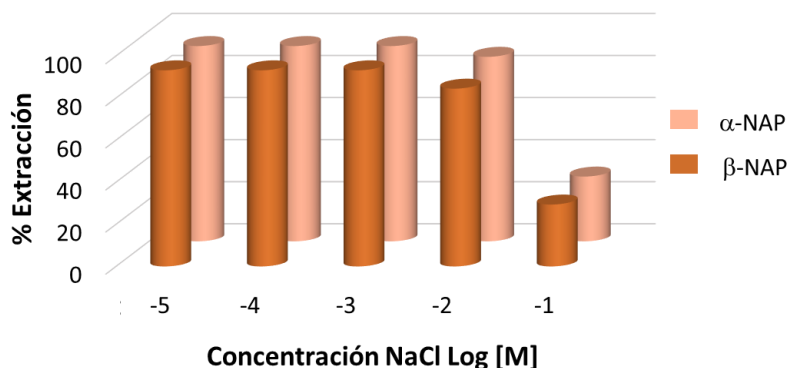


Figura 4.13. Efecto de la fuerza iónica en la eficiencia de la remoción.

4.4.6 Análisis de interferentes

La eficiencia de remoción del LDH MgAl/Cl^- fue evaluada en presencia de dos interferentes: fenol y bisfenol A, los cuales son contaminantes orgánicos que de acuerdo a reportes previos pueden coexistir con los NAPs en muestras de agua embotellada y de lago (Peng et al., 2016). Los experimentos se evaluaron a dos diferentes relaciones de concentración (1:1 y 1:3). La figura 4.14 muestra los electroferogramas obtenidos donde se observa la selectividad del LDH MgAl/Cl^- hacia los NAPs obteniendo porcentajes de remoción superiores al LOD, mientras que la relación de áreas de los interferentes con respecto del EI se mantiene constante antes y después del proceso DSPME.

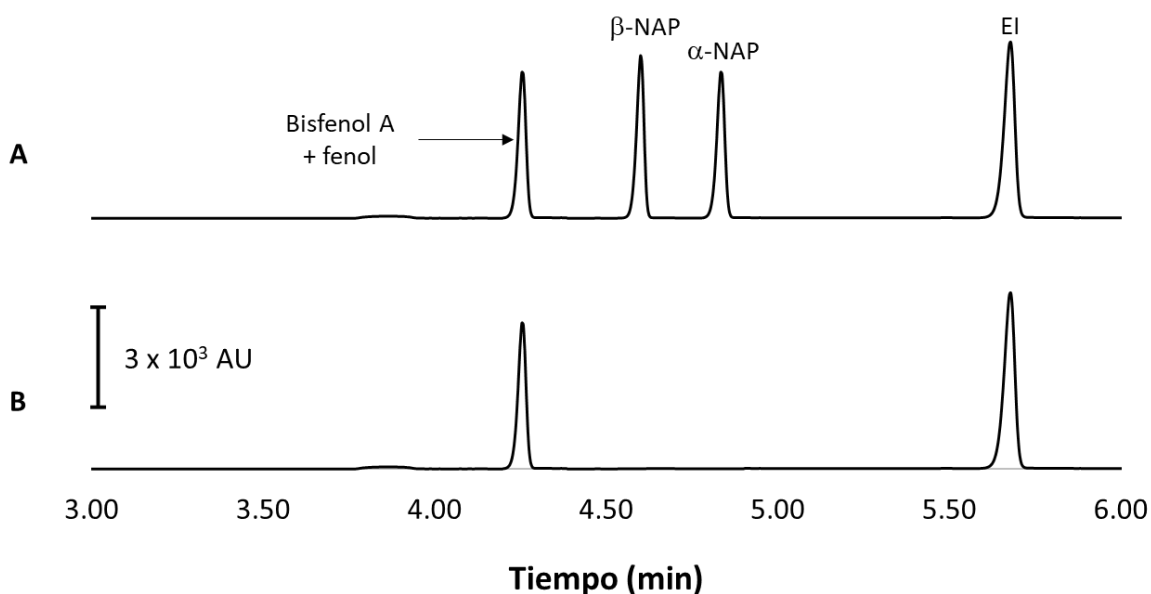


Figura 4.14. Electroferogramas obtenidos en el análisis de NAPs e interferentes: A) solución estándar de α -NAP 1 mg L^{-1} , β -NAP 1 mg L^{-1} , bisfenol A 1 mg L^{-1} y fenol 1 mg L^{-1} analizada por CE y B) solución estándar de α -NAP 1 mg L^{-1} , β -NAP 1 mg L^{-1} , bisfenol A 1 mg L^{-1} y fenol 1 mg L^{-1} tratada por el proceso DSPME desarrollado y analizado por CE.

4.4.7 Aplicación en muestras reales

17 muestras de agua (grifo y agua potable) fueron previamente analizadas por LVSS-CE, sin embargo, al no encontrar muestras positivas a NAPs, se realizó el dopaje de muestras para demostrar que el LDH MgAl/Cl⁻ puede ser aplicado en la remoción de NAPs incluso en cantidades ultra-traza. Las muestras de agua fueron dopadas en concentraciones de $25\ \mu\text{g L}^{-1}$ y tratadas bajo las condiciones óptimas del proceso DSPME desarrollado. La figura 4.15 muestra los electroferogramas obtenidos, donde se observa la remoción completa de los NAPs.

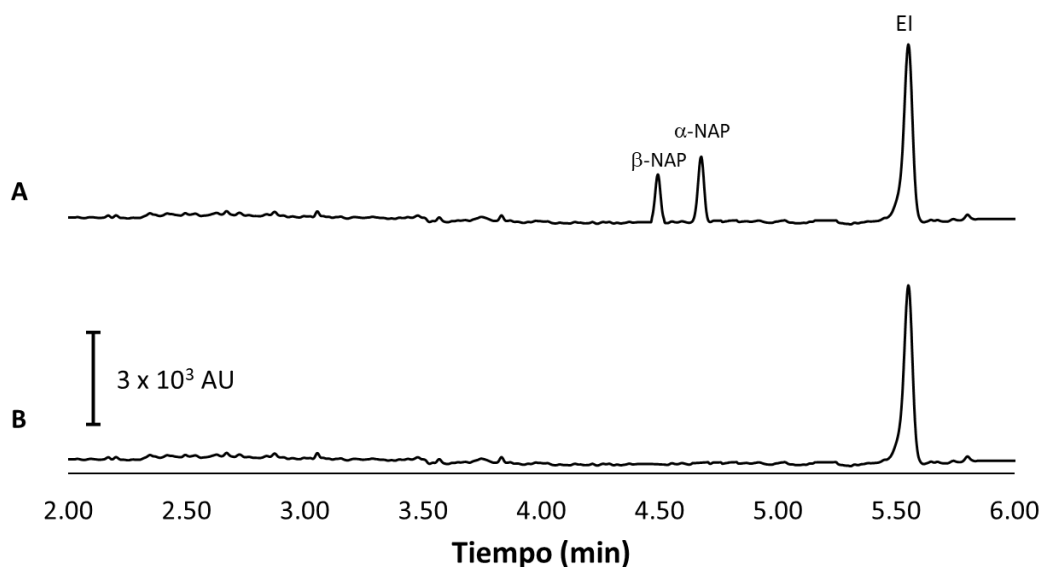


Figura 4.15. Electroferogramas obtenidos en la remoción de naftoles por la metodología DSPME: A) muestra de agua de grifo dopada con α -NAP $25 \mu\text{g L}^{-1}$, β -NAP $25 \mu\text{g L}^{-1}$ y EI $50 \mu\text{g L}^{-1}$ analizada por LVSS-CE (180 s de inyección (0.5 psi), 180 s de pre-concentración y -6 kV de voltaje de pre-concentración) y B) muestra de agua de grifo dopada con α -NAP $25 \mu\text{g L}^{-1}$, β -NAP $25 \mu\text{g L}^{-1}$ y EI $50 \mu\text{g L}^{-1}$, tratada por la metodología DSPME propuesta y analizada por LVSS-CE (180 s de inyección (0.5 psi), 180 s de pre-concentración y -6 kV de voltaje de pre-concentración).

4.4.8 Comparación del método de remoción

De acuerdo a la bibliografía, diversos adsorbentes han sido empleados en la remoción de α -NAP y β -NAP; en 2011 Zhao y colaboradores describieron el uso de nanofojas de grafeno, en 2016 Zhou y colaboradores emplearon un adsorbente magnético a base de polianilina ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PANI}$) y en 2019 Abdelhameed y Hossam aplicaron un adsorbente basado en estructuras zeolíticas de imidazol; las condiciones de trabajo son descritas en la tabla 4.3. A pesar de las ventajas de cada adsorbente, el proceso DSPME basado en el uso del LDH MgAl/Cl^- emplea solo 5 mg de adsorbente, el equilibrio es alcanzado en 2.5 min y una elevada eficiencia de

remoción en el intervalo de pH 4 a 10. Dichos resultados representan una ventaja en el tratamiento de aguas ambientales en comparación con los métodos previamente descritos donde se emplea un tiempo de dispersión desde 5 hasta 48 h, incrementando así el tiempo de análisis. Por otra parte, la síntesis del adsorbente es fácil y rápida utilizando reactivos comunes en los laboratorios. La tabla 4.3, proporciona información específica de las condiciones de trabajo en los procesos de remoción descritos.

Tabla 4.3. Comparación de la metodología de remoción desarrollada con metodologías reportadas en la literatura.

Analito	Muestra	Volumen muestra	Adsorbente	Cantidad de adsorbente	Ph	Temperatura	Tiempo de contacto	REF
α -NAP	Agua	8 mL	Grafeno sulfonado	Suspensión (0.08 g/L)	7	313.15 K	15 H	Zhao et al., 2011
α -NAP, β -NAP y BPA	Agua	25 mL	Fe ₃ O ₄ @PANI	20 mg	2-7	T.A	5 H	Zhou et al., 2016
β -NAP	Agua	50 mL	ZIF@wool	250 mg	-	T.A	48 H	Abdelhameed y Emam, 2019
α -NAP y β -NAP	Agua	1 mL	MgAl/Cl-LDH	10 mg	4-10	T.A	2.5 min	Este trabajo

T.A: Temperatura ambiente

4.5 Conclusiones

- La naturaleza (orgánica o inorgánica) de la intercapa del LDH determina el modo de interacción analito-LDH a través de interacciones electrostáticas, π - π y σ - π , mejorando o inhibiendo la capacidad de remoción.
- La capacidad de remoción de los diferentes sistemas LDH disminuye a medida que aumenta la proporción de M^{3+} ; atribuida al exceso de densidad de carga positiva generada en las láminas del LDH. Los sistemas LDH con relación molar 4:1 y 3:1 proporcionan los mejores porcentajes de remoción (57.23 a 92.80%, %DER <10%, n=3).
- La elución se logra mediante el uso de acetona/HCl [0.1M] lo cual es debido a un efecto de solubilidad entre los analitos de carácter hidrofóbico y el solvente de baja polaridad, permitiendo obtener porcentajes de recuperación absoluta de 96.49% (%DER <10%, n=3).
- Bajo las condiciones óptimas del sistema DSPME: pH 4-10, 5 mg de LDH y 2.5 min de tiempo de dispersión, se obtienen porcentajes de remoción superiores a 92.80%
- La metodología propuesta puede ser aplicada con éxito en la remoción de α -NAP y β -NAP en cantidades ultra-traza en muestras de agua embotellada y de grifo.

4.6 Referencias

- Abdelhameed, R.E., & Emam, H.E (2019). Design of ZIF (Co & Zn)@wool composite for efficient removal of pharmaceutical intermediate from wastewater. *Journal of Colloid Interface Science*. 552, 494-505.
- Abdolmohammad-Zadeh, H., Ghorbani, E., & Talleb, Z. (2013). Zinc-aluminum layered double hydroxide as a nano-sorbent for removal of Reactive Yellow 84 dye from textile wastewater effluents. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 10, 1103-1112.
- Alaqarbeh, M. (2021). Adsorption phenomena: definition, mechanisms, and adsorption types: short review. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*, 13, 43-51.
- Ballesteros-Gómez, A., Sicilia, M. D., & Rubio, S. (2010). Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. *Analytica Chimica Acta*, 677(2), 108-130.
- Bukhtiyarova, M. V. (2019). A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides. *Journal of Solid State Chemistry*, 269, 494-506.
- Burlingame, G.A., Dietrich, A.M., & Whelton, A.J. (2007). Understanding the basics of tap water taste. *Journal of American Water Works Association*, 99(5), 100-111.
- Chara, D., Bruna, F., Ulibarri, M. A., Draoui, K., Barriga, C., & Pavlovic, I. (2011). Organo/layered double hydroxide nanohybrids used to remove non ionic pesticides. *Journal of hazardous materials*, 196, 350-359.
- Chen, Y., Jing, C., Zhang, X., Jiang, D., Liu, X., Dong, B., & Zhang, Y. (2019). Acid-salt treated CoAl layered double hydroxide nanosheets with enhanced adsorption capacity of methyl orange dye. *Journal of colloid and interface science*, 548, 100-109.
- Conterposito, E., Gianotti, V., Palin, L., Boccaleri, E., Viterbo, D., & Milanesio, M. (2018). Facile preparation methods of hydrotalcite layered materials and their

structural characterization by combined techniques. *Inorganica Chimica Acta*, 470, 36-50.

Chubar, N., Gilmour, R., Gerda, V., Mičušík, M., Omastova, M., Heister, K., & Zaitsev, V. (2017). Layered double hydroxides as the next generation inorganic anion exchangers: Synthetic methods versus applicability. *Advances in colloid and interface science*, 245, 62-80.

Dada, A. O., Olalekan, A. P., Olatunya, A. M., & Dada, O. J. I. J. C. (2012). Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich isotherms studies of equilibrium sorption of Zn²⁺ unto phosphoric acid modified rice husk. *IOSR Journal of applied chemistry*, 3(1), 38-45.

Dąbrowski, A. (2001). Adsorption-from theory to practice. *Advances in colloid and interface science*, 93(1-3), 135-224.

Deng, L., Zeng, H., Shi, Z., Zhang, W., & Luo, J. (2018). Sodium dodecyl sulfate intercalated and acrylamide anchored layered double hydroxides: A multifunctional adsorbent for highly efficient removal of Congo red. *Journal of colloid and interface science*, 521, 172-182.

Dimpe, K. M., & Nomngongo, P. N. (2019). Application of activated carbón-decorated polyacrylonitrile nanofibers as an adsorbent in dispersive solid-phase extraction of fluoroquinolones from wastewater. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 9(2), 117-126.

Flores-Aguilar, J. F., Miranda, J. M., Rodriguez, J. A., Paez-Hernandez, M. E., & Ibarra, I. S. (2020). Selective removal of tetracycline residue in milk samples using a molecularly imprinted polymer. *Journal of Polymer Research*, 27(7), 176-188.

Goh, K. H., Lim, T. T., & Dong, Z. (2008). Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: a review. *Water research*, 42(6-7), 1343-1368.

Guan, X., Yuan, X., Zhao, Y., Wang, H., Wang, H., Bai, J., & Li, Y. (2022). Application of functionalized layered double hydroxides for heavy metal removal: A review. *Science of The Total Environment*, 838, 155693-155706.

- Hanafi, M. F., & Sapawe, N. (2020). A review on the current techniques and technologies of organic pollutants removal from water/wastewater. *Materials Today: Proceedings*, 31, 158-165.
- He, J., Wei, M., Li, B., Kang, Y., Evans, D. G., & Duan, X. (2006). Preparation of layered double hydroxides. *Layered double hydroxides*, 89-119.
- Iqbal, M. A., & Fedel, M. (2019). Effect of synthesis conditions on the controlled growth of MgAl-LDH corrosion resistance film: structure and corrosion resistance properties. *Coatings*, 9(1), 30.
- Iyi, N., Matsumoto, T., Kaneko, Y., & Kitamura, K. (2004). A novel synthetic route to layered double hydroxides using hexamethylenetetramine. *Chemistry letters*, 33(9), 1122-1123.
- Li, E., Liao, L., Lv, G., Li, Z., Yang, C., & Lu, Y. (2018). The interactions between three typical PPCPs and LDH. *Frontiers in chemistry*, 6, 16-25.
- Liu, S. (2015). Cooperative adsorption on solid surfaces. *Journal of colloid and interface science*, 450, 224-238.
- Loutfi, M., Mariouch, R., Mariouch, I., Belfaquir, M., & ElYoubi, M. S. (2023). Adsorption of methylene blue dye from aqueous solutions onto natural clay: Equilibrium and kinetic studies. *Materials Today: Proceedings*, 72, 3638-3643.
- Johnston, A. L., Lester, E., Williams, O., & Gomes, R. L. (2021). Understanding Layered Double Hydroxide properties as sorbent materials for removing organic pollutants from environmental waters. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105197.
- Li, E., Liao, L., Lv, G., Li, Z., Yang, C., & Lu, Y. (2018). The interactions between three typical PPCPs and LDH. *Frontiers in chemistry*, 6, 16-25
- Lu, W., Ming, W., Zhang, X., & Chen, L. (2016). Molecularly imprinted polymers for dispersive solid-phase extraction of phenolic compounds in aqueous samples coupled with capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 37(19), 2487-2495.

Mills, S. J., Christy, A. G., Génin, J. M., Kameda, T., & Colombo, F. (2012). Nomenclature of the hydrotalcite supergroup: natural layered double hydroxides. *Mineralogical Magazine*, 76(5), 1289-1336.

Mishra, G., Dash, B., & Pandey, S. (2018). Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. *Applied Clay Science*, 153, 172-186.

Mittal, J. (2021). Recent progress in the synthesis of Layered Double Hydroxides and their application for the adsorptive removal of dyes: A review. *Journal of Environmental Management*, 295, 113017-113057.

Mohapatra, L., & Parida, K. (2016). A review on the recent progress, challenges and perspective of layered double hydroxides as promising photocatalysts. *Journal of Materials Chemistry A*, 4(28), 10744-10766.

Nava-Andrade, K., Carbajal-Arízaga, G. G., Obregón, S., & Rodríguez-González, V. (2021). Layered double hydroxides and related hybrid materials for removal of pharmaceutical pollutants from water. *Journal of Environmental Management*, 288, 112399-112417.

Peng, X., Wang, H., Yang, B., Zhan x., Wu, Y. (2016). Field-amplified sample injection-capillary electrophoresis for the determination of bisphenol A, α -naphthol and β -naphthol in drinks and lake water. *Chromatographia*, 79, 327-333.

Sirajudheen, P., Karthikeyan, P., & Meenakshi, S. (2020). Mechanistic performance of organic pollutants removal from water using Zn/Al layered double hydroxides imprinted carbon composite. *Surfaces and Interfaces*, 20, 100581-100593

Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A. V., Asensio-Ramos, M., & Hernández-Borges, J. (2015). Dispersive solid-phase extraction. *Analytical separation science*, 1525-1570.

Sui, M., Zhou, Y., Sheng, L., & Duan, B. (2012). Adsorption of norfloxacin in aqueous solution by Mg-Al layered double hydroxides with variable metal composition and interlayer anions. *Chemical engineering journal*, 210, 451-460.

Tang, S., Yao, Y., Chen, T., Kong, D., Shen, W., & Lee, H. K. (2020). Recent advances in the application of layered double hydroxides in analytical chemistry: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1103, 32-48.

Tao, Q., Zhang, Y., Zhang, X., Yuan, P., & He, H. (2006). Synthesis and characterization of layered double hydroxides with a high aspect ratio. *Journal of Solid State Chemistry*, 179(3), 708-715.

Theiss, F. L., Ayoko, G. A., & Frost, R. L. (2013). Thermogravimetric analysis of selected layered double hydroxides. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 112, 649-657.

Villegas, J. C., Giraldo, O. H., Laubernds, K., & Suib, S. L. (2003). New layered double hydroxides containing intercalated manganese oxide species: synthesis and characterization. *Inorganic chemistry*, 42(18), 5621-5631.

Violante, A., Pucci, M., Cozzolino, V., Zhu, J., & Pigna, M. (2009). Sorption/desorption of arsenate on/from Mg-Al layered double hydroxides: Influence of phosphate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 333(1), 63-70.

Wu, X., Hong, H., Liu, X., Guan, W., Meng, L., Ye, Y., & Ma, Y. (2013). Graphene-dispersive solid-phase extraction of phthalate acid esters from environmental water. *Science of the Total Environment*, 444, 224-230.

Xiong, T., Yuan, X., Wang, H., Wu, Z., Jiang, L., Leng, L., & Zeng, G. (2019). Highly efficient removal of diclofenac sodium from medical wastewater by Mg/Al layered double hydroxide-poly (m-phenylenediamine) composite. *Chemical Engineering Journal*, 366, 83-91.

Ye, H., Liu, S., Yu, D., Zhou, X., Qin, L., Lai, C., & Xiang, L. (2022). Regeneration mechanism, modification strategy, and environment application of layered double hydroxides: Insights based on memory effect. *Coordination Chemistry Reviews*, 450, 214253-214275.

Yu, S., Wang, X., Chen, Z., Wang, J., Wang, S., Hayat, T., & Wang, X. (2017). Layered double hydroxide intercalated with aromatic acid anions for the efficient

capture of aniline from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 321, 111-120.

Zhang, J., Zhang, F., Ren, L., Evans, D. G., & Duan, X. (2004). Synthesis of layered double hydroxide anionic clays intercalated by carboxylate anions. *Materials Chemistry and Physics*, 85(1), 207-214.

Zhao, G., Li, X., & Wang, X (2011). Kinetic and thermodynamic study of 1-naphthol adsorption from aqueous solution to sulfonated graphene nanosheets. *Chemical Engineering Journal*, 173(1) 185-190.

Zhong, S., Tan, S. N., Ge, L., Wang, W., & Chen, J. (2011). Determination of bisphenol A and naphthols in river water samples by capillary zone electrophoresis after cloud point extraction. *Talanta*, 85(1), 488-492.

Zhou, Q., Lei, M., Li, J., Zhao, K., Liu, Y. (2016). Determination of 1-naphthol and 2-naphthol from environmental waters by magnetic solid phase extraction with Fe@MgAl-layered double hydroxides nanoparticles as the adsorbents prior to high performance liquid chromatography, *Journal of chromatography A*. 1441, 1-7.

Zhou, Q., Wang, Y., Xiao, J., & Fan, H. (2016). Adsorption and removal of bisphenol A, α -naphthol and β -naphthol from aqueous solution by Fe₃O₄@ polyaniline core-shell nanomaterials. *Synthetic metals*. 212, 113-122.

Żwir-Ferenc, A., & Biziuk, M. (2006). Solid Phase Extraction Technique-Trends, Opportunities and Applications. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(5), 677-690.

Capítulo 5. Conclusiones generales

5. Conclusiones generales

El presente trabajo permitió el desarrollo de un sistema de preconcentración y remoción de los isómeros α -NAP y β -NAP.

- La técnica de preconcentración *on-line* LVSS-CE permite el análisis de α -NAP y β -NAP en concentraciones ultra-traza en muestras de agua embotellada y de grifo.
- La técnica LVSS-CE es competitiva comparada con técnicas de preconcentración reportadas en la literatura.
- La eficiencia del sistema de remoción está determinada por la composición del LDH (tipo de cationes metálicos, relación $M^{2+}:M^{3+}$ y naturaleza de la intercapa).
- Bajo las condiciones óptimas, la metodología propuesta puede ser aplicada en la remoción de α -NAP y β -NAP en muestras de agua embotellada y de grifo.
- Los sistemas desarrollados son simples, de bajo consumo de solventes, económicos y ambientalmente amigables.