





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

**MAESTRÍA EN QUÍMICA**

**TESIS**

**SÍNTESIS DE HIDRÓXIDOS DOBLES LAMINARES  
(LDH) Y SU APLICACIÓN EN LA REMOCIÓN DE  
TETRACICLINAS EN MUESTRAS DE LECHE  
MEDIANTE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA  
MAGNÉTICA Y ELECTROFORESIS CAPILAR**

**Para obtener el grado de  
Maestro en Química**

**PRESENTA**

L. en Q. Hernán Hernández González

**Director**

Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega

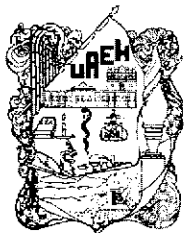
**Comité tutorial**

Dra. María Elena Páez Hernández

Dra. Irma Pérez Silva

Dr. Alfredo Guevara Lara

Mineral de la Reforma, Hgo., México., junio 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Área Académica de Química

Department of Chemistry

Número de control: ICBI-AAQ/1597/2023

Asunto: Autorización de impresión

**Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado**  
**Directora de Administración Escolar**  
**Presente.**

El Comité Tutorial de la **Tesis de Maestría** titulada **“Síntesis de hidróxidos dobles laminares (LDH) y su aplicación en la remoción de tetraciclinas en muestras de leche mediante extracción en fase sólida magnética y electroforesis capilar”**, realizado por el sustentante **Hernán Hernández González** con **número de cuenta 278049** perteneciente al programa de **Maestría en Química**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

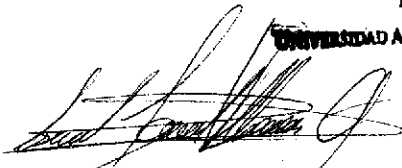
### AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

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

**Atentamente**  
**“Amor, Orden y Progreso”**  
**Mineral de la Reforma, Hidalgo a 16 de junio de 2023**

El Comité Tutorial

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

  
Dr. Israel Samuel Ibarra Ortega  
Director de Tesis

  
Dra. María Elena Páez Hernández



  
Dr. Alfredo Guevara Lara

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería  
Área Académica de Química

  
Dra. Irma Pérez Silva

Ciudad del Conocimiento  
Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia  
Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,  
México. C.P. 42184  
Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 2200, 2201  
Fax 6502  
aaq\_icbi@uaeh.edu.mx



[www.uaeh.edu.mx](http://www.uaeh.edu.mx)

## Agradecimientos

En una libreta vieja, tenía algo preparado,

misma en la que ha quedado plasmado

ratos de consuelo y también ratos en que he sido obstinado.

El paso del tiempo, en mi cabello

ha quedado gravado,

las noches de desvelo

en mis parpados notable

Ellos reflejan la historia,

pero a mí me gusta más contarlas.

En la desventura, alejado del buen camino me encontraba

el recipiente donde a diario bebía mi café

sólo me quedaba, y un número en mis contactos

al que, por pena, ni un mensaje mandaba.

¿Por qué estoy pasando por esto,

sí allá tengo mis viales, una mesa y

sobre todo, personas que

a ellas y a mí, algo en común nos gustaba?

Sí es tu voluntad,

ayúdame a regresar,

pero que no se haga como yo quiero,

porque también entiendo

que aún sigue.

Gracias Dios, por el amparo

que no me has quitado y por

todo, también lo que me has dado,

no solo los recursos o personas

que pones a mi lado,

sino también por las enseñanzas

que mucho me han funcionado.

-Te propongo que regreses,

que mejores y que puedas

ayudar en tu hogar,

posteriormente, ya decidirás.

-Lo intentaré, a veces soy lento,

otras veces más,

pero gracias por el voto de confianza,

aceptaré.

La confianza en tu nombre,

es una cualidad poco habitual,

pero se convierte en fortaleza,  
si alguien te ayuda en perseverar.

Dos, tres, cuatro veces, quizás más,  
que se lo prometo no era intencional,  
a su vez cuatro disculpas o quizás más  
y gracias por siempre confiar.

Pocos lo notan, el gran  
ser humano que es usted,  
tuve la oportunidad en ver  
que lo pudieran reconocer,  
y como le decimos en el team  
el mejor jefe del mundo,  
es usted.

En el lugar donde reside la ciencia,  
también lo nombran con el numero dos  
encontré cariño, amistad y por  
supuesto conocimiento.

De la parte este del país, las personas  
más cálidas y amistosas, gracias,  
que también en pláticas de su  
completa atención gozaba y aunque  
con poco tiempo de conocernos, me  
acompañaban.

Cerca de la benemérita,

quien siempre estuvo dispuesta a  
ayudarme,

aunque fuera la misma pregunta o  
situación de la mañana,

gracias, por la amistad, paciencia y  
compañerismo.

Al que me entrenó en el arte

de las separaciones masa/carga,  
gracias,

eres parte de mi formación, con tu  
experiencia y sugerencias este asunto  
mejoró.

Hay algunos nuevos,  
que estoy conociendo,

que, aunque es poco el tiempo

parece que todo bien está saliendo,  
tanto

que hasta con uno

comparto al mejor equipo del mundo.

Son varias perspectivas y diferentes  
puntos de vista,

qué curioso que aunque son cuatro,  
hayamos coincidido

en el número dos.

Siempre se puede aprender más

y es mejor cuando viene de las  
personas correctas,

quienes estuvieron al pendiente

y en mi camino de formación,  
durante cada seis meses y también  
antes de cada revisión,  
llamada seminarios, gracias por sus  
opiniones

sugerencias, apoyo y consejos,  
fueron parte fundamental del camino.

Y hablando del camino, también hubo  
asfalto fuera del dos.

Siempre han estado conmigo, incluso  
antes que tuviera consciencia, y una  
que estuvo conmigo, antes de que ella  
tuviera conciencia, gracias por su  
amor que lo he disfrutado en varias  
formas, en gran parte,

por ustedes todo esto tuvo comienzo,  
dispensen las noches de ruido, o  
los malos ratos que pasaba,  
los amo mucho.

Hubo otros, que sus enseñanzas  
provienen del que tiene Voluntad,  
aunque no lo parezca, convergen  
en la vida en general.

Los que se me fueron pero  
también forman parte del camino,  
gracias.

Esta es en parte la historia que quería  
contar, y en parte los agradecimientos  
que quería ofrecer. si dios quiere,  
en unos años, lo volveré a hacer.

## Índice general

	Página	
1.	Introducción	1
1.1.	Rutas de síntesis	4
1.1.1.	Co-precipitación	4
1.1.2.	Hidrólisis de urea	4
1.1.3.	Intercambio iónico	5
1.1.4.	Calcinación-rehidratación	5
1.2.	Modificación de los componentes del LDH	7
1.2.1.	Precusores metálicos del LDH	7
1.2.2.	Proporciones $M^{2+}$ y $M^{3+}$	8
1.2.3.	Anión de intercapa.	9
1.3.	Aplicaciones	10
1.3.1.	Sistemas de adsorción.	11
1.3.1.1.	Extracción en fase solida (SPE)	12
1.3.1.2.	Extracción en fase solida dispersiva (DSPE)	13
1.3.1.3.	Extracción en fase solida Magnética (MSPE)	14
1.3.1.4.	Antibióticos	14
1.3.1.5.	Tetraciclinas	15
2.	Objetivos	21
2.1.	Objetivo general	21
2.2.	Objetivos específicos	21
3.	Metodología experimental	22
3.1.	Materiales y reactivos	22
3.2.	Equipos	22
3.3.	Condiciones de análisis por electroforesis capilar	23
3.4.	Síntesis del adsorbente $Fe_3O_4-SiO_2-LDH(Mg/Al-SDS)$	24
3.4.1.	Obtención de las partículas magnéticas $Fe_3O_4$	24
3.4.2.	Recubrimiento de las partículas magnéticas con sílice ( $Fe_3O_4-SiO_2$ )	24
3.4.3.	Deposición del LDH en las partículas magnéticas	24
3.5.	Aplicación del método	25
4.	Resultados y discusiones	28
4.1.	Síntesis de la partícula $Fe_3O_4-SiO_2$	28
4.1.1.	Tiempo de síntesis	28
4.1.2.	Proporción $Fe_3O_4:SiO_2$	29
4.2.	Efecto de la composición LDH en la adsorción de tetraciclinas	31

4.2.1.	Tiempo de síntesis	31
4.2.2.	Proporciones Mg/Al	32
4.2.3.	Evaluación de intercapa	33
4.3.	Caracterización del adsorbente	35
4.3.1.	Infrarrojo	35
4.3.2.	Análisis termogravimétrico TGA	36
4.3.3.	Espectroscopía electrónica de barrido	37
4.3.4.	Isotermas de adsorción	38
4.4.	Remoción mediante remoción en fase sólida magnética	40
4.4.1.	Efecto de pH de remoción	40
4.4.2.	Tiempo de contacto	41
4.4.3.	Masa del adsorbente	42
4.4.4.	Análisis de interferentes.	43
4.4.4.1.	Fuerza iónica	44
4.5.	Aplicación a muestras reales	46
5.	Conclusiones	48
6.	Perspectivas	50
7.	Referencias	51



<b>Índice de figuras</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Tipos de LDH naturales.	2
<b>Figura 2.</b> Conformación estructural LDH.	3
<b>Figura 3.</b> Esquema de las rutas de síntesis. a) Co-precipitación, b) Hidrolisis urea, c) Intercambio iónico y d) Calcinación-rehidratación	6
<b>Figura 4.</b> Efecto en el cambio de la naturaleza de las especies catiónicas. a) LDH(Mg/Al-CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> ), b) LDH(Mg/Fe-CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> ).	7
<b>Figura 5.</b> Efecto de la variación de proporciones M <sup>2+</sup> y M <sup>3+</sup> . a) Mayor proporción de M <sup>3+</sup> y b) Mayor proporción de M <sup>2+</sup> .	9
<b>Figura 6.</b> Efecto de la variación de los aniones en la intercapa.	10
<b>Figura 7.</b> Esquema de las técnicas de pre-tratamiento. a) extracción en fase sólida, b) extracción en fase sólida dispersiva y c) extracción en fase sólida magnética.	12
<b>Figura 8.</b> Estructura química de las tetraciclinas.	16
<b>Figura 9.</b> Mecanismo de unión de las TC's en la sub-unidad 30S.	17
<b>Figura 10.</b> Esquema de separación mediante CE.	19
<b>Figura 11.</b> Esquema de síntesis de la partícula Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -SiO <sub>2</sub> -LDH (Mg/Al-SDS <sup>-</sup> ).	25
<b>Figura 12.</b> Esquema de la metodología SPE-LVSS-CE. a) Desproteínización de la leche, b) Dilución, c) Extracción en fase sólida, d) Elución y análisis mediante CE.	26
<b>Figura 13.</b> Esquema de la metodología MSPE-CE. a) Adición de la muestra de leche al adsorbente Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -SiO <sub>2</sub> -LDH/SDS, b) Dispersión, c) Aislamiento magnético, d) Análisis mediante CE.	30
<b>Figura 14.</b> Espectros de infrarrojo a distintos tipos de síntesis de la partícula Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -SiO <sub>2</sub> . a) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , b) 4 h, c) 6 h, d) 8 h, e) 16 h y f) 24 h.	30
<b>Figura 15.</b> Espectros de infrarrojo a distintas proporciones de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> :SiO <sub>2</sub> en síntesis de la partícula Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> recubierta por sílice. a) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , b) 1.0:1.0, c) 1.0:2.0, d) 1.0:3.0, e) 1.0:4.0.	30
<b>Figura 16.</b> Efecto del tiempo de síntesis de la partícula LDH.	32
<b>Figura 17.</b> Efecto de la variación de las proporciones Mg/Al en la síntesis del LDH.	33
<b>Figura 18.</b> Efecto de la variación de la intercapa del LDH en la remoción de TC's.	34
<b>Figura 19.</b> Espectros de infrarrojo de a)Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -SiO <sub>2</sub> , c) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -SiO <sub>2</sub> -LDH.	36
<b>Figura 20.</b> Análisis termogravimétrico de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> -SiO <sub>2</sub> -LDH. a) Análisis termogravimétrico b) Segunda derivada de la pérdida de masa.	37

<b>Figura 21.</b>	Espectroscopía electrónica de barrido de a a) $\text{Fe}_3\text{O}_4$ a 20000x, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ a 20000x, c) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH (Mg/Al-SDS}^-)$ a 10000x y d) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH (Mg/Al-SDS}^-)$ a 20000x.	38
<b>Figura 22.</b>	Evaluación del efecto del pH en la remoción de TC's.	40
<b>Figura 23.</b>	Evaluación del efecto del tiempo de contacto en la remoción de TC's.	41
<b>Figura 24.</b>	Evaluación del efecto de la masa del adsorbente en la remoción de TC's.	42
<b>Figura 25.</b>	Electroferogramas correspondientes a la evaluación de interferentes. a) Muestra dopada con TC's a $5.0 \text{ mg L}^{-1}$ , SUL a $20.0 \text{ mg L}^{-1}$ y NOR a $20.0 \text{ mg L}^{-1}$ . b) Muestra dopada con TC's a $5.0 \text{ mg L}^{-1}$ , SUL a $5.0 \text{ mg L}^{-1}$ y NOR a $5.0 \text{ mg L}^{-1}$ después de aplicar el método MSPE-CE. c) Muestra dopada con TC's a $5.0 \text{ mg L}^{-1}$ , SUL a $100.0 \text{ mg L}^{-1}$ y NOR a $100.0 \text{ mg L}^{-1}$ después de aplicar el método MSPE-CE.	44
<b>Figura 26.</b>	Evaluación del efecto de la fuerza iónica en la remoción de TC's.	45
<b>Figura 27.</b>	Electroferogramas correspondientes a: a) Muestra dopada con TC's $50.0 \mu\text{g L}^{-1}$ , b) Muestra positiva para TC y OT, (c) muestra positiva para OT y d) Muestra de leche después de la aplicación de la metodología MSPE-SPE-LVSS-CE.	47

<b>Índice de tablas</b>	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los antibióticos.	15
<b>Tabla 2.</b> Parámetros de adsorción de las cuatro tetraciclinas., conforme los modelos de Freundlich, Langmuir y Dubinin-Radushkevich.	39
<b>Tabla 3.</b> Concentración de TC's para muestras positivas.	46



# Introducción

## 1. Introducción

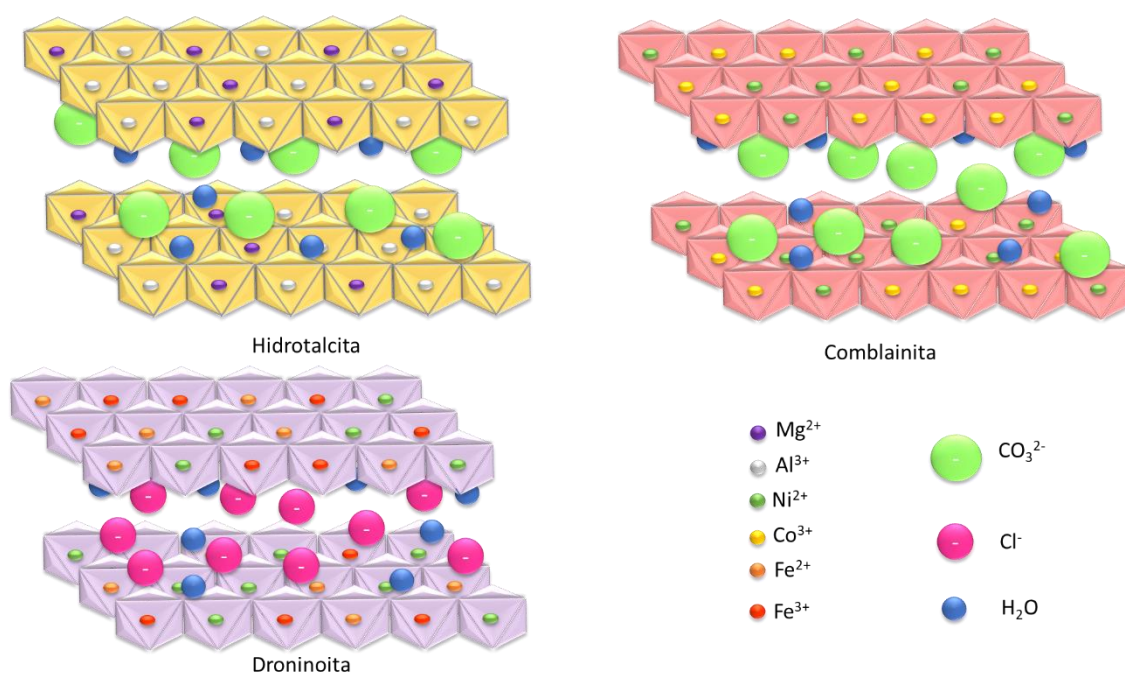
Los hidróxidos dobles laminares (del inglés “layered double hydroxide”: LDH) son materiales con estructura tipo mineral, se pueden encontrar en la naturaleza y también pueden ser sintetizados. La historia de estos materiales se remonta al año de 1840 por un grupo de investigación de mineralogía en Suecia, mediante el descubrimiento de un mineral de origen natural descrito como un sólido de color blanco, cuya composición hace referencia a un hidroxocarbonato de magnesio/aluminio (Mg/Al-CO<sub>3</sub>), denominado “hidrotalcita” (Mishra et al. 2018).

En 1915, el profesor E. Manesse realizó por primera ocasión una caracterización óptica, térmica y analítica de esta clase de materiales, permitiendo determinar la composición del mineral MgAl-CO<sub>3</sub>: [Mg<sub>6</sub>Al<sub>2</sub>(OH)<sub>16</sub>]CO<sub>3</sub>·4H<sub>2</sub>O. Adicionalmente, durante el proceso de investigación, fue reconocida la importancia de los iones carbonatos en la estructura laminar de los LDH, ya que estos contrarrestan la carga positiva de los iones metálicos, favoreciendo su geometría planar y la distancia entre láminas (Hofmeister et al. 1992).

A partir de este descubrimiento, diversos grupos de investigación se enfocaron al estudio de este tipo de materiales, principalmente en sus aspectos estructurales. No fue sino hasta el año de 1941 que los científicos Aminoff y Broncé, a través de estudios por rayos X, lograron establecer la geometría estructural para los LDH en la que se presentaron dos geometrías principales: hexagonal en una estructura 2D y romboédrica en una estructura 3D (Zhitova et al. 2019). En 1942, el científico Feitknecht motivado por los aspectos estructurales de los LDH, comenzó estudios relacionados con la síntesis, solubilidad y estabilidad de dichos materiales, realizando una investigación experimental en la cual intentó replicar de forma sintética dichos materiales empleando soluciones acuosas diluidas de sales metálicas de magnesio, aluminio y cobalto con una base alcalina en distintas proporciones químicas, obteniendo con éxito una serie de materiales denominados “Doppelschichtengitter” cuya traducción “estructuras de doble lámina” (Pizzoferrato y Richetta 2020).

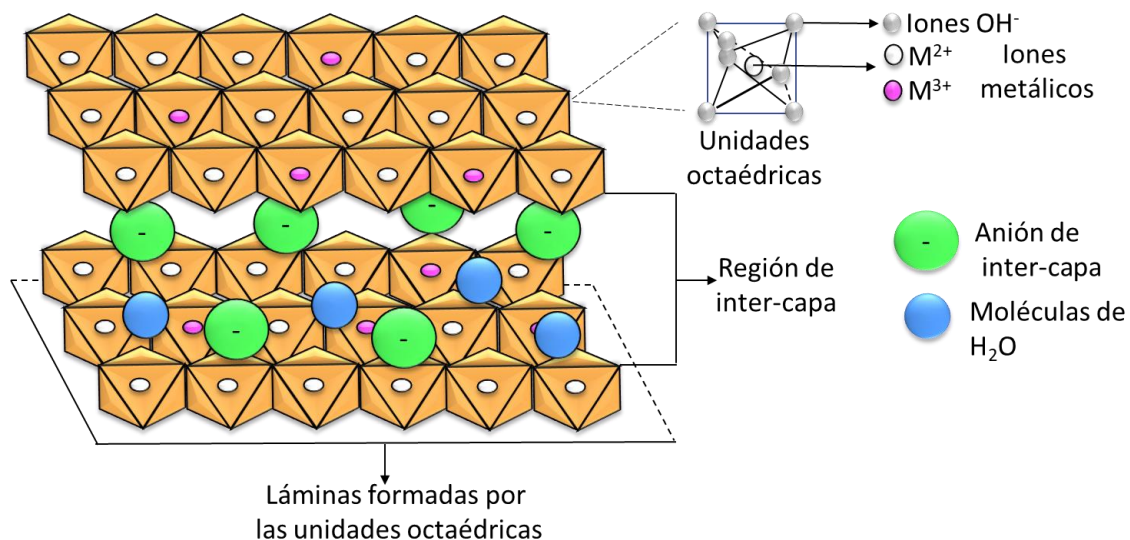
En 1967, conforme los avances teóricos y tecnológicos, Allmann y Taylor realizaron la caracterización estructural del LDH (composición) mediante estudios de tipo difracción de monocristal, proporcionando por primera vez de manera más detallada la estructura de los LDH (Jijoe et al. 2021).

Estos antecedentes científicos dieron lugar al desarrollo de nuevas investigaciones, en los que se ha encontrado que a este tipo de materiales pertenecen más de 40 variantes naturales, entre los cuales se encuentran la hidrotalcita, droninoita y comblainita (Figura 1), entre otros, cuya característica principal es su conformación por dos o más especies de cationes divalentes y trivalentes rodeados por seis moléculas de hidróxido ( $\text{OH}^-$ ) (Mills et al. 2012).



**Figura 1.** Tipos de LDH naturales.

Estas estructuras se derivan de la brucita ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ), un mineral constituido de iones magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), que son rodeados octaédricamente de iones hidróxido, las cuales forman extensas laminas apiladas entre sí, conformando una estructura tridimensional (Hofmeister y Platen 1992). Por otro lado, si una porción de iones  $\text{Mg}^{2+}$  son sustituidos por cationes trivalentes ( $\text{M}^{3+}$ ) dentro de la estructura principal de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , se promueve un incremento en la densidad de carga, misma que es balanceada con la presencia de aniones situados en el espacio denominado intercapa, el cual comprende la distancia entre la superficie inferior de una lámina y la superior de otra que se encuentre apilada (Zhitova et al. 2019), dando paso al arreglo del tipo LDH de fórmula general  $[\text{M}^{2+}_x \text{M}^{3+}_x (\text{OH})_2]^{x+} (\text{A}^{n-})_{x/n} \cdot m\text{H}_2\text{O}$ , donde  $\text{M}^{2+}$  y  $\text{M}^{3+}$  representan metales divalentes y trivalentes respectivamente,  $\text{A}^{n-}$  el anión de intercapa y  $x$  la proporción de  $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ , tal y como se muestra en la Figura 2 (Forano et al. 2006).



**Figura 2.** Conformación estructural LDH.

Conforme sus múltiples proporciones estructurales, las características físico-químicas pueden ser modificadas mediante: rutas de síntesis, proporción  $\text{M}^{2+}/\text{M}^{3+}$ , elección del anión de intercapa (Bukhtiyarova 2019).

## 1.1. Rutas de síntesis

Dentro de las rutas de síntesis de los LDHs, la vía sol-gel, autoensamblaje, reducción química in situ, y mecano-química, han sido implementadas modificaciones específicas de las composiciones del LDH. Sin embargo, métodos como la co-precipitación, hidrólisis de urea, intercambio iónico y calcinación-rehidratación son los más empleados debido a su mayor simplicidad, minimizando la manipulación del proceso de síntesis de bajo costo, y ambientalmente amigables, empleando reactivos de fácil acceso, mismos que se discuten a continuación (Jijoe et al. 2021).

### 1.1.1. Co-precipitación

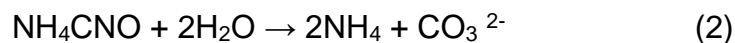
Consiste de forma general en la adición de una solución alcalina con valores de pH que van de 7-11 a una mezcla que contenga precursores  $M^{2+}/M^{3+}/A^{n-}$  (intercapa;  $CO_3^{2-}$ ,  $NO_3^-$  y  $Cl^-$ ) (Theiss et al. 2016, Bukhtiyarova 2019). En una primera etapa se generan los hidróxidos correspondientes al centro metálico ( $M^{3+}$ ), mientras que, al incrementar la alcalinidad del sistema se da como resultado la formación del LDH (Figura 3a). Por otra parte, la modificación de la intercapa con iones  $NO_3^-$  y  $Cl^-$  requiere de una atmosfera inerte (argón, nitrógeno) para así evitar la posible interferencia de iones  $CO_3^{2-}$  (Constantino y Pinnavaia 2015). Este proceso de síntesis permite la obtención de LDH de composiciones químicas variables con respecto a la proporción  $M^{2+}/M^{3+}$  y para la síntesis de LDH de identidad ternaria y cuaternaria ( $M_a^{2+}-M_b^{2+}/M^{3+}$ ) (He et al. 2005).

### 1.1.2. Hidrólisis de urea

La hidrólisis de la urea ocurre en dos etapas. Primero, la urea en medio acuoso origina al cianato de amonio (ecuación 1), al hidrolizarse en medio básico (pH 9), produce iones amonio y carbonato (ecuación 2) (Figura 3b).







Esta ruta facilita el control del tamaño de la partícula, promueve la obtención de LDH de alta cristalinidad y morfología de grandes hojuelas hexagonales. No obstante, la síntesis se limita a LDH de identidad Mg/Al-CO<sub>3</sub> y de alta densidad carga (He et al. 2005, Sarfraz y Shakir 2017).

### 1.1.3. Intercambio iónico

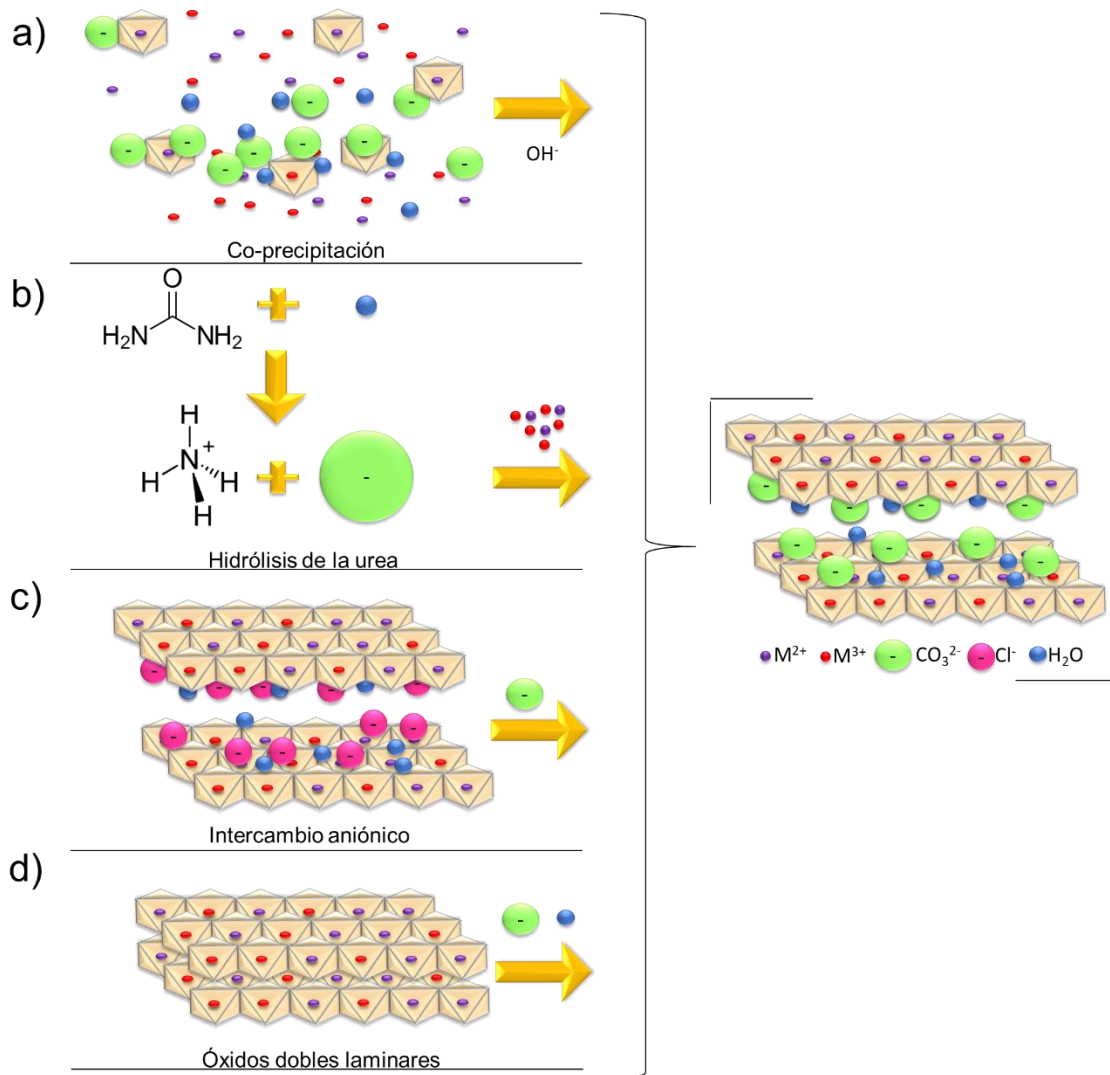
En comparación con otras rutas de síntesis, esta se centra en la incorporación de compuestos aniónicos en la intercapa (Mishra et al. 2018)

Dicho proceso consiste en una sustitución de la especie aniónica presente en un LDH precursor por otra de mayor afinidad o tamaño (Figura 3c) (Baig y Sajid 2017). En la incorporación de especies orgánicas a la intercapa, se utilizan LDHs precursores con aniones Cl<sup>-</sup> o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> principalmente (Conterposito et al. 2018). En cambio, para iones inorgánicos, se obedece la siguiente escala de afinidad: CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> > SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> > OH<sup>-</sup> > F<sup>-</sup> > Cl<sup>-</sup> > Br<sup>-</sup> > NO<sub>3</sub><sup>-</sup> > ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>, donde el anión ClO<sub>4</sub><sup>-</sup> es más susceptible a ser sustituido.

### 1.1.4. Calcinación-rehidratación

Esta ruta de síntesis se lleva a cabo mediante la calcinación de un LDH precursor a temperaturas de entre 350-800°C originando que los hidróxidos metálicos pasen a ser óxidos y las moléculas de la intercapa sean retiradas, formando así una nueva especie: los óxidos dobles laminares también llamados en la literatura como LDO (de sus siglas en inglés layered double oxide) (Zou et al. 2017). Al poner en contacto los LDO con una solución acuosa regresan a una estructura del tipo LDH. Si la solución acuosa contiene algún anión, esta especie se incorporará al espacio de intercapa (Figura 3d) (Mallakpour y Hatami 2017).

La ruta calcinación-rehidratación se prefiere para evitar que exista una alta competencia de aniones en la intercapa, especialmente cuando los precursores metálicos provienen de dos tipos de sales distintas (sales de cloruros o nitratos) (Takehira 2017).

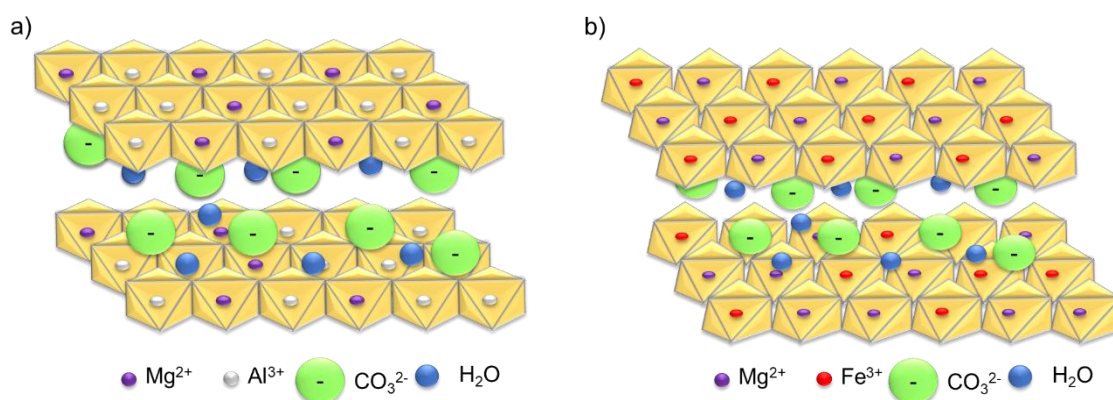


**Figura 3.** Esquema de las rutas de síntesis. a) Co-precipitación, b) Hidrolisis urea, c) Intercambio iónico y d) Calcinación-rehidratación.

## 1.2. Modificación de la composición química del LDH

### 1.2.1. Precursores metálicos del LDH

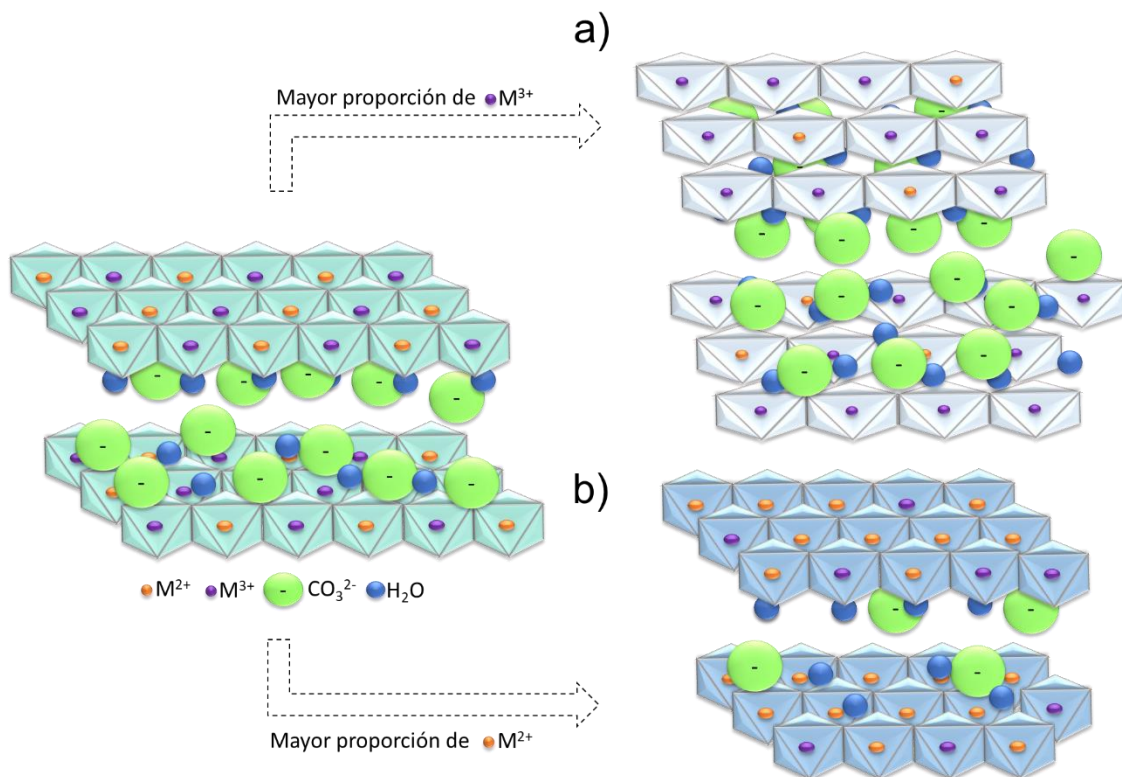
Por otra parte, la conformación base de un LDH deriva de las brucitas ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ). En este sentido, los precursores metálicos deben tener un radio iónico similar al  $\text{Mg}^{2+}$ , es decir de entre 0.65-0.80 Å para cationes divalentes y 0.62-0.69 Å para cationes trivalentes, a excepción del  $\text{Al}^{3+}$  cuyo radio iónico es de 0.50 Å (Vaccari 2002). Combinaciones con los iones:  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Cr}^{3+}$ , han sido estudiados en la composición de los LDH, encontrando diferencias principalmente en las dimensiones de los octaedros que estos forman (Figura 4a-b) (Zhitova et al. 2016). En contraste, la investigación relacionada al efecto que se produce al modificar las proporciones de los precursores metálicos o la intercapa, aún sigue en proceso (Huang et al. 2015, Ravelo et al. 2010).



**Figura 4.** Efecto en el cambio de la naturaleza de las especies catiónicas. a) LDH(Mg/Al- $\text{CO}_3^{2-}$ ), b) LDH(Mg/Fe- $\text{CO}_3^{2-}$ ).

### 1.2.2. Proporciones $M^{2+}$ y $M^{3+}$

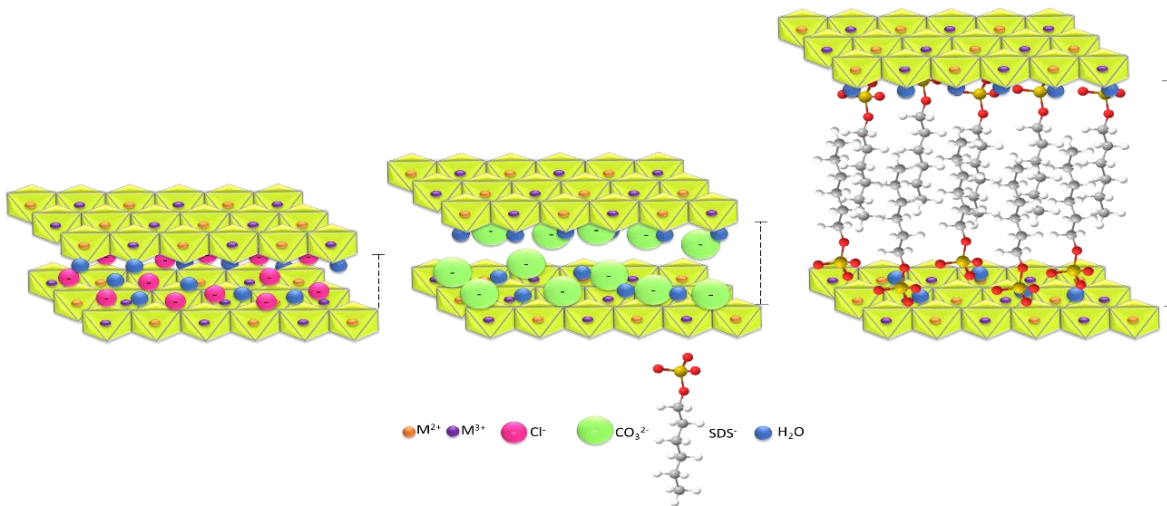
En función de la conformación general de un sistema LDH  $[M^{2+}_{1-x} M^{3+}_x (OH)_2]^{x+} (A^{n-})_{x/n} \cdot mH_2O$ , “x” está relacionada con la proporción  $M^{2+}:M^{3+}$ . No obstante, diversos autores indican que x puede tomar valores de entre 0.20-0.33 conforme a la relación  $(M^{2+})/(M^{2+} + M^{3+})$ , o bien, valores de entre 2-4 conforme la relación  $M^{2+}/M^{3+}$ , para asegurar la síntesis de un LDH puro (Karim et al. 2022, Taviot et al. 2018]. Proporciones fuera de este intervalo, pueden provocar distorsiones en la estructura del LDH, así como la aparición de fases impuras. Algunos autores señalan que modificar las proporciones habituales de los LDH, se ven reflejadas en la densidad de carga del material (Bukhtiyarova 2019). Es decir, si  $M^{3+}$  se encuentra en una mayor proporción, la densidad de carga aumenta y, por el contrario, cuando  $M^{2+}$  está en mayor proporción, la densidad de carga es menor (Figura 5). Si hay una mayor proporción de  $M^{3+}$ , los enlaces M-O-M se elongan, debido a que la repulsión electrostática es mayor, ocasionando que las unidades octaédricas del hidróxido metálico trivalente y la estructura laminar se vean afectados (Zhitova et al. 2016). Aunque se ha avanzado mucho respecto al efecto que produce una modificación en las proporciones de los  $M^{2+}$  y  $M^{3+}$ , aún son necesarios más estudios, ya que la identidad del LDH también juega un papel importante en la estructura (Mohapatra y Parida 2016).



**Figura 5.** Efecto de la variación de proporciones  $M^{2+}$  y  $M^{3+}$ . a) Mayor proporción de  $M^{3+}$  y b) Mayor proporción de  $M^{2+}$ .

### 1.2.3. Anión de intercapa.

El espacio de intercapa es quizá la región de los LDH de mayor importancia. La naturaleza de estas va desde la incorporación de iones  $CO_3^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $Cl^-$ , e incluso de naturaleza orgánica tales como dodecilsulfato de sodio ( $SDS^-$ ), ácido etilendiaminotetraacético ( $EDTA^{4-}$ ) y/o algunos fármacos como se está haciendo en años recientes (Figura 6) (Shirin et al. 2021). La variación de la naturaleza e identidad del anión, permite un cambio en la distancia de la intercapa, que la mayoría de las ocasiones es proporcional al tamaño del anión (Liu et al. 2019).



**Figura 6.** Efecto de la variación de los aniones en la intercapa.

De acuerdo a las múltiples composiciones del LDH, este puede brindar características químicas y físicas específicas como: amplia área superficial, versatilidad, adaptabilidad, porosidad, y estabilidad térmica. Lo que ha permitido el diseño y síntesis de nuevos LDHs con características específicas de gran relevancia en una gran variedad de áreas de interés.

### 1.3. Aplicaciones

Conforme a la versatilidad en el diseño de un sistema LDH, estos pueden ser aplicados en áreas como catálisis, farmacéutica, fotoquímica, electroanálisis, así como en sistemas de adsorción, las cuales se describen a continuación (Goh et al. 2018, Zhao et al. 2016, Zhang et al. 2014, Xu et al. 2011, Vithanage et al. 2020).

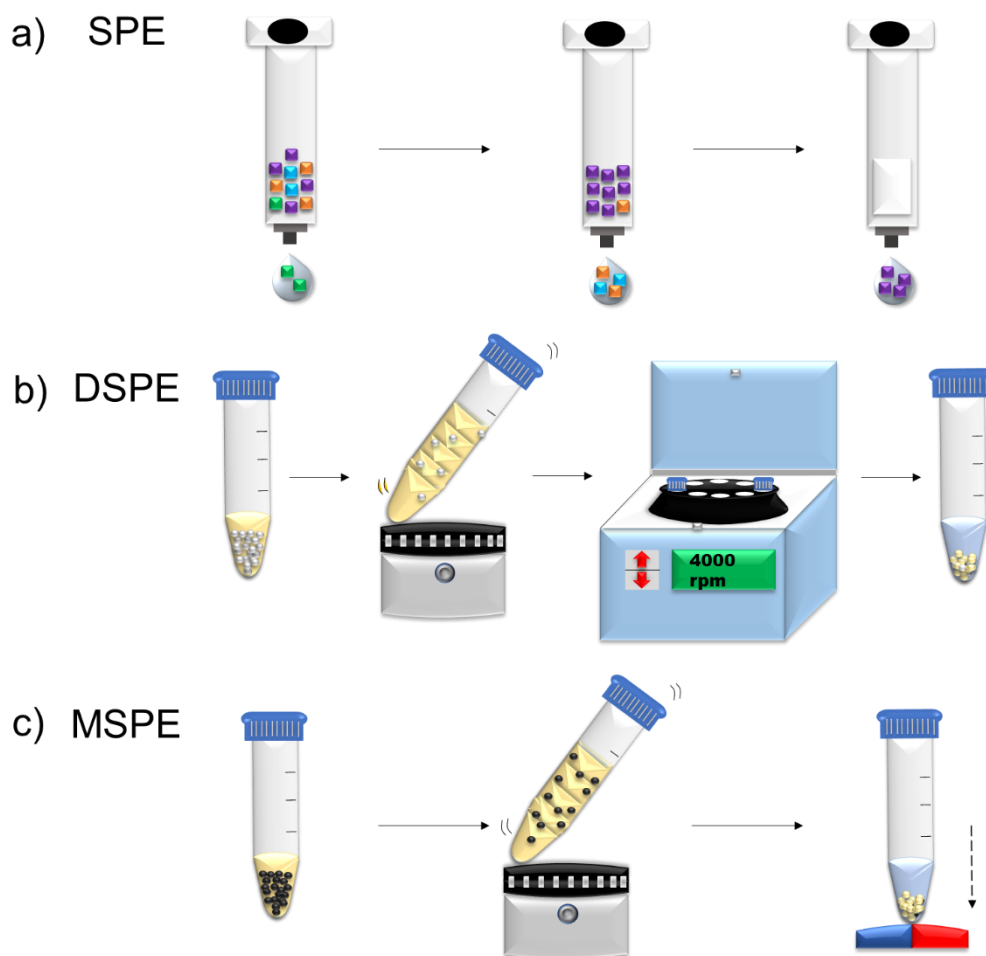
En áreas como catálisis, se han empleado LDH de naturaleza Mg/Al (proporciones 2:1) modificadas con aniones  $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$  en la intercapa, eficientes en la oxidación de ciclohexanos, alcanzando porcentajes de conversión de hasta 88.9% (Ma et al 2017). En la industria farmacéutica, el uso de LDH con composiciones Mg/Al y Zn/Al ha permitido la inserción de nucleótidos, aminoácidos, péptidos, vitaminas entre otros como la adenosina 5V-mono-, di- y trifosfato, citideno 5V-monofosfato,

guanosina 5V-monofosfato y uridina 5V -monofosfato en la región de la intercapa en el desarrollo de fármacos de liberación controlada (Aisawa et al. 2005, Tamura et al. 2004). Por otra parte, en reacciones de dimerización, la capa superficial de los LDH, así como de sus centros metálicos ( $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Li^+$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ ) e intercapa ( $CO_3^{2-}$  y aniones orgánicos), han permitido reacciones del tipo fotoquímicas de algunos carboxilatos insaturados, dando como resultado una variedad de ciclodímeros (Takagi et al. 1993, Shichi et al. 1996).

No obstante, en décadas recientes la aplicación de partículas LDH en sistemas pre-tratamiento de muestra ha permitido la pre-concentración, aislamiento y remoción de una gran variedad de analitos de interés.

### **1.3.1. Sistemas de adsorción**

El uso de partículas LDH de gran selectividad ha permitido la adsorción de una gran variedad de compuestos orgánicos como ácidos fenólicos, hidrocarburos e incluso fármacos, así como iones inorgánicos del tipo  $F^-$ ,  $CO_3^{2-}$  y algunos, metales pesados en muestras complejas, en función de su composición química mediante interacciones específicas del tipo superficial, intercambio iónico, coordinación, electrostáticas, entre otras (Yang et al. 2016). Por tal motivo han sido aplicados en sistemas de aislamiento, pre-concentración y/o remoción, acoplados en sistemas de extracción en fase sólida (SPE, de sus siglas en inglés) (Figura 7a), extracción en fase sólida dispersiva (DSPE, de sus siglas en inglés) (Figura 7b) y extracción en fase sólida magnética (MSPE, de sus siglas en inglés) (Figura 7c).



**Figura 7.** Esquema de las técnicas de pre-tratamiento. a) extracción en fase sólida, b) extracción en fase sólida dispersiva y c) extracción en fase sólida magnética.

### 1.3.1.1. Extracción en fase sólida (SPE)

Bajo esta modalidad, partículas LDH constituidas por Ni/Al-NO se han usado en la remoción y pre-concentración de iones  $F^-$  en el análisis de muestras de agua mediante espectrofluorimetría, alcanzando LOD de  $9.0 \text{ ng mL}^{-1}$  (Zadeh et al. 2011). Por otra parte, LDH intercalados con partículas orgánicas han sido aplicados en la remoción de parabenos en cremas, pasta de dientes, protectores solares, entre



otros, tal es el caso de Gover y colaboradores que, en 2021, sintetizaron un LDH de Ni/Fe con intercapa de carbonato intercalado con quitosano, empleando HPLC-PDA como técnica de detección (Grover et al. 2021). La morfología y afinidad del material fueron suficientes para alcanzar LODs de 9.8-16.2 ng L<sup>-1</sup>. A similitud, en cuanto la utilización del Ni<sup>2+</sup> como metal divalente, Soltani y colaboradores sintetizaron un LDH de naturaleza Ni/Co con intercapa de NO<sub>3</sub><sup>-2</sup>, en la remoción de ácidos fenólicos como ácido p-hidroxibenzoico y el ácido p-cumárico presentes en jugos de fruta por HPLC, con LODs cercanos a (0.1 µg L<sup>-1</sup>) (Soltani et al. 2017).

En el aprovechamiento de los LDH como materiales adsorbentes, estos se han implementado en técnicas que maximizan la interacción analito-adsorbente mediante la dispersión, como lo es DSPE, reduciendo el uso de solventes y minimizando tiempos de análisis.

### **1.3.1.2. Extracción en fase sólida dispersiva (DSPE)**

LDH de naturaleza Mg/Al-AHNDA han sido sintetizados, donde AHNDA: sal monosódica del ácido 4-amino-5- hidroxil-2,7-naftalendisulfónico) en el que la intercapa cumple con una función adicional, como ligante de iones metálicos (Rajabi et al. 2017). El análisis se efectuó en muestras de fluidos biológicos y de agua, mediante la técnica de espectrometría de adsorción atómica en flama por micro-muestra. Conforme la metodología desarrollada se obtuvo LODs de 0.6-2.4 ng mL<sup>-1</sup>, siendo competitivos con técnicas tradicionales, como el uso de carbón activado con la misma técnica de detección, en los que se han alcanzado LODs de 1.6-2.3 ng mL<sup>-1</sup>.

Así mismo, Azevedo empleó el aminoácido L-aspártico en un LDH de composición Zn/Al, en la remoción de Cr(VI) para muestras de agua potable, analizadas mediante espectrometría de absorción atómica en flama, con LODs fue de 3.1 µg L<sup>-1</sup>, dicha modificación demostró una mayor afinidad a los iones de interés (Azevedo 2018). No obstante, y con la finalidad de minimizar la manipulación de la muestra, partículas LDH se han acoplado con materiales con propiedades paramagnéticas, dando lugar a una variante denominada extracción en fase sólida magnética.

### **1.3.1.3. Extracción en fase sólida Magnética (MSPE)**

Desde su invención en 1999, esta modalidad ha sido utilizada en la pre-concentración de hidrocarburos policromáticos y sus derivados (Šafaříková y Šafařík 1999), colorantes como verde malaquita y violeta cristal (Šafařík y Šafaříková 2002) mercurio (Yavuz et al. 2006) y fármacos (Vasconcelos y Fernandes 2017, Ren et al. 2021, Arteaga et al. 2010, Yavuz et al. 2009). Su acoplamiento con partículas LDH ha demostrado ser una alternativa más en las técnicas de adsorción, tal es el caso del trabajo de Tang y colaboradores en 2014, los cuales emplearon un LDH de naturaleza Mg/Al-CO<sub>3</sub> en la determinación de ácido acetilsalicílico, ácido 2,5-dihidroxibenzoico, 2-fenilfenol y fenoprofeno por HPLC-Vis, alcanzando LODs en un intervalo de 0.021-0.042 µg L<sup>-1</sup> (Tang et al. 2014). Por otra parte, Du y colaboradores sintetizaron un LDH con partículas de NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (ferrita de níquel) como núcleo magnético, recubierto de polidopamina y en la superficie fue depositado un LDH de naturaleza Mg/Al con intercapa de NO<sub>3</sub><sup>2-</sup> para la remoción de pesticidas organofosforados en jugos de frutas como la uva, manzana y mango, alcanzando LODs en un intervalo de 0.06-0.13 µg L<sup>-1</sup>. El adsorbente presentó una gran dispersión en solución y una morfología aglomerada, lo que favoreció la remoción de los analitos (Du et al. 2019).

De acuerdo a las múltiples características físico-químicas que ofrecen las partículas LDH, así como las ventajas del uso e incorporación de técnicas de pre-tratamiento, estas se han acoplado en la determinación de una gran variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos como: metales, compuestos aromáticos, fármacos en matrices complejas dentro de los cuales destaca su aplicación en la determinación de antibióticos conforme a los riesgos a la salud humana.

### **1.3.1.4. Antibióticos**

Los antibióticos pertenecen a un subgrupo de agentes antimicrobianos con cierta capacidad antimicrobiana y se pueden clasificar de distintas maneras de acuerdo a sus características (Tabla 1) (Mohr 2016).

**Tabla 1.** Clasificación de los antibióticos.

Criterio de Clasificación	Descripción
Por su mecanismo de acción	<p>Se enfoca en la manera en que el antibiótico va a actuar sobre la célula</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Síntesis de la pared bacteriana. Hace susceptible a la célula a ser invadida</li><li>● Membrana plasmática. Al ser modificada, deja de controlar la composición interna celular</li><li>● Síntesis proteica. Inhiben la transcripción o traducción proteica</li><li>● Inhibición de las vías metabólicas. Impiden el crecimiento bacteriano</li><li>● Síntesis del ADN bacteriano. Inhibiendo la actividad enzimática de la célula</li></ul>
Conforme su efecto	<p>Consiste en inhibición del crecimiento o lisamiento de la bacteria</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Microbicidas. Ejercen una acción mortífera para la bacteria</li><li>● Microbiostáticos. Inhiben de manera temporal el crecimiento bacteriano</li></ul>
Según su Espectro de acción	<p>Hace referencia al número de especies de bacterias sobre las que el antibiótico puede actuar</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Amplio espectro. Tiene acción principalmente sobre bacterias (Gram-positivas, Gram-negativas), hongos y protozoos</li><li>● Espectro limitado. Actúan sobre cocos del tipo Gram-positivos y negativos, bacilos Gram-positivos y espiroquetas.</li><li>● Espectro reducido. Su gama de acción se limita a algunos gérmenes. Un ejemplo son los glucopéptidos</li></ul>

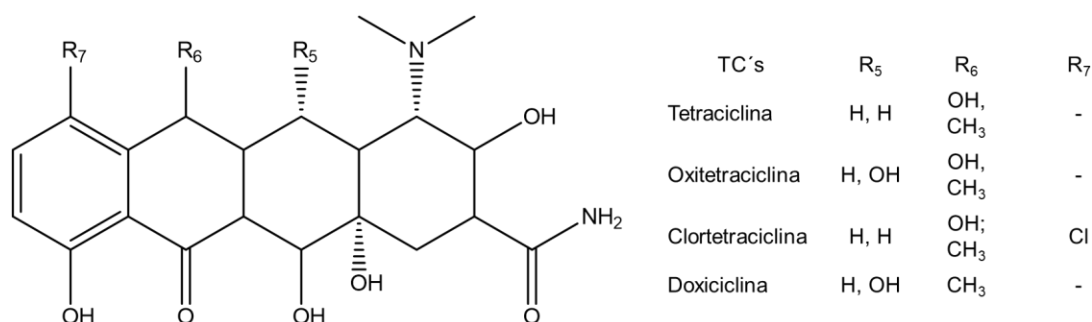
Muchos de estos antibióticos son comúnmente utilizados en medicina humana como medicina veterinaria en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades o padecimientos. En este sentido, la familia de las tetraciclinas son antibióticos de fácil acceso, bajo costo, altamente eficaces en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades (Hutchings et al. 2019).

#### **1.3.1.4.1. Tetraciclinas**

En 1948 la clortetraciclina fue aislada por primera ocasión por el científico Dugan, quien posteriormente también conseguiría aislar la oxitetraciclina. El gran avance de Dugan, tuvo relevancia conforme a su amplio espectro de actividad contra un panel de bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, aeróbicas y anaeróbicas (Klein

y Cunha 1995). La estructura de las tetraciclinas (TC's) posee un sistema de anillo de naftaceno (del tipo DCBA) dispuesto linealmente con una subestructura diceto en las posiciones C1-C3 del anillo A y un grupo amida o carbonilo exocíclico en la posición C2 (Smilack 1999). También requiere una subestructura de fenol en el carbono C10 y cetoenol en C11-C12 junto con un grupo 12a-OH que delimita una región periférica inferior (Figura 8), la cual es principal responsable de la modificación química que anula la bioactividad. Además, se requiere un grupo C4-dimetilamino con su isómero 4S natural para una actividad antibacteriana óptima, mientras que la epimerización a su isómero 4R disminuye la actividad Gram-negativa (Nelson et al. 1993).

Adicionalmente, en las posiciones C5 a C9 pueden modificarse químicamente para afectar su bioactividad como antibióticos y se designan como la región periférica superior, generando derivados con actividad antibacteriana variable (Smilack 1999).

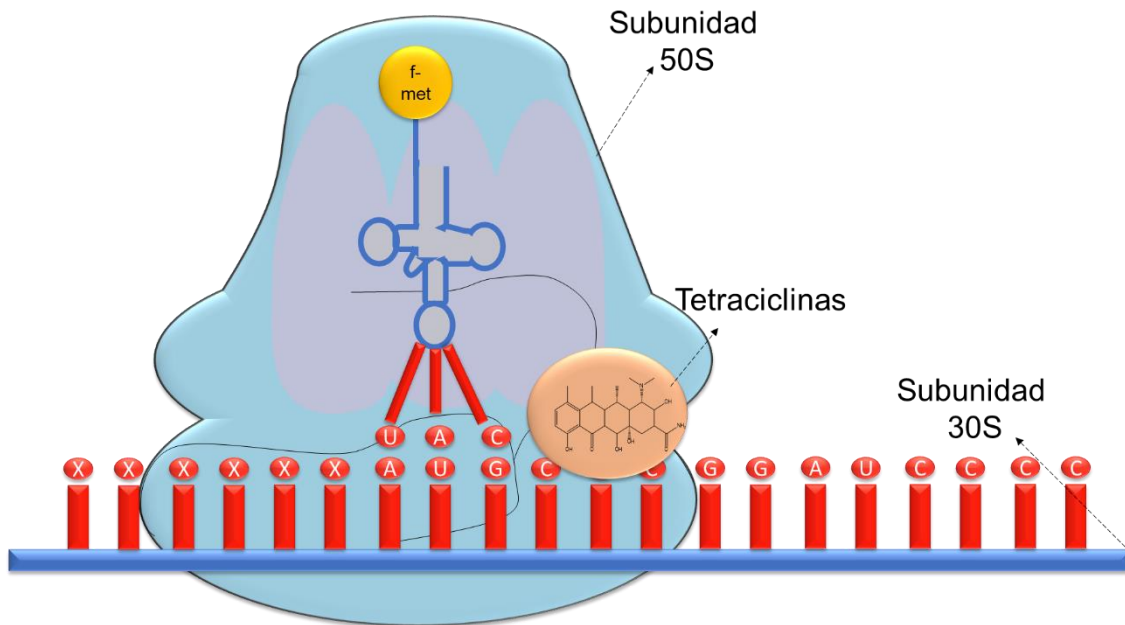


**Figura 8.** Estructura química de las tetraciclinas.

Subsecuentemente, con el paso de los años, en la búsqueda y síntesis de algunos compuestos derivados de estos, fueron comercializadas una gama de tetraciclinas como: la metaciclina, doxiciclina y tetraciclina, cuyas funciones principales eran combatir enfermedades infecciosas (Klein y Cunha 1995).

El mecanismo de acción (Figura 9) general de estos fármacos sucede conforme secuencia lo siguiente: primero, la tetraciclina atraviesa los poros hidrofílicos de la membrana celular (difusión pasiva) y después el antibiótico atraviesa los citoplasmas internos de la membrana (transporte activo). Ya dentro de la célula, las

tetraciclinas se unen al sitio 30S ribosomal de las células bloqueando la mensajería del ARN impidiendo la reproducción de la célula (Brodersen et al. 2000).



**Figura 9.** Mecanismo de unión de las TC's en la sub-unidad 30S.

Su aplicación en medicina humana ha sido una alternativa a fármacos como la penicilina, en el tratamiento de infecciones en vías respiratorias (neumonía, exacerbaciones infecciosas, bronquitis crónica y legionelosis), infecciones genitales (clamidia, gonorrea, granuloma y sífilis) y enfermedades gastrointestinales (cólera, shigela adulta o profilaxis de la diarrea del viajero) (Smilack 1999). Adicionalmente, en enfermedades y padecimientos como acné, brucelosis, fiebre de las montañas rocosas, borreliosis, enfermedades por staphylococcus, erliquiosis, borrelia, tularemia, bartanelosis, leptopirosis, infecciones por mordeduras de animales, entre otros (Rusu y Buta 2020).

En medicina veterinaria, además de emplearse en el tratamiento de infecciones y heridas en animales han sido empleadas como promotores de crecimiento al modificar el metabolismo del animal, proliferando y desarrollando su masa muscular en menores periodos de tiempo. La adsorción de las tetraciclinas en animales se encuentra en un intervalo de 25-60% del total suministrado, de las cuales tan solo 5% es metabolizado. Por otra parte, cantidades menores al 50% de las

tetraciclinas adsorbidas son secretadas mediante la orina, heces y otras rutas. Por otro lado, dentro de las TC's adsorbidas estas pueden encontrarse en productos derivados como huevo (en el caso de las aves) o leche (en el caso de bovinos) (Agwuh y MacGowan 2006).

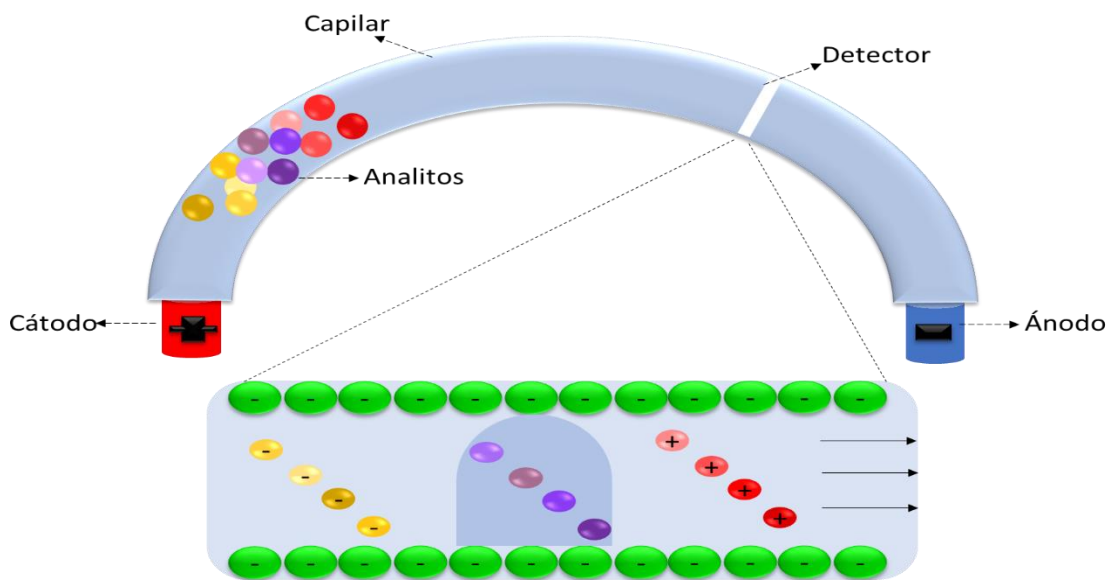
En este sentido, la ingesta de tetraciclinas mediante la cadena eutrófica por el consumo de productos de origen animal, puede provocar alteraciones a la salud humana como el desarrollo de hipersensibilidad, erupciones, pigmentación en uñas, pigmentación esclerótica, náuseas, vómito, úlceras, diarrea, hepatotoxicidad, pancreatitis, decoloración de dientes, hipoplasia del esmalte, fallas renales, vértigo, entre otras (Fluit et al. 2001, Golub et al. 1998).

A raíz de la problemática relacionada al control, uso y abuso de antibióticos, organizaciones e instituciones internacionales han establecido límites máximos de residuos (MRL por sus siglas en inglés) para estos fármacos en alimentos. La administración de medicamentos y alimentos (FDA por sus siglas en inglés), en Estados Unidos de América, establecieron de  $300.0 \mu\text{g kg}^{-1}$  en combinación de Tetraciclina (TC), oxitetraciclina (OT) y clortetraciclina (CT), mientras que, la Unión Europea establecieron MRL de  $100.0 \mu\text{g kg}^{-1}$  para TC, OT y CT. Por esta razón, durante las últimas décadas se ha incrementado el desarrollo de metodologías analíticas capaces de determinar, analizar, monitorear y/o eliminar estos agentes antimicrobianos en concentraciones traza o ultra traza.

Ultravioleta- Visible (UV-vis) es una de las técnicas más utilizadas, debido a su bajo costo. Ha sido empleada en la identificación de cinco tetraciclinas (tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina (DT), clortetraciclina y minociclina) en la región de 289 y 342 nm, alcanzado a detectar concentraciones cercanas a  $2.0 \text{ mg L}^{-1}$  de TCs en derivados farmacéuticos (Ping-kay y Kwong 1991). Por su parte, la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas del inglés) acoplada UV-Vis o fluorescencia, ha permitido la determinación de tetraciclinas en miel. Para ello, empleando una columna C8, fase móvil metanol: agua (95.0:5.0 v/v), a una longitud de onda de 390 nm de excitación y 512 nm de emisión, permitiendo LODs de  $8.0 \mu\text{g kg}^{-1}$  and  $25.0 \mu\text{g kg}^{-1}$ .

Por otro lado, las técnicas electroquímicas para la determinación de tetraciclina y oxitetraciclina han empleado electrodos de grafito-poliuretano al 60% en muestras de orina en humanos y algunos bovinos, con LODs de 2.6 y 1.7  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (Fioramonti y Gomes 2015).

Sin embargo, otras técnicas como la Electroforesis capilar (CE), ofrece tiempos cortos de análisis, adecuada sensibilidad analítica, bajo consumo de solventes, por lo que se considera ambientalmente amigable. Se fundamenta en la separación de una gran variedad de analitos (orgánicos e inorgánicos) mediante su relación masa/carga, donde la señal generada es proporcional a la concentración del mismo (Figura 10) (Harstad et al. 2016). Dentro de las modalidades más utilizadas son electroforesis capilar de zona (CZE), la cromatografía capilar electrocinética micelar (MZCE), electrocromatografía capilar (ECC), así como el desarrollo de técnicas de pre-concentración en línea como apilamiento de muestras amplificadas en campo (FASS por sus siglas del inglés), apilamiento de muestras de gran volumen (LVSS por sus siglas en ingles), entre otras, permitiendo LODs en el orden de  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Por esta razón pueden ser empleadas en el monitoreo de MLR en alimentos (Ibarra et al. 2011).



**Figura 10.** Esquema de separación mediante CE.

En este sentido, el presente trabajo plantea el desarrollo de una metodología analítica para la remoción de tetraciclinas en leche empleando como material adsorbente un LDH-Mg/Al con características magnéticas a base de partículas de sílice y magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ ). La metodología optimizó la naturaleza del LDH (precursores metálicos, naturaleza de intercapa y condiciones de síntesis), y las mejores condiciones de remoción como pH, tiempo de contacto, masa de adsorbente y el análisis de interferentes.





# Objetivos

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo general**

- Diseñar un sistema de remoción de tetraciclinas en leche mediante la incorporación de partículas magnéticas acopladas a un sistema LDH (Mg/Al).

### **2.2. Objetivos específicos**

- Sintetizar y caracterizar partículas LDH, empleando  $Mg^{2+}$  y  $Al^{3+}$  como precursores, en la remoción de tetraciclinas en muestras leche.
- Establecer las condiciones óptimas de remoción mediante MSPE en la remoción de tetraciclinas en muestras leche.
- Aplicar el método analítico en la remoción de tetraciclinas en muestras leche.



# **Metodología experimental**

### 3. Metodología experimental

#### 3.1. Materiales y reactivos

Clorhidrato de tetraciclina ( $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$ ) 95.0 %, clorhidrato de clortetraciclina ( $C_{22}H_{23}ClN_2O_8 \cdot HCl$ ) 94.5 %, oxitetraciclina ( $C_{22}H_{28}N_2O_{11}$ ) 95.0 %, hidrato de doxiciclina ( $C_{24}H_{33}ClN_2O_{10}$ ) 95.0 %, fosfato de sodio ( $Na_3PO_4$ ) 99.0 %, ácido pícrico ( $C_6H_3N_3O_7$ ) 98.0 %, cloruro de magnesio hexahidratado ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ) 99.0 %, cloruro de aluminio hexahidratado ( $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ )  $\geq 98.0$  %, nitrato de magnesio hexahidratado ( $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ) 98.0%, nitrato de aluminio nonahidratado ( $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ) 99.9%, carbonato de calcio ( $CaCO_3$ )  $\geq 99.0$ %, tetrametil orto silicato (TMOS)  $\geq 98.0$ %, Triton X-100, bromuro de hexadeciltrimetilamonio  $\geq 98.0$ % y dodecilsulfato de sodio (SDS) ( $CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$ )  $\geq 99.0$ % fueron obtenidos de Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). El ácido etilendiaminotetraacético disódico (EDTA,  $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$ ) 99.0 %, hidróxido de sodio (NaOH) 98.5%, y metanol (MeOH) 99.80%, se obtuvieron de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, EE. UU.), y 2-propanol ( $C_3H_8O$ )  $\geq 99.8$ %, se obtuvo de Fluka (St. Gallen, Suiza).

Cada solución fue preparada mediante la disolución de una cantidad apropiada del reactivo en agua desionizada con una resistividad no menor a 18.2 M $\Omega$ , proporcionada por un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EE. UU.). La solución de electrolito fue constituida por 2-propanol al 2.0%, fosfato de sodio 30.0 mmol L<sup>-1</sup> y sal disódica de EDTA 2.0 mmol L<sup>-1</sup>. El pH de la solución se ajustó a 12 con NaOH 0.1 mol L<sup>-1</sup>.

#### 3.2. Equipos

La caracterización de los adsorbentes se realizó un espectrómetro infrarrojo con transformada de Fourier Perkin Elmer 400 FT-IR (Perkin-Elmer Inc., Wellesley, MA, EE. UU.) con un Pike Gladi ATR (Pike Technologies Inc., EE. UU.). La morfología de los adsorbentes se evaluó empleando un microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM-820. La estabilidad térmica del adsorbente se estudió utilizando

un Universal TGA Analyzer 200 con software Universal V4.7A, en un intervalo de temperatura de 35-600°C a una velocidad uniforme de 10° C por min.

La separación por electroforesis se realizó con un equipo Beckman Coulter P/ACE 5500 (Fullerton, CA, USA) con detector de arreglo de diodos (DAD), empleando un capilar de sílice fundida de dimensiones 41.7 cm x 0.75 µm de diámetro interno. Los datos obtenidos fueron colectados y analizados con un software Beckman P/ACE system MDQ versión 2.3.

### **3.3. Condiciones de análisis por electroforesis capilar**

Las condiciones de separación por CE para la optimización de la metodología MSPE fueron: capilar de sílice fundida (41.7 cm x 75.0 µm), inyección hidrodinámica (0.5 psi, 5 s), electrolito soporte (fosfato de sodio 30 mM, EDTA 2mM, ajustado a un pH= 12), voltaje de separación (14.0 kV), longitud de onda del detector ( $\lambda = 360\text{nm}$ ) en polaridad normal.

Las condiciones de separación por LVSS-CE para la determinación de tetraciclinas en muestras de leche fueron: capilar de sílice fundida (41.7 cm x 75.0 µm), inyección hidrodinámica (5.0 psi, 180 s), el sistema de preconcentración se aplicó un potencial (12.0 kV, 120 s) en polaridad inversa. Posteriormente, para la separación se empleó polaridad normal a un voltaje de 14.0 kV.

Cada día de trabajo, el capilar se activó con NaOH 1.0 mol L<sup>-1</sup> (15 min), NaOH 0.1 mol L<sup>-1</sup> (10 min), agua desionizada (10 min) y solución electrolítica (10 min). Entre análisis, el capilar se lavó y pre-acondicionó con 1.0 mol L<sup>-1</sup> de NaOH (2 min), 0.1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH (1 min), agua desionizada (1 min) y solución electrolítica (2 min), a una presión de 20.0 psi (Islas et al. 2018).

### **3.4. Síntesis del adsorbente Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-LDH(Mg/Al-SDS)**

#### **3.4.1. Obtención de las partículas magnéticas Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>**

La síntesis de partículas magnéticas (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-magnetita) se realizó por oxidación parcial y precipitación de Fe(II) en medio básico y corriente de aire. Para ello se disolvieron 0.5 g de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O en 50 mL de agua desionizada, la solución se ajustó a pH=10 con una solución de NaOH 6 M en burbujeo de O<sub>2</sub> y presión constante (atmosférica) durante 1 h. El precipitado resultante se recuperó y se lavó con agua desionizada.

#### **3.4.2. Recubrimiento de las partículas magnéticas con sílice (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>)**

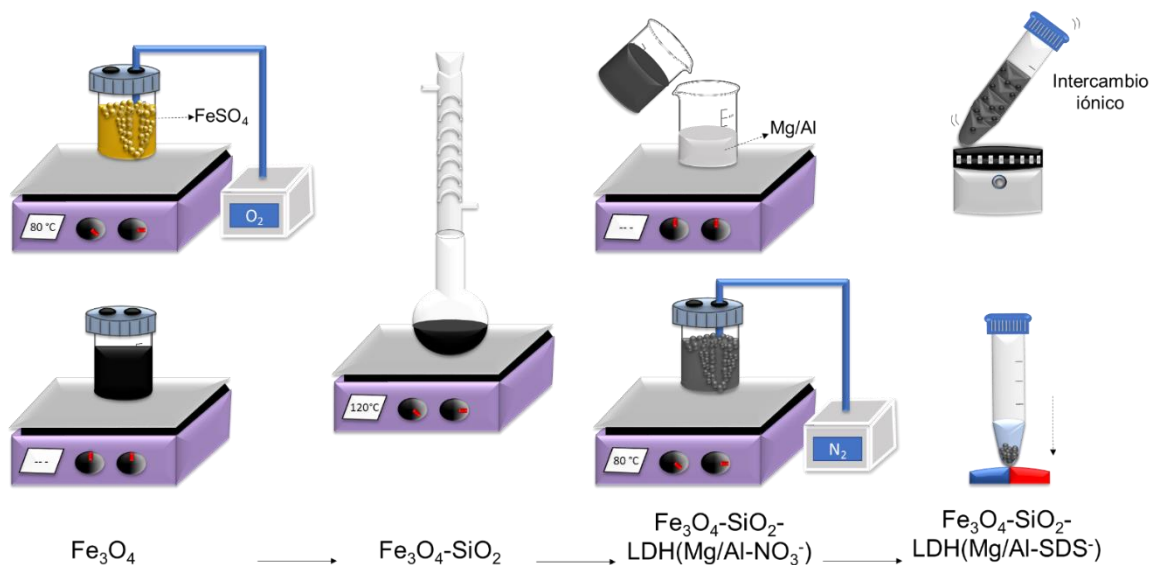
Una vez sintetizada la magnetita, y con la finalidad de estabilizar la partícula magnética, fue necesario su recubrimiento mediante polimerización por método Sol-Gel, empleando 0.05 g de tetrametil orto silicato (TMOS), previamente solubilizado en 25 mL de una solución metanólica al 12.5 % (v/v), Triton X-100 al 2.0 % (p/v), CTAB al 0.02 % (p/v) y 1.0 mL de NH<sub>4</sub>OH como agente catalizador. A continuación, la mezcla se llevó a reflujo durante 8 h a 120 °C. Concluido el tiempo de reacción, el precipitado se aisló mediante la aplicación de un campo magnético externo. La eliminación de agentes no reaccionantes se realizó mediante una etapa de lavados (3 x 50.0 ml de agua desionizada).

#### **3.4.3. Deposición del LDH en las partículas magnéticas**

La deposición de LDH Mg/Al-SDS en la superficie de la partícula de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub> se llevó a cabo mediante la siguiente secuencia (Figura 11): Se tomaron 0.05 g del material magnético Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub> y se adicionó a 30 mL de agua en la que se encontraban disueltos los precursores metálicos Mg/Al en una relación molar 7.0:1.0 respectivamente (los iones Mg<sup>2+</sup> y Al<sup>3+</sup> se obtuvieron de sus respectivas sales de nitrato, mismo que sirvió de anión de intercapa). La mezcla se ajustó a pH=10 con NaOH 6 M a una temperatura de 80° C durante 90 min, en atmósfera de N<sub>2</sub>.

Concluido el tiempo de síntesis, el precipitado se recuperó, y lavó en tres ocasiones con agua desionizada, y secó a 60 °C durante 12 h.

Finalmente, para la síntesis de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH(Mg/Al-SDS)}$ : se llevó a cabo un proceso por intercambio iónico, para lo cual, se tomaron 0.05 g de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH/NO}_3^-$  y dispersaron en una solución saturada de  $\text{SDS}^-$  durante 5 min. Tanto el exceso de  $\text{SDS}^-$  y  $\text{NO}_3^-$  fueron retirados del sistema LDH mediante tres lavados por tres ocasiones con agua desionizada.



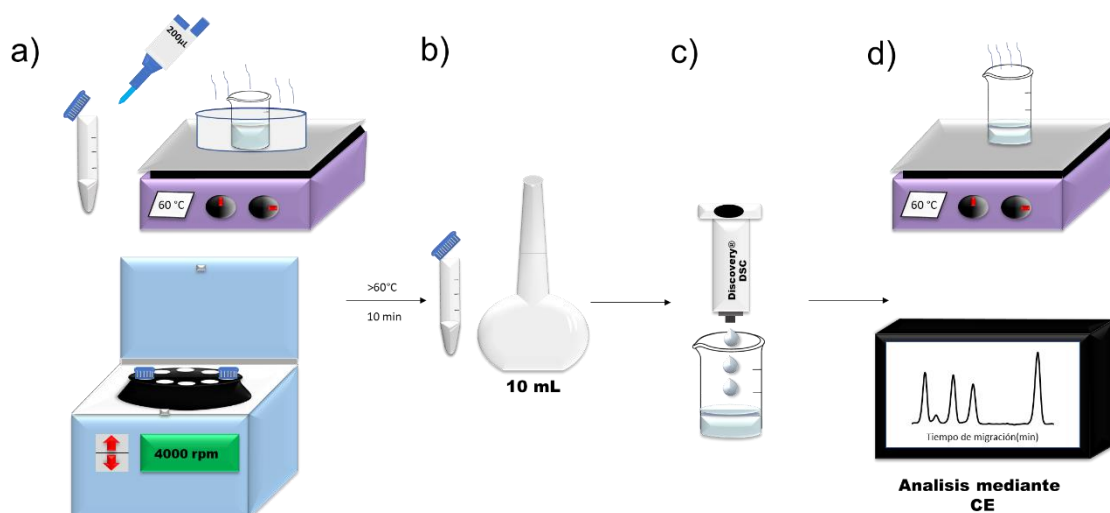
**Figura 11.** Esquema de síntesis de la partícula  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH (Mg/Al-SDS)}$ .

### 3.5. Aplicación del método

Para la aplicación de la metodología propuesta se realizó primero el análisis de 15 muestras de leche de diferentes marcas adquiridas en un supermercado local de Pachuca de Soto, Hidalgo por SPE-LVSS-CE en la posible determinación de las tetraciclinas de interés conforme la metodología desarrollada por Islas y colaboradores (Islas et al. 2017).

Para ello se tomó una alícuota de 1.0 mL de leche comercial a la cual se adicionaron 0.2 mL de ácido acético al 2.0%, dicha mezcla se mantuvo en agitación constante durante 5.0 min para la precipitación de proteínas en baño maría ( $60^\circ\text{C}$  por 10 min) (Figura 12a). Posteriormente, el sobrenadante fue aislado mediante un proceso de centrifugación a 10000 rpm por 10 min. Concluida la separación, el sobrenadante

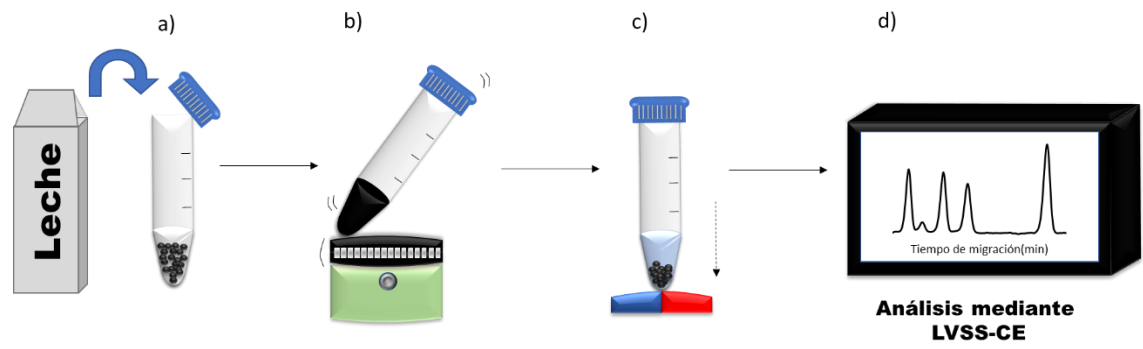
obtenido se diluyó a un volumen de 10.0 mL con agua desionizada (Figura 12b). Consecuentemente, dicha solución se pasó por un cartucho (cartuchos Discovery® DSC-18, 500 mg) previamente activado con 5.0 mL de MeOH y 5.0 mL de agua desionizada a un flujo de 1.0 mL min<sup>-1</sup> (Figura 12c). Posteriormente, la eliminación de interferentes se realizó mediante la adición de 5.0 ml de una solución metanólica al 5.0% en tres ocasiones. La elución de los analitos de interés se realizó mediante la adición de 3.0 ml de metanol, mismos que fueron evaporados a sequedad y reconstituidos en 1.0 mL de agua desionizada con 50.0 µg L<sup>-1</sup> de estándar interno (Acido pícrico: IS) para su posterior análisis por LVSS-CE (Figura 12d).



**Figura 12.** Esquema de la metodología SPE-LVSS-CE. a) Desproteización de la leche, b) Dilución, c) Extracción en fase sólida, d) Elución y análisis mediante CE.

La metodología de remoción desarrollada fue aplicada a cada muestra positiva a TC's. Para ello se adicionaron 10.0 mg de adsorbente (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-LDH/SDS) previamente activado, a 1.0 mL muestra de leche, manteniendo una agitación constante por 5 min (Figura 13a-b), posteriormente, mediante la aplicación de un campo magnético externo fue aislado el adsorbente (Figura 13c). La evaluación de la efectividad de la técnica desarrollada, se tomó el sobrenadante recuperado el cual fue analizado mediante SPE-LVSS-CE (Figura 13d).





**Figura 13.** Esquema de la metodología MSPE-CE. a) Adición de la muestra de leche al adsorbente  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO-LDH/SDS}$ , b) Dispersión, c) Aislamiento magnético, d) Análisis mediante CE.



# **Resultados y discusiones**

## 4. Resultados y discusiones

### 4.1. Síntesis de la partícula $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$

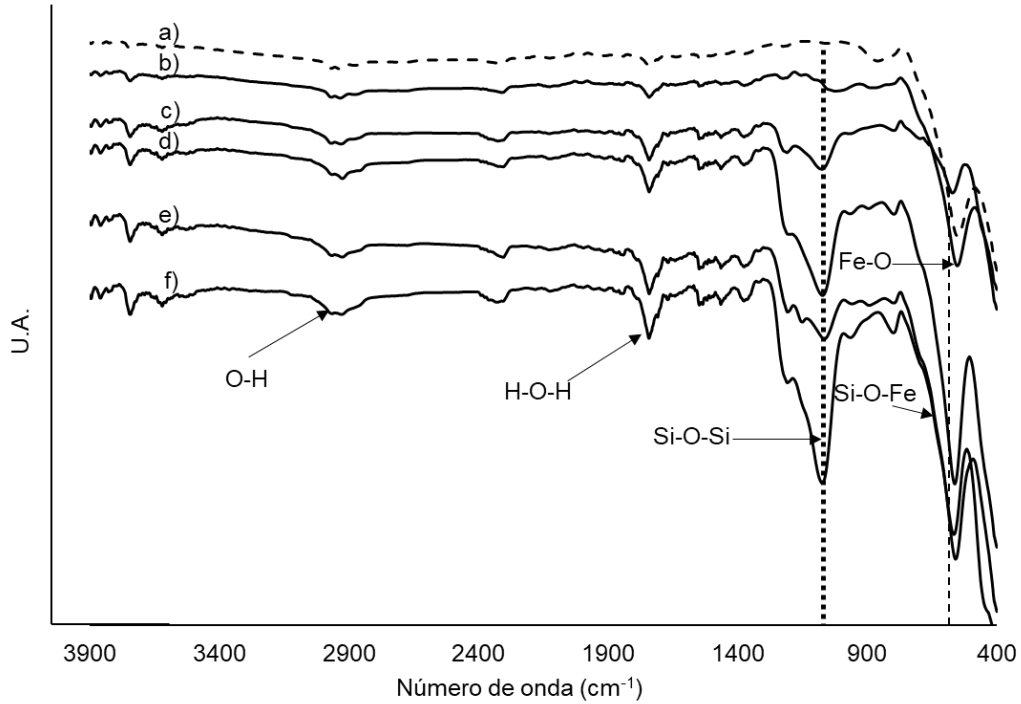
#### 4.1.1 Tiempo de síntesis

En una primera etapa se estudió el efecto del tiempo de síntesis en el recubrimiento de la partícula magnética mediante la metodología Sol-Gel. Para ello, la partícula magnética y el agente silanizante fueron puestos en proporción  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{:SiO}_2$  (1.0:1.0 p/p) y los tiempos de reacción fueron evaluados en el intervalo de 2 a 24 h. El estudio fue seguido mediante cambios en las intensidades correspondientes a bandas características propias del sistema de polimerización por FT-IR.

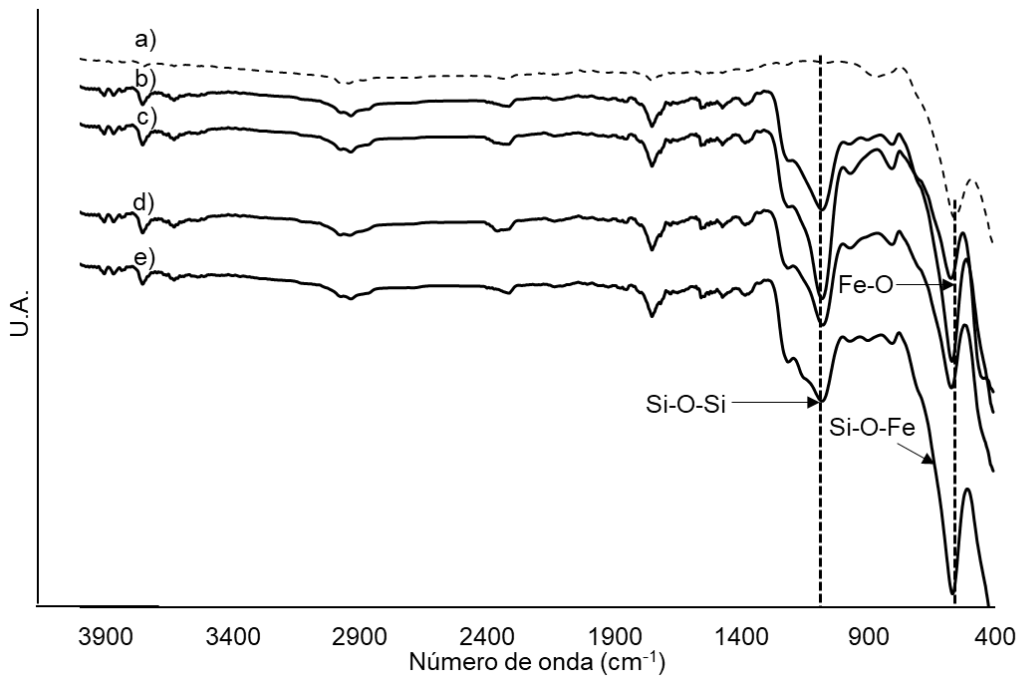
La Figura 14a), muestra el espectro infrarrojo correspondiente a  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , mientras que en las figuras 14b-f se pueden observar los espectros infrarrojos del recubrimiento de la partícula magnética  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  en función del tiempo de síntesis de 4-24 h, ya que, a un tiempo de 2 h, el proceso de recubrimiento, no se llevó a cabo. Conforme a los resultados obtenidos, a partir de 4 h de síntesis, se aprecian las bandas de enlace Si-O-Fe, Si-O-Si y Si-O-C (Figura 14b). A tiempos de síntesis entre 4 y 8 h (Figura 14b-d), se observa un incremento gradual en la intensidad de las bandas de adsorción a  $550\text{ cm}^{-1}$ ,  $1070\text{ cm}^{-1}$  y  $1200\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los modos de vibración de estiramiento del enlace Si-O-Fe, de estiramiento en el plano (tipo asimétrico) del enlace Si-O-C y del modo de vibración de tijera de flexión ( $\delta$ ) en el plano (tipo simétrico) del enlace Si-O-Si, mismas bandas de adsorción características de la polimerización. A tiempos de síntesis mayores a 8 h (16 h y 24 h, no existe un crecimiento de dichas bandas adsorción (Figura 14e-f). Por lo tanto, se puede concluir que a partir de 8 h de reacción se tiene una polimerización completa. Es por ello que se elige un tiempo de síntesis de 8 h en experimentos subsecuentes.

#### 4.1.2. Proporción $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$

La proporción  $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$  sobre el recubrimiento de la partícula magnética fue evaluada mediante la síntesis de cuatro sólidos en distintas relaciones p/p (1.0:1.0-1.0:4.0). Conforme los resultados obtenidos por FT-IR, la Figura 15a) muestra el espectro correspondiente a la  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , por otro lado, la Figura 15b) ( $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$  1.0:1.0), muestra bandas de adsorción (intensidad media) correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace Si-O-Fe, de estiramiento en el plano (tipo asimétrico) del enlace Si-O-C y del modo de vibración de tijera de flexión ( $\delta$ ) en el plano (tipo simétrico) del enlace Si-O-Si en 550, 1070 y 1200  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente (Yamaura et al. 2004). La Figura 15c) ( $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$  1.0:2.0) muestra un ligero incremento en la intensidad de la banda correspondiente al enlace Si-O-Fe a 550  $\text{cm}^{-1}$ , mientras que también se puede observar el ensanchamiento de las bandas propias de los enlaces Si-O-C y Si-O-Si a 1070 y 1200  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente (Wörmeyer et al. 2012). Por otro lado, las Figuras 15 d-e ( $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$  1.0:3.0 y 1.0:4.0), muestran un comportamiento similar con respecto a las proporciones anteriores, en donde destaca un incremento en las intensidades de las bandas debido al enlace Si-O-Fe a 550  $\text{cm}^{-1}$ . No obstante, a proporciones ( $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$ ) superiores 1.0:1.0 el recubrimiento de la partícula representa una desventaja al comprometer las propiedades magnéticas del sólido, es decir, la atracción de las partículas magnéticas por un campo magnético externo es menor. Es así que se selecciona la proporción  $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{SiO}_2$  de 1.0:1.0 como óptima, permitiendo un aislamiento rápido y eficaz.



**Figura 14.** Espectros de infrarrojo a distintos tipos de síntesis de la partícula  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$ . a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , b) 4 h, c) 6 h, d) 8 h, e) 16 h y f) 24 h.



**Figura 15.** Espectros de infrarrojo a distintas proporciones de  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{:SiO}_2$  en síntesis de la partícula  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  recubierta por sílice. a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , b) 1.0:1.0, c) 1.0:2.0, d) 1.0:3.0, e) 1.0:4.0.

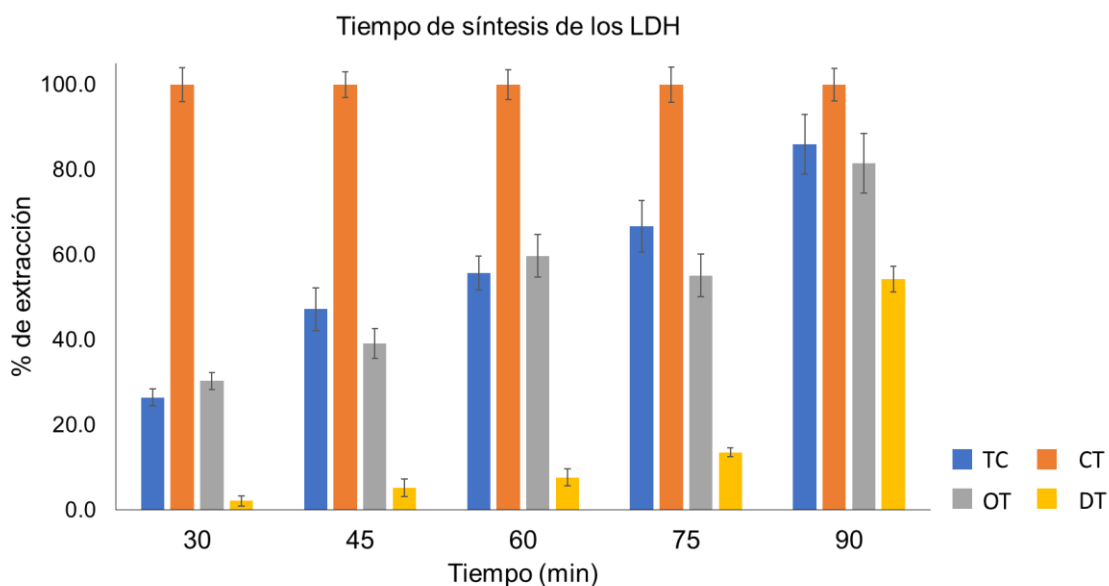
## **4.2. Efecto de la composición LDH en la adsorción de tetraciclinas**

Las condiciones de síntesis en un sistema LDH fueron evaluadas en función del tiempo de síntesis, proporción Mg/Al y tipo de intercapa en función de sus propiedades, estructura, así como el modo de interacción.

### **4.2.1. Tiempo de síntesis**

Para conocer el efecto que tiene el tiempo de síntesis de la partícula LDH en la adsorción de TC's, se evaluaron tiempos de reacción de 30-90 min empleando una proporción 3.0:1.0 Mg/Al y  $\text{CO}_3^{2-}$  como anión de intercapa. Los adsorbentes obtenidos fueron puestos en contacto durante 5 min con una solución de 5 mg L<sup>-1</sup> de cada una de los analitos de interés, TC, CT, OT y DT.

De manera general, la Figura 16, muestra que la remoción de TC, OT y DT aumenta en función del tiempo de reacción, mientras que para CT se obtienen porcentajes remoción >95% en todos los casos. Conforme los resultados obtenidos (30 a 60 min) se obtienen porcentajes de remoción de 25.0-55.0% para TC y OT, mientras que de 2.7-7.7% para DT. Por el contrario, con un tiempo de síntesis de 90 min, se observa un incremento en los porcentajes de remoción alcanzando 54.3% DT, 78.0% OT, 82.0% TC y >95.0% CT. Dichos resultados sugieren que, a tiempos de síntesis entre 30 y 75 min, la conformación estructural no se forma en su totalidad, limitando la interacción LDH-Analito. Por lo que se puede atribuir a que el sistema LDH adquiere una mejor conformación estructural a partir de 90 min, permitiendo una mejor adsorción de los analitos de interés. En este sentido, se seleccionó un tiempo de reacción de 90 min para subsecuentes estudios.



**Figura 16.** Efecto del tiempo de síntesis de la partícula LDH.

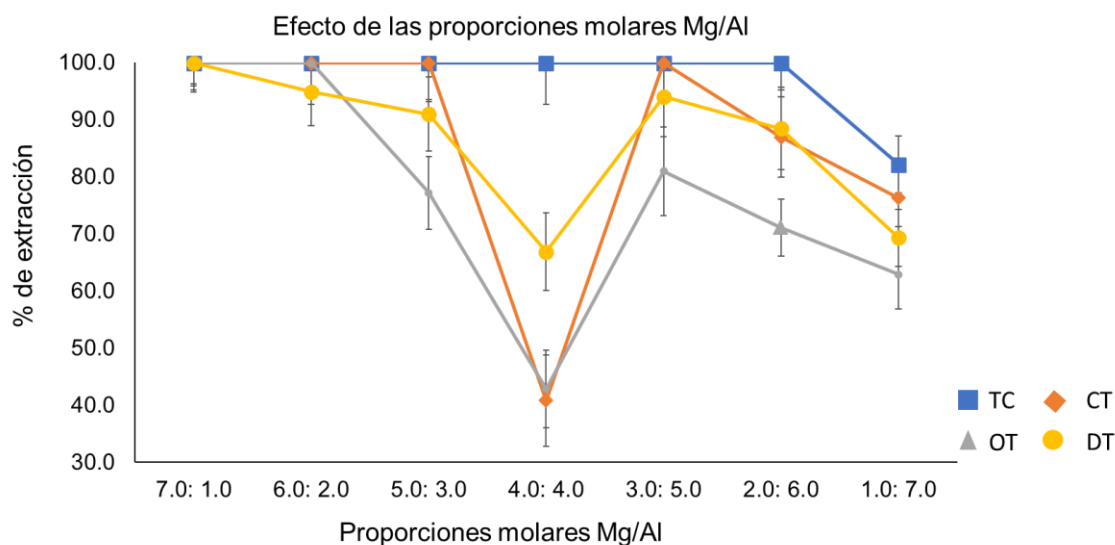
#### 4.2.2. Proporciones Mg/Al

De acuerdo a la bibliografía la identidad de un LDH Mg/Al es representada en una proporción 3.0:1.0 Mg/Al ( $\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Sin embargo, la modificación de dichas proporciones permite la obtención de nuevas propiedades fisicoquímicas y en consecuencia modos de interacción. Con la intención de conocer el efecto en la remoción de TC's, fueron sintetizados siete adsorbentes en relaciones molares 7.0:1.0 - 1.0:7.0 (Mg/Al).

De acuerdo con los resultados mostrados en la Figura 17, fueron observados dos comportamientos principales. En primera instancia, cuando el  $\text{Mg}^{2+}$  se mantiene en mayor proporción respecto a  $\text{Al}^{3+}$  (7.0:1.0 - 6.0:2.0), se exhibieron porcentajes de remoción homogéneos (> 99.0%), mientras que, cuando las proporciones Mg/Al tienden a la igualdad en el sistema LDH (proporciones 5.0:3.0 - 3.0:5.0) el porcentaje de remoción disminuyó afectando la homogeneidad en la retención de las TC's. Por el contrario, cuando se evaluaron proporciones (2.0 - 6.0 y 1.0:7.0) donde el  $\text{Al}^{3+}$  se encuentra en mayor proporción respecto a  $\text{Mg}^{2+}$ , los porcentajes de remoción disminuyeron en un intervalo de 20.0-40.0%.

Dichos resultados sugieren que los analitos de interés presentan una mayor afinidad por el  $Mg^{2+}$ , estos resultados pueden ser asociados a los complejos que se forman entre TCs- $Mg^{2+}$  (Orth et al. 1999, Lambs et al. 1985).

Por lo tanto, teniendo en consideración los resultados adquiridos, se seleccionó la relación molar de 7.0:1.0 (Mg/Al) para análisis posteriores.



**Figura 17.** Efecto de la variación de las proporciones Mg/Al del LDH en la remoción de TC's.

#### 4.2.3. Evaluación de intercapa

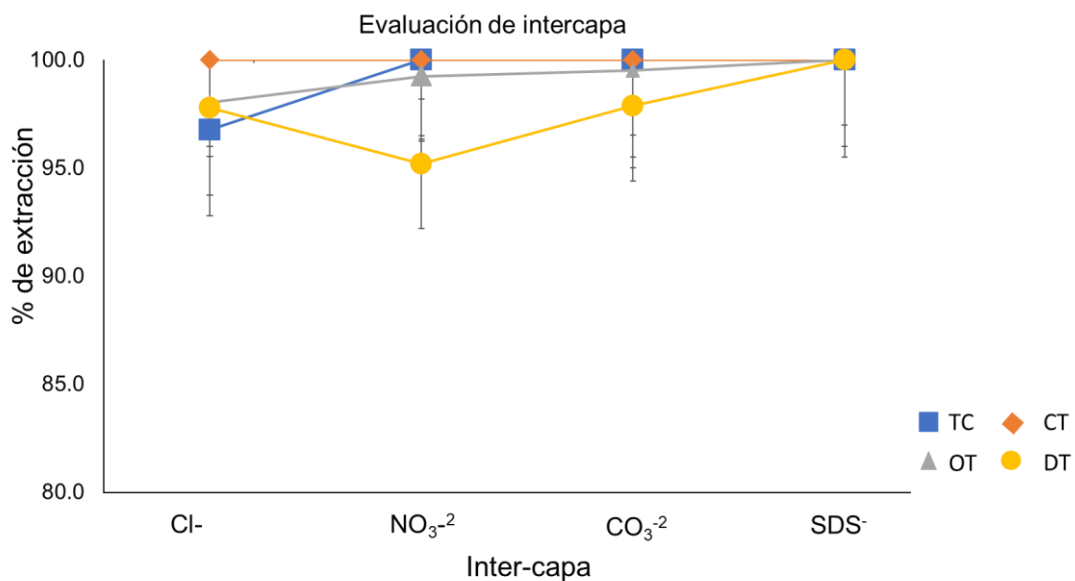
De acuerdo a los múltiples modos de interacción que presenta un sistema LDH, la evaluación del porcentaje de remoción en función de la intercapa se realizó mediante la síntesis de partículas  $Fe_3O_4-SiO-LDH/A^-$  con aniones  $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$  y  $SDS^-$  ya sea por sistemas de coprecipitación y/o intercambio iónico, según fue el caso.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la Figura 17, muestra que la intercapa de  $Cl^-$  permitió porcentajes de remoción de 97.9% para las cuatro TC's, mientras que el ion  $NO_3^-$  de 98.1%, y el  $CO_3^{2-}$  de 98.8%. Por otro lado, el empleo de compuestos de orgánicos de cadena larga en la intercapa como el SDS, permitió la obtención de porcentajes de remoción  $\geq 99.0\%$  para todos los analitos, siendo la remoción con



mayor homogeneidad. Este comportamiento puede atribuirse a que el  $\text{SDS}^-$  es el anión con mayor tamaño respecto a  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$ , promoviendo un mayor tamaño en el espacio de intercapa, facilitando el acceso de los analitos a esta región, lo que a su vez favorece la extracción de las TC's.

Por lo tanto, el LDH con la especie  $\text{SDS}^-$  como anión de intercapa fue seleccionado como el adsorbente adecuado para retención de TC's.

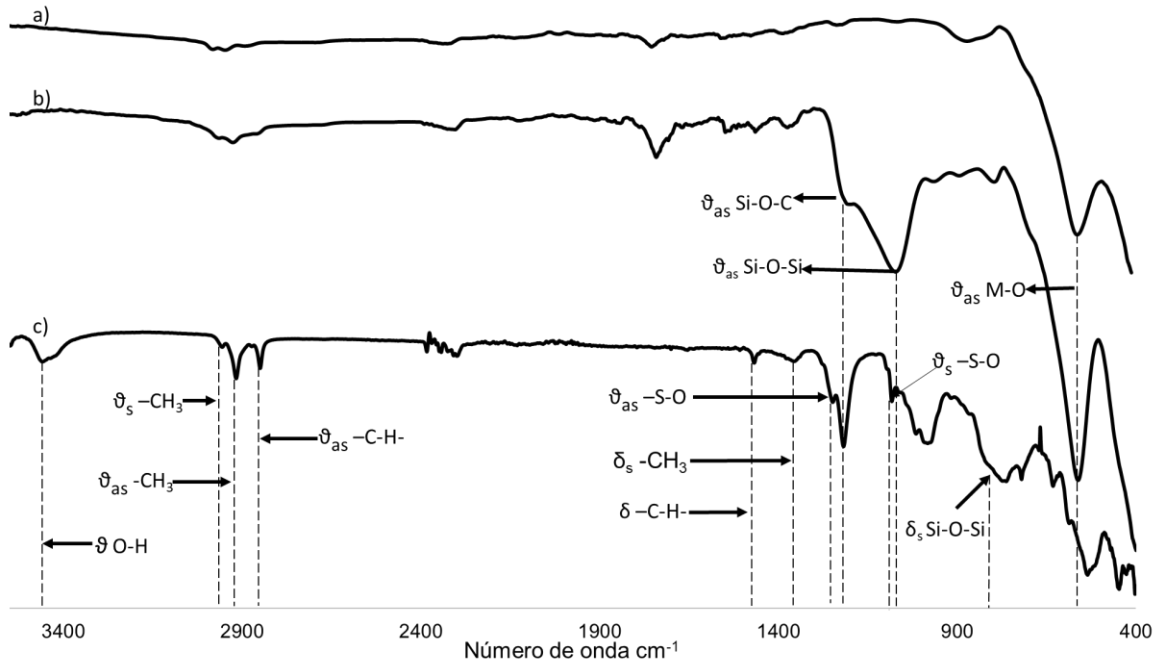


**Figura 18.** Efecto de la variación de la intercapa del LDH en la remoción de TC's.

## 4.3 Caracterización del adsorbente Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO-LDH(Mg/Al-SDS)

### 4.3.1 Infrarrojo

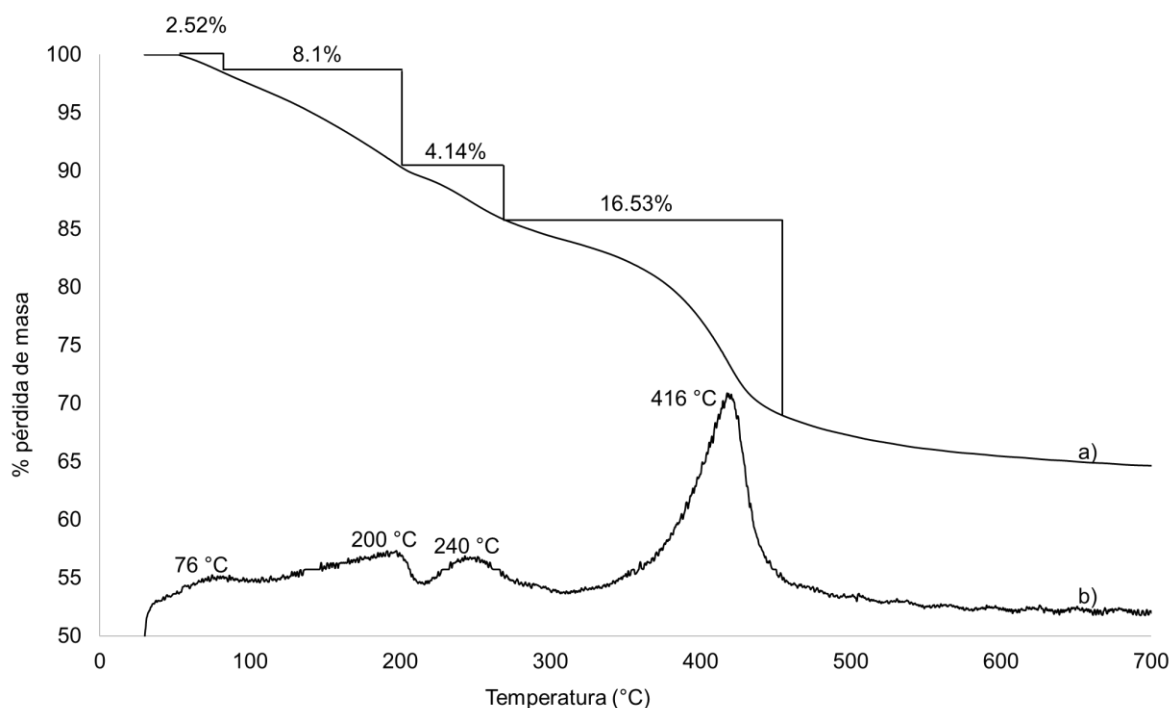
La Figura 19a muestra la caracterización de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, en la cual se puede apreciar una banda principal a 560 cm<sup>-1</sup> y una secundaria a 400 cm<sup>-1</sup> correspondientes al enlace Fe-O en los modos de vibración de estiramiento, referente a la formación tetraédrica de la magnetita. La Figura 19b muestra el espectro IR de la partícula Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>, en el cual se observan bandas de adsorción a 1200 cm<sup>-1</sup> los cuales corresponden al modo de vibración de estiramiento en el plano del tipo asimétrico ( $\vartheta_{as}$ ) propias del enlace Si-O-C, aunque también son evidentes dos bandas, una intensa a 1070 cm<sup>-1</sup> junto con una a 790cm<sup>-1</sup>, correspondientes al modo de vibración de estiramiento asimétrica en el plano ( $\vartheta_{as}$ ) y de flexión simétrica ( $\delta_s$ ) características del enlace Si-O-Si, mientras que a 962 cm<sup>-1</sup> se puede apreciar una banda de adsorción propias del modo de vibración de estiramiento ( $\vartheta$ ) correspondiente al enlace Si-O-H. Por otra parte, la Figura 19c exhibe el espectro de infrarrojo del adsorbente Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-LDH(Mg/Al-SDS), en la cual se observan bandas de adsorción a 3400 y 1600 cm<sup>-1</sup> correspondientes a los modos vibracionales de estiramiento ( $\vartheta$ ) y de flexión, respectivamente, provenientes de moléculas de O-H<sup>-</sup>, debidas al agua presente en los hidróxidos metálicos y a las moléculas de agua en la intercapa unidas por puentes de hidrógeno a las láminas. También se pudieron observar bandas de adsorción a 2960, 2918 y 1370 cm<sup>-1</sup> que corresponden a los modos de vibración de estiramiento simétrico ( $\vartheta_s$ ), asimétrico ( $\vartheta_{as}$ ) y de flexión simétrica ( $\delta_s$ ), respectivamente del metilo (R-CH<sub>3</sub>), 2850 cm<sup>-1</sup> y a 1470 cm<sup>-1</sup> de modos de vibración de estiramiento asimétrico ( $\vartheta_{as}$ ) y a las vibraciones de flexión de tijera ( $\delta$ ), respectivamente a la presencia de los enlaces de grupos metileno (-C-H-), bandas de adsorción a 1220 y 1083 cm<sup>-1</sup> modos de vibración de estiramiento asimétrico ( $\vartheta_{as}$ ) y simétrico ( $\vartheta_s$ ), respectivamente del enlace S-O. Adicionalmente, las bandas de adsorción a 660-480 cm<sup>-1</sup> vibración de estiramiento ( $\vartheta$ ) del enlace M-O y M-OH (Wu et al. 2013, Chuang et al. 2008).



**Figura 19.** Espectros de infrarrojo de a) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>, c) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-LDH.

#### 4.3.2. Análisis termogravimétrico TGA

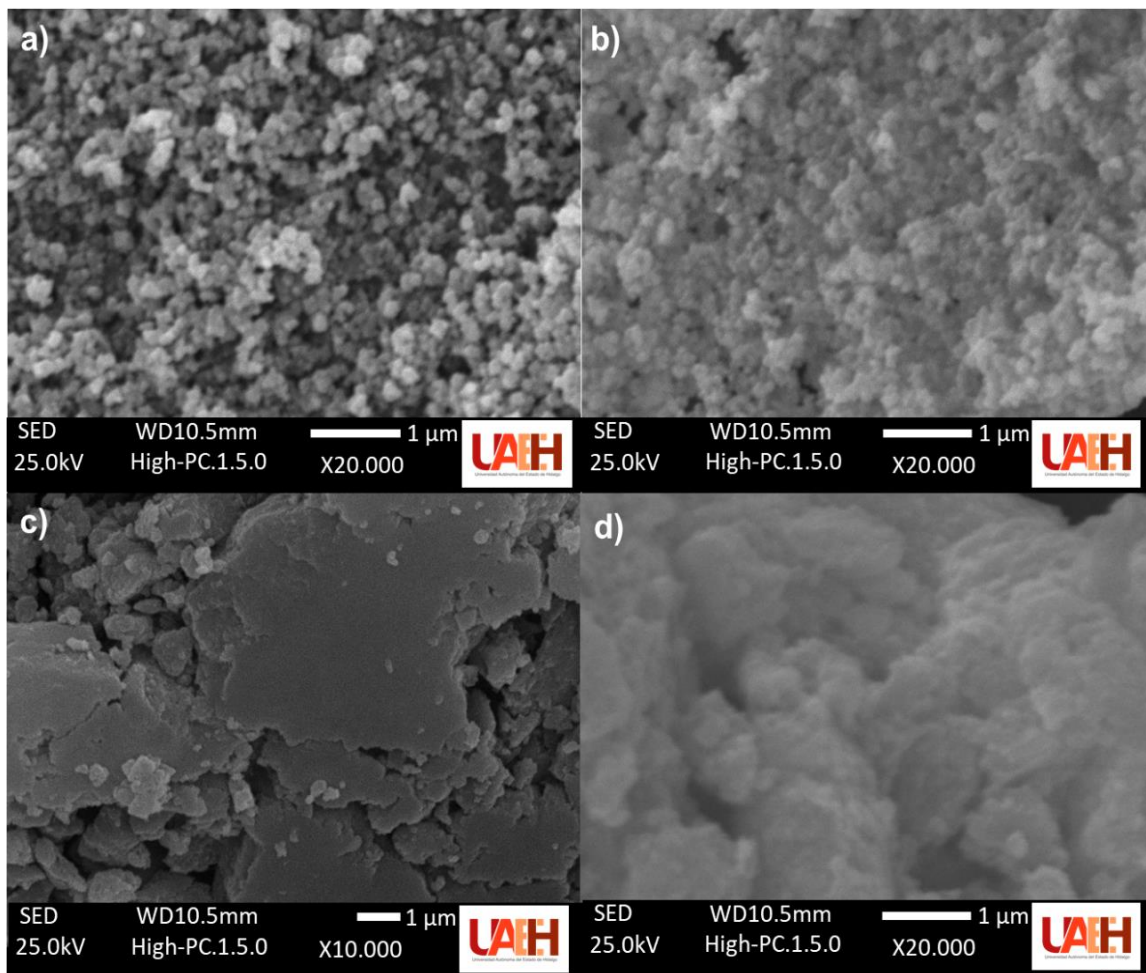
La Figura 20 muestra el análisis termogravimétrico obtenido, donde se puede observar cuatro pérdidas de peso principales. La primera ocurre a 76 °C con una pérdida de 2.5% de la masa total, correspondiente al desprendimiento de las moléculas de agua situadas en la superficie del adsorbente. La siguiente pérdida de masa sucede a alrededor de los 200 °C con un porcentaje de pérdida equivalente al 8.1%, atribuida a una primera degradación de la parte orgánica del adsorbente SDS y sílice. Una tercera caída en la masa del adsorbente (4.1%), fue originada en 250 °C correspondiente a la separación de los grupos OH<sup>-</sup> de las láminas estructurales del LDH. Por último, se observó una pérdida de masa de 16.5% alrededor de los 400°C, debida a la descomposición de iones SO<sub>4</sub><sup>-</sup> y SiO<sup>-</sup>. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que es viable la aplicación del adsorbente a las condiciones de trabajo, ya que es termogravimétricamente estable.



**Figura 20.** Análisis termogravimétrico de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-LDH. a) Análisis termogravimétrico b) Segunda derivada de la pérdida de masa.

#### 4.3.3. Espectroscopía electrónica de barrido

La morfología del adsorbente fue caracterizada mediante espectroscopía electrónica de barrido, en la cual se monitorearon las tres etapas de síntesis. La primera de ellas, el núcleo magnético Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, presentó una morfología esférica y aglomerada, con un tamaño de partícula de 140-160 nm. Por otro lado, la partícula Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>, presentó un ligero incremento en el tamaño promedio de las partículas de 220 a 250 nm, mostrando así que se llevó a cabo el recubrimiento con sílice. Por último, el adsorbente Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>-LDH(Mg/Al-SDS), presentó mayor tamaño respecto a los anteriores, con longitudes de 1.11  $\mu$ m-5.1  $\mu$ m. Se observó una textura lisa con una morfología en láminas apiladas entre sí, mismas son características de la formación del LDH. Dicho arreglo concuerda según lo reportado por Ahmed y colaboradores en la síntesis de un LDH Zn/Cd/Al-SDS (Ahmed et al. 2015).



**Figura 21.** Espectroscopía electrónica de barrido de a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a 20000x, b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2$  a 20000x, c)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH (Mg/Al-SDS}^-)$  a 10000x y d)  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH (Mg/Al-SDS}^-)$  a 20000x.

#### 4.3.4. Isotermas de adsorción

La capacidad de adsorción, afinidad y modo de interacción de la partícula LDH se evaluó mediante la construcción de las isotermas de adsorción, de acuerdo a modelos de Freundlich, Langmuir y Dubinin-Radushkevich. Cada una de las isotermas se construyeron determinando la concentración remanente ( $\text{mg L}^{-1}$ ) para cada una de las tetraciclinas. Se emplearon 10.0 mg del adsorbente  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-}$

LDH (Mg/Al-SDS<sup>-</sup>), 1.0 mL de la solución estándar en intervalos de concentración de 2.5-150 mg L<sup>-1</sup> y 5 min de dispersión.

La Tabla 2 muestra los parámetros obtenidos de acuerdo a cada modelo. En este sentido se puede expresar que el parámetro “1/n” con valores de 0.2895 a 0.6720 correspondientes al modelo de Freundlich muestran que la adsorción es favorable. Por otro lado, de acuerdo al valor de “q<sub>max</sub>” (modelo de Langmuir) con valores de 6.8399-8.7108 conforme la capacidad máxima de adsorción de un analito por un adsorbente en términos mmol g<sup>-1</sup>.

Respecto al tipo de adsorción, el parámetro ε (modelo de Dubinin-Radushkevich) se determina que la adsorción de las TC´s sobre el adsorbente óptimo fue mediante una adsorción química con valores entre 11.7851-15.0756 kJ mol<sup>-1</sup>.

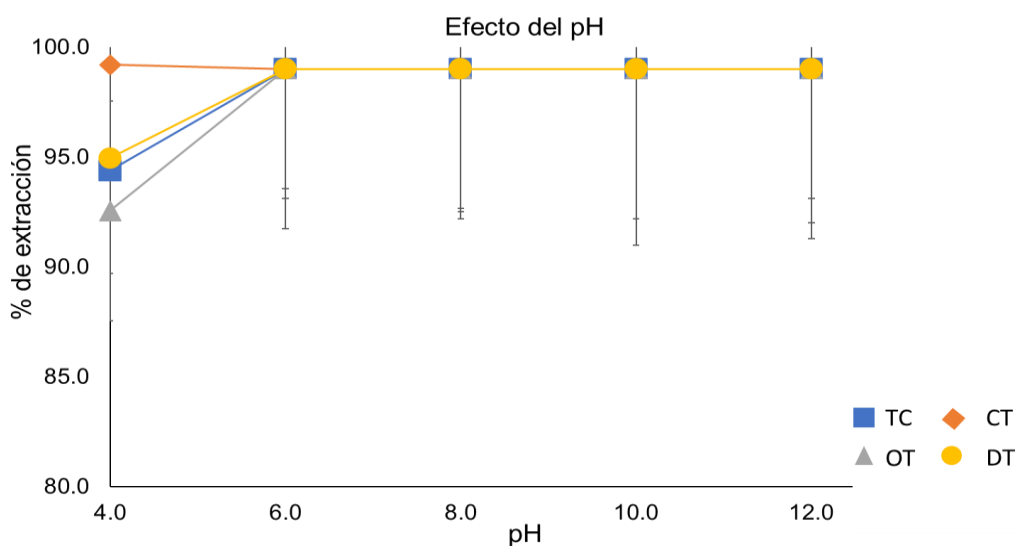
**Tabla 2.** Parámetros de adsorción de las cuatro tetraciclinas., conforme los modelos de Freundlich, Langmuir y Dubinin-Radushkevich.

Parámetros	Analito			
	TC	CT	OT	DT
<b>Freundlich</b>				
1/n	0.4441	0.2895	0.6720	0.4984
R <sup>2</sup>	0.9454	0.8864	0.9654	0.9635
<b>Langmuir</b>				
qm (mmol g <sup>-1</sup> )	7.3206	7.1788	8.7108	6.8399
R <sup>2</sup>	0.9728	0.9744	0.9393	0.9744
<b>Dubinin-Radushkevich</b>				
ε (kJ mol <sup>-1</sup> )	12.9099	15.0756	10.4257	11.7851
R <sup>2</sup>	0.9613	0.9084	0.9525	0.9713

## 4.4. Remoción mediante remoción en fase sólida magnética

### 4.4.1. Efecto de pH de remoción

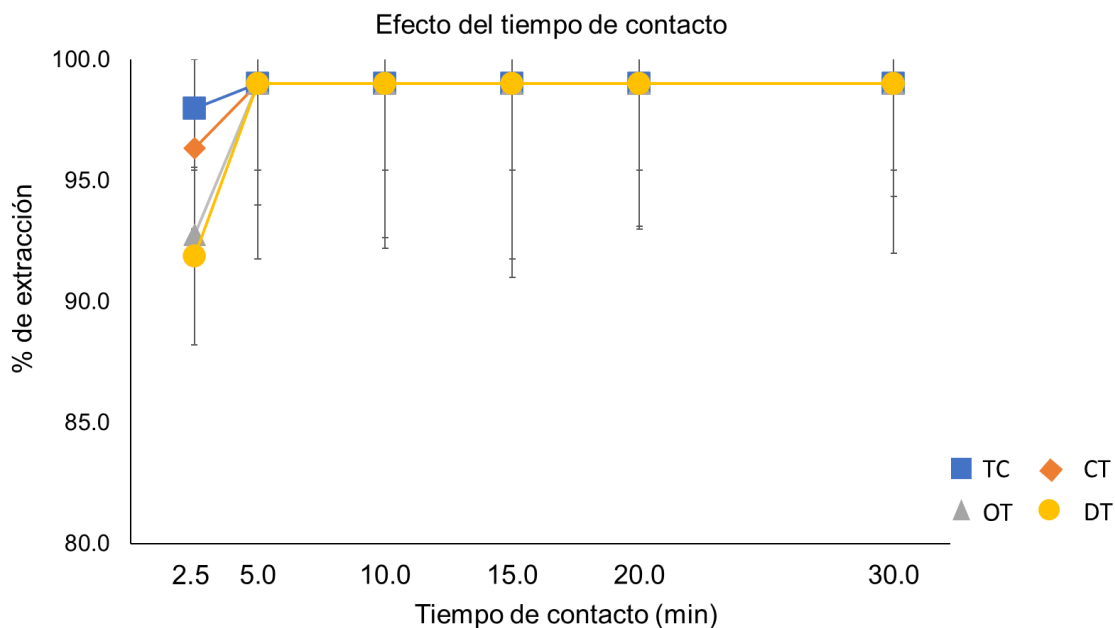
El efecto del pH en un sistema de remoción desempeña un papel importante ya que, dependiendo del intervalo, la naturaleza de los analitos y/o adsorbente pueden cambiar. Las TC's cuentan con tres constantes de disociación alrededor de 3, 7 y 9, adquiriendo cargas negativas a mayores valores de pH. Por su parte, a valores de pH básicos, la cantidad de iones OH<sup>-</sup> es mayor, lo que pudiera ocasionar una saturación en los sitios activos de unión del adsorbente. En este sentido, se evaluó un intervalo de 4-12 con la finalidad de estudiar el modo de interacción entre el sistema LDH y los analitos de interés en función de sus propiedades fisicoquímicas. De acuerdo a los datos obtenidos, la Figura 22, muestra que, a pH ácidos, el porcentaje de remoción presentó una disminución despreciable con un valor promedio de 95.4% debido a la posible descomposición laminar del sistema LDH, misma que conforme a la bibliografía, esta se suele producir a valores cercanos a pH=3 (Zhou et al. 2016). Por otro lado, a valores de pH entre 6 y 12, la remoción se mantiene constante, alcanzando porcentajes de remoción  $\geq 99.0\%$ . Teniendo en cuenta este comportamiento, se seleccionó como pH de remoción de 6, ya que involucra un menor tratamiento de muestra.



**Figura 22.** Evaluación del efecto del pH en la remoción de TC's.

#### 4.4.2. Tiempo de contacto

Le cinética de adsorción fue evaluada mediante la variación del tiempo de contacto, en un intervalo de 2.5-30 min. De acuerdo a los resultados obtenidos, la Figura 23 muestra porcentajes de remoción  $\geq 99.0\%$  para las cuatro TC's de interés con tiempos de contacto  $\geq 5$  min, mientras que cuando se aplica 2.5 min como tiempo de contacto la remoción de los analitos de interés muestra una ligera heterogeneidad con porcentajes de remoción de 91.9 a 98.0%. Por esta razón, se seleccionó como óptimo 5 min de dispersión, siendo el menor tiempo de tratamiento de análisis con el mayor porcentaje de remoción.



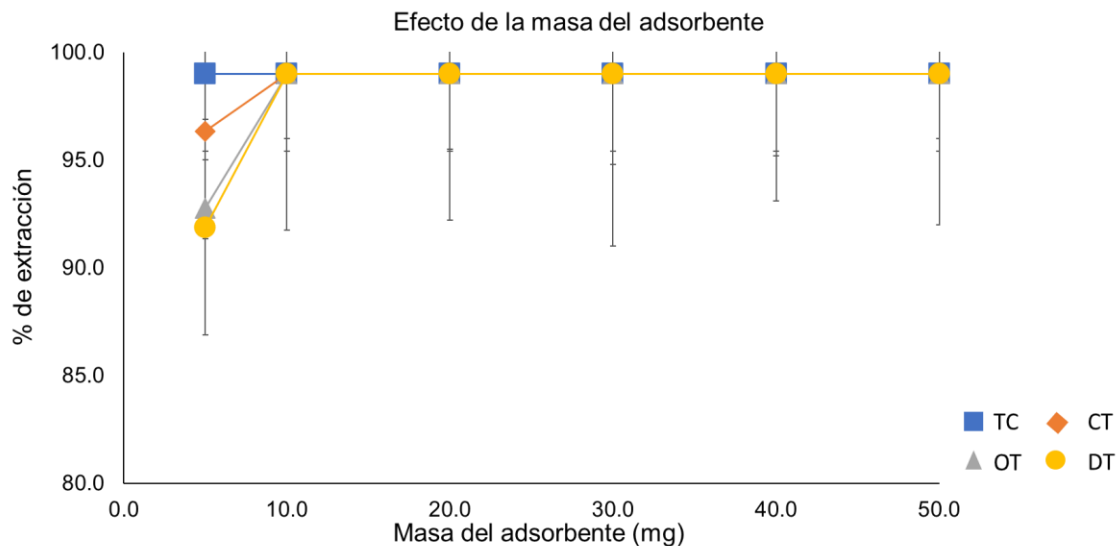
**Figura 23.** Evaluación del efecto del tiempo de contacto en la remoción de TC's.



#### 4.4.3. Masa del adsorbente

El número de sitios activos disponibles para el proceso de remoción depende en gran parte de la masa de adsorbente. Con este motivo, se estudió la influencia en la cantidad de adsorbente, para ello se establecieron cantidades de adsorbente de 5.0-50.0 mg.

Conforme la figura 24, se muestran porcentajes de remoción de 91.9- 99.0% cuando se emplea una cantidad de 5.0 mg de adsorbente, mientras que en cantidades iguales o superiores a 10.0 mg se tiene una remoción homogénea en el sistema con porcentajes de remoción del 99.0% en todos los casos. Por lo cual se establece una cantidad de 10.0 mg de adsorbente en los experimentos subsecuentes, puesto que a pesar de emplear una cantidad baja de adsorbente se garantizó el mejor porcentaje de remoción de forma homogénea.

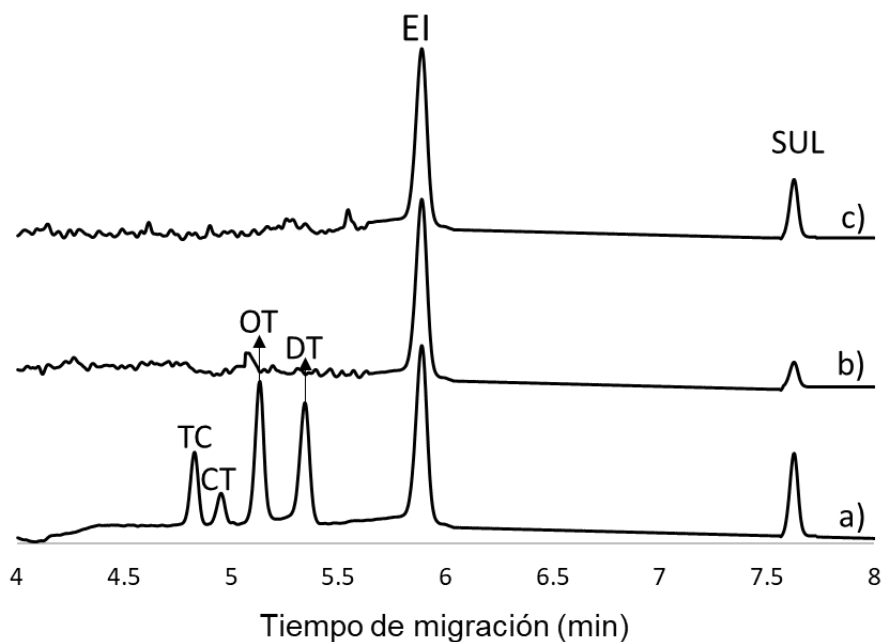


**Figura 24.** Evaluación del efecto de la masa del adsorbente en la remoción de TC's.

#### 4.4.4. Análisis de interferentes

Una gran variedad de alimentos como la leche son considerados como muestras complejas, debido a su composición la cual conlleva la presencia de múltiples interferentes que pudieran competir con los analitos de interés por los sitios activos del adsorbente. En este sentido, se evaluó en el proceso de retención de las TC's en presencia de sulfametoxazol (SUL) y norfloxacino (NOR), compuestos que al igual que las TC's suelen ser empleados como promotores de crecimiento. Los interferentes fueron evaluados a concentraciones de 5.0-100.0 mg L<sup>-1</sup> en presencia de TC's a 5.0 mg L<sup>-1</sup>, en muestras dopadas de leche y analizadas mediante SPE-CE.

Conforme los datos obtenidos, la sensibilidad analítica para el NOR es muy baja y por lo tanto no se aprecia en el electroferograma (Figura 25a). La figura 25b y 25c, corresponde a la evaluación de interferentes a una concentración de 5.0 y 100.0 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, en ellas se puede observar la remoción que el proceso de remoción para las TC's de interés no es afectado por la presencia de interferentes, manteniendo porcentajes de remoción  $\geq 99.0\%$  en todos los casos de las TC's, Por otra parte, fue posible apreciar que existe una disminución en la señal de SUL, lo cual indica una elevada selectividad hacia las TC's, favoreciendo su remoción.

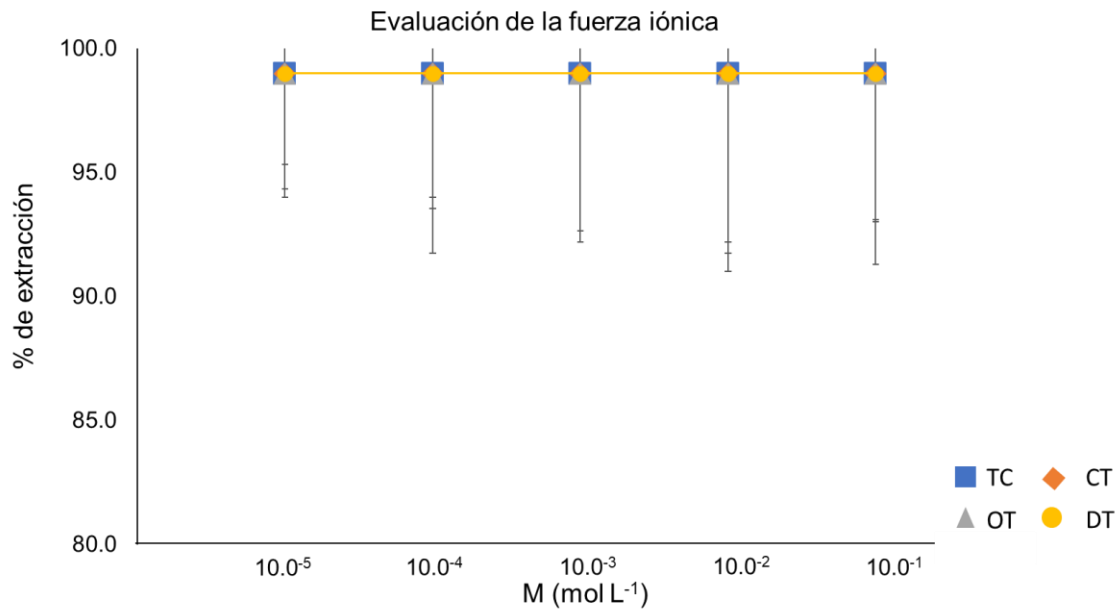


**Figura 25.** Electroferogramas correspondientes a la evaluación de interferentes. a) Muestra dopada con TC's a 5.0 mg L<sup>-1</sup>, SUL a 20.0 mg L<sup>-1</sup> y NOR a 20.0 mg L<sup>-1</sup>. b) Muestra dopada con TC's a 5.0 mg L<sup>-1</sup>, SUL a 5.0 mg L<sup>-1</sup> y NOR a 5.0 mg L<sup>-1</sup> después de aplicar el método MSPE-CE. c) Muestra dopada con TC's a 5.0 mg L<sup>-1</sup>, SUL a 100.0 mg L<sup>-1</sup> y NOR a 100.0 mg L<sup>-1</sup> después de aplicar el método MSPE-CE.

#### 4.4.4.1. Fuerza iónica

Por otra parte, componentes como sales en leche es uno de los principales constituyentes, encontrándose en concentraciones de  $24.2-30.2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Estos contenidos de sales pueden jugar un papel importante durante el proceso de remoción ya que estos pueden obstruir la interacción analito-adsorbente o favorecer la transferencia de masa de la solución al adsorbente. En este sentido, se evaluó el efecto de la fuerza iónica en el intervalo de  $10^{-5} - 1.0 \text{ M}$  de concentración de Cl<sup>-</sup>. De acuerdo a los resultados, se obtuvieron porcentajes de remoción de  $\geq 99.0\%$  en el intervalo de concentración de  $10^{-5} - 10^{-1} \text{ M}$ . Por su parte, al evaluar la concentración de 1.0 M se debió afectada la movilidad electroforética, debido a la viscosidad del sistema, imposibilitando su cuantificación. Sin embargo, con el

intervalo estudiado, se puede determinar que el porcentaje de remoción de TC's no se ve afectado en muestras de en leche cuya fuerza iónica va de  $2.4 \times 10^{-4}$  -  $3 \times 10^{-4}$ .



**Figura 26.** Evaluación del efecto de la fuerza iónica en la remoción de TC's.

#### 4.5. Aplicación en muestras de leche

Para comprobar la efectividad de la metodología desarrollada en la remoción de TC's, se analizaron quince muestras de leches comerciales de distintos tipos y marcas, entre las que se encuentran. deslactosada, entera, adicionada en proteínas, light, descremada y semidescremada.

En una primera instancia, con la finalidad de encontrar TC's cada muestra fue analizada mediante SPE-LVSS-CE. Las señales analíticas se calcularon por medio de interpolación en la curva de calibrado del sistema de acuerdo a la metodología desarrollada.

En la Tabla 2 se muestran las concentraciones de muestras positivas a tetraciclina y oxitetraciclina.

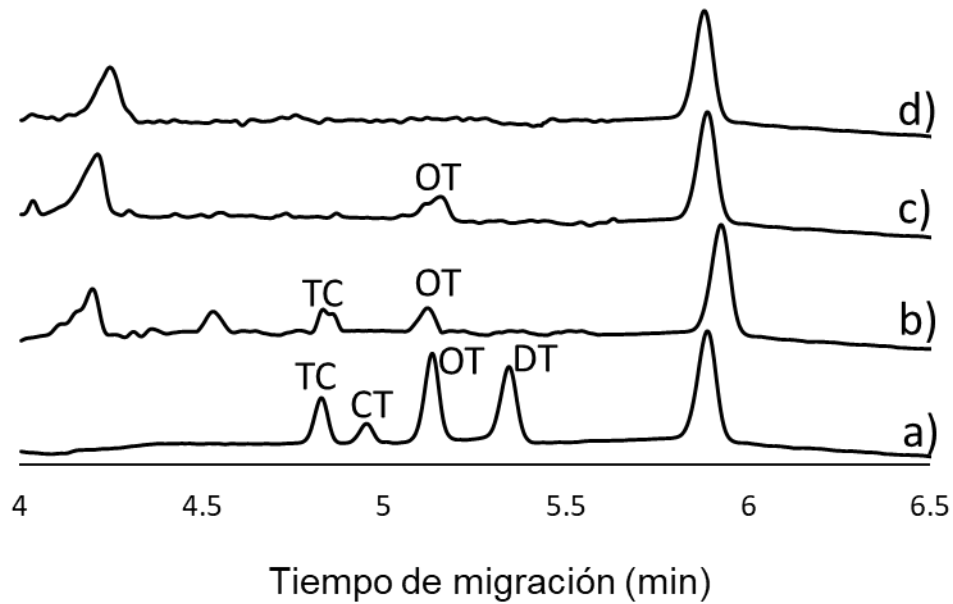
**Tabla 3.** Concentración de TC's para muestras positivas.

Muestras positivas	TC (%RSD)	CT	OT (%RSD)	DT
1	28.0 (4.7) $\mu\text{g L}^{-1}$	-	37.6 (8.5) $\mu\text{g L}^{-1}$	-
2	-	-	41.6 (5.0) $\mu\text{g L}^{-1}$	-
3	-	-	54.7 (5.7) $\mu\text{g L}^{-1}$	-

Posteriormente, la metodología desarrollada, bajo las condiciones óptimas, fue aplicada para la remoción de TC's mediante la adición directa del adsorbente  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO}_2\text{-LDH(Mg/Al-SDS)}$  en muestras de leche positivas y analizadas mediante LVSS-CE.

Conforme a los resultados obtenidos, se puede observar que las concentraciones contenidas en algunas leches comerciales se encuentran en el intervalo de 28.0-54.7  $\mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 27b-c). Así mismo, al aplicar la metodología desarrollada, es posible apreciar que las concentraciones de las TC's se encuentran por debajo de

límites establecidos por organizaciones internacionales ( $100.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Figura 27d), comprobando así la efectividad de la metodología.



**Figura 27.** Electroferogramas correspondientes a: a) Muestra dopada con TC's  $50.0 \mu\text{g L}^{-1}$ , b) Muestra positiva para TC y OT, (c) muestra positiva para OT y d) Muestra de leche después de la aplicación de la metodología MSPE-SPE-LVSS-CE.



# Conclusiones

## 5. Conclusiones

El desarrollo de la metodología propuesta, la cual se basa en la síntesis de partículas LDH de naturaleza Mg/Al-SDS con propiedades magnéticas, bajo las condiciones óptimas, demostró ser una técnica eficaz para la remoción de tetraciclinas en muestras de leche, con porcentajes de remoción de hasta >99.0%.

El tiempo de síntesis influye en la formación de los LDH y a su vez, su formación repercute en la remoción de TC's, alcanzando porcentajes de extracción de 54.3% DT, 78.0% OT, 82.0% TC y >95.0% CT con tiempos de síntesis de 90 min, empleando un LDH de proporciones 3.0: 1.0 Mg/Al-CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>.

El efecto de variar las proporciones Mg/Al en el sistema LDH contribuye a la remoción de TC's. Cuando existe una mayor proporción de Mg<sup>2+</sup> (7.0:1.0), la remoción de TC's es favorecida, alcanzando porcentajes de remoción de >99.0%.

La especie aniónica que se encuentra en la intercapa influye sobre los porcentajes de extracción, ya que aniones de mayor tamaño incrementan la longitud de la intercapa, facilitando la remoción de TC's, con porcentajes de de  $\geq 99.0\%$  para todas las TC's cuando la especie aniónica es SDS<sup>-</sup>.

A través de la caracterización del adsorbente se pudo confirmar la composición de un sistema LDH Mg/Al con intercapa de SDS<sup>-</sup>. La espectroscopía infrarroja se pudieron comprobar la presencia de grupos funcionales y/o enlaces propios del adsorbente, -CH<sub>3</sub>, -C-H-, -S-O, característicos del SDS, Si-O-C, Si-O-Si, Si-O-Fe, propios de la sílice, y Metal-O que se atribuyen a la presencia de la magnetita mediante el enlace Fe-O y de los enlaces Mg-O y Al-O que corresponden a los componentes del LDH. Mediante el análisis termogravimétrico se apreció la estabilidad del adsorbente, misma que es óptima en la remoción de TC's en muestras de leche comercial. A través de la microscopía electrónica de barrido se mostró una superficie lisa, misma que es consistente con morfologías de la bibliografía para LDH Mg/Al-SDS.



En el proceso de encontrar las mejores condiciones para MSPE, los mejores resultados fueron 10.0 mg de adsorbente, tiempo de contacto de 5 min y pH de remoción de 6. Estas condiciones proveen tiempos de análisis de cortos y bajos costos de reactivos, lo que favorece un mayor número de muestras que se pueden analizar, alcanzando porcentajes de extracción de >99.0%.

La metodología desarrollada para la remoción de TC's empleando el adsorbente magnético Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SiO-LDH (Mg/Al-SDS) cuenta con ventajas como la aplicación directa en muestras de leche, así como una menor manipulación de muestra alcanzando a remover concentraciones de TC's en el orden de µg L<sup>-1</sup>, mismas que están por debajo a los MLR establecidos por algunas organizaciones internacionales.



# Perspectivas

El adsorbente desarrollado  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SiO-LDH}$  (Mg/Al-SDS) ha demostrado ser viable en la remoción de tetraciclinas en muestras de leche bajo las condiciones optimizadas, no obstante, el presente trabajo pudiera ampliar sus resultados.

Respecto al sistema LDH, se estudiaron las variaciones que las proporciones de los metales Mg/Al producían en la remoción de tetraciclinas, en contraste, no se evaluó el efecto de variar las concentraciones del anión de intercapa, por lo que se pudieran plantear estas condiciones y conocer el efecto que producen.

El comportamiento de adsorción fue determinado mediante el isoterma de adsorción, sin embargo, estas no contemplaban la variación de la temperatura, por lo que, en un futuro se pudiera incluir este parámetro para conocer más a fondo, si el proceso de adsorción se trata de una quimisorción, o de una fisisorción.

Con la finalidad de tener la seguridad que la adsorción de las tetraciclinas en el adsorbente desarrollado no es afectada por las proteínas presentes en la leche, se pudiera plantear el análisis de una muestra blanco después del proceso de adsorción.



# **Bibliografía**

## 6. Referencias

- Abdolmohammad**, H., Rezvani, Z., Sadeghi, G. H., Zorufi, E. (2011). Layered double hydroxides: a novel nano-sorbent for solid-phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, 685(2), 212-219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.11.035>
- Aguilar**, K., Rodriguez, J. A., Barrado, E. (2010). Magnetic solids in analytical chemistry: a review. *Analytica Chimica Acta*, 674(2), 157-165. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.06.043>
- Agwuh**, K. N., MacGowan, A. (2006). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(2), 256-265. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkl224>
- Ahmed**, A. A. A., Talib, Z. A., Hussein, M. Z. (2015). Influence of sodium dodecyl sulfate concentration on the photocatalytic activity and dielectric properties of intercalated sodium dodecyl sulfate into Zn-Cd-Al layered double hydroxide. *Materials Research Bulletin*, 62, 122-131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.11.026>
- Aisawa**, S., Ohnuma, Y., Hirose, K., Takahashi, S., Hirahara, H., Narita, E. (2005). Intercalation of nucleotides into layered double hydroxides by ion-exchange reaction. *Applied Clay Science*, 28(1-4), 137-145. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Clay.2004.01.008>
- An**, Z., Zhang, W., Shi, H., He, J. (2006). An effective heterogeneous L-proline catalyst for the asymmetric aldol reaction using anionic Clays as intercalated support. *Journal of Catalysis*, 241(2), 319-327. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2006.04.035>
- Arias**, S., González, J. F., Sousa, L. V., Barbosa, C. B., Silva, A. O. S., Frety, R., Pacheco, J. G. (2021). Influence of Ni/Al ratio on the fast pyrolysis of myristic acid when adsorbed on unsupported mixed oxides derived from layered double hydroxides. *Catalysis Today*, 381, 181-191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.07.028>
- Asadpour**, K., Amini, R. (2017). Nanostructured hexacyanoferrate intercalated Ni/Al layered double hydroxide modified electrode as a sensitive electrochemical

- sensor for paracetamol determination. *Electroanalysis*, 29(2), 635-642. DOI: <https://doi.org/10.1002/elan.201600175>
- Azevedo**, Victor dos Santos (2018). Extração em fase sólida dispersiva para a determinação de cromo (VI) em água utilizando hidróxidos duplos lamelares intercalados com aminoácidos como adsorventes. <https://locus.ufv.br//handle/123456789/21586>
- Baig**, N., Sajid, M. (2017). Applications of layered double hydroxides based electrochemical sensors for determination of environmental pollutants: A review. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 16, 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2017.10.003>
- Brodersen**, D. E., Clemons, W. M., Carter, A. P., Morgan-Warren, R. J., Wimberly, B. T., Ramakrishnan, V. (2000). The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell*, 103(7), 1143-1154. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00216-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00216-6)
- Bukhtiyarova**, M. V. (2019). A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides. *Journal of Solid State Chemistry*, 269, 494-506. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2018.10.018>
- Chuang**, Y. H., Tzou, Y. M., Wang, M. K., Liu, C. H., Chiang, P. N. (2008). Removal of 2-chlorophenol from aqueous solution by Mg/Al layered double hydroxide (LDH) and modified LDH. *Industrial y Engineering Chemistry Research*, 47(11), 3813-3819. DOI: <https://doi.org/10.1021/ie071508e>
- Constantino**, V. R., y Pinnavaia, T. J. (1995). Basic properties of  $Mg^{2+}$   $1-xAl^{3+}$   $x$  layered double hydroxides intercalated by carbonate, hydroxide, chloride, and sulfate anions. *Inorganic Chemistry*, 34(4), 883-892. DOI: <https://doi.org/10.1021/ic00108a020>
- Conterosito**, E., Gianotti, V., Palin, L., Boccaleri, E., Viterbo, D., Milanesio, M. (2018). Facile preparation methods of hydrotalcite layered materials and their structural characterization by combined techniques. *Inorganica Chimica Acta*, 470, 36-50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.08.007>

- Du, L., Wang, X., Liu, T., Li, J., Wang, J., Gao, M., Wang, H. (2019).** Magnetic solid-phase extraction of organophosphorus pesticides from fruit juices using NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@ polydopamine@ Mg/Al-layered double hydroxides nanocomposites as an adsorbent. *Microchemical Journal*, 150, 104128-104140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104128>
- Fioramonti, C.M., Gomes E. T. (2015).** Determination of tetracyclines in bovine and human urine using a graphite-polyurethane composite electrode. *Analytical Letters*, 48(9), 1454-1464. DOI: <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.984194>
- Fluit, A. C., Visser, M. R., Schmitz, F. J. (2001).** Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 836-871. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.14.4.836-871.2001>
- Forano, C., Hibino, T., Leroux, F., Taviot, C. (2006).** Layered double hydroxides. *Developments in Clay Science*, 1, 1021-1095. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1572-4352\(05\)01039-1](https://doi.org/10.1016/S1572-4352(05)01039-1)
- Goh, K. H., Lim, T. T., y Dong, Z. (2008).** Application of layered double hydroxides for removal of oxyanions: a review. *Water Research*, 42(6-7), 1343-1368. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.043>
- Golub, L. M., Lee, H. M., Ryan, M. E., Giannobile, W. V., Payne, J., Sorsa, T. (1998).** Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Advances in Dental Research*, 12(1), 12-26. DOI: <https://doi.org/10.1177/08959374980120010501>
- Grover, A., Mohiuddin, I., Malik, A. K., Aulakh, J. S., Kukkar, D., Kim, K. H. (2021).** Chitosan-Ni/Fe layered double hydroxide composites as an efficient solid phase extraction sorbent for HPLC-PDA monitoring of parabens in personal care products. *Chemosphere*, 264, 128429-128444. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128429>
- Harstad, R. K., Johnson, A. C., Weisenberger, M. M., Bowser, M. T. (2016).** Capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 88(1), 299-319. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04125>

- He, J., Wei, M., Li, B., Kang, Y., Evans, D. G., Duan, X. (2006).** Preparation of layered double hydroxides. *Layered Double Hydroxides*, 119, 89-119. DOI: [https://doi.org/10.1007/430\\_006](https://doi.org/10.1007/430_006)
- Hofmeister, W., Platen, H. V. (1992).** Crystal chemistry and atomic order in brucite-related double-layer structures. *Crystallography Reviews*, 3(1), 3-26. DOI: <https://doi.org/10.1080/08893119208032964>
- Huang, P. P., Cao, C. Y., Wei, F., Sun, Y. B., Song, W. G. (2015).** MgAl layered double hydroxides with chloride and carbonate ions as interlayer anions for removal of arsenic and fluoride ions in water. *Rsc Advances*, 5(14), 10412-10417. DOI: <https://doi.org/10.1039/C4RA15160G>
- Hutchings, M. I., Truman, A. W., Wilkinson, B. (2019).** Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- Ibarra, I. S., Rodriguez, J. A., Miranda, J. M., Vega, M., Barrado, E. (2011).** Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1218(16), 2196-2202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.046>
- Isacco, G., Vlamidis, Y., Lorenzo, M., Elisa, M., Marco, G., Meganne, C., Domenica, T. (2019).** Ni/Al Layered Double Hydroxide and Carbon Nanomaterial composites for Glucose Sensing. *ACS Applied Nano Materials*, 2(1), 143-155. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsanm.8b01765>
- Islas, G., Rodriguez, J. A., Perez, I., Miranda, J. M., Ibarra, I. S. (2018).** Solid-phase extraction and large-volume sample stacking-capillary electrophoresis for determination of tetracycline residues in milk. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/5394527>
- Jijoe, P. S., Yashas, S. R., Shivaraju, H. P. (2021).** Fundamentals, synthesis, characterization and environmental applications of layered double hydroxides: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(3), 2643-2661. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01200-3>



- Karim**, A. V., Hassani, A., Eghbali, P., Nidheesh, P. V. (2022). Nanostructured modified layered double hydroxides (LDHs)-based catalysts: a review on synthesis, characterization, and applications in water remediation by advanced oxidation processes. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 26(1), 181-191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2021.100965>
- Klein**, N. C., Cunha, B. A. (1995). Tetracyclines. *The Medical Clinics of North America*, 79(4), 789-801. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(16\)30039-6](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)30039-6)
- Lambs**, L., Brion, M., Berthon, G. (1985). Metal ion-tetracycline interactions in biological fluids. Part 4. Potential influence of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> ions on the bioavailability of chlortetracycline and demethylchlortetracycline, as expected from their computer-simulated distributions in blood plasma. *Inorganica Chimica Acta*, 106(3), 151-158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)87551-9](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)87551-9)
- Liu**, X., Zhang, L., Gao, X., Guan, C., Hu, Y., Wang, J. (2019). Enlarged interlayer spacing in cobalt-manganese layered double hydroxide guiding transformation to layered structure for high supercapacitance. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(26), 23236-23243. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.9b05564>
- Ma**, J., Yang, M., Chen, Q., Zhang, S., Cheng, H., Wang, S., Chen, Z. (2017). Comparative study of Keggin-type polyoxometalate pillared layered double hydroxides via two synthetic routes: Characterization and catalytic behavior in green epoxidation of cyclohexene. *Applied Clay Science*, 150, 210-216. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Clay.2017.09.030>
- Mallakpour**, S., Hatami, M. (2017). Condensation polymer/layered double hydroxide NCs: preparation, characterization, and utilizations. *European Polymer Journal*, 90, 273-300. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.03.015>
- Mills, S. J.**, Christy, A. G., Génin, J. M., Kameda, T., Colombo, F. (2012). Nomenclature of the hydrotalcite supergroup: natural layered double hydroxides. *Mineralogical Magazine*, 76(5), 1289-1336. DOI: <https://doi.org/10.1180/minmag.2012.076.5.10>
- Mishra**, G., Dash, B., Pandey, S. (2018). Layered double hydroxides: A brief review from fundamentals to application as evolving biomaterials. *Applied Clay Science*, 153, 172-186. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Clay.2017.12.021>

- Mohapatra**, L., Parida, K. (2016). A review on the recent progress, challenges and perspective of layered double hydroxides as promising photocatalysts. *Journal of Materials Chemistry A*, 4(28), 10744-10766. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6TA01668E>
- Mohr**, K. I. (2016). History of antibiotics research. *How to Overcome the Antibiotic Crisis: Facts, Challenges, Technologies and Future Perspectives*, 237-272. DOI: [https://doi.org/10.1007/82\\_2016\\_499](https://doi.org/10.1007/82_2016_499)
- Nelson**, M. L., Park, B. H., Andrews, J. S., Georgian, V. A., Thomas, R. C., Levy, S. B. (1993). Inhibition of the tetracycline efflux antiport protein by 13-thio-substituted 5-hydroxy-6-deoxytetracyclines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36(3), 370-377. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm00055a008>
- Ni**, F., Wang, Y., Zhang, D., Gao, F., Li, M. (2010). Electrochemical oxidation of epinephrine and uric acid at a layered double hydroxide film modified glassy carbon electrode and its application. *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, 22(10), 1130-1135. DOI: <https://doi.org/10.1002/elan.200900530>
- Orth**, P., Saenger, W., Hinrichs, W. (1999). Tetracycline-chelated Mg<sup>2+</sup> ion initiates helix unwinding in Tet repressor induction. *Biochemistry*, 38(1), 191-198. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi9816610>
- Ping-kay**, H., Wai-Kwong, F. (1991). Identification of tetracyclines by second-derivative ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, 116(7), 751-752. DOI: <https://doi.org/10.1039/AN9911600751>
- Pizzoferrato**, R., Richetta, M. (2020). Layered double hydroxides (LDHs). *Crystals*, 10(12), 1121-1124. DOI: <https://doi.org/10.3390/cryst10121121>
- Rajabi**, M., Arghavani-Beydokhti, S., Barfi, B., Asghari, A. (2017). Dissolvable layered double hydroxide as an efficient nanosorbent for centrifugeless air-agitated dispersive solid-phase extraction of potentially toxic metal ions from biofluid samples. *Analytica Chimica Acta*, 957, 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.12.041>
- Ravelo**, L. M., Herrera, A. V., Hernández, J., Rodríguez, M. Á. (2010). Carbon nanotubes: solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1217(16),

2618-2641. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.10.083>

- Ren, J., Zhu, Z., Qiu, Y., Yu, F., Ma, J., Zhao, J.** (2021). Magnetic field assisted adsorption of pollutants from an aqueous solution: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 408, 124846-124857. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124846>
- Rusu, A., Buta, E. L.** (2021). The development of third-generation tetracycline antibiotics and new perspectives. *Pharmaceutics*, 13(12), 2085-2115. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122085>
- Šafařík, I., Šafaříková, M.** (2002). Detection of low concentrations of malachite green and crystal violet in water. *Water Research*, 36(1), 196-200. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00243-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00243-3)
- Šafaříková, M., Šafařík, I.** (1999). Magnetic solid-phase extraction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194(1-3), 108-112. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-8853\(98\)00566-6](https://doi.org/10.1016/S0304-8853(98)00566-6)
- Sarfraz, M., Shakir, I.** (2017). Recent advances in layered double hydroxides as electrode materials for high-performance electrochemical energy storage devices. *Journal of Energy Storage*, 13, 103-122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.est.2017.06.011>
- Shao, M., Zhang, R., Li, Z., Wei, M., Evans, D. G., Duan, X.** (2015). Layered double hydroxides toward electrochemical energy storage and conversion: design, synthesis and applications. *Chemical Communications*, 51(88), 15880-15893. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5CC07296D>
- Shichi, T., Takagi, K., Sawaki, Y.** (1996). Stereoselectivity control of [2+ 2] photocycloaddition by changing site distances of hydrotalcite interlayers. *Chemical Communications*, (17), 2027-2028. DOI: <https://doi.org/10.1039/CC9960002027>
- Shirin, V. A., Sankar, R., Johnson, A. P., Gangadharappa, H. V., Pramod, K.** (2021). Advanced drug delivery applications of layered double hydroxide. *Journal of Controlled Release*, 330, 398-426. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.12.041>

- Smilack**, J. D. (1999). The tetracyclines. *In Mayo Clinic Proceedings*, 74, 727-729. DOI: <https://doi.org/10.4065/74.7.727>
- Soltani**, R., Shahvar, A., Dinari, M., Saraji, M. (2018). Environmentally-friendly and ultrasonic-assisted preparation of two-dimensional ultrathin Ni/Co-NO<sub>3</sub> layered double hydroxide nanosheet for micro solid-phase extraction of phenolic acids from fruit juices. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 395-401. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.07.031>
- Takagi**, K., Shichi, T., Usami, H., Sawaki, Y. (1993). Controlled photocycloaddition of unsaturated carboxylates intercalated in hydrotalcite Clay interlayers. *Journal of the American Chemical Society*, 115(10), 4339-4344. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja00063a060>
- Takehira**, K. (2017). Recent development of layered double hydroxide-derived catalysts— Rehydration, reconstitution, and supporting, aiming at commercial application-. *Applied Clay Science*, 136, 112-141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Clay.2016.11.012>
- Tamura**, H., Chiba, J., Ito, M., Takeda, T., Kikkawa, S. (2004). Synthesis and characterization of hydrotalcite-ATP intercalates. *Solid State Ionics*, 172(1-4), 607-609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ssi.2004.04.035>
- Tang**, S., Chia, G. H., Chang, Y., Lee, H. K. (2014). Automated dispersive solid-phase extraction using dissolvable Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-layered double hydroxide core-shell microspheres as sorbent. *Analytical Chemistry*, 86(22), 11070-11076. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac503323e>
- Taviot**, C., Prévot, V., Forano, C., Renaudin, G., Mousty, C., Leroux, F. (2018). Tailoring hybrid layered double hydroxides for the development of innovative applications. *Advanced Functional Materials*, 28(27), 1703868-1703901. DOI: <https://doi.org/10.1002/adfm.201703868>
- Theiss**, F. L., Ayoko, G. A., Frost, R. L. (2016). Synthesis of layered double hydroxides containing Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Al<sup>3+</sup> layer cations by co-precipitation methods—A review. *Applied Surface Science*, 383, 200-213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.04.150>

- Tian, R., Liang, R., Wei, M., Evans, D. G., Duan, X. (2017).** Applications of layered double hydroxide materials: recent advances and perspective. *50 Years of Structure and Bonding-The Anniversary Volume*, 172 65-84. DOI: [https://doi.org/10.1007/430\\_2015\\_205](https://doi.org/10.1007/430_2015_205)
- Tronto, J., Crepaldi, E. L., Pavan, P. C., Cipriano, C., Valim, J. B. (2001).** Organic anions of pharmaceutical interest intercalated in magnesium aluminum LDHs by two different methods. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 356(1), 227-237. DOI: <https://doi.org/10.1080/10587250108023703>
- Vaccari, A. (2002).** Book Review: Layered double hydroxides: present and future. V. Rives (Ed.), *Nova Science Publishers, Inc., New York, 2001, IX+ 439 pp., ISBN 1-59033-060-9. Applied Clay Science*, 22(1), 75-76.
- Vasconcelos, I., Fernandes, C. (2017).** Magnetic solid phase extraction for determination of drugs in biological matrices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 89, 41-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.11.011>
- Vithanage, M., Ashiq, A., Ramanayaka, S., Bhatnagar, A. (2020).** Implications of layered double hydroxides assembled biochar composite in adsorptive removal of contaminants: Current status and future perspectives. *Science of The Total Environment*, 737, 139718-139766. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139718>
- Wörmeyer, K., M. Alnaief, I. Smirnova. (2012).** Amino functionalised Silica-Aerogels for CO<sub>2</sub>-adsorption at low partial pressure. *Adsorption*, 18, 163-171. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10450-012-9390-6>
- Wu, P., Wu, T., He, W., Sun, L., Li, Y., Sun, D. (2013).** Adsorption properties of dodecylsulfate-intercalated layered double hydroxide for various dyes in water. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 436, 726-731. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.colsurfa.2013.08.015>
- Xu, Z. P., Zhang, J., Adebajo, M. O., Zhang, H., Zhou, C. (2011).** Catalytic applications of layered double hydroxides and derivatives. *Applied Clay Science*, 53(2), 139-150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.Clay.2011.02.007>
- Yamaura, M., Camilo, R.L., Sampaio, L.C., Macedo, M.A., Nakamura M., Toma, H.E. (2004).** Preparation and characterization of (3-aminopropyl) triethoxysilane-

- coated magnetite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 279, 210-217. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2004.01.094>
- Yang**, Z., Wang, F., Zhang, C., Zeng, G., Tan, X., Yu, Z., Cui, F. (2016). Utilization of LDH-based materials as potential adsorbents and photocatalysts for the decontamination of dyes wastewater: a review. *RSC Advances*, 6(83), 79415-79436. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6RA12727D>
- Yavuz**, C. T., Prakash, A., Mayo, J. T., Colvin, V. L. (2009). Magnetic separations: from steel plants to biotechnology. *Chemical Engineering Science*, 64(10), 2510-2521. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2008.11.018>
- Yavuz**, H., Denizli, A., Güngüneş, H., Safarikova, M., Safarik, I. (2006). Biosorption of mercury on magnetically modified yeast cells. *Separation and Purification Technology*, 52(2), 253-260. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.05.001>
- Zhang**, K., Xu, Z. P., Lu, J., Tang, Z. Y., Zhao, H. J., Good, D. A., Wei, M. Q. (2014). Potential for layered double hydroxides-based, innovative drug delivery systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(5), 7409-7428. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms15057409>
- Zhao**, Y., Jia, X., Waterhouse, G. I., Wu, L. Z., Tung, C. H., O'Hare, D., Zhang, T. (2016). Layered double hydroxide nanostructured photocatalysts for renewable energy production. *Advanced Energy Materials*, 6(6), 1501974-1501994. DOI: <https://doi.org/10.1002/aenm.201501974>
- Zhitova**, E. S., Krivovichev, S. V., Pekov, I. V., Yakovenchuk, V. N., Pakhomovsky, Y. A. (2016). Correlation between the d-value and the  $M^{2+}$ :  $M^{3+}$  cation ratio in Mg-Al- $CO_3$  layered double hydroxides. *Applied Clay Science*, 130, 2-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.Clay.2016.01.031>
- Zhitova**, E. S., Krivovichev, S. V., Pekov, I., Greenwell, H. C. (2019). Crystal chemistry of natural layered double hydroxides. 5. Single-crystal structure refinement of hydrotalcite,  $[Mg_6Al_2(OH)_{16}](CO_3)(H_2O)_4$ . *Mineralogical Magazine*, 83(2), 269-280. DOI: <https://doi.org/10.1180/mgm.2018.145>
- Zhou**, Q., Lei, M., Li, J., Zhao, K., & Liu, Y. (2016). Determination of 1-naphthol and 2-naphthol from environmental waters by magnetic solid phase extraction with Fe@MgAl-layered double hydroxides nanoparticles as the adsorbents prior to

high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1441, 1-7.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.02.061>

**Zou**, Y., Wang, X., Wu, F., Yu, S., Hu, Y. Song, W. (2017). Controllable synthesis of Ca-Mg-Al layered double hydroxides and calcined layered double oxides for the efficient removal of U (VI) from wastewater solutions. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 5(1), 1173-1185. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02550>

