



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

**Obtención de sílica gel funcionalizada con ácidos
húmicos y su utilización en la extracción de
cobre(II)**

TESIS

Que para obtener el título de

LICENCIADA EN QUÍMICA

Presenta:

AMAYRANI AVALOS GUILLÉN

Asesoras:

Dra. María Elena Páez Hernández

Dra. Silvia Nieto Velázquez



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

Mineral de la Reforma, Hgo., a 15 de octubre de 2018

Número de control: ICBI-D/817/2018
 Asunto: Autorización de impresión.

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
 DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

Por este medio le comunico que el Jurado asignado a la Pasante de Licenciatura en Química **Amayrani Avalos Guillén**, quien presenta el trabajo de titulación **"Obtención de sílica gel funcionalizada con ácidos húmicos y su utilización en la extracción de cobre(II)"** después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

- PRESIDENTE: Dr. Carlos Andrés Galán Vidal
- PRIMER VOCAL: Dra. María Elena Páez Hernández
- SEGUNDO VOCAL: Dra. Irma Pérez Silva
- TERCER VOCAL: Dra. Silvia Nieto Velázquez
- SECRETARIO: Dr. Gian Arturo Álvarez Romero
- PRIMER SUPLENTE: Dr. Carlos Alexander Lucho Constantino
- SEGUNDO SUPLENTE: Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega

JAEH
BIBLIOTECA

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

Atentamente
 "Amor, Orden y Progreso"

Dr. Oscar Rodolfo Suárez Castillo
 Director del ICBI



ORSC/SEPC

Ciudad del Condocimiento
 Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia
 Carboneras Mineral de la Reforma, Hidalgo,
 México. C.P. 42164
 Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 2231
 Fax 2109
 direccion_ichi@uaeh.edu.mx



www.uaeh.edu.mx



Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio 2 del Área Académica de Química perteneciente al Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.





Parte de esta investigación se presentó en el **XXXI Congreso Nacional de Química Analítica**, celebrado en Pachuca, Hidalgo, del 13 al 15 de junio del 2018, con el trabajo titulado *“Funcionalización de sílica gel con ácidos húmicos y su utilización en la extracción de Cu(II)”*.

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Quiero darle las gracias a Dios por permitirme vivir esta aventura y por poner a cada una de las personas en el lugar y momento perfecto.

Quiero agradecer el esfuerzo de mis padres por brindarme su comprensión, amor y tanta felicidad. Quiero que se sientan orgullosos de este, su logro, y quiero que sepan que siempre van a ser mis ejemplos a seguir y no hay nada que pueda recompensar todo lo que me han dado.

Quiero agradecer a mis seres queridos (*Ketzi, Darel, mis abuelos, mis tíos y a Mel*) por estar al pendiente de mis pasos y apoyarme incansablemente.

Dra. Silvia, quiero agradecerle su interés, su paciencia, su entusiasmo y su apoyo.

Dra. Irmitta, quiero que sepa que creo que es la persona con más corazón que conozco y quiero agradecerle todo el tiempo que me brindo, por compartir su sabiduría, brindarme su amistad y sobre todo por su infinita paciencia en la realización de este trabajo.

Dr. Giaan, quiero decirle que es una de las mejores personas que he tenido el gusto de conocer. Le agradezco todo el tiempo que invirtió en la revisión de este trabajo, sus consejos, su paciencia extrema y sus malos chistes.

Dra. Elena, quiero que sepa que le agradezco infinitamente la oportunidad que me brindó para realizar este trabajo bajo su tutela y por permitirme compartir tan importante logro a su lado. Le agradezco por todo el tiempo que me obsequió, por los buenos consejos, las risas, las lágrimas y su paciencia infinita. Gracias por todo su apoyo; es una de las personas que más admiro en la vida, mi ejemplo a seguir. No encuentro las palabras que logren expresar lo que siento, solo diré que ¡es la mejor!

Dr. Isra, Dr. Lucho y Dr. Galán, quiero agradecerles por todo el tiempo que me regalaron, por todos esos consejos y buenos chistes.

Tane, quiero que sepas que me da mucho gusto ser amiga de una persona tan extraordinaria. Gracias por todo el tiempo que gastaste en mí, por toda tu ayuda, por considerarme prioridad entre todo lo que sí es. No hay palabras; ¡muchas gracias!

Una de las personas a quien es importante agradecer es Axel. Fue él quien me ayudó a llegar hasta aquí, quien me dio ánimo en los momentos en los que ya no podía, en los más divertidos y los más tristes, pese a tanto problema siempre estuvo ahí. Te lo debo: gracias.

A los chicos de laboratorios: Lupita, Juanfi, Lore, Miriam y Emma por darme buenos consejos, ánimos y compartir conmigo buenos momentos.

Finalmente, a mis amigos imaginarios: Maricela, Deyave, Wendo, Oswaldo, Emma, Aldo, Kevin, Lili, Sue, Felipe, Sara, Wicho, Xochimilca y Ro. Quiero que sepan que fue muy grato estar a su lado durante todo este tiempo, coleccionando una infinidad de buenas memorias.

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	IV
Listado de abreviaturas.....	V
Índice de tablas.....	VI
Índice de figuras	VII
Introducción.....	IX

TABLA DE CONTENIDO

1.-Antecedentes	1
1.1 Técnicas analíticas de separación: adsorción.....	2
1.2 Extracción en fase sólida (SPE)	3
1.3 Extracción en fase sólida dispersa (dSPE).	4
1.4 Sílica gel como material adsorbente.....	6
1.5 Materiales mesoporosos híbridos (MMH)	7
1.6 Ácidos húmicos y materia orgánica.....	9
1.7 Cobre.....	11
2.-Objetivos.....	15
2.1 Objetivo general.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3.-Metodología.....	17
3.1 Extracción, purificación y caracterización de los ácidos húmicos.....	18
3.1.1 Extracción y purificación	18
3.1.2 Caracterización	20
3.1.2.1 Análisis elemental.....	20
3.1.2.2 Espectroscopía ultravioleta-visible.....	20
3.1.2.3 Determinación de acidez total, grupos carboxílicos y grupos fenólicos.....	21
3.1.2.3.1 Acidez total	22
3.1.2.3.2 Determinación de grupos carboxílicos	22

3.1.2.3.3 Determinación de grupos hidroxilo fenólicos.....	23
3.1.3 Espectroscopía de infrarrojo	23
3.2 Funcionalización de sílice gel.....	24
3.2.1 Método I.....	24
3.2.2 Método II.....	25
3.2.2.1 Activación de sílica gel (SiO-H).....	25
3.2.2.2 Modificación de sílica gel con MPTMS (SiO-MPTMS).....	25
3.2.2.3 Inmovilización de AH en SiO-MPTMS (SiO-MPTMS-AH).....	26
3.2.2.4 Estabilización de los grupos tio libres (End Capping).....	26
3.3 Extracción de Cu(II) de disoluciones acuosas.....	27
3.3.1 Proceso de extracción de Cu(II) de disoluciones acuosas sintéticas	27
3.3.2 Pruebas de saturación.	28
3.3.3 Proceso de extracción de Cu(II) de una muestra real	29
3.3.3.1 Tratamiento de la muestra de agua de mar isotónica.....	29
3.3.3.2 Tratamiento de la muestra de polvo antiséptico.....	30
4.-Resultados	32
4.1 Caracterización de los ácidos húmicos extraídos.....	33
4.1.1 Análisis elemental.....	33
4.1.2 Espectroscopía ultravioleta-visible.....	34
4.1.3. Determinación de acidez total, grupos carboxílicos y grupos fenólicos mediante volumetrías ácido-base	35
4.1.4 Espectroscopía de infrarrojo	36
4.2 Caracterización de la sílica gel funcionalizada.....	37
4.3 Extracción de Cu(II).....	39
4.3.1 Evaluación de sílice funcionalizada por el método I	39
4.3.2 Evaluación de sílice funcionalizada por el método II	40
4.4 Efecto de las variables químicas y físicas en la extracción de cobre con SiO-MPTMS-AH.....	41
4.4.1 Efecto de la variación de pH.....	41
4.4.2 Efecto de la variación de la concentración de AH en la disolución empleada durante la funcionalización	44
4.4.3 Efecto de la variación de masa de Si-MPTMS-AH	45
4.4.5 Efecto del tiempo de extracción.....	46

4.4.6 Pruebas de saturación	47
4.5 Isotermas de adsorción.....	48
4.6 Evaluación de la capacidad de adsorción de Cu(II) en muestras farmacéuticas.....	50
4.6.1 Extracción de Cu(II) de agua de mar isotónica enriquecida	50
4.6.2 Extracción de Cu(II) de la solución de Alibour comercial	51
5.-Conclusiones	52
6.-Referencias	54

Resumen

En este trabajo se presenta una técnica alternativa para la extracción del ion metálico Cu(II) en condiciones de acidez extremas utilizando sílice gel modificada con ácidos húmicos (AH).

Para la obtención del material, se trató la sílice con 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTMS), se fijaron los AH y finalmente se realizó el bloqueo de los silanoles activos residuales (*end-capping*).

El material obtenido, Si-MPTMS-AH, se utilizó para extraer Cu(II) de soluciones sintéticas analizando variables como cantidad de AH fijado en el soporte, pH, tiempo de extracción, cantidad de sólido empleado y concentración de analito.

Al emplear una disolución de AH de concentración 1000 mg L^{-1} para la funcionalización de la sílica, se obtuvo un material que permitió porcentajes de extracción superiores al 95% en un amplio intervalo de pH (2 a 6).

Finalmente, se encontró que para lograr porcentajes de extracción de Cu(II) superiores al 90% (partiendo de una disolución de 5 mg L^{-1}) se necesita un mínimo de 175 mg del sólido funcionalizado (Si-MPTMS-AH), requiriendo de tan sólo 5 minutos de tiempo de extracción.

Listado de abreviaturas

AH	Ácidos Húmicos
AF	Ácidos Fúlvicos
DMF	Dimetilformamida
dSPE	Extracción en fase solida dispersa
Hu	Huminas
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
MA	Materiales adsorbentes
MM	Materiales mesoporosos
MMH	Materiales mesoporosos híbridos.
MO	Materia Orgánica
MPTMS	3-mercaptopropiltrimetoxisilano
SH	Sustancias Húmicas
SiO-AH ₁₀₀₀	Sílice funcionalizada con 1000 mg L ⁻¹ de AH
SiO-AH ₂₀₀₀	Sílice funcionalizada con 2000 mg L ⁻¹ de AH
SiO ₂	Óxido de silicio
SiO- MPTMS	Óxido de silicio funcionalizado con MPTMS
SiO- MPTMS -AH	Óxido de silicio funcionalizado con MPTMS y AH
SiO- MPTMS -AH _{Estabilizado 2000}	Óxido de silicio funcionalizado con MPTMS y 2000 mg L ⁻¹ de AH
SiO- MPTMS -AH _{Estabilizado 4000}	Óxido de silicio funcionalizado con MPTMS y 4000 mg L ⁻¹ de AH
SPE	Extracción en fase sólida

Índice de tablas

Tabla 1.1. Composición del Humus.....	9
Tabla 1.2. Usos y aplicaciones del cobre.	12
Tabla 1.3. Ejemplos de animales, plantas y alimentos ricos en cobre.....	12
Tabla 1.4. Materiales y procesos usados para la extracción de cobre de diferentes muestras.....	14
Tabla 4.1. Resultados del análisis elemental de los AH extraídos.....	33
Tabla 4.2. Propiedades químicas de los AH extraídos.....	35
Tabla 4.3. Resultados de la determinación de acidez del AH extraído.....	35
Tabla 4.4. Resultados obtenidos en los experimentos de extracción de Cu(II) con la sílice modificada por el método I.....	40
Tabla 4.5. Efecto del tiempo de extracción en el porcentaje de remoción de Cu(II).....	46
Tabla 4.6. Parámetros de adsorción obtenidos de los modelos de isotermas.....	49

Índice de figuras

Figura 1.1. Clasificación de las técnicas de separación según el tipo de fuerzas de interacción.....	2
Figura 1.2. Esquema del proceso de extracción en fase sólida.....	4
Figura 1.3. Proceso de extracción y re-extracción mediante dSPE.....	5
Figura 1.4. Tipos de grupos silanol en la superficie de la sílice.....	7
Figura 1.5. Estructura de los ácidos húmicos propuesta por Stevenson en 1994	10
Figura 3.1. Proceso de preparación de la muestra de suelo.....	19
Figura 3.2. Proceso de extracción de los AH.....	19
Figura 3.3. Proceso de funcionalización de SiO ₂ con AH, método I.....	24
Figura 3.4. Proceso de activación de SiO ₂ , método II.....	25
Figura 3.5. Proceso de modificación de SiO ₂ con MPTMS, método II.....	26
Figura 3.6. Proceso de inmovilización de AH en SiO-MPTMS, método II.....	26
Figura 3.7. Proceso de estabilización de SiO-MPTMS-AH, método II.....	27
Figura 3.8. Pruebas de extracción de Cu(II) con SiO-MPTMS-AH, método I y II.	28
Figura 3.9. Esquema del procedimiento seguido para la extracción de cobre del agua de mar enriquecida.....	30
Figura 3.10. Esquema del procedimiento seguido para la extracción de cobre del polvo antiséptico.....	31
Figura 4.1. Espectro UV/Vis del AH extraído.	34
Figura 4.2. Espectro IR del AH extraído obtenido en pastilla de KBr.	36
Figura 4.3. Espectro IR de SiO ₂ y SiO-H obtenidos en pastilla de KBr.	37
Figura 4.4. Espectro IR de SiO-MPTMS obtenido en pastilla de KBr.	38
Figura 4.5. Espectro IR de SiO-MPTMS-AH obtenido en pastilla de KBr.	39
Figura 4.6. Resultados obtenidos en los experimentos de extracción de Cu(II) con la sílice modificada por el método II.	41
Figura 4.7. Efecto del pH en el porcentaje de extracción de Cu(II) empleando los sólidos resultantes de cada etapa de la funcionalización (método II).	42

Figura 4.8. Diagrama de zonas de predominio de especies de Cu(II) elaborado en el programa Hydra/MEDUSA.	43
Figura 4.9. Variación de la cantidad de AH empleado para la funcionalización de sílica gel y su efecto en el porcentaje de extracción de Cu(II).	44
Figura 4.10. Efecto de la variación de la masa de Si-MPTMS-AH en el porcentaje de remoción de CU(II).	45
Figura 4.11. Gráfico de saturación del sólido con el ion metálico Cu(II).	47
Figura 4.12. Isotermas de absorción para la SiO-MPTMS.	49

Introducción

En los últimos años, se ha buscado que los procesos de separación sean cada vez más eficientes sin perder su simplicidad. La adsorción es uno de los procesos más utilizados debido a que utiliza materiales resistentes, fácilmente modificables y regenerables.

La extracción en fase sólida dispersa es una variante de la técnica de adsorción, que puede ser empleada en matrices complejas tanto para la remoción como para la preconcentración de especies químicas.

Uno de los materiales adsorbentes más utilizados es la sílica gel, la cual puede ser modificada con precursores híbridos mesoporosos que fungen como base de unión para otras moléculas que contengan electrones disponibles. El material final posee propiedades tanto del sólido de partida (estabilidad física y química, flexibilidad y alta regeneración), como de la molécula enlazada a la superficie (resistencia en condiciones extremas de acidez, afinidad por iones metálicos).

Por lo anterior, y considerando que los ácidos húmicos son moléculas polielectrónicas ricas en grupos funcionales con electrones disponibles, en este trabajo se propone la funcionalización de sílica con ácidos húmicos para la obtención de un material que pueda ser empleado en la extracción del ion cobre en condiciones de acidez extremas.

1.-ANTECEDENTES

1.1 Técnicas analíticas de separación: adsorción

La separación es un proceso físico que usualmente se apoya de procesos químicos. Se usa ampliamente como herramienta de la química en general, pero es la química analítica la que busca extender su uso e intensificar sus propiedades adsorbentes [1]. Para ello, ha clasificado las técnicas de separación de manera general en dos tipos [2]:

- Las *técnicas de separación sin cuantificación de especies*, en donde se realiza una medición de la señal analítica de manera discontinua respecto a la separación, por ejemplo, precipitación, extracción líquido-líquido, diálisis, etc.
- Las *técnicas de separación combinadas con la cuantificación de las especies*; en éstas la detección se lleva a cabo de manera continua después de ser separadas, por ejemplo, cromatografía líquida o de gases.

Otra de las clasificaciones que la química analítica presenta para estas técnicas, se basa en el tipo de fuerzas que interactúan (Figura 1.1).

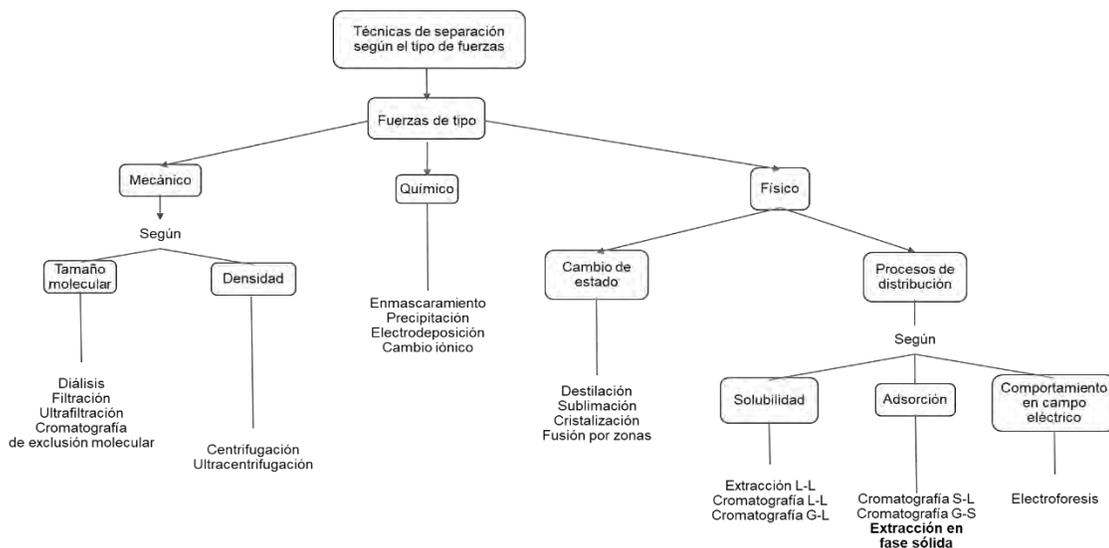


Figura 1.1. Clasificación de las técnicas de separación según el tipo de fuerzas de interacción [1].

La adsorción destaca gracias a su flexibilidad, reversibilidad y a que los materiales utilizados pueden ser regenerados a través del mismo proceso; además es una de las técnicas más apropiadas para la eliminación de metales pesados [3].

La adsorción se clasifica en dos tipos según las interacciones que mantienen el adsorbente y el adsorbato:

- Fisisorción: predominan fuerzas débiles como Van der Waals, puentes de hidrógeno, etc.
- Quimisorción: intervienen enlaces covalentes, de coordinación, etc.

Ambos tipos de adsorción se ven afectados por la temperatura, el área superficial del material adsorbente, el pH del medio, la solubilidad y el tiempo de contacto [3-5].

Dependiendo de cómo se pongan en contacto físicamente el adsorbente y el adsorbato, se han desarrollado diversas variantes de esta técnica; dos de las más importantes se detallan en las siguientes secciones.

1.2 Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida es al día de hoy la técnica de separación más usada debido a su simplicidad, flexibilidad y gran capacidad de análisis, haciéndola superior a otras técnicas debido a que permite además preconcentrar compuestos.

La SPE involucra tres componentes: muestra acuosa, adsorbente y analito; la interacción entre éstos se lleva a cabo cuando se transfiere el analito de la fase acuosa al adsorbente [6], siguiendo rigurosamente un procedimiento consistente en (Figura 1.2) [2]:

- 1) acondicionamiento de la fase estacionaria haciendo pasar por la fase estacionaria un disolvente a manera de eliminación de impurezas,
- 2) paso de la muestra sobre el material adsorbente para la retención del analito,

3) lavado del material adsorbente empleando un disolvente con gran afinidad con los interferentes

4) elución, donde se recupera al analito con un disolvente afín a éste.

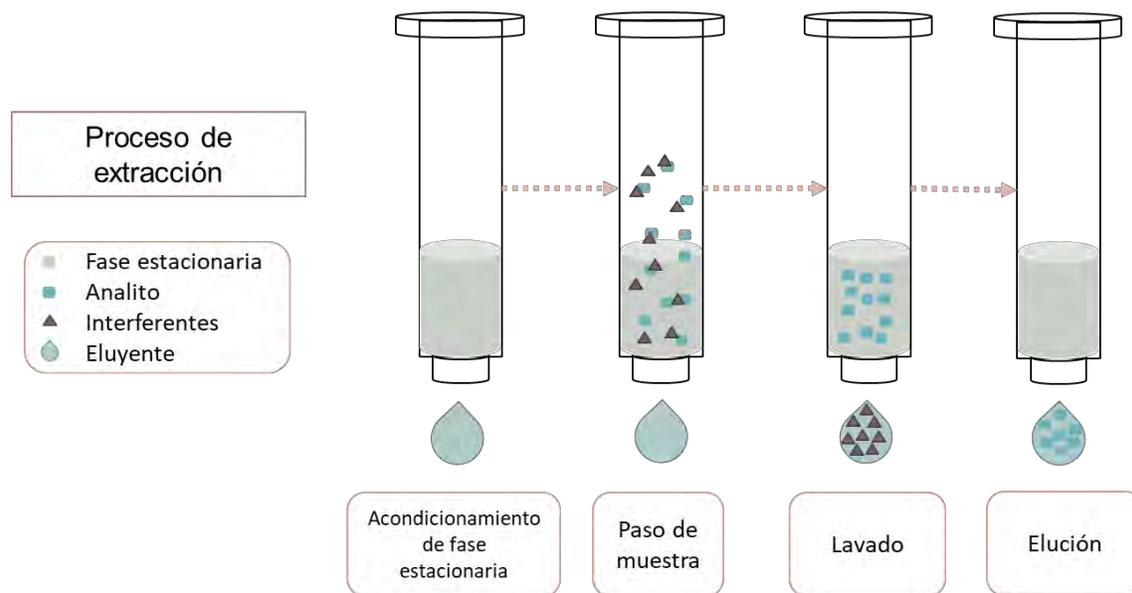


Figura 1.2. Esquema del proceso de extracción en fase sólida [6].

Además del elevado costo de los dispositivos, la SPE posee el inconveniente de que el cartucho donde se encuentra la fase estacionaria (adsorbente) puede obstruirse debido a materia insoluble que puede contener la muestra. Por esta razón se han desarrollado metodologías alternativas como la que se presenta a continuación.

1.3 Extracción en fase sólida dispersa (dSPE).

La dSPE es una variación de la SPE en la que el adsorbente no se encuentra empaquetado en una columna, sino que se está directamente en contacto con la matriz que contiene al analito. Esto trae como consecuencia una mayor área de

contacto, la inmediata interacción entre adsorbente-analito, además de requerir de una menor cantidad de sorbente y un menor tiempo de extracción.

Al igual que en la SPE, el sorbente puede regenerarse poniendo en contacto el sólido con un disolvente con la finalidad de que el analito se desorba y pueda ser recuperado (Figura 1.3).

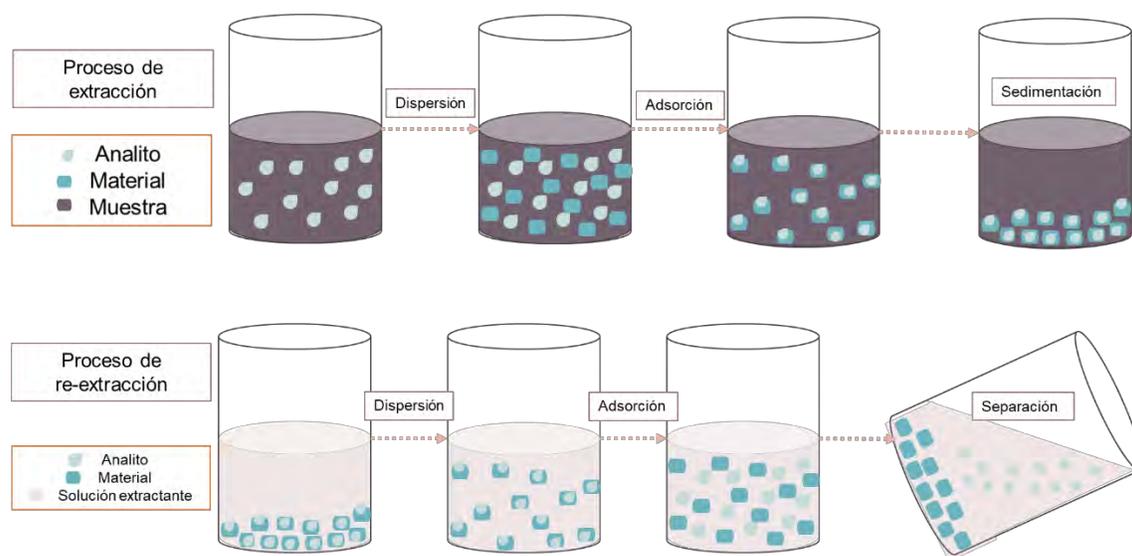


Figura 1.3. Proceso de extracción y re-extracción mediante dSPE.

Una de las ventajas de esta variante, es que puede emplearse para el análisis directo de algunas muestras que contienen microorganismos o micropartículas que, en el caso de la SPE, pueden causar un error en el análisis al tener el riesgo de que se obstruyan los cartuchos [7-9].

Al igual que la SPE, esta técnica cuenta con un sinnúmero de posibilidades en cuanto al uso de materiales sorbentes como sílice modificada, polímeros, resinas, materiales carbonosos, polímeros molecularmente impresos (PIM), fibras de vidrio, polímeros de celulosa, arcillas, alúmina, carbón activado, residuos domésticos y una gran cantidad de materiales novedosos que mejoran la retención de analitos de una forma selectiva [8,10-12].

1.4 Sílica gel como material adsorbente

Dentro de los materiales usados como adsorbentes destacan los materiales porosos, ya que poseen propiedades intrínsecas derivados de su gran área superficial y el tamaño de poro [4]. Según la IUPAC, los materiales adsorbentes porosos pueden clasificarse según el tamaño de sus poros:

- Microporosos: diámetro de poro menor a 2 nm
- Mesoporoso: diámetro de poro entre 2 nm y 50 nm
- Macroporoso: diámetro de poro mayor a 50 nm

Los materiales más utilizados en los procesos de adsorción son los materiales mesoporosos derivados de la sílice, debido a que cuentan con propiedades únicas como su diámetro de poro uniforme, gran área superficial específica, volumen de poro grande, poro disponible y ordenado, y su estabilidad mecánica y térmica [3].

La sílica gel, es un sólido granuloso poroso de dióxido de silicio (SiO_2) que posee un tamaño de poro de 6 a 25 nm, un volumen de poro de 800 a 850 m^2g^{-1} y una densidad de 3-5 $\text{g}(\text{cm}^3)^{-1}$; es un sólido no cristalino, insoluble, incoloro, no flamable y no tóxico. Además de lo anterior, la sílice es un material químico de estabilidad elevada tanto térmica como física, con una elevada capacidad de adsorción, resistente al rompimiento y con un alto índice de regeneración, lo que le permite dar paso a un sinnúmero de variaciones [2].

La sílica gel se conforma de pequeñas partículas que se funden entre sí mediante enlaces puente Si-O-Si- (siloxano), para formar una matriz con alta superficie específica. En general se habla de una red de grupos siloxano y silanoles (Si-OH), de diferente naturaleza según los enlaces con oxígeno, entre sí y con el agua del medio [1].

Se pueden distinguir tres tipos de grupos silanoles: enlazado o geminal, activo y libre, según los enlaces de hidrógeno que estén interactuando en la superficie (Figura 1.4) [1-3].

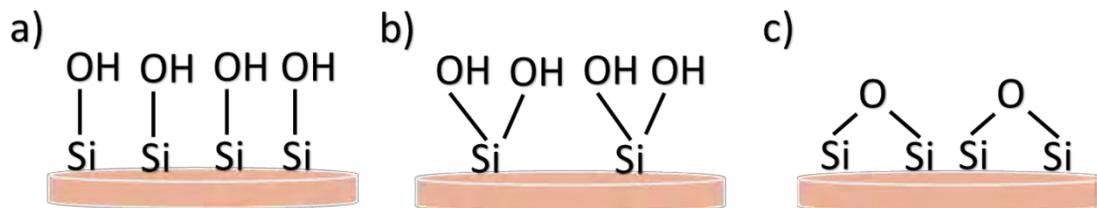


Figura 1.4. Tipos de grupos silanol en la superficie de la sílice. a) libre, b) geminal, c) activo.

Gracias a estos grupos silanoles disponibles se puede lograr la modificación química de la superficie incorporando grupos funcionales orgánicos o inorgánicos, dando lugar a lo que se conoce como materiales mesoporosos híbridos [3].

1.5 Materiales mesoporosos híbridos (MMH)

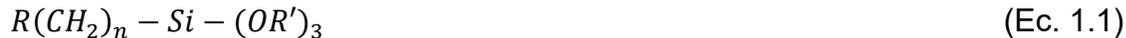
Estos materiales, conocidos también como organosilanos, son producto de la modificación de los materiales mesoporosos. Suelen usarse para catálisis heterogénea, como componentes de electrodos en las baterías, materiales para la adsorción de metales pesados, inmovilización de enzimas o moléculas biológicamente activas [3], logrando mantener su estabilidad térmica, mecánica y química, aunque mejorada con las propiedades de los nuevos grupos retenidos en su superficie.

Se clasifican en dos clases, basándose en la fuerza de la interacción entre el material mesoporoso y el grupo retenido:

- Clase I, materiales híbridos que muestran interacciones débiles entre las dos fases.
- Clase II, materiales híbridos que muestran interacciones fuertes.

En sus comienzos, los MMH eran sílices con pequeños grupos funcionales como el metilo; posteriormente se modificaron de tal forma que fueron mejorados haciéndolos selectivos [4].

Los organosilanos son representados mediante la ecuación 1:



Donde n toma un valor de 0-3, OR' generalmente son grupos trimetoxilos (OCH_3), trietoxilos (OC_2H_5) o Cl , que son más hidrolizables que un silanol, y R es un grupo orgánico que depende de la matriz de partida que se utilice, por ejemplo CH_3 , NH_2 , SH , $CH=CH_2$, etc. [13-16].

Para la obtención un óxido mesoporoso se necesita combinar mediante un proceso de hidrólisis, un precursor orgánico con un surfactante, a fin de que éste forme micelas. Es así como se combinan los materiales híbridos con los mesoporosos para obtener materiales con características deseables como versatilidad, selectividad, resistencia y gran área superficial. Estos materiales suelen obtenerse mediante 3 métodos:

1. **Post-síntesis (Post-grafting):** este implica el anclaje de una molécula con un grupo orgánico sobre un óxido mesoporoso; en ella se lleva a cabo la unión por un enlace covalente o un enlace de coordinación [4].
2. **Co-condensación (One-Pot):** en esta técnica se pone en contacto un precursor inorgánico del material mesoporoso (tetracloruro de silicio o silicato de sodio) con una molécula precursora orgánica de tipo $[(R'O)_3Si-R]$ que se desee fijar a la matriz. El resultado de este método es un material mesoporoso que contiene la parte orgánica dentro o fuera de la superficie del material [15].
3. **Condensación de organosilanos puenteados:** este método es parecido al método de co-condensación, con la diferencia que la molécula de partida es de tipo $(R'O)_3Si-R-Si(OR')_3$ y este grupo al final queda fijo en la matriz soporte [4].

Las moléculas que pueden ser incorporadas a los MMH pueden ser de distinta naturaleza; sin embargo, es primordial que contengan una gran cantidad de grupos funcionales que sean capaces de enlazar o coordinarse con el analito de

interés. Los ácidos húmicos reúnen estas características y por la importancia que reviste para este trabajo, en la siguiente sección se detallarán sus características y generalidades.

1.6 Ácidos húmicos y materia orgánica

La tierra está compuesta por cinco esferas ambientales que interactúan entre sí: hidrósfera, atmósfera, geósfera, biósfera y antropósfera. La geósfera corresponde a la porción sólida del planeta; parte de ella está bajo los océanos formando los fondos marinos y parte emerge formando los continentes y las islas. Es en la geósfera donde se encuentra el suelo, una mezcla variable de minerales, materia orgánica (MO) y agua, capaz de dar vida vegetal en la superficie terrestre. Algunos de los compuestos orgánicos mayoritarios del suelo son el humus, grasas, resinas, ceras, sacáridos, compuestos orgánicos nitrogenados, y compuestos de fósforo [17].

En lo que respecta al humus, que es el constituyente orgánico del suelo en mayor proporción, éste se compone a su vez de dos grandes tipos de materia: las sustancias húmicas (SH) y las sustancias no húmicas (SNH), tal como se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Composición del Humus.

Sustancias no húmicas		Sustancias húmicas
<ul style="list-style-type: none">• Lignina• Celulosa• Proteínas• Carbohidratos	<ul style="list-style-type: none">• Grasas• Ácidos orgánicos• Pigmentos• MO soluble en agua	<ul style="list-style-type: none">• Ácidos fúlvicos• Ácidos húmicos• Huminas

Las SNH componen alrededor del 30% del humus mientras que las SH representan el máximo constituyente de los componentes tanto del humus como del suelo y son las más estables.

En general, las SH son un conjunto de macromoléculas con elevados pesos moleculares y contienen en su mayoría compuestos aromáticos y alifáticos. Estas moléculas no contienen un patrón establecido, por lo que no tienen una estructura determinada [18,19].

El grupo de moléculas que se agrupan para formar las SH usualmente suelen clasificarse por su solubilidad en diferentes valores de pH, gracias a lo cual es posible aislarlas y lograr su separación [20]:

- Huminas (Hu): no son solubles en ningún pH.
- Ácidos Fúlvicos (AF): solubles en cualquier rango de pH.
- Ácidos Húmicos (AH): solubles en condiciones alcalinas ($\text{pH} \geq 7$), pero precipitan en condiciones ácidas. ($\text{pH} \leq 2$).

En particular, los ácidos húmicos constituyen una fracción orgánica del suelo; son producidos por la degradación incompleta de la lignina de las plantas por microorganismos presentes en el suelo de acuerdo a la teoría de Stevenson [21]. La molécula, aunque no conocida totalmente, mantiene una composición predominante de estructuras aromáticas, como se muestra en la Figura 1.5.

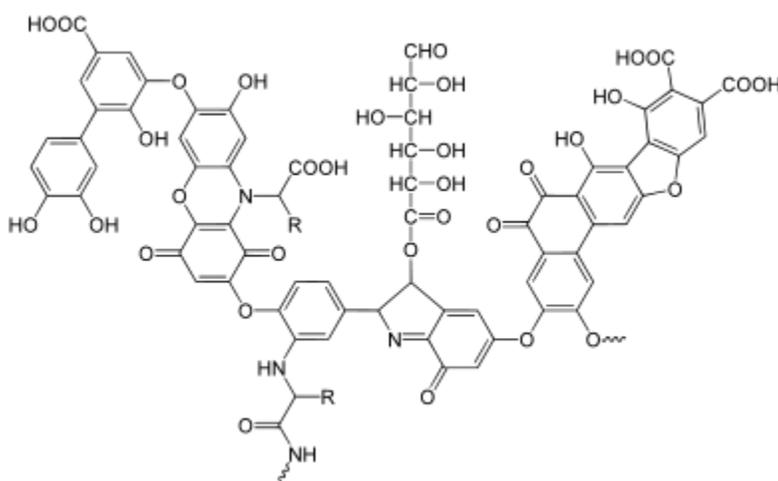


Figura 1.5. Estructura de los ácidos húmicos propuesta por Stevenson en 1994 [22].

Se sabe también que la macromolécula además de contener anillos (di o tri) hidroxofenólicos, también cuenta con algunos enlaces -O-, -CH₂NH-, -N=, algunos compuestos residuales de lignina y en algunos casos -S-. Estos grupos le confieren características específicas como un carácter polielectrónico, polifuncional y naturaleza polidispersa, lo cual hace que el AH sea versátil y pueda utilizarse en diferentes aplicaciones.

La retención de sustancias químicas antropogénicas orgánicas y otros contaminantes de aguas residuales es una de las aplicaciones de los AH [23,24], Sin embargo, uno de los usos principales es en la adsorción de metales, gracias a diferentes interacciones que tienen con estos elementos [9,24-27], ya sea mediante enlaces covalentes o por enlaces de coordinación.

Ambos mecanismos ocurren de manera muy rápida y suelen ser soportados por los grupos -COOH, pues son uno de los más reactivos dentro de esta molécula. Por lo anterior, se ha ideado incorporar estas macromoléculas a diferentes materiales, a fin de poder conjuntar las ventajas de los MMH y los AH; todo, para obtener materiales funcionalizados que tengan una gran afinidad hacia algunos iones metálicos como el Cu(II) [9,28].

1.7 Cobre

Los metales pesados constituyen un grupo cercano a 40 elementos de la tabla periódica, teniendo una densidad mayor o igual a 5 g cm⁻³. Aun cuando muchos de ellos son esenciales para el ser humano, se ha reportado el efecto tóxico de algunos sobre las células debido a su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas [29,30].

Gracias a su movilidad en los sistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, los iones de metales pesados presentes en los abastecimientos de aguas superficiales y subterráneas se han vuelto uno de los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente. Esta contaminación

tienen su origen en la minería, una de las actividades económicas de mayor tradición en México, que suministra insumos a una serie de industrias de gran importancia como la de la construcción, metalúrgica, siderúrgica, química y electroquímica. La minería nacional se rige por la producción principal de cobre, zinc, plata y plomo [31].

El cobre, metal pesado, es importante para los ciclos biogeoquímicos; se encuentra naturalmente en forma de minerales como sulfuros (covelita, calcocita, calcopirita y bornita) y óxidos (malaquita, crisocola y calcantita) [32]. Estos minerales se extraen del suelo, son procesados y vendidos para sus distintos usos y aplicaciones (Tabla 1.2) [33].

Tabla 1.2. Usos y aplicaciones del cobre.

Usos	Aplicaciones
Fabricación de cañerías Material para techumbres Baterías de cocina Equipos químicos y farmacéuticos Aleaciones Plaguicidas	<i>Sulfato de cobre:</i> Algicida, mosquicidas, fungicidas, agente de curtido de cuero, conservación de pieles. <i>Hidróxido cúprico:</i> Disolvente de celulosa, fabricación de rayón y baterías.

El cobre se encuentra ampliamente distribuido en plantas, animales y alimentos (Tabla 1.3), aportando al cuerpo humano de 2 a 5 mg del biometal en la dieta diaria [29,34].

Tabla 1.3. Ejemplos de animales, plantas y alimentos ricos en cobre.

Animales, plantas y alimentos ricos en cobre	
Mariscos Ostras, almejas, camarones y jaibas	Semillas Nueces, cacahuates, semillas de girasol
Hongos Setas, champiñones	Legumbres Lentejas, garbanzos, soya, frijoles
Vísceras Hígado, riñones, cerebro	Otros Huevos, papas, chocolate

En el cuerpo humano el cobre es el tercer metal de transición más abundante después del zinc y el hierro, conteniendo entre 100 y 150 mg como parte integrante y funcional de proteínas y sistemas enzimáticos. Sin embargo, su exceso o deficiencia pueden provocar daños a la salud de un individuo.

Existen dos desordenes genéticos relacionados con el cobre y la salud humana: la enfermedad de Wilson y la de Menkes. En la enfermedad de Wilson está implicada una pareja de genes recesivos que como resultado provoca una degeneración hepatolenticular, caracterizada por la acumulación excesiva del metal en el hígado, riñón, cerebro y córnea. La enfermedad de Menkes, es otro tipo de desorden genético en donde los niveles de cobre son bajos en cerebro e hígado, y altos en otros órganos [32-34].

El exceso de Cu(II) en el cuerpo humano, aunque no representa ciertamente daño grave para este, proviene de la bioacumulación o del uso de las sales de cobre de forma incontrolada, como tratamiento tópico de áreas con quemaduras graves o con fines suicidas, provocando daños como; náuseas, vómitos, diarrea, fallo renal, y rara vez convulsiones y la muerte [3].

Se ha reportado que la concentración de cobre en el agua para beber es de tan solo algunos microgramos por litro, pero la existencia de tuberías de cobre puede aumentarla hasta varios miligramos por litro tras un periodo de retención, impartándole un sabor desagradable y proporcionándole color a partir de 1 mg L^{-1} . Por tal motivo, la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 [35,36] sugiere un valor de máximo 2 mg L^{-1} en el agua potable.

A la fecha se han desarrollado diversos trabajos encaminados a la eliminación de cobre de medios acuosos; la mayoría de ellos basados en procesos de adsorción, electrodeposición, intercambio iónico, uso de membranas, etc. Algunos ejemplos de estas técnicas se muestran en la Tabla 1.4 [36].

Entre estas técnicas, los procesos de adsorción han demostrado ser los más ventajosos para la eliminación de Cu(II) en términos de bajo costo, alta área superficial y por la simplicidad de su operación. Además, si a esto se suma la

posibilidad de emplear materiales basados en compuestos orgánicos, se podría contar con una técnica con ventajas adicionales, como la de tener sólidos porosos altamente funcionalizados, que puedan ser utilizados en medios acuosos muy ácidos o básicos.

Tabla 1.4. Materiales y procesos usados para la extracción de cobre de diferentes muestras.

Analito	Materiales	Muestra	Procesos
Cu	Cáscara de plátano	Agua de río	SPE, pH<1 ^[37]
Cu, Pb, Cd	Cepa derivada de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	Agua	Biosorción, 6.5 ^[38]
Cu, Ni, Co	Ácido rubeánico + Carbón activado	Espinacas, agua de río	SPE, pH 6 ^[39]
Cu, Co, Pb	1-PTSC (fenil tiosemicarbazida) + Triton X-114 (octilfenoxipolietoxietanol)	Agua, alimentos	CPE, pH 9 ^[40]
Cu, Fe, Mn, Pb	Nanotubos de carbono	Agua, harina de arroz	SPE, pH 9 ^[41]
Cu	LIX 984N-C (Extractante) +. Span 80 (surfactante)	Agua	MLE, pH 1-5 ^[42]
Cu, Co, Ni, Pb	Nanotubos de carbono multipared + o-cresoltaleína complexona	Agua	SPE, pH 7 ^[43]
Cu	AH	Agua	Biosorción, 5-7 ^[44]
Cu	AH	Agua residual	MLE, pH 6 ^[45]
Cu, Fe	AH	Agua	Precipitación, pH<5 ^[46]

MLE: Membrana líquida de emulsión; CPE: Extracción por punto nube (Cloud point extraction); AH: ácidos húmicos, SPE: Extracción en fase sólida.

Con base en lo anterior, en este trabajo se planteó la modificación de la sílica gel con ácidos húmicos, una molécula con un gran número de grupos funcionales. El material obtenido se usó en la eliminación de cobre de disoluciones acuosas sintéticas y en muestras reales.

2.-OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Obtención de un híbrido mesoporoso de sílice modificado con ácidos húmicos mediante la utilización de un proceso post-síntesis y su evaluación como adsorbente en el proceso de extracción de cobre de disoluciones acuosas y de fármacos ricos en este ion metálico.

2.2 Objetivos específicos

- Extraer y caracterizar ácidos húmicos de una muestra de suelo utilizando como extractante $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O} - \text{NaOH}$.
- Evaluar y seleccionar un método adecuado para la obtención del híbrido mesoporoso modificado con los ácidos húmicos mediante la técnica post-síntesis.
- Realizar pruebas de extracción de Cu(II) de disoluciones acuosas con la finalidad de encontrar las condiciones adecuadas que permitan la máxima remoción de este elemento.
- Evaluar el uso y comportamiento del híbrido obtenido previamente en la extracción de Cu(II) de muestras farmacéuticas ricas en este ion.

3.-METODOLOGÍA

En esta sección se describen los métodos y técnicas analíticas utilizadas durante el trabajo. En la primera parte se menciona la extracción y caracterización de ácidos húmicos. Posteriormente se describen los procesos de funcionalización de la sílica gel con la finalidad de obtener y caracterizar un sólido mesoporoso. Finalmente, se detallan las condiciones bajo las cuales se extrajo al cobre tanto de disoluciones acuosas sintéticas como en muestras farmacéuticas.

Además de lo que se detallará en las siguientes secciones, es importante mencionar que todos los reactivos utilizados en este proyecto fueron marca Sigma-Aldrich y se utilizaron sin una purificación previa. También, que el agua utilizada fue desionizada en un equipo MilliQ Academic (Millipore), con una resistividad de $18.2 \text{ mol L}^{-1} \Omega$. Con ella se prepararon todas las disoluciones acuosas.

3.1 Extracción, purificación y caracterización de los ácidos húmicos

Para este proceso se requirió de una muestra de suelo boscoso con constante degradación o transformación de la biomasa vegetal y animal, alejada de zonas urbanas. El lugar elegido fue el cerro de —EChivito” en Tulancingo, Hidalgo, de donde se tomó una muestra de suelo para la extracción de ácidos húmicos.

La metodología realizada en las secciones 3.1.1 a 3.1.3 se basa en el método de Kononova tomados del trabajo de investigación referido como [47].

3.1.1 Extracción y purificación

La muestra de suelo fue preparada mediante un proceso de pulverización, secado y tamizado con mallas de 1 mm de tamaño. El tratamiento completo se muestra en la Figura 3.1.

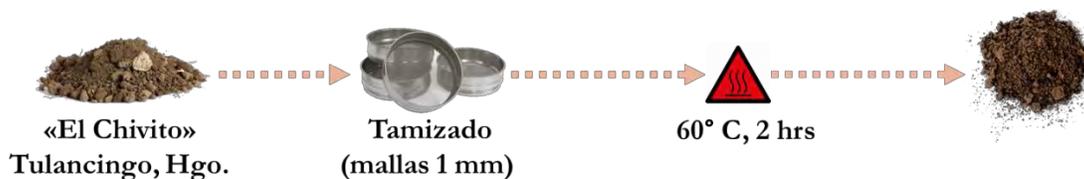


Figura 3.1. Proceso de preparación de la muestra de suelo.

Posteriormente 15 g de este suelo se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Acto seguido se añadieron 120 mL de una disolución de NaOH y $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ (1 g de NaOH más 11.15 g de $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ en 250 mL) obteniendo una mezcla con un valor de pH cercano a 13; el matraz fue sellado con una septa para evitar el ingreso del CO_2 , se agitó por 30 minutos y al término se dejó reposar por 20 horas para permitir la precipitación de las Hu. Pasado este tiempo la solución se filtró a vacío con papel filtro Whatman No. 42, con el propósito de separar las Hu precipitadas de la solución. A la solución acuosa restante se le agregaron 2.5 mL de HCl concentrado para separar los AH de los AF y se dejó reposar entre 5 y 10 minutos hasta observar la precipitación de los AH. Esta suspensión fue transferida a tubos y centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. El precipitado (AH) fue filtrado a vacío en membranas Millipore de tipo GVHP 0.22 μm y secado a 80° C por 2 horas (Figura 3.2).



Figura 3.2. Proceso de extracción de los AH.

3.1.2 Caracterización

Para la caracterización de los AH obtenidos, se utilizaron las siguientes técnicas: análisis elemental, espectroscopía ultravioleta visible, volumetrías ácido-base (para la determinación de acidez total y la debida a grupos funcionales) y espectroscopía de infrarrojo.

3.1.2.1 *Análisis elemental*

Para la determinación de la composición porcentual de los AH, se utilizó el analizador elemental Serie II CHNSO/O 24000 (Perkin Elmer); este análisis proporciona información de la distribución de los elementos presentes en mayor proporción en los AH (C, H, N, S y O).

3.1.2.2 *Espectroscopía ultravioleta-visible*

Los espectros se obtuvieron en el equipo Perkin Elmer modelo Lambda 40; las muestras se analizaron en un rango de 200 a 700 nm. Para tal fin, se preparó inicialmente una solución madre de ácidos húmicos de 1000 mg L⁻¹ (10 mg de AH con 370 µL de NaOH 1 eq L⁻¹ en 10 mL de agua desionizada). Se obtuvieron los espectros de las disoluciones diluidas (factor de dilución 1:100), registrando las absorbancias a diferentes longitudes de onda (280, 465 y 665 nm) para la determinación del coeficiente de absortividad molar (ϵ) de acuerdo a la ecuación de Lambert-Beer:

$$\text{Absorbancia} = \epsilon C l \quad (\text{Ec. 3.1})$$

En donde ϵ es el coeficiente de absortividad molar (L mol⁻¹cm⁻¹), C es la concentración con base en CO (carbono orgánico) del AH (mol L⁻¹) y l es la longitud de celda (cm).

El carbono orgánico fue calculado a partir de los datos del análisis elemental, mediante la ecuación 3.2.

$$\left(\frac{\%C}{0.01L}\right) \left(\frac{0.01 g_{muestra AH}}{100\%}\right) \left(\frac{1 mol}{12 g}\right) \left(\frac{0.1 mL}{10 mL}\right) \quad (Ec. 3.2)$$

El porcentaje de aromaticidad y el peso molecular promedio de los AH se calcularon utilizando las ecuaciones siguientes:

$$Aromaticidad = 0.05 \varepsilon_{280} + 6.74 \quad (Ec. 3.3)$$

$$PM = 3.99 \varepsilon_{280} + 490 \quad (Ec. 3.4)$$

Entre los parámetros obtenidos con los datos de absorbancia de los espectros UV/Vis está la relación E_4/E_6 (absorbancia a 465 nm dividida entre la absorbancia a 665 nm), la cual se ha utilizado para correlacionar el grado de aromaticidad (indicador de humificación) y peso molecular promedio de las moléculas.

3.1.2.3 Determinación de acidez total, grupos carboxílicos y grupos fenólicos

Por la presencia de grupos carboxílicos e hidroxilos fenólicos en la macromolécula de los AH, se determinaron las propiedades ácidas y la capacidad de intercambio iónico de dichos ácidos.

La determinación de grupos funcionales comunes cuyo hidrógeno es susceptible a las reacciones de sustitución (protón intercambiable) se realizó por medio de titulaciones potenciométricas indirectas, empleado como reactivo en exceso al $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ (para acidez total) o $Ca(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ (para la acidez de grupos carboxílicos), y HCl e NaOH como valorantes respectivamente [47,48]. El detalle de estos procedimientos se describe a continuación.

3.1.2.3.1 Acidez total

Se determinó la acidez total (grupos R-COOH y -OH) mediante una valoración potenciométrica utilizando el método de Ba(OH)₂ (barita cáustica) a pH ≈ 13 [34]. Este procedimiento se basa en la siguiente reacción:



Donde R es una macromolécula y H es el protón ácido intercambiable de los grupos -OH de fenoles y -COOH de carboxílicos. El Ba(OH)₂ en exceso al final de la reacción es titulado con una solución de HCl.

Para realizar el procedimiento anterior, se pesaron 50 mg del AH en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se agregaron 20 mL de una solución de Ba(OH)₂·8H₂O 0.2 eq L⁻¹ bajo atmósfera inerte de nitrógeno para evitar la presencia de CO₂. Posteriormente se selló el matraz con una septa y se agitó por un tiempo de 24 horas, al término del cual se filtró a gravedad con papel Whatman No 42. Finalmente, el filtrado se valoró con HCl 0.5 eq L⁻¹ hasta alcanzar un valor de pH de aproximadamente 8.4.

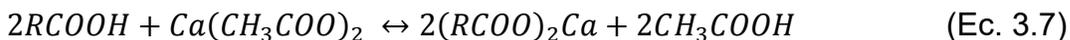
Los valores de acidez total se obtuvieron de la ecuación 1.

$$\frac{meq}{g} \text{Acidez Total} = \left(\frac{(V_b - V_m)(N)(1000)}{mg_{muestra}} \right) \quad (\text{Ec. 3.6})$$

Donde V_b es el volumen de gasto del blanco, V_m es el volumen de gasto durante la valoración de la muestra y N es la concentración del HCl en normalidad.

3.1.2.3.2 Determinación de grupos carboxílicos

En esta determinación, y de acuerdo al método de Ca(CH₃COO)₂, se intercambian los protones lábiles de los ácidos carboxílicos para así formar CH₃COOH (ecuación 3.7). El ácido acético liberado durante la reacción es titulado con una solución de NaOH.



El procedimiento consistió en lo siguiente: se pesaron 50 mg de AH y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL, a los cuales se le añadieron 40 mL de H₂O descarbonatada y 10 mL de Ca(CH₃COO)₂ 1 eq L⁻¹. El recipiente se selló con una septa y se dejó agitar por 24 horas, para finalmente titular con una solución de NaOH 0.1 eq L⁻¹ hasta obtener un pH de aproximadamente 9.8

Los cálculos para conocer la concentración de los grupos carboxílicos se basan en la ecuación 3.8.

$$\frac{meq}{g} \text{ Grupos Carboxílicos} = \left(\frac{(V_m - V_b)(N)(1000)}{mg_{muestra}} \right) \quad (\text{Ec. 3.8})$$

Donde V_b es el volumen de gasto del blanco, V_m es el volumen de gasto de la muestra y N es la concentración del NaOH en normalidad.

3.1.2.3.3 Determinación de grupos hidroxilo fenólicos

Para obtener la cantidad de grupos fenólicos se obtuvo la diferencia entre la acidez total y la cantidad de grupos carboxílicos (ecuación 3.9).

$$\frac{meq}{g} \text{ Grupos fenólicos} = \frac{meq}{g} \text{ Acidez Total} - \frac{meq}{g} \text{ Grupos Carboxílicos} \quad (\text{Ec. 3.9})$$

3.1.3 Espectroscopía de infrarrojo

Esta técnica se basa en la determinación de bandas de absorción características en la región del infrarrojo, lo que está relacionado con las vibraciones moleculares de los grupos funcionales de los AH. En la actualidad, el método de espectroscopía de infrarrojo se emplea en la investigación de la estructura química de los AH porque no altera su composición química y permite identificar los posibles y más abundantes grupos funcionales [49].

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Spectrum GX, en un rango de longitud de onda de 4000 a 270 cm⁻¹, para lo cual se prepararon pastillas de KBr y AH (200 mg/ 2 mg).

3.2 Funcionalización de sílice gel

Una vez que se obtuvo y se caracterizó el AH, éste se empleó en la funcionalización de la sílica gel. Para tal fin se llevaron a cabo los procesos que se describen a continuación.

Es importante resaltar que en algunos experimentos fue necesario emplear un AH comercial (Humato de Potasio), a fin de tener reproducibilidad en los resultados. Sin embargo, del análisis de ambos AH, el comercial y el extraído del suelo de Tulancingo, se verificó que tenían las mismas características de acidez.

3.2.1 Método I

Con la finalidad de obtener un MMH se utilizó el método post grafting poniendo en contacto directo la sílica gel con los AH, tal como lo indica [4,50]

Se prepararon soluciones de AH con concentraciones de AH (1000 y 2000 mg L^{-1}). 10 mL de cada solución fue puesta en contacto directo con 1 g de sílice por 15 minutos; posteriormente la mezcla se decantó y la sílice se lavó y secó en la estufa por 2 horas a 60°C (Figura 3.3).

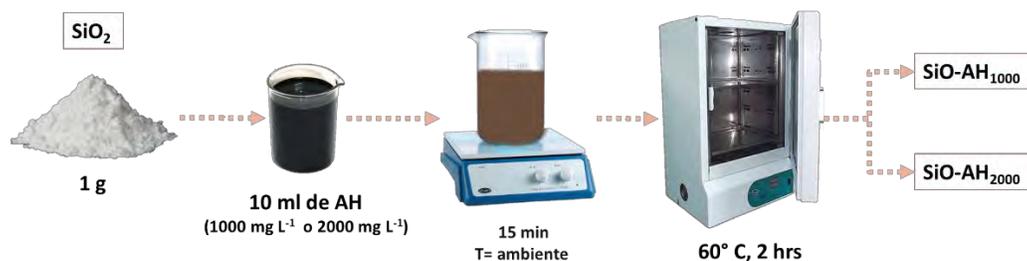


Figura 3.3. Proceso de funcionalización de SiO₂ con AH, método I.

3.2.2 Método II

La funcionalización de la sílica gel se llevó a cabo siguiendo la metodología de Vrancken y colaboradores, primero se activó de la superficie de la sílica gel para incrementar la cantidad de grupos silanoles reactivos, posteriormente se fijó sobre la superficie al 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTMS) para después anclar al AH al soporte, y finalmente con la intención de desactivar todos los grupos libres de la molécula de MPTMS que no reaccionaron con el AH, se llevó a cabo el proceso denominado *end-capping* [51]. Las etapas se detallan en las siguientes secciones.

3.2.2.1 Activación de sílica gel (SiO-H)

Se colocaron 3 g de SiO₂ en un matraz bola al que se le añadieron 40 mL de HCl 3 mol L⁻¹ [52]. El sistema fue sometido a reflujo por 8 horas para posteriormente separar y lavar el sólido (sílice) con agua desionizada hasta obtener un pH de 7. Finalmente, la sílica gel así activada (SiO-H) se secó por 15 horas a 150° C.



Figura 3.4. Proceso de activación de SiO₂, método II.

3.2.2.2 Modificación de sílica gel con MPTMS (SiO-MPTMS)

Los 3 g de SiO-H se pusieron en contacto con 50 mL de una solución de MPTMS al 6% v/v en tolueno, dejando en agitación por 2 horas a temperatura ambiente. La solución fue centrifugada para separar el nuevo producto de la solución (SiO-MPTMS) y fue secada por 12 horas a 60° C.



Figura 3.5. Proceso de modificación de SiO₂ con MPTMS, método II.

3.2.2.3 Inmovilización de AH en SiO-MPTMS (SiO-MPTMS-AH)

Se prepararon 50 mL de una solución de AH de concentración 2000 mg L⁻¹; posteriormente se añadieron 3 g de SiO-MPTMS manteniendo el pH entre un valor de 7-8 dejando agitación por 20 horas a temperatura ambiente. Después de transcurrido este tiempo, la solución se centrifugó y el sólido fue lavado con 250 mL de NaCl 0.2 mol L⁻¹ seguido por la misma cantidad de agua desionizada. El producto se secó por 5 horas a 60° C y fue nuevamente lavado con 200 mL de NaCl 1 mol L⁻¹ a pH 10 para remover los enlaces débiles entre la SiO-MPTMS y los AH. Finalmente, para protonar los AH, la SiO-MPTMS-AH se lavó con 100 mL de HCl 0.001 mol L⁻¹, dejando secar por 12 horas a 60° C. (Figura 3.6)



Figura 3.6. Proceso de inmovilización de AH en SiO-MPTMS, método II.

3.2.2.4 Estabilización de los grupos tio libres, (end-capping)

La SiO-MPTMS-AH fue puesta en contacto con 50 mL de una solución de anhídrido acético al 5% v/v en DMF y agitada por 8 horas. El producto se secó

durante 6 horas a 60° C; al término de este tiempo, se lavó con 100 mL de acetona, 250 mL de agua pH 10 y 250 mL de agua desionizada. Finalmente fue secado en la estufa por 12 horas a 60° C. Lo anterior con la finalidad de cubrir los grupos -S- que no reaccionaron con los AH y así evitar su interacción con los analitos de interés.



Figura 3.7. Proceso de estabilización de SiO-MPTMS-AH, método II.

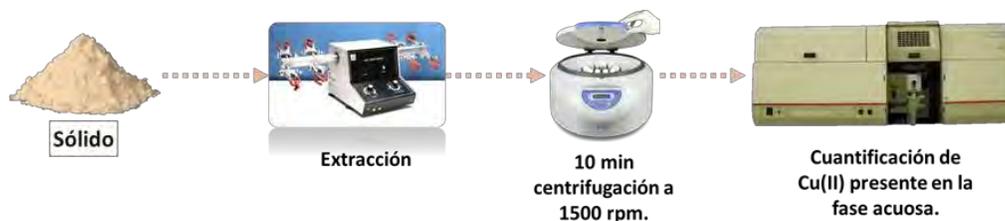
3.3 Extracción de Cu(II) de disoluciones acuosas

Para la extracción de Cu(II), se estudiaron los efectos de diversas variables como pH, concentración de AH en la funcionalización, masa de adsorbente, tiempo de contacto y concentración de adsorbato. Una vez obtenidas las mejores condiciones de extracción se probó la capacidad de adsorción del material modificado hacia el ion metálico en una muestra farmacéutica.

Luego de la extracción, el cobre se cuantificó mediante espectrofotometría de absorción atómica con un equipo modelo SpectrAA880, marca Varian.

3.3.1 Proceso de extracción de Cu(II) de disoluciones acuosas sintéticas

En la figura 3.8 se observan las condiciones de trabajo que fueron utilizadas en la extracción del ion metálico. Para ello se empleó la sílice funcionalizada por los métodos I y II.



Parámetros							
Método	Sólido	Concentración de AH (mg L ⁻¹)	pH	Tiempo de extracción (min)		Masa de adsorbente utilizada (mg)	Concentración de adsorbato puesta en contacto (mg L ⁻¹)
I	1. SiO-AH ₁₀₀₀	• 1000	• 4.5	• 120	• 500	• 5	
	2. SiO-AH ₂₀₀₀	• 2000					
	3. SiO ₂						
II	4. SiO-H	• 500	• 2	• 5	• 90	• 100	• 1 - 80
	5. SiO-MPTMS	• 1000	• 4	• 15	• 120	• 125	
	6. SiO-MPTMS-AH	• 2000	• 6	• 30	• 180	• 150	
	7. SiO-MPTMS-AH _{Estabilizada}	• 4000	• 8	• 60	• 175	• 750	
			• 9				

Figura 3.8. Parámetros empleados durante la extracción de Cu(II) con SiO-MPTMS-AH, método I y II. Sólidos: 1. Sílice funcionalizada con 1000 mg L⁻¹ de AH, 2. Sílice funcionalizada con 2000 mg L⁻¹ de AH, 3. Sílice pura, 4. Sílice activada, 5. Sílice funcionalizada con MPTMS, 6. SiO-MPTMS con AH, 7 SiO-MPTMS-AH estabilizada.

Luego de la extracción, el cobre se cuantificó mediante espectrofotometría de absorción atómica con un equipo modelo SpectrAA880, marca Varian. Todos los experimentos de extracción se realizaron por duplicado.

3.3.2 Pruebas de saturación.

Para la prueba de saturación fue preparada una colección de soluciones de Cu(II) en un rango de concentración de 1 a 130 mg L⁻¹ ajustadas a pH 2, fueron puestas en contacto con 175 mg de SiO-MPTMS-AH (preparada con 1000 mg L⁻¹ de AH) por un lapso de 30 minutos para la extracción y 10 minutos de centrifugación a 1500 rpm. La concentración de cobre en la solución después de la extracción fue determinada mediante espectroscopía de absorción atómica en llama en un

equipo SpectrAA880, marca Varian. Los datos obtenidos fueron utilizados además para obtener las isothermas de adsorción de Langmuir y Freundlich.

3.3.3 Proceso de extracción de Cu(II) de una muestra real

Para evaluar el funcionamiento de la SiO-MPTMS-AH en un sistema real se utilizaron dos muestras de medicamentos que contienen al ion metálico de estudio: agua de mar isotónica enriquecida con cobre (auxiliar en la congestión nasal) y agua de Alibour comercial (antiséptico astringente y desodorante, auxiliar para el tratamiento de la dermatitis, con cobre, zinc y alcanfor).

Luego de la extracción, el cobre se cuantificó mediante espectrofotometría de absorción atómica con un equipo modelo SpectrAA880, marca Varian. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

3.3.3.1 Tratamiento de la muestra de agua de mar isotónica

Para la evaluación del material desarrollado en una muestra real, se adquirió un producto comercial que contenía agua de mar isotónica enriquecida con cobre (solución acuosa nasal en spray). En la etiqueta del producto se indica: “solución de agua de mar 100% natural enriquecida con Cobre”. La composición exacta no se encontró tampoco en la página del fabricante.

Se tomó una muestra del producto presionando el aplicador para liberar el producto (Figura 3.9). De esta muestra se midieron 25 mL mismos a los que se les ajustó el pH hasta un valor de 2. La disolución resultante se sometió al proceso de extracción de acuerdo al procedimiento mostrado en la figura 3.9. Cabe señalar que la curva de calibración empleada para la determinación de cobre fue preparada en una matriz de 0.154 mol L^{-1} de NaCl ya que es la concentración que contiene la muestra farmacéutica.

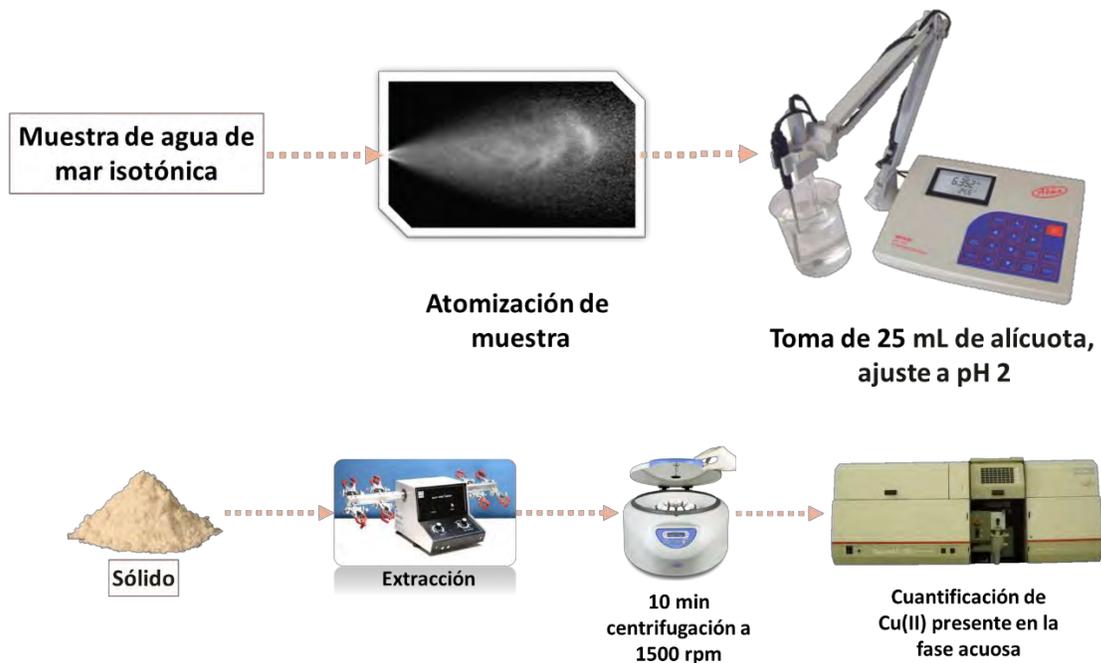


Figura 3.9. Esquema del procedimiento seguido para la extracción de cobre del agua de mar enriquecida.

3.3.3.2 Tratamiento de la muestra de polvo antiséptico

La segunda muestra real con la que se evaluó el material funcionalizado fue una solución comercial de *Alibour*, el cual es un antiséptico astringente y desodorante. Se vende en polvo y debe prepararse antes de ser utilizada disolviendo el contenido de un sobre en medio litro de agua tibia. De acuerdo a la etiqueta del producto, cada gramo del polvo contiene 177 mg de sulfato de cobre, 619.5 mg de sulfato de zinc y 26.5 mg de alcanfor.

Con base en esta información, 0.0382 g del polvo se disolvieron en agua desionizada y después de filtrar y ajustar el pH a 2, se aforaron hasta 50 mL. La disolución resultante se sometió al proceso de extracción de acuerdo al procedimiento mostrado en la figura 3.10.



Figura 3.10. Esquema del procedimiento seguido para la extracción de cobre del polvo antiséptico.

4.-RESULTADOS

4.1 Caracterización de los ácidos húmicos extraídos

La caracterización, tanto de una sustancia como de un material, permite determinar la estructura y las propiedades morfológicas que este posee, por lo que es un proceso muy importante.

En una primera etapa se caracterizaron los AH mediante técnicas como análisis elemental, espectroscopía ultra violeta/visible, volumetría ácido-base y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), siendo la última utilizada también para la caracterización de los materiales sintetizados.

Los resultados obtenidos para cada una de estas técnicas se muestran a continuación.

4.1.1 Análisis elemental

Este análisis se realizó con el fin de comparar las propiedades y composición elemental de los AH con valores reportados en la literatura (C 32-58%, O 32-64%, H 2.5-6.9% y N 0.7-4.7%), los resultados se presentan en la Tabla 4.1 [47, 53-55].

Tabla 4.1. Resultados del análisis elemental de los ácidos húmicos extraídos.

Elemento	Composición en porcentaje (%)
% C	33.690 (8.673)
% H	2.373 (6.450)
% N	0.333 (19.053)
% O	63.603 (4.871)

Porcentaje de desviación estándar relativa (%DER) entre paréntesis (n=3)

De acuerdo a la tabla 4.1, los porcentajes obtenidos son característicos de los AH. Es importante mencionar que los bajos porcentajes de nitrógeno/hidrógeno encontrados en la muestra (menores al 0.8%), pueden indicar que las

macromoléculas provienen de un suelo con una baja cantidad de materia orgánica debido a su constante degradación [47] y que en dichas moléculas el N se encuentra situado en los enlaces que unen los núcleos aromáticos o bien en cadenas alifáticas, lo que implica moléculas poco resistentes a la hidrólisis ácida efectuada durante el proceso de extracción de dichos ácidos (pérdida de N) cabe mencionar que los bajos porcentajes de N no influyen en el proceso de extracción como se podrá ver en las siguientes secciones.

4.1.2 Espectroscopía ultravioleta-visible

Se obtuvieron espectros del AH (figura 4.1), a partir del cual se consideraron sólo las absorbancias a 280, 465 y 665 nm. Con éstas se calcularon los coeficientes de absortividad molar que permitieron calcular el porcentaje de aromaticidad, el peso molecular y el grado de humificación reportados en la Tabla 4.2 [38]. Estos espectros suelen ser muy monótonos y sin picos definidos debido a sus altos pesos moleculares.

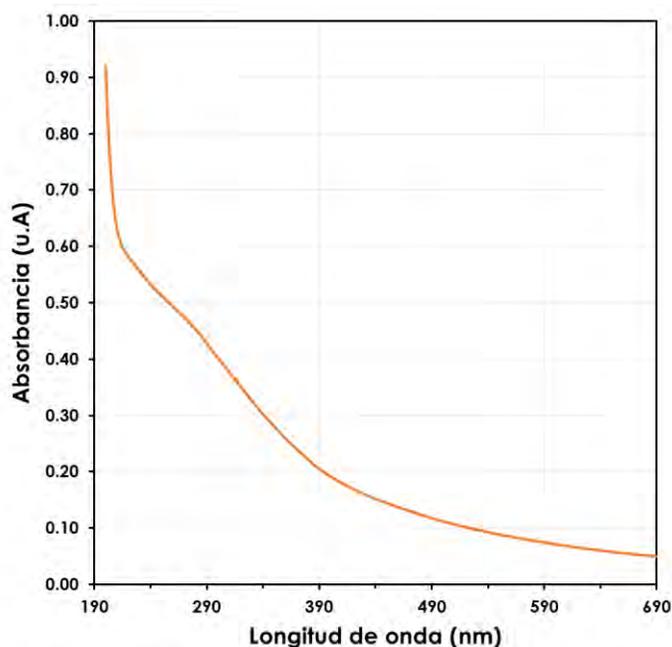


Figura 4.1. Espectro UV/Vis del AH extraído. Solución de AH de 10 mg L⁻¹.

Si bien se sabe que las propiedades fisicoquímicas de los AH dependen de diversos factores como el método de extracción, el origen de la muestra, etc., los valores encontrados para el AH extraído en este trabajo se encuentran en rangos semejantes a los reportados en la literatura (aromaticidad de 64 a 84%, peso molecular de 5427-6664 g mol⁻¹, E₄/E₆ entre 2.06 y 5.8) [47,56,57].

Tabla 4.2. Propiedades químicas del AH extraído.

Información obtenida de los espectros UV/Vis				Aromaticidad	Peso molecular	Grado de humificación
Longitud de onda (nm)	280	465	665	87.836	6961.474	2.373
Absorbancia (u.A.)	0.455	0.137	0.058			
Coefficiente de absortividad molar (ε) (L mol ⁻¹)	1621.92	486.69	205.36			
DER (%) (n=3)	0.67	2.08	5.24	0.534	0.538	2.734

4.1.3. Determinación de acidez total, grupos carboxílicos y grupos fenólicos mediante volumetrías ácido-base

Para los AH, son característicos los grupos funcionales carboxílicos (-COOH) e hidroxilos fenólicos (-OH), cuyo hidrógeno es susceptible a las reacciones de sustitución. Los resultados obtenidos para estos análisis se muestran en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Resultados de la determinación de acidez del AH extraído.

Tipo de acidez (meq g ⁻¹)	Valor promedio
Acidez total	9.226 (3.480)
Grupos carboxílicos (COOH)	3.524 (2.685)
Grupos fenólicos (OH fenólicos)	5.702 (4.509)

Porcentaje de desviación estándar relativa (%DER) entre paréntesis (n=3)

En ella se puede observar que los valores de acidez total se encuentran bajo las condiciones usualmente reportadas (Acidez total de 4.6 a 14.9, COOH de 1.5 a 11.2) [47,49,54,58,59], sin embargo existen diferencias entre los valores

reportados para los grupos carboxílicos y grupos fenólicos, los cuales dependen del suelo del cual se obtuvieron. En este caso los resultados indican que los procesos de humificación siguen llevándose a cabo, lo que modifica individualmente el valor de estos grupos sin afectar la acidez total de la macromolécula.

4.1.4 Espectroscopía de infrarrojo

La espectrometría de infrarrojo, se divide en tres regiones espectrales, región lejana, región media y región cercana. La región más utilizada es la del infrarrojo medio (400 hasta 4000 cm^{-1}) siendo la principal herramienta para determinar la estructura de especies orgánicas y bioquímicas [48]. El espectro de IR obtenido para los ácidos húmicos extraídos se muestra en la Figura 4.2.

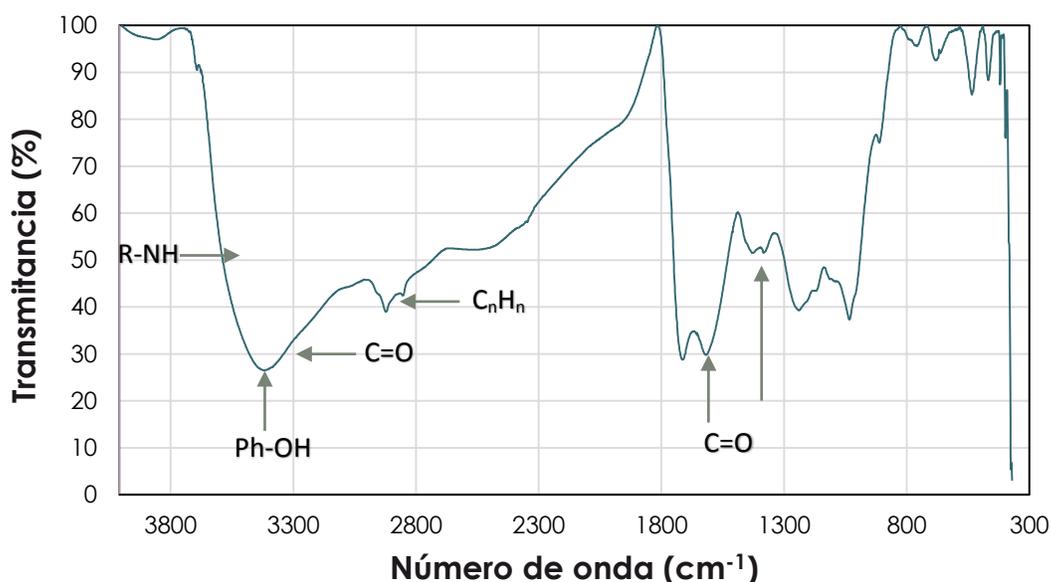


Figura 4.2. Espectro IR del AH extraído obtenido en pastilla de KBr.

En este se aprecia la presencia grupos funcionales que son característicos de los AH. Se observan las bandas distintivas de la presencia de enlaces O-H, N-H (3100-3600 cm^{-1}) y de los grupos alcanos (2850–2960 cm^{-1}). De igual manera se

observa la banda característica del carbonilo C=O de los ácidos carboxílicos ($1670\text{--}1780$, $2500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$) [52,53], los cuales son de principal interés ya que son los que interactúan directamente con los iones metálicos [16,24].

4.2 Caracterización de la sílica gel funcionalizada

Con la finalidad de corroborar que la funcionalización de la sílice gel se haya llevado de forma exitosa, se obtuvieron los espectros de infrarrojo de los materiales involucrados en cada etapa del proceso de funcionalización, es decir, el soporte sólido (SiO_2), la sílice funcionalizada con MPTMS, (SiO-MPTMS) y la sílice funcionalizada con AH (Si-MPTMS-AH).

En el espectro de la Figura 4.3, se distinguen las bandas relacionadas con la interacción de los grupos silanoles, Si-OH (800 , $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$) y también sobresale una banda representativa de los enlaces siloxano, O-Si-O ($1100\text{--}1300$) [2].

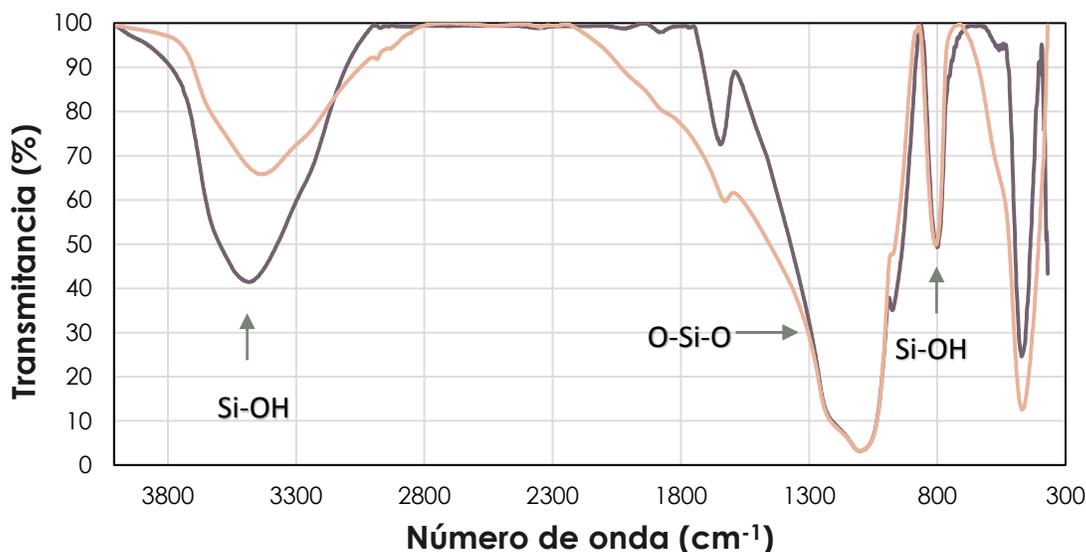


Figura 4.3. Espectros IR de (—) SiO_2 y (—) SiO-H obtenidos en pastilla de KBr.

El siguiente espectro corresponde a la Si-MPTMS (Figura 4.4). En él se puede constatar que la molécula de MPTMS se fija en el soporte de sílice ya que se

observan estiramientos característicos en los rangos de los grupos silanoles Si-OH (800, 3300-3500 cm^{-1}), los enlaces siloxano, O-Si-O (1100-1300 cm^{-1}), al igual que las bandas representativas para los enlaces de azufre R-SH (550, 2300 cm^{-1}). Finalmente se aprecia una banda característica de las cadenas de hidrocarburos presentes en la molécula; -CH₂CH₂CH₂- y -OCH₃, (2850–2960, 3020–3100 cm^{-1}) [53].

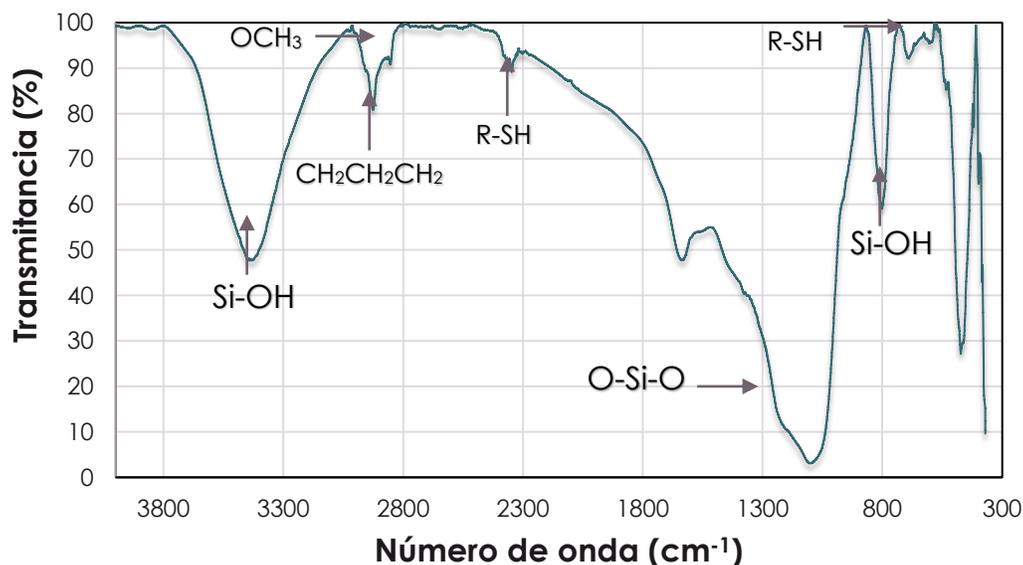


Figura 4.4. Espectro IR de SiO-MPTMS obtenido en pastilla de KBr.

Finalmente el espectro correspondiente a la Si-MPTMS-AH se muestra en la Figura 4.5. En él se confirma la fijación de las macromoléculas de AH en el soporte híbrido mesoporoso al observar bandas representativas tanto del soporte mesoporoso, como de la molécula de MPTMS y de los AH. Así, se aprecian bandas correspondientes a los estiramientos de los Si-OH (800 cm^{-1}), Ph-OH (3300-3500 cm^{-1}), las cadenas del hidrocarburo (2850–2960 cm^{-1}), y las de los R-COOH (1670–1780, 2500–3100 cm^{-1}) [2].

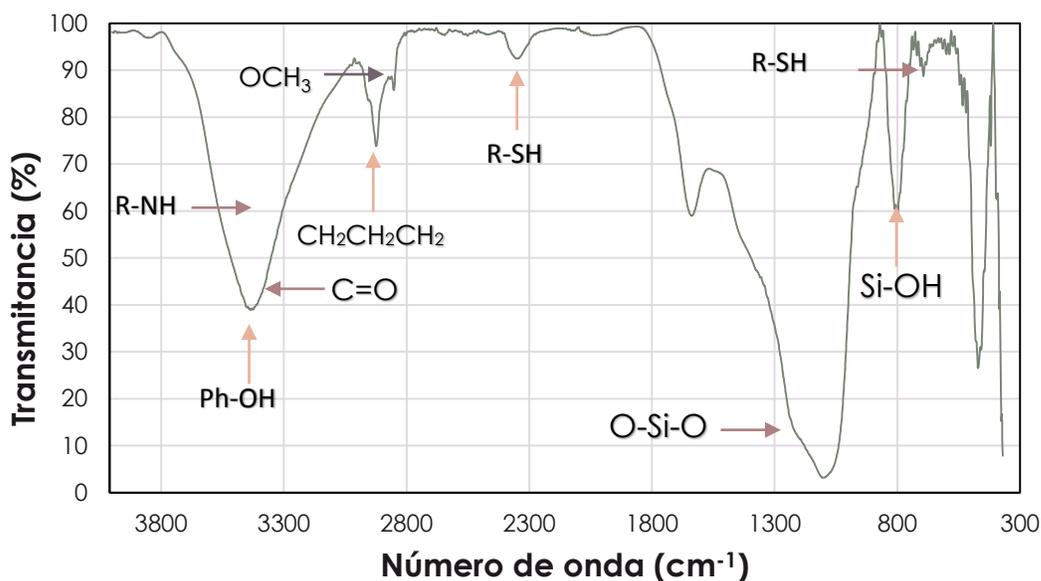


Figura 4.5. Espectro IR de SiO-MPTMS-AH obtenido en pastilla de KBr.

4.3 Extracción de Cu(II)

4.3.1 Evaluación de sílice funcionalizada por el método I

Mediante el método I, se obtuvieron los porcentajes de extracción del metal que se presentan en la Tabla 4.4, donde se comparan los dos sólidos de funcionalización directa de la sílice gel con AH en concentraciones de 1000 y 2000 mg L⁻¹, así como el material de partida.

A partir de estos datos se deduce que al emplear el material preparado por el método I no se alcanzan extracciones de Cu(II) mayores al 60%. Más aún, la extracción no mejora con respecto a la sílice pura y por el contrario, se reduce debido a que las macromoléculas se adhieren en forma poco ordenada en el soporte dejando los grupos reactivos con menor disponibilidad. Así, debido a las condiciones químicas, al funcionalizar por el método I la sílica gel no está activada y los AH no se inmovilizan adecuadamente en el soporte sólido. Por lo anterior, se

buscó un método que permitiera obtener un sólido con el cual se incrementara la extracción de cobre.

Tabla 4.4. Resultados obtenidos en los experimentos de extracción de Cu(II) con la sílice modificada por el método I.

Muestra	Porcentaje de extracción de cobre (%E _{Cu(II)})
SiO-AH ₁₀₀₀	16.89 (39.60)
SiO-AH ₂₀₀₀	56.08 (26.00)
SiO-H	79.06 (8.52)

Condiciones experimentales: 10 mL de una disolución de Cu(II) 5 mg L⁻¹ a pH 4.5; 0.5 g de cada sólido, 2 horas de extracción y 10 min de centrifugación a 1500 rpm. Porcentaje de desviación estándar relativa entre paréntesis LD=Límite de detección (1.30 mg L⁻¹).

4.3.2 Evaluación de sílice funcionalizada por el método II

Se evaluaron los sólidos resultantes de cada una de las etapas del método II en la extracción de Cu(II), con la finalidad de comprobar el efecto de la modificación en la remoción del metal.

En la Figura 4.6 se logra apreciar que el porcentaje de extracción de Cu(II) con la sílice funcionalizada, logra competir con el porcentaje de extracción que presenta el sólido puro. Esto es, al avanzar en el proceso de funcionalización la cantidad de Cu(II) retenida aumenta hasta finalmente alcanzar porcentajes de extracción superiores al 94%.

De acuerdo a estos resultados se descartaron los sólidos obtenidos por el método I y se emplearon materiales obtenidos por el método II para los experimentos siguientes.

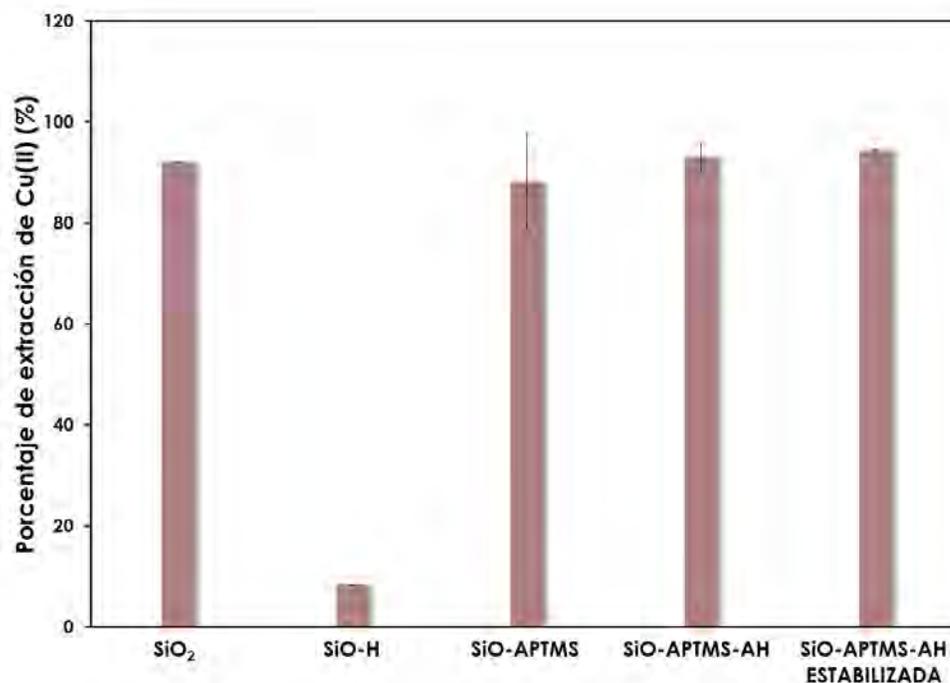


Figura 4.6. Resultados obtenidos en los experimentos de extracción de Cu(II) con la sílice modificada por el método II. Condiciones: 10 mL de una disolución de Cu(II) 5 mg L⁻¹ a pH 4.5; 0.5 g de cada sólido, 2 horas de extracción y 10 min de centrifugación a 1500 rpm.

4.4 Efecto de las variables químicas y físicas en la extracción de cobre con SiO-MPTMS-AH

Con el fin de encontrar las mejores condiciones a las cuales llevar a cabo el experimento de extracción del Cu(II), se realizaron experimentos en los que se modificaron variables como pH, masa del sólido, concentración de AH usada para preparar el sólido, concentración de cobre y el tiempo de extracción.

4.4.1 Efecto de la variación de pH

En la figura 4.7 se muestra el efecto del pH en la extracción de Cu(II), donde se aprecia el comportamiento de tres sólidos puestos a prueba: SiO₂, SiO-H y Si-MPTMS-AH (estabilizado).

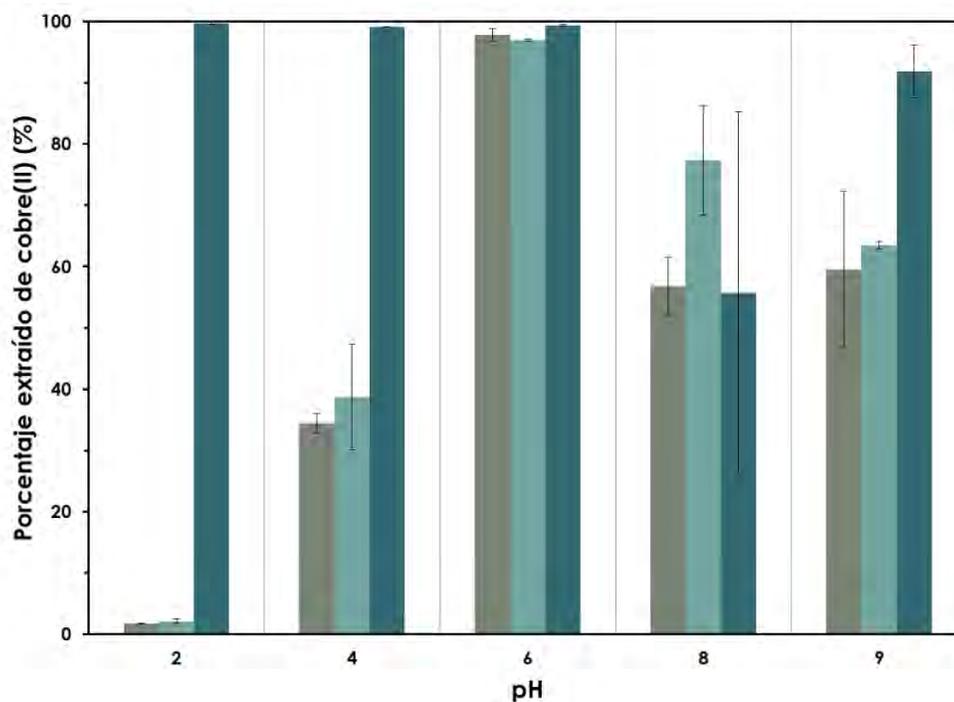


Figura 4.7. Efecto del pH en el porcentaje de extracción de Cu(II) empleando los sólidos resultantes de cada etapa de la funcionalización (Método II): (■) SiO₂, (■) Si-H, (■) SiO-MPTMS-AH₂₀₀₀. Condiciones: 10 mL de una disolución de Cu(II) 5 mg L⁻¹; 0.5 g de cada sólido; 2 horas de extracción y 10 min de centrifugación a 1500 rpm.

Uno de los parámetros que influyó en decidir el pH de trabajo para los subsecuentes experimentos, fue conocer el valor en donde la Si-MPTMS-AH presentara un porcentaje de extracción diferente al de los otros dos sólidos. De esta forma, sería posible mostrar una de las ventajas de la funcionalización del material.

Por lo anterior, es interesante observar que a valores de pH ácidos (entre 2 y 6) los porcentajes de extracción del SiO-MPTMS-AH son superiores al 90%, mientras que en condiciones alcalinas, dicho porcentaje disminuye debido muy probablemente a la descomposición del adsorbente, debido a la solubilidad del AH en ese medio. A fin de comprobar que los porcentajes de extracción están relacionados principalmente con el material y no por la forma química del cobre en disolución acuosa, se elaboró el diagrama de zonas de predominio para el Cu(II)

empleando el programa MEDUSA [60]. Así, aunque en la literatura comúnmente se lleva a cabo la extracción de los iones metálicos a valores de pH menores a 4 [5,31,61,62], en el diagrama puede observarse que el cobre se encuentra como ion libre (Cu^{2+}) (es decir, sin formar hidroxocomplejos) en el rango de pH de 0 a 6 a la concentración de trabajo (5 mg L^{-1} ($\text{pCu(II)}=4.1$)) (Figura 4.8).

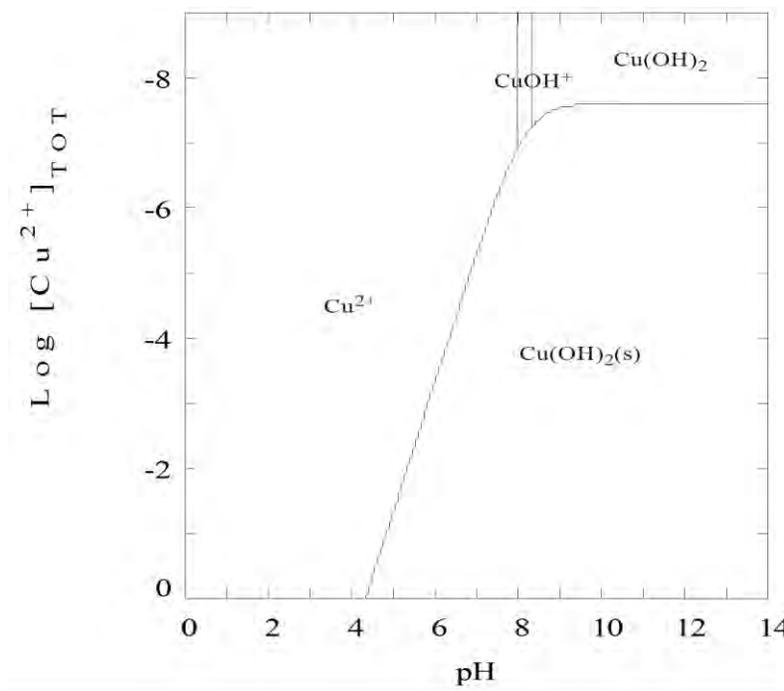


Figura 4.8. Diagrama de zonas de predominio de Cu(II) elaborado en el programa Hydra/MEDUSA [60].

Así, y con el fin de evaluar el efecto de las otras variables en el desempeño del material sintetizado (SiO-MPTMS-AH), en los subsecuentes experimentos se empleó un pH de 2.

4.4.2 Efecto de la variación de la concentración de AH en la disolución empleada durante la funcionalización

Si bien los porcentajes alcanzados con el material funcionalizado de los experimentos anteriores (empleando una disolución de AH de 2000 ppm) son superiores al 98%, se decidió investigar de qué manera afectaba el modificar la concentración de AH en la disolución de partida. En la Figura 4.9 se observa que en el rango de concentraciones estudiada, no hay variaciones importantes en el porcentaje de extracción; es decir, la concentración de AH utilizada es suficiente para la funcionalización del material.

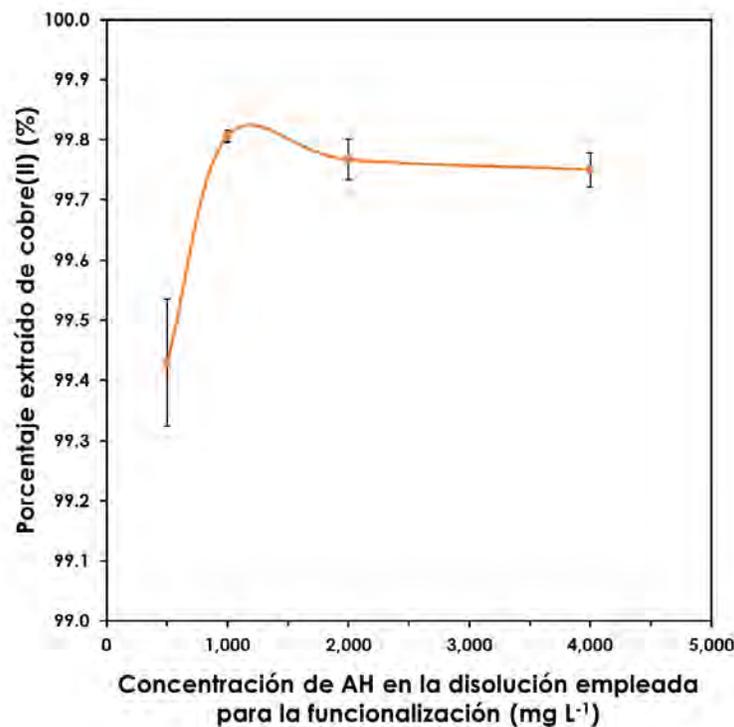


Figura 4.9. Variación de la cantidad de AH empleado para la funcionalización de sílica gel y su efecto en el porcentaje de extracción de Cu(II). Condiciones: 10 mL de una disolución de Cu(II) 5 mg L⁻¹ a pH 2; 0.5 g de SiO-MPTMS-AH, 2 horas de extracción y 10 min de centrifugación a 1500 rpm.

Considerando lo anterior, se seleccionó una concentración de 1000 mg L^{-1} de AH para las siguientes funcionalizaciones, ya que se logra un porcentaje de extracción alto (99.8%) con un mínimo consumo de AH.

4.4.3 Efecto de la variación de masa de Si-MPTMS-AH

Los resultados son mostrados en la Figura 4.10 corresponden al estudio del efecto de la variación de la masa de Si-MPTMS-AH en el porcentaje de remoción de Cu(II).

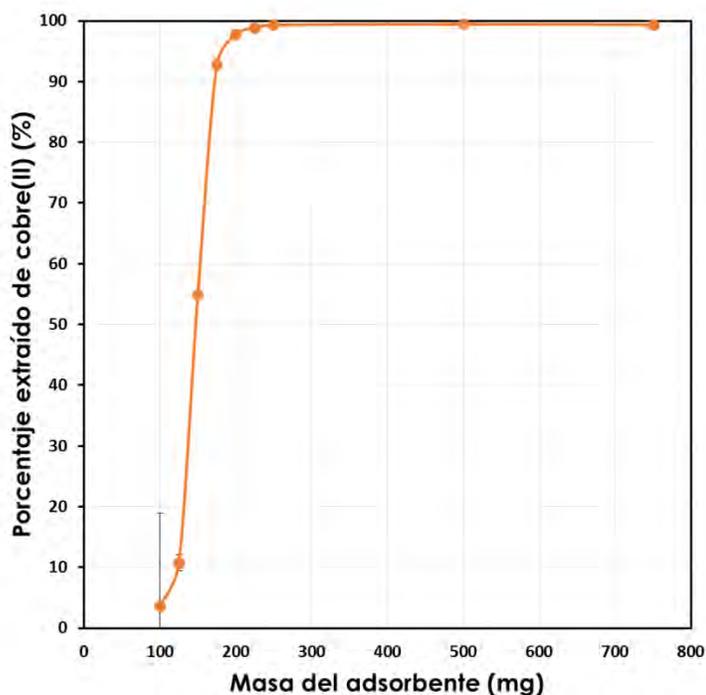


Figura 4.10. Efecto de la variación de la masa de Si-MPTMS-AH en el porcentaje de remoción de Cu(II). Condiciones: 10 mL de una disolución de Cu(II) 5 mg L^{-1} a pH 2; SiO-MPTMS-AH preparada con 1000 mg L^{-1} de AH 2 horas de extracción y 10 min centrifugación a 1500 rpm.

Estos resultados indican que la cantidad mínima para obtener un porcentaje significativo en la extracción del ion metálico es de 150 mg de la Si-MPTMS-AH, ya que en cantidades inferiores el sólido no es capaz de retener una concentración

de cobre apreciable. Sin embargo a medida que se incrementa la cantidad de adsorbente, se incrementa el porcentaje de extracción de una forma discreta hasta no observar cambios significativos. Para la finalidad de estos estudios, se decidió utilizar la cantidad mínima de soluto 175 mg, en donde se observan porcentajes de extracción superiores al 90%.

4.4.5 Efecto del tiempo de extracción

Los resultados de los experimentos para esta prueba se muestran en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5. Efecto del tiempo de extracción en el porcentaje de remoción de Cu(II).

Tiempo (min)	Porcentaje de extracción de cobre (%E _{Cu(II)})
5	90.11 (0.08)
15	98.16 (0.03)
30	98.57 (0.01)
60	98.70 (0.01)
90	98.98 (0.01)
120	99.07 (0.01)
180	99.49 (0.01)

Condiciones: 10 mL de una disolución Cu(II) 5 mg L⁻¹ a pH 2; 175 mg de SiO-MPTMS-AH preparada con 1000 mg L⁻¹ de AH y 10 min centrifugación a 1500 rpm. Porcentaje de desviación estándar relativa en porcentaje (DER) (n=2). LD=Límite de detección (0.78 mg L⁻¹).

Se aprecia que los sitios por los cuales el Cu(II) tiene una gran afinidad pueden llegar a ser ocupados fácil y rápidamente por el ion metálico, de tal forma que desde los 5 minutos de experimentación se alcanzan porcentajes de extracción del 90%. Sin embargo, el tiempo requerido para lograr el equilibrio es de 15 minutos en el caso del cobre. De acuerdo a lo anterior, se decidió por un tiempo de 30 minutos (con un mínimo %DER) para los siguientes experimentos [24,63].

4.4.6 Pruebas de saturación

Los experimentos para la prueba de saturación se realizaron bajo las mejores condiciones encontradas en los apartados anteriores. Los resultados son mostrados en la Figura 4.11.

A partir de esta figura puede observarse que la capacidad máxima de adsorción de la Si-MPTMS-AH es de $4.40 \text{ mg}_{\text{Cu(II)}}/\text{g}_{\text{sólido}}$.

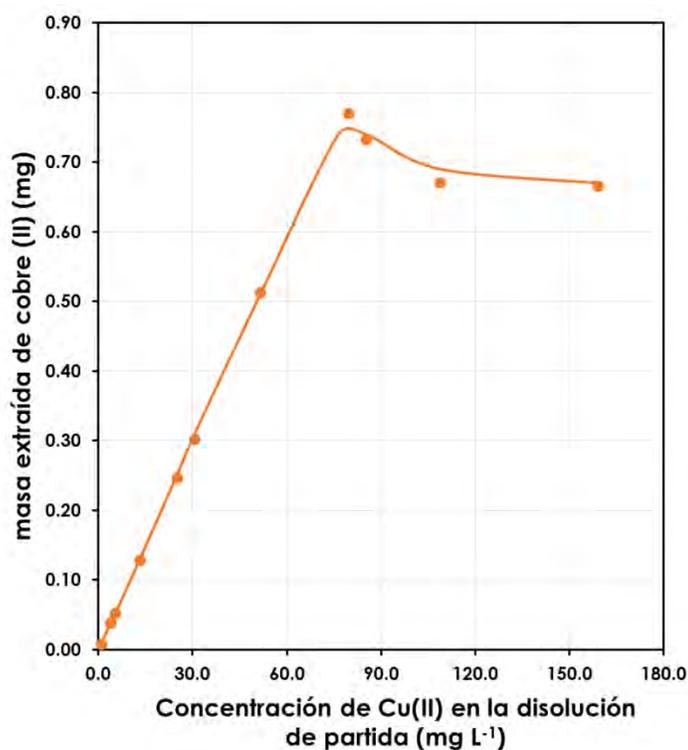


Figura 4.11. Gráfico de saturación del sólido con el ion metálico Cu(II). Condiciones: 10 mL de la disolución de Cu(II) a pH 2; 175 mg de SiO-MPTMS-AH preparada con 1000 mg L^{-1} de AH, 30 min de extracción y 10 min de centrifugación a 1500 rpm.

4.5 Isotermas de adsorción

El modelo de adsorción de Langmuir, nos habla sobre la adsorción homogénea mediante monocapas, de cada molécula de adsorbato sobre la superficie.

La ecuación de Langmuir es representada en la ecuación 4.1.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{KQ_{MÁX}} + \frac{C_e}{Q_{MÁX}} \quad (\text{Ec. 4.1})$$

$$q_e = \frac{C_o - C_e}{m_{ads}} V \quad (\text{Ec. 4.2})$$

donde C_e (mg L^{-1}) es la concentración del ion metálico en la disolución al equilibrio, $Q_{MÁX}$ (mg g^{-1}) es la capacidad de adsorción del adsorbente, y K_L (mg L^{-1}) es la constante de adsorción. Para el cálculo de q_e (mg g^{-1}) se utiliza la ecuación 4.2, donde C_o (mg L^{-1}) es la concentración inicial del metal puesta en contacto con m_{ads} (g) que es la cantidad de adsorbente y V (L) es el volumen de la disolución.

Con este modelo puede determinarse un parámetro de equilibrio (R_L), mediante la ecuación 4.3, con este parámetro se puede saber cómo son las condiciones de separación: si el valor de R_L es igual a cero el proceso es irreversible, si el valor se encuentre entre cero y uno se trata de un proceso favorable, si es igual a uno es un proceso lineal o si es menor a uno es un proceso desfavorable.

$$R_L = \frac{1}{1 + C_o} V \quad (\text{Ec. 4.3})$$

Para esta ecuación C_o (mg L^{-1}) es la concentración del metal más utilizada y V (L) es el volumen de la disolución.

Por otro lado, el modelo de adsorción de Freundlich utiliza un indicativo de la capacidad de adsorción del adsorbente, K (mg L^{-1}) y un parámetro empírico que relaciona la intensidad de adsorción (n^{-1}) con la finalidad de evaluar la heterogeneidad del proceso de adsorción del analito en el material (Ecuación 4.4).

$$\log q_e = \left(\frac{1}{n}\right) \ln C_e + \ln K \quad (\text{Ec. 4.4})$$

Si el valor de n^{-1} es menor a uno, indica una adsorción normal y si es mayor a 1, la adsorción es sinérgica entre las dos fases [2,64,65].

En la figura siguiente (Figura 4.12), se presentan los resultados del experimento mientras que en la Tabla 4.6 se observan los parámetros teóricos. De acuerdo a los resultados, con el modelo de Langmuir se obtiene un factor de correlación (0.994) mayor al de Freundlich (0.942), lo que indica que la adsorción del Cu(II) en la SiO-MPTMS-AH se lleva a cabo de manera homogénea [3,66], presentando un $Q_{MÁX}$ de 5.356 (mg g^{-1}), parecido a lo que se observa en las pruebas de saturación.

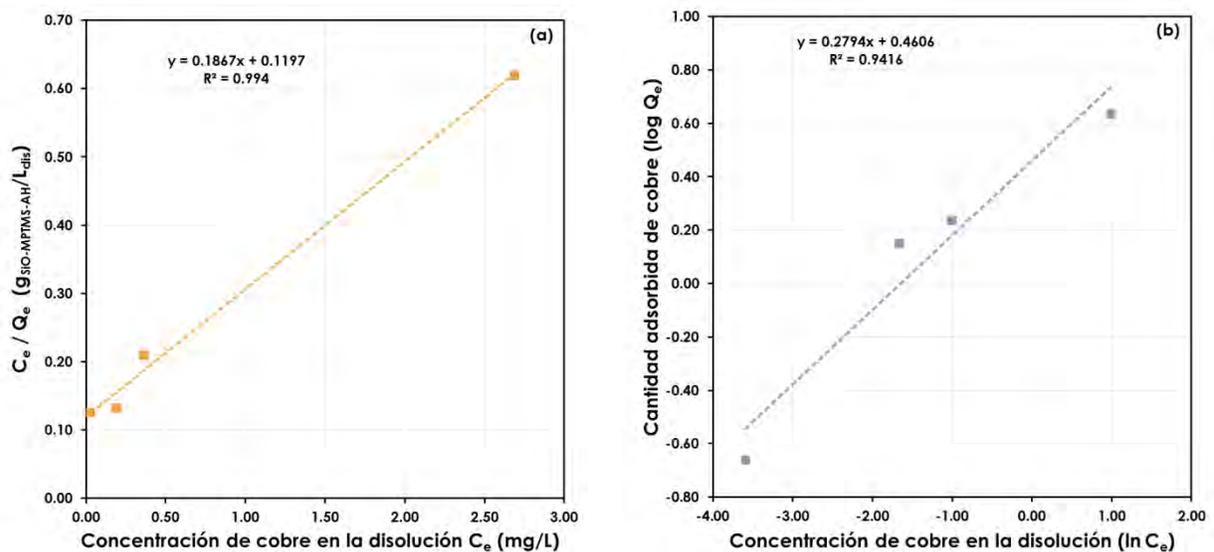


Figura 4.12. Isotermas de absorción para la SiO-MPTMS: a) Langmuir; b) Freundlich.

Tabla 4.6. Parámetros de adsorción obtenidos de los modelos de isotermas.

Langmuir			Freundlich		
$Q_{MÁX}$ (mg g^{-1})	K_L (mg L^{-1})	R^2	n	K (mg L^{-1})	R^2
5.356	0.022	0.994	3.579	2.888	0.942

4.6 Evaluación de la capacidad de adsorción de Cu(II) en muestras farmacéuticas

Para evaluar el funcionamiento de la SiO-MPTMS-AH en un sistema real se utilizaron 2 muestras farmacéuticas en solución: agua de mar isotópica y polvo astringente.

Estos experimentos se realizaron bajo las condiciones elegidas durante los pasados experimentos: 175 mg de SiO-MPTMS-AH preparada con 1000 mg L⁻¹ de AH, solución ajustada a pH= 2, tiempo de extracción 30 minutos y 10 minutos de centrifugación a 1500 rpm.

4.6.1 Extracción de Cu(II) de agua de mar isotónica enriquecida

La muestra de agua de mar isotónica está constituida en su mayoría por NaCl y por una baja cantidad del ion metálico de interés. De acuerdo al análisis por absorción atómica, el cobre se encuentra en una concentración inicial de 0.3972 mg L⁻¹.

Para evaluar el funcionamiento de la SiO-MPTMS-AH en este sistema, se utilizaron 10 mL de la muestra farmacéutica en solución bajo las mejores condiciones encontradas en los experimentos anteriores. De esta forma fue posible extraer el 63.96% del Cu presente en la solución.

Con el fin de conocer si existe un envenenamiento de la SiO-MPTMS-AH debido a la presencia en exceso de cloruro de sodio en el fármaco, se realizó una prueba sin la presencia del NaCl y con una concentración inicial de 0.851 mg L⁻¹ de Cu(II), similar a la del spray nasal. Los resultados arrojaron un porcentaje de extracción del 96.27% con lo que se comprueba que la matriz de trabajo sí causa interferencia en el proceso de recuperación de Cu(II) con la SiO-MPTMS-AH,

debido probablemente al exceso de iones sodio los cuales compiten por los sitios activos en el sólido (relación $168,000 \text{ eq}_{\text{Na}^+} : 1 \text{ eq}_{\text{Cu}^{2+}}$)[67-69].

4.6.2 Extracción de Cu(II) de la solución de Alibour comercial

La solución de Alibour, un antiséptico astringente y desodorante, se comercializa en polvo y debe después de prepararse, se obtuvo una disolución de concentraciones iniciales de 42 mg L^{-1} en Cu(II) y de 138 mg L^{-1} del ion Zn(II).

Bajo las condiciones de experimentación descritas en los apartados anteriores, fue posible extraer el 96.17% del Cu presente en la solución, mientras que se logró recuperar el 89.07% del Zn(II).

Para saber si existe un envenenamiento de la SiO-MPTMS-AH debido a los diferentes componentes del fármaco, se realizó una prueba bajo las mismas condiciones de experimentación con sólo los iones de interés en las siguientes concentraciones: 71.35 mg L^{-1} de Cu(II) y 78.38 mg L^{-1} de Zn. Se observó un porcentaje de extracción del 98.48% para el Cu(II) mientras que los porcentajes de extracción de Zn(II) alcanzaron el 99.96%. Dado que los porcentajes de extracción aumentaron cuando se usó una disolución libre de alcanfor, se puede inferir que el compuesto orgánico podría adsorberse en la superficie del sólido dificultando la extracción de los iones metálicos [22-24,70].

5.-CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación, se seleccionó una técnica adecuada de fijación de los AH en un soporte mesoporoso, SiO₂. Esto se corroboró con los elevados porcentajes de extracción del ion Cu(II) que el híbrido modificado arrojó a lo largo de las diferentes pruebas que fueron realizadas.

Se determinó que las condiciones adecuadas para mejorar el comportamiento del sólido obtenido en la extracción del analito fueron: 10 mL de una solución de 5 mg L⁻¹ de Cu(II), 175 mg de SiO-MPTMS-AH preparada con 1000 mg L⁻¹ de AH, solución ajustada a pH= 2, tiempo de extracción 30 minutos y 10 minutos de tiempo de centrifugación a 1500 rpm.

En estas condiciones de extracción, el sólido logra extraer de la solución un porcentaje apreciable del ion metálico, mediante la formación de una monocapa en la superficie del material, logrando retener hasta 4.40 mg del ion en solución por gramo de sólido.

Por otro lado, al probar el híbrido modificado con los AH en la extracción de cobre de una muestra real, se observan porcentajes elevados de extracción del ion metálico presente en las muestras, tanto para las que tienen una competencia con otros iones metálicos (Zn(II)), como para las que se encuentran dentro de matrices saturadas con otros contaminantes (NaCl). Por lo anterior el método propuesto es un método altamente recomendable gracias a su versatilidad y gran rendimiento.

6.-REFERENCIAS

- [1] Cases, M. V., & Hens, A. G. (1988). Técnicas analíticas de separación. Reverté, España.
- [2] Castelán Guevara, G. (Diciembre de 2015) Síntesis de sílica gel funcionalizada para la extracción de especies químicas. (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- [3] Bensacia, N., Fechete, I., Moulay, S., Hulea, O., Boos, A., & Garin, F. (2014). Kinetic and equilibrium studies of lead (II) adsorption from aqueous media by KIT-6 mesoporous silica functionalized with-COOH. *Comptes Rendus Chimie*, 17(7-8), 869-880.
- [4] Lombardo, M. V. (2013). Síntesis y propiedades de sílice mesoporosa híbrida y su uso en recuperación secundaria en iones divalentes. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de San Martín, Argentina.
- [5] Rivera, A. (2015). Tratamiento de aguas contaminadas con crudo utilizando quitosano como adsorbente (Tesis de Licenciatura) Quito, Ecuador.
- [6] Fernández Alba, A. R., & López, A. A. (2002). Evaluación y seguimiento de plaguicidas en aguas subterráneas y superficiales (Vol. 18). Universidad Almería, España.
- [7] Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and —dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412-431.
- [8] Socas Rodríguez, B., Herrera , A. V., Asensio Ramos, M., & Hernández, J. (2015). Dispersive Solid-Phase Extraction. *Analytical Separation Science*, 1525-1570.
- [9] Barker, S. A. (2000). Matrix solid-phase dispersion. *Journal of chromatography A*, 885(1-2), 115-127.
- [10] Castillo, J., & Costa, A. (2012). Características físicas de materiales absorbentes sonoros porosos. *Cátedra Fundamentos de Acústica y Electroacústica, Universidad Tecnológica Nacional, Argentina*.

- [11] Vargas Nieto, C., Carriazo, J. G., & Castillo, E. (2011). Estudio de materiales adsorbentes de bajo costo para remover Cr (VI) de efluentes acuosos. *Ingeniería e Investigación*, 31(1). pp.154-162.
- [12] Tsai, W. H., Huang, T. C., Huang, J. J., Hsue, Y. H., & Chuang, H. Y. (2009). Dispersive solid-phase microextraction method for sample extraction in the analysis of four tetracyclines in water and milk samples by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. *Journal of Chromatography A*, 1216(12), 2263-2269.
- [13] Kathi, J., Rhee, & K. Y. (2008). Surface modification of multi-walled carbon nanotubes using 3-aminopropyltriethoxysilane. *Journal of Materials Science*, 43(1), 33-37.
- [14] Chen, Q., & Yakovlev, N. L. (2010). Adsorption and interaction of organosilanes on TiO₂ nanoparticles. *Applied Surface Science*, 257(5), 1395-1400.
- [15] Chauhan, A. K., Aswal, D. K., Koiry, S. P., Gupta, S. K., Yakhmi, J. V., Sürgers, C., & Vuillaume, D. (2008). Self-assembly of the 3-aminopropyltrimethoxysilane multilayers on Si and hysteretic current–voltage characteristics. *Applied Physics A*, 90(3), 581-589.
- [16] Prado, A. G., Miranda, B. S., & Dias, J. A. (2004). Attachment of two distinct humic acids onto a silica gel surface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 242(1-3), 137-143.
- [17] Manahan, S. E. (2007). Introducción a la química ambiental. Editorial Revérte, UNAM, México.
- [18] Bendeck Lugo, M. (s.f.). Origen y formación del humus. (Agrilab, Ed.) Bogotá, Colombia: AGRILAB Ltda.
- [19] Saiz Jimenez, C. (1988). Origin and chemical nature of soil organic matter. (Tesis de Doctorado) Universidad Tecnológica de Delft, Holanda.
- [20] Alvarez Puebla, R. A., Valenzuela, C., & Garrido, J. J. (2004). Retention of Co (II), Ni (II), and Cu (II) on a purified brown humic acid. Modeling and characterization of the sorption process. *Langmuir*, 20(9), 3657-3664.
- [21] David Gara, P. M. (2008). Extracción, caracterización de sustancias húmicas y su empleo en procesos fotoquímicos de interés ambiental (Tesis de Doctorado) Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

- [22] Pacheco Hernandez, M. L. (Junio de 2002). Humic Acids: Capillary Electrophoresis and MALDI-TOF Mass Spectrometry (Tesis de Doctorado). Universidad Masaryk Brno, Republica Checa.
- [23] Manzak, A., Kurşun, C., & Yıldız, Y. (2017). Characterization of humic acid extracted from aqueous solutions with polymer inclusion membranes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 81, 14-20.
- [24] Schnitzer, M. (1978). Humic substances: chemistry and reactions. In *Developments in soil science* (Vol. 8). Elsevier, Canada.
- [25] Filipe, O. M. S., Vidal, M. M., Duarte, A. C., & Santos, E. B. H. (2009). Adsorption-Desorption Behavior of Thiram onto Humic Acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(11), 4906-4912.
- [26] Velázquez, S. N., Vidal, C. A. G., Romero, G. A. Á., Pozos, J. C. B., & Hernández, M. E. P. (2010). Efecto de la extracción sucesiva de ácidos húmicos sobre la constante de equilibrio de su complejo con Cu (II), *Memorias in extenso del XXIII Congreso Nacional de Química Analítica. Editadas por la Asociación Mexicana de Química Analítica, A.C. México, .ISBN 978-607-9048-01-3*, pp 90- 97.
- [27] Li, Y., Yue, Q., & Gao, B. (2010). Adsorption kinetics and desorption of Cu (II) and Zn (II) from aqueous solution onto humic acid. *Journal of hazardous materials*, 178(1-3), 455-461.
- [28] Vermeer, A. W. P., & Koopal, L. K. (1998). Adsorption of humic acids to mineral particles. 2. Polydispersity effects with polyelectrolyte adsorption. *Langmuir*, 14(15), 4210-4216.
- [29] Barceló, J., & Poschenrieder, C. (1992). Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y Planta*, 2(2), 345-361.
- [30] Cañizares Villanueva, N, & R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología-México*, 42(3), 131-143.
- [31] C, Trejo, J. A. V. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. *Editorial INE-SEMARNAT, Instituto Nacional de Ecología*, México.
- [32] López Tévez, L. L. (2016). Estudio de complejos metálicos con ligandos de interés biológico (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de la Plata, Argentina.

- [33] Stellman, J. M. (1998). Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. Madrid: OIT.
- [34] Sierralta Wortsman, H. (28 de Agosto de 2018). Sociedad Nacional de Minería-Chile. Obtenido de Cupper Connects Life: https://www.umanda.cl/docs/Cobre_Salud_Medio_Ambiente_Nuevas_Tecnologias.pdf
- [35] Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994 (1994). Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.
- [36] Cisner, B. E. J. (2001). La Contaminación Ambiental en México: causas, efectos y tecnologías. *Editorial Limusa Noriega Editores*, UNAM, México.
- [37] Castro, R. S., Caetano, L., Ferreira, G., Padilha, P. M., Saeki, M. J., Zara, L. F., & Castro, G. R. (2011). Banana peel applied to the solid phase extraction of copper and lead from river water: preconcentration of metal ions with a fruit waste. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(6), 3446-3451.
- [38] Chang, J. S., Law, R., & Chang, C. C. (1997). Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. *Water research*, 31(7), 1651-1658.
- [39] Ghaedi, M., Ahmadi, F., & Soylak, M. (2007). Preconcentration and separation of nickel, copper and cobalt using solid phase extraction and their determination in some real samples. *Journal of Hazardous Materials*, 147(1-2), 226-231.
- [40] Citak, D., & Tuzen, M. (2010). A novel preconcentration procedure using cloud point extraction for determination of lead, cobalt and copper in water and food samples using flame atomic absorption spectrometry. *Food and Chemical toxicology*, 48(5), 1399-1404.
- [41] Ozcan, S. G., Satioglu, N., & Soylak, M. (2010). Column solid phase extraction of iron (III), copper (II), manganese (II) and lead (II) ions food and water samples on multi-walled carbon nanotubes. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2401-2406.

- [42] Sengupta, B., Sengupta, R., & Subrahmanyam, N. (2006). Copper extraction into emulsion liquid membranes using LIX 984N-C®. *Hydrometallurgy*, 81(1), 67-73.
- [43] Duran, A., Tuzen, M., & Soylak, M. (2009). Preconcentration of some trace elements via using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 466-471.
- [44] Boguta, P., D'Orazio, V., Sokołowska, Z., & Senesi, N. (2016). Effects of selected chemical and physicochemical properties of humic acids from peat soils on their interaction mechanisms with copper ions at various pHs. *Journal of Geochemical Exploration*, 168, 119-126.
- [45] Chiha, M., Hamdaoui, O., Ahmedchekkat, F., & Pétrier, C. (2010). Study on ultrasonically assisted emulsification and recovery of copper (II) from wastewater using an emulsion liquid membrane process. *Ultrasonics sonochemistry*, 17(2), 318-325.
- [46] Seda, N. N., Koenigsmark, F., & Vadas, T. M. (2016). Sorption and coprecipitation of copper to ferrihydrite and humic acid organomineral complexes and controls on copper availability. *Chemosphere*, 147, 272-278.
- [47] Nieto Velázquez, S. (Junio de 2010). Estabilidad de ácidos húmicos y su Influencia en la Interacción con Cu(II) y Pb(II).(Tesis de Doctorado). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- [48] Zamboni, C., Ingrid, R., Ballesteros, G., María, I., Zamudio, S., & Adriana, M. (2006). Caracterización de ácidos húmicos y fúlvicos de un Mollisol bajo dos coberturas diferentes. *Revista Colombiana de Química*, 35(2), 191-203.
- [49] McMacmurray, J. (2008). Química orgánica 7ma. Edición. Cenagage Learnig, México.
- [50] Moschetta, E. G., Sakwa, M. A., Greenfield, J. L., & Jones, C. W. (2015). Post-Grafting Amination of Alkyl Halide-Functionalized Silica for Applications in Catalysis, Adsorption, and 15N NMR Spectroscopy. *Langmuir*, 31(7), 2218-2227.
- [51] K, Koopal, L. K., Yang, Y., Minnaard, A. J., Theunissen, P. L. M., & Van Riemsdijk, W. H. (1998). Chemical immobilisation of humic acid on silica. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 141(3), 385-395.

- [52] Islas, G., Rodríguez, J. A., Páez, M. E., Corona, S., Rojas, A., & Barrado, E. (2016). Dispersive solid-phase extraction based on butylamide silica for the determination of sulfamethoxazole in milk samples by capillary electrophoresis. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 39(14), 658-665.
- [53] D.L. Sparks, Environmental Soil Chemistry, second ed., *Academic Press*, San Diego, 2003.
- [54] Chen, Y., Senesi, N., & Schnitzer, M. (1977). Information provided on humic substances by E4/E6 ratios 1. *Soil science society of America journal*, 41(2), 352-358.
- [55] Schnitzer, M., & Khan, S. U. (1978). Soil Organic Matter (Vol. Developments in Soil Science 8).Ottawa, Canada: *ELSEVIER Scientific Publishing Company*, 1-13.
- [56] Carrillo, M. C., Zambrano, J. G., & Miranda, J. C. (1996). Caracterización de los ácidos húmicos extraídos de cuatro lombricompostos y su efecto sobre la germinación de semillas de maíz *Zea mays* L., algodón *Gossypium hirsutum* y tomate *Lycopersicon esculentum* L. *Acta Agronómica*, 46(1-4), 30-36.
- [57] Carpio Domínguez, K. (Julio de 2017).Análisis Fisicoquímico de Ácidos Húmicos (AHs) y Evaluación Cinética de su Agregación con Iones Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .(Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- [58] HE, M., SHI, Y., & LIN, C. (2008). Characterization of humic acids extracted from the sediments of the various rivers and lakes in China. *Journal of Environmental Sciences*, 20(11), 1294-1299.
- [59] Schnitzer, M. (1991). Soil organic matter—the next 75 years. *Soil science*, 151(1), 41-58.
- [60] Puigdomenech, I. (1998). Chemical Equilibrium Software. Estocolmo, *Suecia: Inorganic Chemistry Department*, Technology Institute.
- [61] Derakhshani, E., & Naghizadeh, A. (2018). Optimization of humic acid removal by adsorption onto bentonite and montmorillonite nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 259, 76-81

- [62] Wu, W., Hu, Y., Guo, Q., Yan, J., Chen, Y., & Cheng, J. (2015). Sorption/desorption behavior of triclosan in sediment–water–rhamnolipid systems: effects of pH, ionic strength, and DOM. *Journal of hazardous materials*, 297, 59-65.
- [63] Li, R., Zhai, Z., Li, Y., Yang, T., & Chen, Y. (2018). Kinetic study of heavy metals Cu and Zn removal during sewage sludge ash calcination in air and N₂ atmospheres. *Journal of hazardous materials*, 347, 227-232.
- [64] Qu, R., Sun, C., Ma, F., Cui, Z., Zhang, Y., Sun, X., ... & Yin, P. (2012). Adsorption kinetics and equilibrium of copper from ethanol fuel on silica-gel functionalized with amino-terminated dendrimer-like polyamidoamine polymers. *Fuel*, 92(1), 204-210.
- [65] Montesinos Vázquez, T. (Julio de 2018) Extracción de manganeso (II) empleando una resina impregnada con rojo de alizarina S. (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Castelán Guevara, G. (Diciembre de 2015). Síntesis de Sílica Gel Funcionalizada para la extracción de especies químicas. Pachuca, Hidalgo, México.
- [66] Lao, C., Zeledón, Z., Gamisans, X., & Solé, M. (2005). Sorption of Cd (II) and Pb (II) from aqueous solutions by a low-rank coal (leonardite). *Separation and purification technology*, 45(2), 79-85.
- [67] Vicarova, P., Docekalova, H., Pelcova, P., Mares, J., Kopp, R., Postulkova, E., & Ridoskova, A. (2016) Influence of humic acid and sodium chloride on the uptake of mercury by the common carp (*Cyprinus Carpio* L.), *MendelNet*, 358-363
- [68] Khayet, M., & Mengual, J. I. (2004). Effect of salt concentration during the treatment of humic acid solutions by membrane distillation. *Desalination*, 168, 373-381.
- [69] Tombácz, E., Gilde, M., Ábrahám, I., & Szántó, F. (1988). Effect of electrolyte concentration on the interaction of humic acid and humate with montmorillonite. *Applied clay science*, 3(1), 31-52.
- [70] Elizarrarás-Lozano, S., Serratos-Arévalo, J. C., López-Alcocer, E., & Román-Miranda, L. (2009). La aplicación de ácidos húmicos sobre características productivas de *Clitoria ternatea* L. en la región Centro-Occidente de México. *Avances en investigación agropecuaria*, 13(3).