



Universitat
de les Illes Balears

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

DESARROLLO DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIHALOMETANOS (THMS) EN MUESTRAS DE AGUA MEDIANTE UN DISPOSITIVO IMPRESO EN 3D PARA EXTRACCIÓN IN SITU Y CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

Héctor David Berdugo Barrios

Máster Universitario en Ciencia y Tecnología Química

(Especialidad/Itinerario en Química y Tecnologías Ambientales)

Centro de Estudios de Postgrado

Año Académico 2021-22

**DESARROLLO DE UN MÉTODO ANALÍTICO PARA
LA DETERMINACIÓN DE TRIHALOMETANOS
(THMS) EN MUESTRAS DE AGUA MEDIANTE UN
DISPOSITIVO IMPRESO EN 3D PARA EXTRACCIÓN
IN SITU Y CROMATOGRAFÍA DE GASES CON
DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES**

Héctor David Berdugo Barrios

Trabajo de Fin de Máster

Centro de Estudios de Postgrado

Universidad de las Illes Balears

Año Académico 2021-22

Palabras clave del trabajo: Trihalometanos, Extracción in-situ, GC-EDC, Impresión 3D

Nombre Tutor: Dr. Edwin Palacio

Índice

Contenido

AGRADECIMIENTOS	5
RESUMEN.....	8
CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	9
• <i>Contaminación ambiental por subproductos de desinfección</i>	9
• <i>Trihalometanos (THMs)</i>	10
• <i>Usos y peligros</i>	10
• <i>Normativa Vigente</i>	12
• <i>Métodos de análisis de los THMs</i>	13
• <i>Preparación de muestra para la determinación de THMs</i>	14
• <i>Extracción en fase sólida</i>	16
• <i>Separación y detección de THMs</i>	18
• <i>Detector de captura de electrones (ECD)</i>	19
• <i>Tecnología de impresión 3D</i>	20
• <i>Objetivos</i>	22
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
2.1. <i>Materiales y Reactivos</i>	23
2.2. <i>Equipos e instrumentos</i>	23
2.3. <i>Procedimientos</i>	24
2.3.1. <i>Fabricación y funcionalización de los dispositivos 3D</i>	24
2.3.2. <i>Preparación de curvas de calibración</i>	25
2.3.3. <i>Técnicas de extracción y preconcentración</i>	25
2.4. <i>Instrumentación y configuración en cromatografía de gases</i>	27
2.5. <i>Toma y preparación de muestras</i>	27
2.6. <i>Determinación de las figuras analíticas de mérito</i>	27
CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSION	29
3.1. <i>Selección del disolvente orgánico</i>	29
3.2. <i>Optimización de parámetros instrumentales</i>	30
3.3. <i>Selección de resina de extracción</i>	31
3.4. <i>Diseño y funcionalización del dispositivo 3D</i>	32
3.5. <i>Extracción y preconcentración con dispositivo 3D</i>	33
3.5.1. <i>Optimización de SPE estático sin agitación</i>	35
3.5.2. <i>SPE dinámico en tubo</i>	40

3.6. Validación analítica del método	41
3.7. Aplicación a muestras reales	43
CAPITULO 4. CONCLUSIONES.....	46
Referencias bibliográficas	47

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, agradecer a Dios por traerme hasta aquí y permitir el día de hoy finalizar con éxito esta maravillosa experiencia. Además, me gustaría mostrar mi más sincero agradecimiento:

En primer lugar, al doctor Edwin Palacio, por su labor como tutor en este trabajo de fin de máster durante la que ha demostrado no solo un gran conocimiento, sino también una comprensión y empatía sin las que el trabajo no hubiera sido posible. Muchas gracias por sus enseñanzas, su amabilidad, colaboración, su apoyo y por guiarme siempre que lo necesitaba durante este camino

A la Fundación Carolina, quienes a través de la Beca Fundación Carolina – Agenda 2030 me brindaron la maravillosa oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en ciencias con todo el apoyo y acompañamiento necesario. Igualmente, a la Agencia Estatal de Investigación por el apoyo financiero para la ejecución del proyecto (ref.: PID2019-107604RB-I00/MCIN/AEI/10.13039/501100011033)

A la doctora Laura Ferrer por su ánimo constante, su apoyo, acompañamiento, amabilidad, empatía y por siempre tener una sonrisa. Mil gracias

A la doctora Trinidad García quien a través de sus conocimientos y disposición en el área de cromatografía de los servicios científico técnico de la UIB ha sido de vital importancia para la realización de este trabajo.

A los servicios científico-técnico de la UIB, en especial a los encargados del área de microscopia electrónica, gracias por su amabilidad y compromiso.

Al señor Francisco Campos de la Estación Depuradora de Aguas Residuales de Calvià (CALVIÀ 2000) por su disposición y recibirnos en sus instalaciones.

A mis amados padres, gracias a ustedes por apoyarme siempre en la realización de mis sueños, gracias por haber inculcado en mí bonitos valores siempre, son mi motor en todo lo que hago día a día. A mi hermano Oscar y mis sobrinos, gracias por su constante apoyo, por sacarme una sonrisa y llenarme de orgullo aún en la distancia. Y al resto de mi familia (tías, tíos, primos ...) por su maravilloso apoyo siempre, ya que sin su ayuda no estaría aquí.

A todas las personas que integran el Grupo de Investigación en Química Analítica Ambiental de la UIB, por su grata acogida, su apoyo, su conocimiento y su guía, gracias a Alejandra, Brenda, Andreu, Daniela, Cesar, Mabel, Esteban y en especial, al hermano que me dejó la investigación, Diego. Ha sido maravilloso compartir este camino de aprendizaje con ustedes.

A mis amigos Sebastián, Manuela y Valentina, gracias por siempre estar allí para mí, por su disposición y por los maravillosos momentos que compartimos, los quiero.

A mis amigos del Máster en Ciencia y Tecnología Química: José, Daniel, Francisco, Sebastián y Virginia, por todos los momentos compartidos, las bonitas experiencias, risas y aprendizajes compartidos en el Máster, los llevare siempre en el corazón.

Gracias Mallorca, Gracias UIB.

INDICE DE ABREVIATURAS

BDCM	Bromodiclorometano
DBCM	Dibromoclorometano
DBPs	Subproductos de desinfección
DLLME	Microextracción líquida-líquida dispersiva
DLP	Impresión láser digital
DMPS	Dimetilpolisiloxano
ECD	Detector de captura de electrones
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
EE	Eficiencia de extracción
EF	Factor de enriquecimiento
FMD	Modelado por deposición fundida
GC	Cromatografía de gases
GV	Valores guías según la WHO
HAAs	Ácidos haloacéticos
HALs	Haloaldehídos
HANs	Haloacetosnitrilos
HF-LPME	Microextracción líquida con fibra hueca
HKTs	Halocetonas
HS	Extracción por headspace o espacio de cabeza
IARC	Agencia internacional para la investigación sobre el cáncer
ICH	Conferencia Internacional de Armonización
IS	Estándar interno
I-THMS	Iodo trihalometanos
IUPAC	Unión internacional de Química pura y aplicada
LLE	Extracción líquido-líquido
LOD	Límite de detección
LOM	Fabricación de objetos laminados
LOQ	Límite de cuantificación
MCL	Nivel máximo de contaminante
MS	Detector de masas
MTBE	Metil ter-butil éter
NOM	Materia orgánica natural
P&T	Purga y trampa
PLA	Termoplástico ácido poliláctico
ppb	Parte por billón
ppt	Parte por trillón
RR	Recuperación relativa
RSD	Desviación estándar relativa
SDME	Microextracción en una gota
SEM	Microscopía electrónica de barrido
SLA	Estereolitografía
SLS	Sinterización selectiva por láser
SPE	Extracción en fase sólida

SPME	Microextracción en fase solida
TBM	Tribromometano o bromoformo
TCM	Triclorometano o cloroformo
TDI	Ingesta diaria tolerable
THMs	Trihalometanos
TTHMs	Trihalometanos totales
US EPA	Agencia estadounidense de protección ambiental
UV	Ultravioleta
WHO	Organización mundial de la salud
1,2-DBP	1,2-Dibromopropano

RESUMEN

Por definición, los trihalometanos (THMs) son compuestos orgánicos que contienen un carbono, un hidrogeno y tres átomos de un halógeno, estos son los mayores subproductos de desinfección encontrados en aguas después del proceso desinfección con cloro. Son formados a partir de la reacción del desinfectante con la materia orgánica presente en las aguas. El aumento en el uso de agua regenerada y la presencia de estos compuestos como contaminantes emergentes en el tratamiento de aguas, ha traído consigo el desarrollo nuevas regulaciones para el control de estos compuestos en aguas debido a los efectos adversos que ellos pueden causar en el ser humano. Por esta razón, se necesitan métodos analíticos que permitan una determinación rápida, simple, precisa de los THMs.

En este trabajo de fin de Máster, se presenta el desarrollo de un método analítico que emplea como etapa de tratamiento de la muestra, la extracción en fase solida (SPE), con un dispositivo impreso en 3D funcionalizado, y la cromatografía de gases acoplada con un detector de captura de electrones (GC-ECD) como técnica de detección para determinar THMs en aguas. El método de SPE convencional fue evaluado con tres resinas comerciales (C18, DSC-18 y SDB-1) los mejores resultados de recuperación fueron alcanzados con SDB-1 en un rango de 98 – 105%. Se llevo a cabo la fabricación y funcionalización con SDB-1 de un dispositivo 3D, el dispositivo fue puesto a prueba con tres variantes de SPE: estático con agitación, estático sin agitación y dinámico, mostrando recuperaciones de 57 – 99%; 43 - 86% y 7 – 17% respectivamente.

Para la SPE estática sin agitación, parámetros como: tiempo de elución, volumen de eluyente, tiempo de extracción y reutilización de dispositivos 3D fueron evaluados mediante un análisis univariable. La extracción y preconcentración se realizó simultáneamente utilizando 2,5 mL de metil ter-butil éter (MTBE) como eluyente, con un tiempo de extracción de 30 min. Los LODs estuvieron en un rango de 0,016 – 0,048 ppb, se obtuvieron recuperaciones de entre 71 al 109% y factores de enriquecimiento (EF) en un rango de 16,4 – 23,6. Además, los resultados obtenidos presentaron buena linealidad ($R^2 \geq 0,9984$) en un rango de 0,25 a 100 ppb. La precisión intra e interdía expresada como desviación estándar relativa ($n = 3$) vario entre 1,8 – 4,1% y entre 3,3 – 9,3 % respectivamente.

Finalmente, el método propuesto fue evaluado y validado in-situ mediante pruebas de adición/recuperación en agua de grifo y agua regenerada procedente del tratamiento terciario de una EDAR, encontrando concentraciones totales de THMs de 78,1 ppb y 34,1 ppb respectivamente. No se determinaron interferencias cuando se analizaron ambas matrices y buenos porcentajes de recuperaciones relativas promedio fueron obtenidas de 69 – 117% para las muestras procedentes del tratamiento terciario de la EDAR y entre 76 – 103% para el agua de grifo.

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

- *Contaminación ambiental por subproductos de desinfección*

Preservar el ciclo del agua ha sido considerado uno de los retos más importantes a lo largo del tiempo, cada día que pasa los recursos hídricos renovables son más limitados, esto se ve de manera más común en zonas áridas en las cuales el uso de agua regenerada es cada vez más una solución prometedora para suplir la demanda de agua de diversas actividades humanas. Con el fin de garantizar una calidad de agua estricta y que permita ser utilizada para diversos propósitos es necesario que, dentro de los procesos de tratamiento, tanto para agua potable como regenerada, se incluya el paso de desinfección.

La desinfección del agua es utilizada especialmente para disminuir la actividad microbiológica mediante la inactivación de patógenos que pueden causar efectos indeseados sobre la salud humana[1]. Debido a su efectividad y economía, el cloro es el desinfectante más usado en los procesos de desinfección, generalmente es aplicado en dos pasos, el primer paso es esencial para la inactivación de microorganismos y el segundo paso va centrado en asegurar una concentración residual que impida que estos microorganismos vuelvan a crecer [2], [3]. Aunque el proceso de desinfección cumple un rol importante en el aseguramiento de la calidad del agua, se ha encontrado que sustancias indeseadas se pueden formar durante este proceso de desinfección, estas sustancias son conocidas como subproductos de la desinfección (DBPs) [4]. Los DBPs son productos indeseados formados a partir de la reacción del desinfectante utilizado, debido a su alto poder oxidante, con compuestos presentes en el agua tales como materia orgánica natural (NOM), compuestos inorgánicos (iones haluro) y componentes antropogénicos [1][5]. Aunque los DBPs se encuentren en su mayoría en aguas sometidas a procesos de desinfección, también se puede llegar a dar el caso de encontrar DBPs en fuentes de agua dulce o subterráneas, esto debido a posible infiltración de agua clorada utilizada para riego, fugas de sistemas de distribución de aguas y alcantarillado, o derrames industriales entre otros [6]. En la mayoría de los casos el origen de los DBPs es atribuido a causas antropogénicas. Sin embargo, para el caso del cloroformo en particular, se ha determinado que aproximadamente el 90% de su flujo en el medio ambiente se debe a fuentes de origen natural, en las que destacan: emisiones volcánicas, fuentes geológicas, el agua de mar y hongos[6]–[8].

El estudio de los DBPs data de aproximadamente la década de los 70s cuando se encontró que a partir de la cloración del agua se podían formar subproductos potencialmente peligrosos, en específico se determinó la producción de trihalometanos a partir de las reacciones del cloro con la materia orgánica natural. Posteriormente, los efectos carcinogénicos fueron puestos a prueba en ensayos con animales solo pocos años después de su descubrimiento . Todo esto suscito una creciente investigación sobre estos compuestos lo que conllevó a un descubrimiento de alrededor de más de 700 DBPs según lo que se conoce hasta hoy en día, los cuales tienen una alta diversidad en sus propiedades fisicoquímicas, dentro de las clases de DBPs estudiadas se encuentran los trihalometanos (THMs), ácidos haloacéticos (HAAs), haloacetonitrilos (HANs), halocetonas (HKTs), haloaldehídos (HALs) y iodo-trihalometanos (I-THMs) [1].

- *Trihalometanos (THMs)*

Dentro de los DBPs los más comunes son los THMs y los HAAs, estas dos familias son utilizadas como marcadores en aguas [4]. Los THMs son un grupo de compuestos orgánicos volátiles conformados por un átomo de hidrogeno, un carbono y tres halógenos, siendo su fórmula general es CHX_3 , constituyen la mayor clase de DBPs, fueron descubiertos en agua potable por primera vez en la década de los 70 por Rook et al. Los halógenos que componen al grupo de los THMs son cloro o bromo, ya sea de manera independiente o una combinación de ellos. Los THMs comúnmente encontrados en aguas cloradas son: cloroformo (TCM), bromodiclorometano (BDCM), dibromoclorometano (DBCM) y bromoformo (TBM), la sumatoria de las concentraciones de estos cuatro compuestos encontrados en una muestra de agua se conoce como trihalometanos totales (TTHMs)[6] [9].

En la tabla 1, podemos observar algunas de las características fisicoquímicas de los THMs, el mecanismo de formación de los THMs ha sido investigado a lo largo de estos años y aunque la ruta de reacción no está del todo estipulada, principalmente debido a las variaciones químicas de la NOM, los factores que afectan directamente a la formación y degradación de los THMs son la temperatura, el pH, la cantidad de NOM, concentración de desinfectante, concentración de bromuros y tiempo de contacto del desinfectante[5] [6].

Tabla 1. propiedades fisicoquímicas de los THMs

Analito	Formula molecular	Punto de ebullición (°C)	Peso molecular	Solubilidad en agua (ppm)
TCM	$CHCl_3$	61,18	119,38	$7,95 \times 10^3$
BDCM	$CHBrCl_2$	87	163,83	$1,29 \times 10^3$
DBCM	$CHBr_2Cl$	134	208,29	$2,7 \times 10^3$
TBM	$CHBr_3$	149,21	252,75	$3,1 \times 10^3$

- *Usos y peligros*

Dentro de la familia de los THMs, el TCM es de los compuestos más comunes presente en diversas matrices de agua. Como agente químico, su uso principal se destina a la producción de fluorocarbonos para refrigerantes y una pequeña parte de la producción global se utiliza para fines de investigación, empleado principalmente como disolvente o extractante. Por su parte, los THMs que contienen bromo en su estructura son utilizados principalmente como disolventes para grasas, ceras, resinas y materiales retardantes de flama[10][11],

Aunque hay diversas actividades antropogénicas, asociadas con los THMs las rutas de ingreso o formación de los THMs al medioambiente son en principalmente debido a sus precursores naturales, en especial de la materia orgánica natural (NOM). Debido al

importante uso de las aguas tratadas en la vida diaria, la exposición de los humanos a los THMs es un factor de riesgo apreciable, por tanto, desde su descubrimiento las investigaciones de estos compuestos no solo se centraron en el análisis e identificación en las diversas matrices de aguas, sino que se extendieron a los posibles problemas adversos relacionados con la salud humana. Solo un par de años después de la primera evidencia de la formación de los THMs en aguas se determinó que el riesgo potencial de los DBPs asociados a efectos cancerígenos, de desarrollo y de reproducción es elevado [6][12][13][14],

Por su parte, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) a través de pruebas experimentales en animales determinó que tanto TCM como BDCM debían ser clasificados en el grupo 2B de acuerdo con sus parámetros debido a sus posibles efectos carcinogénicos en humanos, mientras que por su parte DBCM y TBM se ubicaron en el grupo 3 debido a la limitada evidencia de carcinogenicidad en los experimentos con animales, por tanto no se puede clasificar en cuanto a su potencial cancerígeno en humanos[6][15].

Investigaciones posteriores han demostrado que la exposición prolongada a los cuatro THMs están estrechamente relacionados con problemas respiratorios, efectos reproductivos, cáncer de vejiga y colon [16] [17]. También se han reportado estudios epidemiológicos donde se asocia la exposición a THMs, a través de las aguas de consumo humano, a efectos directos sobre abortos espontáneos, retardo del crecimiento y efectos natales [18] [19]. Adicionalmente, se presume que los THMs pueden causar trastornos hepáticos, nefrotóxicos y teratogénicos; además de daño en el ADN en especial aquellos THMs que contienen bromo en su estructura. Un estudio determinó que el ranking del potencial de daño al ADN causado por los THMs sigue el orden BDCM>DBCM>TBM>TCM [20], [21],

La mayor parte de los experimentos iniciales con animales para establecer el potencial mutagénico, carcinogénico y citotóxico de los THMs concluyó que, de los tipos de cáncer observados en el estudio, el que se presentaba con mayor frecuencia era el cáncer de hígado. Sin embargo, con el paso del tiempo estudios epidemiológicos observados en humanos han evidenciado que el tipo de cáncer más frecuente correlacionado con los THMs es el de vejiga[22] . En el caso de la experimentación con animales la ruta de exposición principal fue la ingestión[23]. A través de estudios realizados por Villanueva et al, enuncia que comparado con otros países de la Unión Europea el nivel de los cuatro THMs en agua potable en España es alto, solo superado por las concentraciones encontradas en estudios realizados en Portugal, además de atribuir relación entre estas concentraciones de THMs y un porcentaje de los casos de cáncer de vejiga [22].

Como bien se dijo anteriormente, la exposición de los humanos a los THMs es un factor de riesgo evidente, puesto que cada día existe un contacto directo o indirecto con el agua tratada y desinfectada, especialmente mediante cloración. Se ha demostrado que además de la ingestión, otras rutas potenciales de exposición a los THMs es la absorción mediante contacto directo con la piel y las vías respiratorias, además indirectamente estudios actuales se han centrado en determinar si el uso de aguas regeneradas en el área de agricultura puede ser una ruta de exposición a los DBPs[24].

En España se han venido desarrollando investigaciones con el fin de entender todo lo relacionado con los THMs. Un estudio realizado por Font-Ribera et al. en cuatro zonas de España evidencio altas concentraciones de THMs en piscinas exteriores, además concluyen que rutas de exposición a los THMs como la piel y la inhalación son tan o más importantes que la ingestión. A su vez la misma autora reafirma en un estudio posterior que las principales fuentes de exposición a los THMs en niños se da por el agua de uso recreativo (piscina) y el agua de la ducha[25] [26].

- *Normativa Vigente*

Debido a los estudios relacionados con los efectos adversos de este conjunto de compuestos y su clasificación como potencial carcinógeno se ha visto la necesidad de establecer en un control riguroso, debido a que la desinfección y el tratamiento de aguas es esencial. Solo pasaron un par de años posterior a la identificación de los THMs para que en 1979 la US Environmental Protection Agency (USEPA) definiera e introdujera por primera vez los niveles máximos de contaminantes (MCL) para los THMs, en este año se estipulaba que una concentración aceptable de TTHMs sería de 100 ppb para agua potable, con el avance tecnológico y luego de las diversas investigaciones que surgieron y el creciente interés científico sobre todos los efectos adversos y rutas de exposición, este valor fue modificado y se pasó a un valor límite de 80 ppb para TTHMs [6] [24] [27].

Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud (WHO por sus siglas en inglés) estableció en 1984 en su primera edición de *"Guidelines for Drinking-water Quality"*, el valor base recomendado como límite máximo para el TCM en agua potable, este valor fue de 300 ppb, los otros tres THMs no fueron legislados en ese momento debido a falta de información detallada sobre el comportamiento de estos. Tiempo después en 1993 con datos suficientes para el estudio de todos los cuatros THMs establecieron valores individuales para cada uno de estos compuestos[28], el valor guía para el TCM fue modificado en 1998 cuando todos los valores guías se expresaron en base a la ingesta diaria tolerable (TDI) la cual se define según la WHO como:

"una estimación de la cantidad de una sustancia en agua potable o alimento que puede ser ingerida a lo largo de la vida" [28].

Los valores guías finales establecidos por la WHO para el control de los THMs en agua potable se pueden observar en la tabla 2. En el mismo año (1998) que se fijaron los valores de la WHO en base al TDI, el Consejo de la Unión Europea fijaba mediante la Directiva 98/83/CE (relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano) los valores límites para el TTHMs, por otro lado el 16 de diciembre de 2020 entro en vigor la Directiva (UE) 2020/2184 del Parlamento Europeo y del Consejo, en la cual, a pesar de presentar modificaciones en algunos puntos, el valor límite para los TTHMs con respecto a la Directiva 98/83/CE sigue siendo el mismo [24][29][30]. En lo que respecta a España específicamente en el año 2003, el 7 de febrero se expide el Real Decreto 140/2003 en el cual los criterios de calidad para el agua potable fueron establecidos, dentro de estos criterios se fijó el valor aceptable para TTHMs presentes en aguas de consumo humano, en el cual se fijó un valor inicial (150 ppb) que luego

cambiaría para el año 2009 [31]. En la tabla 2 se puede observar una comparativa entre las diversas legislaciones vigentes para el control de THMs en agua potable, como podemos evidenciar la única legislación que fija valores individuales es la estipulada por la WHO, sin embargo, es de vital importancia la cuantificación individual de cada uno de los THMs puesto que no todos presentan el mismo grado de toxicidad. El control de los THMs en agua potable es un tema que cuenta con legislación vigente, por lo tanto, es de obligatorio cumplimiento. Por otro lado, matrices de agua diferentes a consumo humano (agua de uso recreativo, agua regenerada, etc.) aún no establecen una legislación específicamente para estos compuestos.

Tabla 2. Valores guías recomendados por la WHO y valores límites máximos (MCL) establecidos por las diversas entidades para el control de THMs en agua potable

<i>Analito</i>	<i>MCL US EPA TTHMs (ppb)</i>	<i>Valor TDI WHO (ppb)</i>	<i>MCL Directiva 98/83/CE TTHMs (ppb)</i>	<i>MCL RD 140/2003 TTHMs (ppb)</i>
<i>TCM</i>		200		
<i>BDCM</i>	80	60	100	100
<i>DBCm</i>		100		
<i>TBM</i>		100		

- *Métodos de análisis de los THMs*

La importancia de realizar análisis de los THMs radica principalmente debido a los efectos tóxicos que estos pueden causar si su presencia en matrices como el agua no es controlada. Dicho esto, los métodos de análisis empleados deben brindar resultados confiables, ser simples, rápidos, precisos y altamente reproducibles, pero a su vez económicos. Además, debido a las diferencias en la toxicidad de cada uno de los compuestos y para garantizar información más adecuada que luego puede ser empleada para entender mejor su formación y remoción en sistemas de tratamiento[6], se hace necesario contar con un método que permita la identificación y cuantificación no solo de TTHMs en general sino de cada uno de los THMs de manera independiente.

Los THMs son compuestos orgánicos volátiles, por tanto y en base a esta propiedad el método de análisis más empleado para la separación, identificación y cuantificación son los basados en cromatografía de gases [6]. A su vez, aunque en menor medida, se han empleado métodos colorimétricos y espectrofotométricos basados en modificaciones de la reacción de Fujiwara*[32] con el objetivo de abaratar los costos que supone utilizar instrumentos avanzados como los empleados en cromatografía y por otro lado para tener la posibilidad de medir directamente estos analitos in-situ en un solo paso. Aunque estos objetivos son logrados, la desventaja de este tipo de métodos es que solamente mide la cantidad de TCM, sin embargo, hay casos en donde se mide el TTHM, pero de igual manera no se alcanza a observar información independiente para cada uno de los THMs, adicionalmente, los LODs alcanzados son muy altos [32]–[34].

*La reacción de Fujiwara fue denominada de este modo debido a su creador Kyoyetsuro Fujiwara en 1914, el principio resumido de la reacción es que al mezclar TCM con piridina y NaOH se forma un compuesto coloreado.[32]

- *Preparación de muestra para la determinación de THMs*

La preparación o pretratamiento de la muestra, es uno de los pasos claves en una técnica de análisis, puesto que de este depende muchas de las características analíticas del método. De acuerdo con los máximos niveles contaminantes para agua potable establecidos por las distintas legislaciones vigentes (Tabla 2) se espera que la determinación de los THMs se lleve a cabo a niveles trazas y ultratrazas.

Por tanto, con el objetivo de alcanzar estos niveles se requiere implementar métodos de extracción/preconcentración. Dentro de los más comunes se encuentran la extracción líquido-líquido (LLE), purga y trampa (P&T), técnicas de espacio de cabeza estático (HS), microextracción en fase sólida (SPME) [6] [35] [36]. Por otra parte, distintas técnicas para el tratamiento de muestras en este tipo de analitos han venido ganando terreno en los últimos años como extracción en fase sólida (SPE), técnicas de microextracción en fase líquida como: microextracción en una gota (SDME), microextracción líquida-líquida dispersiva (DLLME), microextracción con fibra hueca (HF-LPME), esto debido a que en comparación con las técnicas comunes: LLE, P&T y HS, conducen a cumplir en gran medida con los principios de la química verde, además suelen tener ciertas ventajas entre las que destacan rapidez, economía, fiabilidad entre otras [6] [36].

La EPA dentro de sus recomendaciones, ha propuesto la utilización de LLE y P&T como métodos normalizados. LLE es una técnica que se basa en la afinidad de los analitos por disolventes orgánicos, es sencilla, robusta y económica, sin embargo, requiere el uso de grandes volúmenes orgánicos, una alta manipulación de la muestra antes de la extracción, susceptible a interferencias por el disolvente y es una técnica en la que por lo general se emplea mucho tiempo [6][37][38]. Por estas desventajas los estudios actuales se han centrado en técnicas de microextracción en fase líquida como SDME, DLLME y HF-LPME, en estas técnicas se reduce en gran manera la cantidad de muestra y de disolvente utilizado, en comparación con la LLE tradicional. Sin embargo, estas técnicas por su naturaleza también traen consigo pequeñas desventajas que las hacen menos atractivas, por ejemplo, en el caso de la SDME esta se basa en el mismo principio de extracción de LLE solo que la fase orgánica es una gota que se encuentra suspendida y en contacto con la muestra, por tanto, la eficiencia de extracción está condicionada por la capacidad de la gota que por lo general proporciona una capacidad baja, además se ha evidenciado que es una técnica muy poco reproducible [6][38]. Por su parte la DLLME, aunque prometedora, es una técnica que es difícil de automatizar y la manipulación de la muestra es muy alta, recordemos que cuando hay demasiada manipulación de la muestra la posibilidad de que sucedan pérdidas de analitos, cambios en la matriz y contaminación cruzada son muy altas [6], [39][40]. Por último, la HF-LPME parece ser la técnica por excelencia para suplir las deficiencias de la LLE sin embargo es una técnica que se encuentra en creciente estudio y que es muy difícil de automatizar por lo visto hasta el momento, esta se basa en la interacción de una fibra semipermeable con la muestra, que contiene en su interior el disolvente, sirviendo como interfaz entre la solución donadora(muestra) y la solución aceptora (disolvente) [4][6][38][41].

Como una mejora a las técnicas de extracción líquido-líquido, surgieron las técnicas que popularmente se conocen como libres de disolvente (solvent-free) estas fueron pensadas con el fin de ir direccionando las técnicas analíticas a los principios de la química verde, dentro de estas técnicas se encuentran P&T, HS y SPME. P&T es la segunda técnica más empleada seguida de la LLE esto debido a la naturaleza de los THMs, ya que por su volatilidad es una técnica que ofrece una sensibilidad adecuada, a pesar de obtener unos resultados apreciables con esta técnica. La instrumentación necesaria para llevarla a cabo es demasiado costosa y los tiempos de análisis son extensos [6]. Otra de las técnicas la cual está ganando importancia en los últimos años son las basadas en HS estático, el principio de funcionamiento de la HS está fundamentado en el principio de equilibrio termodinámico y la partición del analito en pasar de la fase líquida a la fase gaseosa, es una técnica simple, reproducible, la manipulación de la muestra es nula, sin embargo requiere de instrumentos avanzados, en especial de un inyector PTV para llegar a resultados comparables con los otros métodos además los límites de detección tienden a ser mayores en comparación a alguno de los métodos anteriormente mencionados. Finalmente SPME ha venido en auge ya que elimina alguna de las desventajas de las técnicas de extracción libre de solvente comúnmente empleadas, el principio de funcionamiento de esta técnica se basa en la partición de los analitos entre la matriz y una fibra polimérica, parte esencial de esta técnica radica en la selección de la fibra adecuada, es una técnica sencilla, económica y se puede automatizar sin dificultad alguna, sin embargo su reproducibilidad es baja, por otro lado se necesita de una optimización rigurosa para que los resultados puedan estar dentro del rango esperado [6], [38], [40]–[44]. En lo que respecta a los THMs se han llevado a cabo muchos estudios en los cuales se han empleado la variedad de técnicas de extracción/preconcentración, la tabla 3 muestra un resumen de algunos estudios realizados a lo largo de estos años.

Tabla 3. Determinación de THMs in muestras de agua potable utilizando las técnicas más comunes de extracción/preconcentración

Método	Tiempo de extracción (min)	Tiempo de análisis (min)	LOD (ppb)	Recuperación relativa (%)	RSD (%)	Ref.
LLE-GC-MS	3	35,3	0,01 - 0,03	110,5 – 125,5	< 37,9	[45]
SDME-GC-ECD	10	27	0,23 - 0,45	108,8 – 112	< 11,3	[46]
HF-LPME-GC-ECD	30	34	0,01 - 0,035	89 – 103	< 10	[4]
DLLME-GC-ECD	2	18	0,02 - 0,96	79,9 – 103,4	< 11,4	[40]
HS-GC-ECD	34	20	0,03 – 0,06	89 – 103	< 19,6	[44]
SPME-GC-MS	30	20	0,01 – 0,3	83 – 122	< 19	[41]

- *Extracción en fase solida*

Uno de los métodos de extracción/preconcentración más antiguos, es el método de extracción en fase solida (SPE), sus inicios datan a finales de los 70s y surgió como alternativa a mejorar los puntos débiles que se evidenciaban con la LLE, desde sus orígenes ha sido una de las técnicas más poderosas en el campo de la química analítica ambiental [48]. Se fundamenta en el mismo principio de una cromatografía líquida, SPE utiliza un cartucho empacado con pequeñas partículas sólidas por el cual pasa se hace pasar la muestra y se separa los compuestos de interés mediante los procesos de partición o distribución química. Las partículas sólidas dentro de los cartuchos SPE deben ser de un material adsorbente, ya que de esto depende la extracción o preconcentración de los analitos objetivos, por tanto, la retención de estos en la fase solida depende de la naturaleza del material sorbente utilizado, esta adsorción se lleva a cabo a través de las fuerzas de Van der Waals o por interacciones hidrofóbicas[49], [50] [51].

La similitud de SPE con LLE radica en que ambas técnicas emplean una partición de analitos entre dos fases, en la LLE esta partición se da entre dos líquidos inmiscibles y en SPE se da entre un líquido que viene siendo la matriz que contiene los analitos y una fase sólida. Los pasos que se llevan a cabo en una SPE típica se ven resumidas en la figura 1, en la cual se puede observar que el primer paso es un acondicionamiento de la fase sólida, aquí se hace pasar una alícuota del disolvente seleccionado de acuerdo con la naturaleza de la fase sólida y al objetivo que se desee conseguir, y una alícuota del mismo disolvente que contiene los analitos de interés. El segundo paso consiste en hacer pasar la muestra a través de la fase sólida, por lo general en este paso los analitos son retenidos, el tercer paso es un lavado con un disolvente apropiado, el cual es opcional y se suele realizar cuando se trabaja con muestras complejas y así eliminar posibles interferentes que tengan una baja fuerza de elución, por último, se da la elución de los analitos retenidos en la fase solida mediante un disolvente apropiado previamente seleccionado[50].

Dentro de las ventajas que se pueden evidenciar en SPE tenemos que al utilizar esta técnica podemos (i) disminuir el uso de disolventes orgánicos en cantidades razonablemente menores que los empleados en LLE, (ii) eliminar analitos que puedan interferir en la determinación, (iii) obtener un factor de preconcentración elevado, alcanzando niveles de detección desde ppb hasta ppt, (iv) alcanzar recuperaciones elevadas, debido al amplio número de fases estacionarias comerciales. Las alternativas para un gran número de analitos son mayores, por tanto, la selectividad de los analitos de interés es elevada, algunas especies de interés pueden ser retenidas y almacenadas en la fase solida por varias horas [48], [50].

Por otro lado, la desventaja de esta técnica de extracción radica en la necesidad de emplear equipos colectores de vacío para la recolección del eluato, dificultando la portabilidad del método. Además, se requiere un paso de filtración para esas muestras con material sólido suspendido o particulado lo que pueda traer consigo pérdidas de algunos analitos [48], [50], [52].

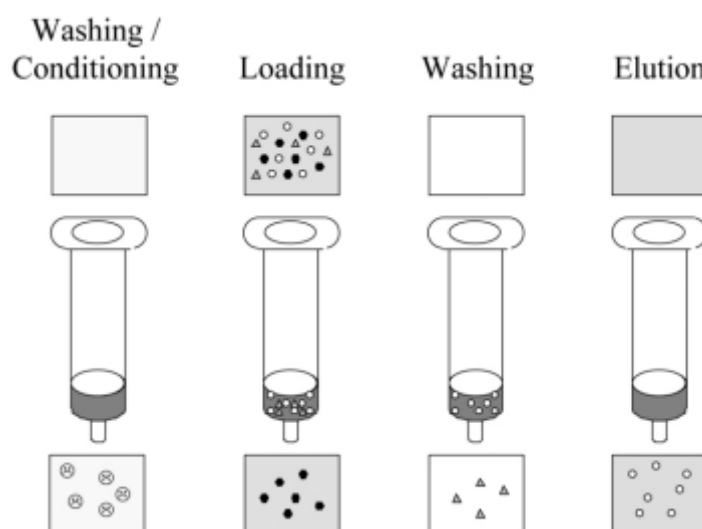


Figura 1. Procedimiento resumido de una extracción en fase sólida típica SPE.[50]

Los puntos más importantes para el desarrollo metodológico de una SPE se pueden resumir en dos pasos, el primero es la selección de la fase sólida adecuada y el segundo la optimización de los parámetros esenciales del método. Dentro de las fases sólidas más comunes se encuentran las inorgánicas: Silica gel y C18-Silica gel y las orgánicas: poliestireno-divinilbenzeno, polímeros de poliácridato, polímeros de polietileno, carbón activado, polímeros de polietileno, entre otros. Los parámetros esenciales por optimizar son: volumen de muestra, velocidad de flujo de la muestra, pH de la muestra, naturaleza del disolvente, pH de disolvente, modo de elución, velocidad de flujo del disolvente y volumen de disolvente[50], [53].

A pesar de sus ventajas apreciables, muy pocas investigaciones se han llevado a cabo que tengan SPE como técnica para extracción/preconcentración de los THMs en aguas, debido a que un empleo exitoso de esta técnica depende en gran medida de la optimización de esta, lo que comprende una tarea de investigación exhaustiva y no tan simple. Generalmente se ha empleado esta técnica con el fin de estudiar y monitorizar a los precursores de los THMs, sin embargo, se han encontrado estudios en los cuales los THMs han sido aislados y preconcentrados con éxito. Gioia et al. propuso un método para analizar TCM en agua potable el método consistió en SPE-GC-MS, la resina SPE empleada fue Envi-18, la cual está basada en el material C18-silica gel, finalmente con el método optimizado se obtuvo una recuperación de 96,5% con muy buenas características analíticas [54]. Por su parte Alexandrou et al. realizó un estudio en el cual evaluó SPE para extraer THMs utilizando como fase adsorbente un polímero del tipo C-

18-silica gel obteniendo porcentajes de recuperación en un rango de 50 – 85 % con %RSD en un rango de 2 – 34% utilizado GC-ECD, aunque los resultados obtenidos no fueron optimizados, la finalidad de este estudio era comparar dos métodos de SPE, con cartuchos estándares y micro cartuchos de SPE [51]. Por último, Roumiguieres et al. desarrolló un método analítico para la determinación de 26 DBPs dentro de los cuales se encontraban los cuatros THMs regulados, el método propuesto consistió de SPE seguida de GC-MS/MS utilizando cinco resinas de SPE comerciales, el mejor resultado se obtuvo con la resina Bakerbond SDB-1, la cual su material adsorbente es un copolímero de estireno-divinilbenceno, los porcentajes de recuperación del método para los cuatros THMs fueron mayores a 90%, además los LODs estuvieron en un rango de 0,001 – 0,03 ppb [53]. Debido a sus ventajas anteriormente mencionadas, SPE puede ser una técnica prometedora para facilitar y automatizar el análisis de los THMs en aguas, por tanto, el horizonte de las investigaciones centradas en la aplicación de esta técnica en este campo debe ser orientado a optimizaciones que minimicen sus desventajas.

- *Separación y detección de THMs*

La separación de los THMs se lleva a cabo mediante GC como se puede observar en las tablas 3 y 4, esto debido a la volatilidad y naturaleza de los THMs. Para una separación óptima, se pueden utilizar una variedad de fases estacionarias que van desde columnas capilares completamente apolares como las DB-1 (100% DMPS) y DB-5 (5% fenil y 95% metilpolisiloxano) hasta columnas de polaridad intermedia o ligeramente polares con grupos fenilo o cianopropilfenilo en su estructura unidas a la fase apolar de dimetilpolisiloxano, que pueden ser empleadas para la separación [6].

Por otro lado, para la identificación de los THMs en muestras de agua, los detectores más empleados son el detector de captura de electrones (ECD) y el detector de masas (MS), aunque cabe destacar que también se han usado, aunque en menor medida otros detectores como en el caso del detector de fotoionización y conductividad electrolítica (PID) tal y como se recomienda en el método EPA 502.2. Un resumen de los diferentes métodos oficializados se encuentra en la tabla 4 en donde se puede observar las técnicas comunes empleadas para la separación y detección de THMs además de las columnas empleadas.

Tabla 4. Características comunes de los métodos oficializados por el EPA para el análisis de THMs en aguas

Método	Técnica	Columna	Ref.
EPA 501.1	P&T-GC-MS	1% SP-1000 Carbo-pack-B (60/80) mesh	[55]

EPA 501.2	LLE-GC-MS	3% SP-1000 Supelcoport (100/120 mesh)	[56]
EPA 501.3	P&T-GC-MS	1% SP-1000 Carbopack-B (60/80) mesh	[57]
EPA 502.2	P&T-GC-PID	IV VOCOL Rtx-502,2 DB-624 (6% cianopropil fenil/ 94% polidimetilsiloxano)	[58]
EPA 524.2	P&T-GC-MS	ID VOCOL DB-5 (5% fenil y 95% metilpolisiloxano) DB-624 (6% cianopropil fenil/ 94% polidimetilsiloxano)	[59]
EPA 551.1	LLE-GC-ECD	DB-1 (100% DMPS) Rtx -1301(6% cianopropil fenil/ 94% DMPS)	[60]

- *Detector de captura de electrones (ECD)*

La invención del detector de captura de electrones (ECD) se remonta al año 1957, su invención fue autoría de James E. Lovelock permitiendo a los investigadores de la época la facilidad para determinar pesticidas en muestras ambientales. El ECD es de los detectores más empleados en las técnicas cromatográficas, según enuncia Domínguez-Tello et al. en su estudio “a comparación con el espectrómetro de masas (MS) el detector ECD es generalmente más sensible y el MS es más selectivo para realizar la confirmación inequívoca de los compuestos halogenados” [4][61][62].

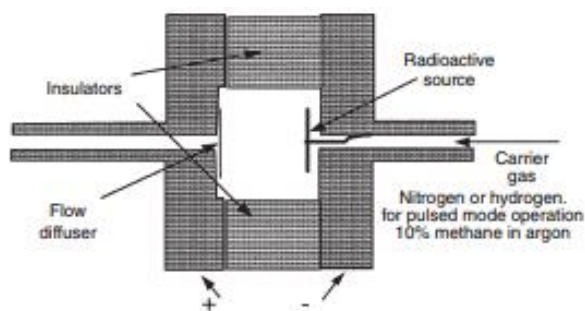


Figura 2. Esquema de un ECD típico con electrodo de potencial constante [63].

El ECD es un detector de ionización y se utiliza para cuantificar compuestos que pueden ser fácilmente oxidados o reducidos mediante la aplicación de un potencial. Un compuesto puede ser oxidado o reducido cuando en su estructura posee grupos electroquímicamente activos. Un esquema de un ECD típico es presentado en la figura

2, el principio de funcionamiento del detector se resume en la reducción de la corriente de una celda debido a la captura de electrones de baja energía cuando un compuesto electronegativo entra en la celda, el ECD tiene una corriente constante elevada provocada por la ionización del gas portador por una fuente radioactiva pero la presencia de un analito con grupos electroquímicos disminuye esta corriente a medida que absorben los electrones y forman iones cargados negativamente, la cantidad de la corriente reducida es medida y transformada mediante un electrómetro, la cantidad de corriente perdida es directamente proporcional respecto a la cantidad de compuesto que entra en la celda siguiendo un comportamiento similar a la ley de Lambert Beer[61][63].

El ECD responde principalmente a los grupos nitrato, carbonilo y halógeno. Las respuestas del ECD dependen en gran medida de la estructura de los analitos estudiados, por lo tanto, la respuesta varía de acuerdo con los diferentes tipos de halógenos y carbonilos. El rango lineal es de tres a cuatro ordenes de magnitud y la sensibilidad del detector es aproximadamente 1 pg para halógenos, 10 pg para nitratos y 50 pg para carbonilos. Hay que tener especial cuidado al operar este tipo de detectores puesto que se puede contaminar con facilidad no se puede emplear para muestras disueltas en disolventes clorados [61][62].

Debido a su alta sensibilidad a compuestos halogenados, ECD es uno de los detectores más utilizados para la determinación de THMs en muestras de aguas, además proporciona buenos límites de detección [6]. Esto se puede observar más a detalle en la tabla 3, la mayoría de los métodos emplean el ECD como método de detección, por su parte también es sugerido por el método oficial de la US EPA 551.1.

- *Tecnología de impresión 3D*

La tecnología de impresión 3D es una técnica de fabricación que surgió como alternativa a facilitar los procesos de fabricación de estructuras o componentes que por su geometría son difíciles de construir con los métodos tradicionales (fresado, taladrado, aserrado, etc.). Sus inicios datan en 1977 con la patente de W.K. Swainson la cual recibió por fabricar un objeto mediante el uso de un láser que creaba un entrecruzamiento covalente en la superficie de un monómero líquido, la fabricación la realizo capa por capa, desde aquí que a la impresión 3D se le conozca también como fabricación aditiva puesto que mediante esta técnica se crean objetos tridimensionales, mediante un modelo digital 3D, en el que una impresora especial va realizando una deposición de materiales capa por capa hasta que se obtiene la estructura final [64].

Desde sus inicios, la tecnología de impresión 3D ha venido ganando importancia, no solo por facilitar la fabricación de dispositivos con geometrías complejas, sino que mediante esta se optimiza todo el proceso, ya que se disminuyen tiempos y costos[65]. Se han venido desarrollando diferentes tecnologías de impresión, la principal diferencia son los materiales que se utilizan en cada una de ellas, dentro de las que se encuentran estereolitografía (SLA), la cual se basa en la impresión de dispositivos 3D utilizando luz UV con el fin de alcanzar la polimerización controlada de soluciones de fotopolímeros líquidos; el modelado por deposición fundida (FDM): donde se utiliza filamentos de termoplásticos; impresión láser digital (DLP): resina polimérica fotocurable, sinterización

selectiva por láser (SLS): utiliza metal y termoplásticos y la fabricación de objetos laminados (LOM): que utiliza materiales como metal, papel, cerámica y plásticos [64],[66], [67].

Los pasos para fabricar un objeto con la técnica de impresión 3D se resume en tres pasos principalmente: diseño, impresión y postproceso. El diseño se basa en el empleo de un software específico que permita la planificación y el modelamiento del dispositivo deseado en tres dimensiones, luego este archivo es transferido a la impresora donde se lleva a cabo la construcción del dispositivo con la técnica de impresión 3D seleccionada y por último se lleva a cabo el procesamiento posterior, este varía dependiendo del objetivo final de la pieza, dentro de las técnicas de postproceso se encuentran pintar, lijar, alisar, lavar y/o funcionalizar[64].

Desde su desarrollo, las técnicas de impresión 3D se han aplicado a muchos campos de la ciencia, esto debido a su rápida capacidad para fabricar cualquier diseño complejo en 3D, de manera fácil y con bajo costo. Por tanto, se ha aplicado en diversas áreas como ciencias medioambientales, ciencias biológicas, desarrollo de dispositivos médicos, tecnologías de laboratorio en chip, entre otras. En lo que respecta a la química analítica, el crecimiento de esta técnica se ha visto direccionado en la investigación de materiales para la impresión 3D tales como biomateriales, metales, cerámicos, polímeros y nanomateriales, por otro lado, también se han desarrollado gran variedad de dispositivos con la impresión 3D tales como dispositivos microfluídicos, sensores electroquímicos, biosensores, dispositivos para las ciencias de separación, pretratamiento de muestras, entre otros[68].

En química analítica, la técnica de impresión 3D ha despertado gran interés, puesto que ofrece alternativas en miniaturización, portabilidad y automatización de los métodos analíticos. Por otro lado, los materiales de impresión 3D pueden emplearse como adsorbentes para las técnicas de extracción sólido-líquido, empleando las técnicas de postproceso permitiendo así una funcionalización de la pieza impresa y otorgándole de esta forma propiedades fisicoquímicas completamente nuevas a los materiales impresos según la aplicación requerida[66], [69].

La funcionalización se puede llevar a cabo ya que el proceso de polimerización de la impresión 3D no alcanza el rendimiento total, por lo que se encuentran grupos funcionales en la superficie del dispositivo sin reaccionar facilitando de esta forma la incorporación de sustancias adicionales reactivas[70]. La funcionalización se puede definir como la diversificación de los dispositivos 3D con el fin de alcanzar nuevas reactividades y funcionalidades, las vías típicas para lograr la funcionalización son (I) inmovilización de sustancias reactivas en la superficie de los componentes impresos luego de la impresión basado en el uso de la adsorción o de las interacciones hidrofóbicas, hidrófilas, iónicas o covalentes, (II) incorporación de las sustancias reactivas antes de la impresión en la resina, (III) combinación de ambas[68].

Dentro de las técnicas de funcionalización la más empleada es la conocida como Stick & Cure, la cual permite inmovilizar partículas reactivas en la superficie del dispositivo 3D luego de la impresión y su posterior fijación mediante un curado con una exposición prolongada a la irradiación con luz UV para que la polimerización y fijación de las partículas agregada sea completa. La ventaja de esta técnica es que no requiere la

utilización de disolventes adicionales, ni instrumentación avanzada o habilidades especiales para su empleo[66], [70]–[72].

La técnica de impresión 3D ofrece la posibilidad de optimizar los procesos de determinación analítica de los THMs, en especial se pueden llegar casos de portabilidad para determinación in-situ, miniaturización, separación y pretratamiento de muestras entre otros. Amanda Svensson en 2019 desarrollo un prototipo portable mediante impresión 3D que funcionó como sensor colorimétrico para la detección de TBM en aguas utilizando plástico PLA (ácido poliláctico) como material de impresión[73]. Por su parte Domínguez-Tello et al. utilizó la impresión 3D en la fabricación de un prototipo miniaturizado de una membrana mediante la cual realizó HF-LPME para la extracción de algunos DBPs entre los que se encontraban los THMs. El material empleado para la impresión fue un polímero basado en acetonitrilo butadieno estireno donde solamente se requirió un lavado con acetona como técnica de postproceso[4]. Aunque las investigaciones del uso de la impresión 3D para determinar THMs son pocas, esta promete ser una alternativa para mejorar y facilitar el empleo de los procedimientos analíticos actuales.

- *Objetivos*

- ✓ **Objetivo general**

Desarrollar e implementar un método de extracción in-situ utilizando dispositivos funcionalizados para la determinación mediante cromatografía de THMs en matrices de agua.

- ✓ **Objetivos específicos**

- Estandarizar un método cromatográfico(GC-ECD) para el análisis de THMs en aguas.
- Evaluar y seleccionar la resina comercial de SPE con la que se obtiene mejor eficiencia para la extracción de THMs en muestras de aguas.
- Diseñar y construir un dispositivo 3D que servirá como soporte de la resina de SPE comercial seleccionada para la extracción in-situ de THMS en muestras de agua.
- Optimizar parámetros claves para mejorar los resultados obtenidos en la extracción de los THMs mediante el dispositivo 3D
- Validar el método propuesto mediante pruebas con el dispositivo 3D simulando un método SPE-GC-ECD aplicado a muestras ambientales reales, tanto en campo como en el laboratorio.

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. *Materiales y Reactivos*

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico (HPLC o superior) y con una pureza $\geq 99\%$ o en su defecto la máxima pureza disponible según el reactivo. Las disoluciones estándares e intermedias se prepararon con metil-tert-butileter (MTBE) suministrado por Scharlau (España) y con estándares de una mezcla de THMs el cual contenía una concentración de 2000 ppm de cloroformo ($\geq 99\%$), bromodiclorometano ($\geq 99\%$), dibromoclorometano ($\geq 99\%$), bromoformo ($\geq 99\%$) disuelto en metanol suministrado por Sigma-Aldrich (Madrid, España). Las disoluciones fueron almacenadas en frascos ámbar, en la oscuridad a -20°C por un periodo no superior a 30 días. 1,2-dibromopropano ($\geq 99\%$) fue utilizado como estándar interno (IS), este se obtuvo como estándar individual en Sigma-Aldrich.

Para la fabricación del dispositivo en 3D se empleó una resina transparente y foto curable Formlabs© CLEAR FLGPCL02. Por otra parte, para remover los monómeros que no reaccionaron al momento de fabricar el dispositivo 3D se utilizó 2-propanol suministrado por Scharlau.

Para la extracción en fase solida se emplearon resinas comerciales de C-18 (Sigma Aldrich), DSC-18 (Sigma Aldrich) y de estireno divinilbenceno (SDB) (Avantor), a su vez se utilizó metil-tert-butileter (MTBE) y pentano como disolventes de extracción. Adicionalmente, se usó metanol y acetonitrilo para el acondicionamiento de las resinas. El agua ultrapura que se requirió en los diferentes pasos del procedimiento metodológico provino del sistema purificador MiliQ Direct-8 (Millipore Ibérica S.A.U., Madrid, España)

2.2. *Equipos e instrumentos*

Dentro de los equipos empleados tenemos el colector de vacío conectado a una bomba de succión con el fin de realizar el procedimiento de SPE típico. También se utilizó un agitador mecánico Heidolph Reax 2000 de 42 W para la elución de los THMs en los procedimientos de SPE con los dispositivos 3D. Dentro de los SPE propuestos se encuentra el SPE con agitación el cual se llevó a cabo en un agitador multipuesto OVAN MultimixD NM90E, es un agitador magnético de 9 puestos y con un rango de velocidad de 200 – 1200 rpm.

El dispositivo 3D se fabricó en una impresora del tipo Form 2+ de Formlabs inc., la funcionalización de este se llevó a cabo en un sistema de irradiación ultravioleta CL-1000 (Vp, Upland, Canadá).

Para el análisis de los THMs se utilizó un cromatógrafo de gases de la marca Agilent Technologies 7890A equipado con detector de captura de electrones (ECD) y con autosampler 7693. Por último, se empleó el microscopio de barrido electrónico de alto

rendimiento S-3400(SEM) para la caracterización física de los dispositivos 3D. Por otro lado, rutinariamente se emplearon los siguientes instrumentos:

- Micropipetas (20 μ L, 100 μ L y 1000 μ L).
- Matraces volumétricos (5 mL, 10 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL y 1000 mL).
- Viales de cromatografía 2 mL con tapa rosca y septum.
- Pipetas Pasteur – Para transferir los extractos a los viales.
- Balanza analítica Sartorius Entris II.
- Filtros de jeringa de PTFE, tamaño de poro 0,22 μ m.
- Tubos Corning Falcón 50 mL.
- Botellas de vidrio color ámbar con tapa (10, 50 y 250 mL).

2.3. Procedimientos

2.3.1. Fabricación y funcionalización de los dispositivos 3D

2.3.1.1. Diseño: El diseño del dispositivo 3D se realizó mediante el software Rhinoceros 5 (MacNeel & Associates, USA), obteniendo un archivo de extensión STL el cual fue transferido y editado mediante el software Preform (Formlabs Inc., Somerville, USA).

2.3.1.2. Fabricación: Se empleó una impresora 3D de estereolitografía Form 2+ (Formlabs Inc.). El tiempo de impresión para un dispositivo con 196 capas fue de 105 min, el peso del dispositivo fue de $556,950 \pm 1,229$ mg y el volumen de resina polimérica que se necesitó por dispositivo fue de 0,48 mL. Con el fin de optimizar los tiempos de impresión, se realizó este proceso para 12 dispositivos simultáneamente, en este caso el tiempo de impresión necesario fue de 160 min. La resolución de la impresora se fijó en 0,05 mm para cualquier caso. Se ha de destacar que se intentó la impresión simultánea de más dispositivos, pero el resultado no fue satisfactorio ya que la resolución de algunos de los dispositivos obtenidos se veía completamente afectada.

2.3.1.3. Funcionalización: Inmediatamente terminada la fase de impresión, los dispositivos 3D obtenidos se sumergieron en un baño de 2-propanol, durante 1 min aproximadamente, con el fin de realizar un proceso de limpieza, garantizado así la eliminación de los monómeros sin reaccionar. Posteriormente, se colocaron en un tubo de 50 mL el cual contenía 60 mg de resina comercial para preconcentración, acto seguido se sometió el dispositivo dentro del tubo a vigorosa agitación durante 1 min para lograr la impregnación total del dispositivo. Luego, se retiró el dispositivo 3D impregnado con ayuda de unas pinzas y se colocó dentro de un Crosslinker

Ultravioleta (VP, Upland, Canada) con una longitud de onda de 365 nm, durante 6 horas con el fin de llevar a cabo el proceso de curado de los dispositivos impresos.

2.3.2. Preparación de curvas de calibración

A partir de la mezcla de THMs de alta pureza (>99%) a 2000 ppm se preparó una disolución madre o stock, para la cual se colocó una cantidad apropiada (9,8 mL aprox) de MTBE en un matraz volumétrico con tapón de vidrio esmerilado de 10 mL, se pesó con precisión, acto seguido se adicionó la cantidad apropiada de la mezcla de THMs y se volvieron a pesar para obtener una concentración de 80 ppm. La solución fue disuelta a volumen y se transfirió a viales de 2 mL, los cuales fueron almacenados a -20°C. Las soluciones para inyección directa en el cromatógrafo se prepararon en MTBE a partir de la disolución stock en un rango de 5 a 2000 ppb. Por otra parte, se preparó una disolución madre de estándar interno de la misma manera que para los THMs para obtener una concentración de 80 ppm, la inyección del estándar interno se realizó junto con la mezcla de THMs a una concentración de 400 ppb.

Las disoluciones de trabajo fueron preparadas diariamente enriqueciendo diferentes volúmenes de agua desionizada (50, 100, 500 o 1000 mL) según fuera el caso, a partir de la disolución madre de los THMs preparados en el paso anterior. Estas soluciones de trabajo se sometieron a la extracción en fase sólida, bien sea directamente con las resinas comerciales (DSC-18, C-18 y SDB) o con los dispositivos 3D funcionalizados.

2.3.3. Técnicas de extracción y preconcentración

2.3.3.1 SPE con resinas comerciales

Las resinas comerciales usadas en este trabajo se detallan en la tabla 5. El proceso de extracción de THMs se realizó con un volumen de 1000 mL de agua ultrapura enriquecida con la mezcla de THMs para obtener una concentración final de 1,5 ppb.

El acondicionamiento de la fase sólida se realizó de la misma manera para todas las resinas: primero pasaron 5 mL de MeOH, luego 5 mL de agua ultrapura. Una vez terminada la fase de acondicionamiento se procedió a pasar la muestra por la fase sólida a una velocidad de flujo de 15 mL/min. Después de la percolación de la muestra se enjuagó la fase sólida con 5 mL de agua ultrapura. Por último, para la elución se emplearon pentano y MTBE. Con el fin de optimizar este paso, se utilizaron 5 mL de eluyente a una velocidad de 3 mL/min para eluir los compuestos orgánicos retenidos, el extracto obtenido fue transferido a viales de 1,5 mL y secado con sulfato de sodio anhidro, previamente activado.

Tabla 5. Naturaleza y propiedades de las resinas comerciales estudiadas.

Cartucho SPE	Material	Dimensiones
Bakerbond SDB-1	Copolímero de estireno-divinilbenceno	40-150 μm , 200 mg, 6 mL
C-18	Sílica	40-75 μm , 200 mg, 6 mL
Discovery DSC-18	Sílica gel	50 μm , 500 mg, 3 mL

2.3.3.2. SPE con dispositivo 3D:

✓ SPE Estático con agitación

Con el fin de evaluar la aplicabilidad del dispositivo obtenido en 3D, se realizó una extracción con agitación, simulando un agitador magnético. En este punto se trabajó con un volumen de muestra de 100 mL, con una concentración de 24 ppb. El dispositivo 3D fue sumergido en la muestra y se sometió a agitación a diferentes tiempos (30, 60 y 120 min) a 300 rpm. La elución se llevó a cabo, transfiriendo el dispositivo 3D a un tubo de centrífuga, acto seguido se adiciono 8 mL de MTBE y luego a agitación mecánica durante 5 min. El acondicionamiento del dispositivo se realizó antes de la extracción con 5 mL de MeOH y 5 mL de agua ultrapura, antes de la extracción se realizó un lavado con 5 mL de agua ultrapura, en ningún momento se dejó secar el dispositivo 3D.

✓ SPE Estático sin agitación

Un segundo método de SPE fue propuesto, en este se realizó una extracción en fase solida similar a la descrita en el punto anterior, pero sin agitación. Para este método de SPE se utilizaron dos dispositivos 3D, estos se acondicionaron con 5 mL de MEOH y con 5 mL de agua ultrapura, acto seguido los dispositivos se colocaron dentro de un tubo Falcon, en el cual se adicionó 50 mL de muestra de agua ultrapura previamente enriquecida con los THMs. El tiempo de contacto entre los dispositivos 3D y la muestra estudiada fue de 120 min, finalizado este tiempo los dispositivos 3D se transfirieron a un tubo Falcon en el cual se agregó 10 mL de MTBE, esto para llevar a cabo la elución de los THMs retenidos en la fase sólida. El tiempo de elución empleado fue de 10 min, tiempo en el cual el dispositivo 3D se sometió a agitación mecánica. El eluato final se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, a continuación, se transfirió a un vial de cromatografía y se le añadió una cantidad determinada de 1,2-Dibromopropano (IS) para alcanzar una concentración final de 400 ppb antes de su análisis por cromatografía.

✓ SPE Dinámico en tubo

Se propuso un método adicional con el fin de validar la aplicación de la impresión 3D para extracción in-situ, la propuesta fue: Utilizar el dispositivo 3D funcionalizado dentro del sistema de una tubería o grifo. En este caso en el proceso de extracción, se hizo pasar la muestra a través de la tubería a una velocidad de flujo determinada

(inicialmente 5 mL/min). La elución se llevó a cabo retirando lo(s) dispositivo(s) del sistema y realizando la elución dentro de un tubo de centrifuga con una agitación mecánica de 10 min inicialmente. El eluyente utilizado y el volumen fue el mismo (2,5 mL de MTBE) y el eluato fue secado con sulfato de sodio anhidro, filtrado y transferido a viales de 1,5 mL.

2.4. Instrumentación y configuración en cromatografía de gases

Con el fin de realizar el análisis e identificación de los THMs se empleó un cromatógrafo de gases (GC) Agilent 7890A de Agilent Technologies equipado con un micro detector de captura de electrones (ECD) y un inyector de muestra automático. La separación de cada uno de los THMs se llevó a cabo mediante una columna capilar de composición 5% Fenil y 95% Metilpolisiloxano de sangrado bajo (SC-5MS, Scharlau, 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno, 0,25 μm de espesor de película). Por su parte, el gas portador empleado fue helio a una tasa de flujo de 1 mL/min y una temperatura de 35°C. El volumen de inyección para la muestra se fijó en 1 μL , la inyección se realizó en modo splitless a 280 °C, para el detector se trabajó con una temperatura de 300°C, con una tasa de flujo de 60 mL/min para el gas auxiliar (Makeup). El gas auxiliar empleado fue Argón.

2.5. Toma y preparación de muestras

El desarrollo de este método fue aplicado a dos tipos de muestras reales: agua potable de grifo y muestras de aguas de la salida del tratamiento terciario de una depuradora. Para las muestras de la depuradora se realizaron extracciones en campo empleando los dispositivos de extracción desarrollados, en este paso no sé necesito pretratamiento de la muestra. Además, se recolectaron 8 L de muestra compuesta para extracciones en el laboratorio. En este caso, la botella fue llenada sin dejar aire en su interior para evitar la volatilización de los THMs. A fin de neutralizar el cloro residual y prevenir las perdidas o transformación de los THMs, 10 mL de L-ácido ascórbico a 1,6 ppm fueron agregados en la muestra, tal como lo recomienda Roumigières et al [53]. Las muestras recolectadas fueron almacenadas a 4°C y analizadas en un periodo no mayor a 48 horas.

2.6. Determinación de las figuras analíticas de mérito

Las curvas de calibrado fueron evaluadas teniendo en cuenta que se debe cumplir un amplio rango de trabajo para aplicaciones prácticas, además los THMs están regulados por la EPA con un nivel máximo para el total de THMs de 80 ppb en agua potable [74], [75]. Por ende, alícuotas de agua ultrapura libre de THMs fueron enriquecidas con concentraciones en un rango de 0,25 a 100 ppb de cada uno de los THMs. La calibración fue llevada a cabo por el método del estándar interno (IS) en la cual se graficó la relación del área de picos de los THMs y el 1,2-Dibromopropano (IS) en función de la

concentración de los compuestos. El estándar interno fue adicionado al final de la extracción de tal manera que su concentración fue de 400 ppb. Las curvas de calibración se obtuvieron a partir de las condiciones optimizadas del método.

La linealidad del método de SPE propuesto, se determinó a partir del coeficiente de correlación obtenido, luego de aplicar el método de ajuste por mínimos cuadrados. Los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) se calcularon según las definiciones de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) y los criterios de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), donde se utilizan las siguientes expresiones[76], [77]:

$$LOD = \frac{3,3 * \sigma}{m} \quad LOQ = \frac{10 * \sigma}{m} \quad (1)$$

Donde m es la pendiente obtenida en la curva de calibración y σ es la desviación estándar basada en la respuesta de las medidas realizadas a 10 blancos [77], [78].

La recuperación fue evaluada mediante el análisis de muestras de agua previamente enriquecidas con el mix de estándares de THMs a tres niveles de concentración que se pueden presentar en muestras reales (0,5; 2 y 40 ppb). Para este experimento se utilizaron volúmenes de muestras de agua ultrapura, las cuales fueron sometidas a extracción en fase sólida, el eluato fue analizado a las mismas condiciones cromatográficas y se determinó la eficiencia de extracción (EE) mediante la expresión:

$$EE (\%) = \frac{V_{org} * C_{org}}{V_{aqu} * C_{aqu}} * 100 \quad (2)$$

Donde C_{org} es la concentración de los THMs en la fase orgánica luego de finalizada la SPE, C_{aqu} es la concentración inicial del analito en la fase acuosa, V_{org} es el volumen del eluato y V_{aqu} el volumen inicial de muestra

Por su parte, el factor de enriquecimiento (EF) del método de extracción en fase solida se determinó usando la siguiente ecuación:

$$EF = \frac{C_{org}}{C_{aqu}} \quad (3)$$

Se sometieron muestras de agua de depuradora y agua de grifo al método de SPE propuesto. Con el fin de realizar ensayos de adición/recuperación, la extracción en estas muestras fue realizada sin enriquecimiento y con enriquecimiento de una disolución estándar de THMs a dos niveles de concentración (6,25 y 40 ppb). Posterior a esto la recuperación estándar relativa (RR%) se cuantificó de la siguiente manera:

$$RR (\%) = \frac{C_c - C_i}{C_t} * 100 \quad (4)$$

Donde C_c es la concentración calculada luego de enriquecer la muestra con un nivel de concentración determinado; C_i es la concentración de la muestra sin enriquecer y C_t es la concentración teórica o del nivel de concentración de enriquecimiento de la muestra

Finalmente, los experimentos se realizaron por triplicado y la precisión en este punto fue definida como la desviación estándar relativa (RSD%) de tres muestras estudiadas el mismo día (intradía) y en días diferentes (interdía)

CAPITULO 3. RESULTADOS Y DISCUSION

Optimización del método cromatográfico

3.1. Selección del disolvente orgánico

Con el fin de elegir el disolvente más apropiado, se prepararon soluciones para inyección directa en dos disolventes distintos, para este fin se utilizaron pentano y MTBE. Ambas inyecciones se realizaron a las mismas condiciones. Tal como lo sugiere el método EPA 551.1 [60].

Los resultados obtenidos en la figura 3a. nos muestra una relación señal/ruido mayor cuando se utiliza pentano a comparación de cuando se utiliza MTBE (figura 3b), una relación señal/ruido mayor trae como consecuencia mayores límites tanto de detección como de cuantificación.

Por otra parte, al realizar el análisis con pentano se determinaron trazas de BDCM, como bien se puede apreciar en la figura 3a., lo que conlleva a dos inconvenientes, el primero es un límite de detección alto para este analito y por otro lado probablemente una baja reproducibilidad a la hora de realizar la extracción en fase solida debido a la contaminación presentada en el disolvente. Por tanto, en este estudio se seleccionó el MTBE como el disolvente óptimo de trabajo, ya que en comparación presento mejores resultados analíticos como bien se puede observar en la figura 3b.

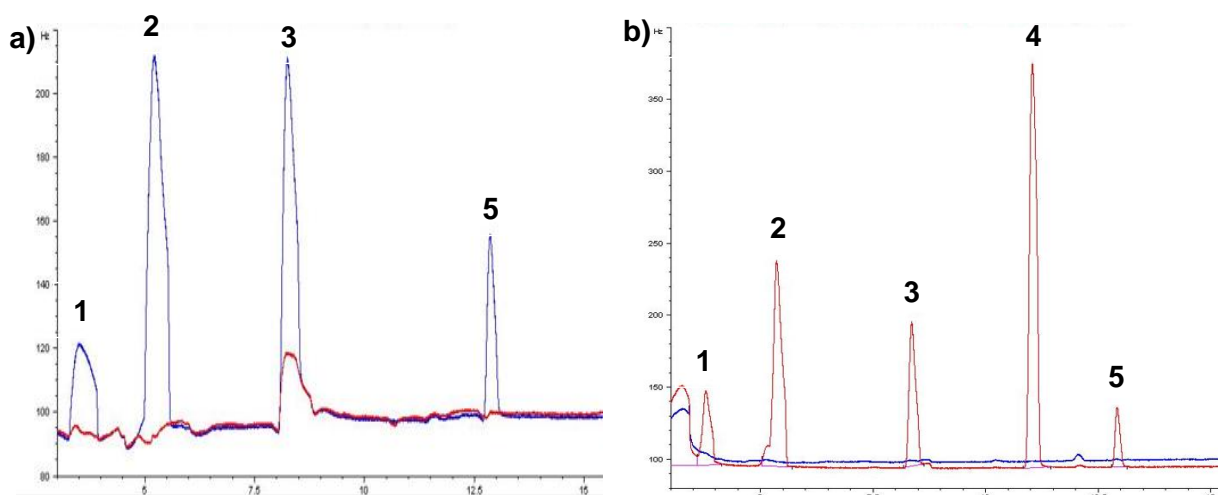


Figura 3. Cromatograma ECD de blanco y THMs: a). 0 y 160 ppb de THMs en pentano. b). 0 y 100 ppb de THMs en MTBE. (1) TCM; (2) BDCM; (3) DBCM; (4) IS: 1,2-DBP; (5) TBM

3.2. Optimización de parámetros instrumentales

Las características del instrumento analítico fueron descritas en apartado 2.4. Por otra parte, el programa de temperatura y los parámetros del detector se seleccionaron inicialmente en base a la bibliografía consultada de diversos autores, sin embargo, se hizo necesario realizar una optimización ya que los resultados preliminares no fueron satisfactorios.

El programa de temperatura del GC fue optimizado con el fin de obtener mejores separaciones para todos los THMs, para este propósito se utilizó una mezcla de 2 ppm de THMs en MTBE. En este punto no se encontraron compuestos coeluyendo, por tanto, la identificación de los compuestos de interés se pudo llevar a cabo teniendo en cuenta la naturaleza de cada uno y sus tiempos de retención típicos. El punto de partida inicial del programa de temperatura seleccionado fue de 35°C, esto con el fin de evitar inestabilidad térmica por parte de alguno de los THMs. Por otro lado, temperaturas superiores a 35°C ocasionan co-elución de los picos de MTBE y TCM [53]. Los gradientes de temperatura se seleccionaron teniendo en cuenta aquellos con los que se obtuvo mejor separación de cromatográfica, tiempo de análisis y una buena relación señal/ruido. De este modo la rampa de temperatura optimizada que se utilizó esta descrita como sigue en la tabla 6:

Tabla 6. Programa de temperatura del horno GC.

T (°C)	Tiempo (min)	Incremento (°C/min)
35	1	
80	0	2
230	2	50

Bajo estas condiciones se obtuvo el cromatograma de la mezcla de los THMs a 2000 ppb junto con el estándar interno (400ppb) en MTBE (Figura.4). El tiempo total de análisis fue de 28,5 min.

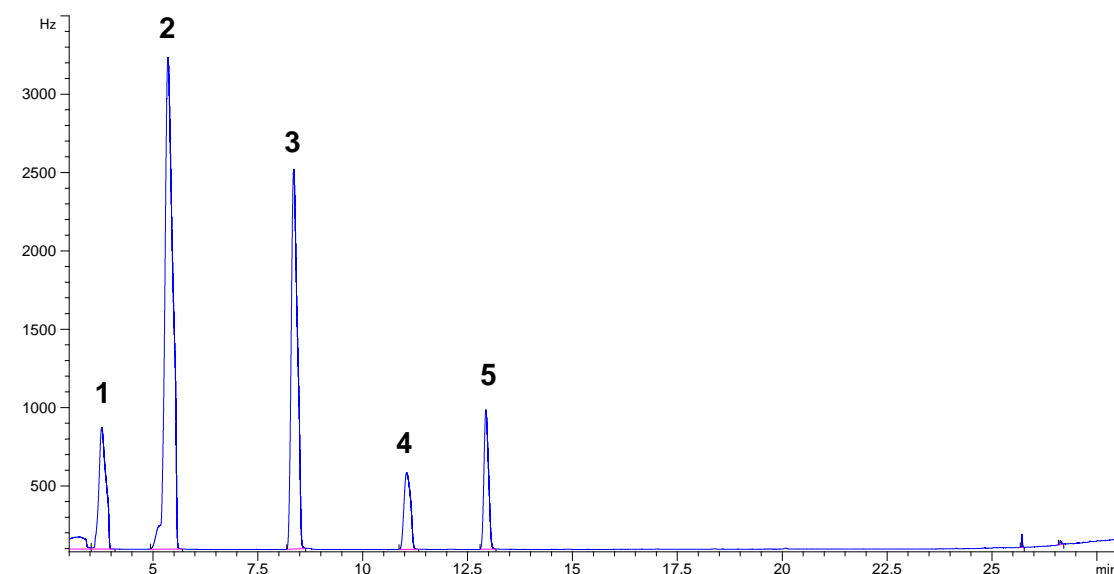


Figura 4. Cromatograma de 2000 ppb de (1) TCM, (2) BDCM, (3) DBCM, (4) IS: 1,2-DBP y (5) TBM en MTBE.

Optimización del método de extracción empleando dispositivos 3D

3.3. Selección de resina de extracción

Se evaluaron 3 resinas comerciales (DSC-18, C-18 y SDB), la concentración utilizada y el método de acondicionamiento fue igual para cada caso (sección 2.4.2.), los resultados obtenidos se muestran en la figura 5. en donde se observa que con la resina de extracción SDB-1 los porcentajes de recuperación fueron $\geq 98\%$, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Romeguieres et al, en el cual la resina comercial que mejor resultado presento fue la SDB-1 [53]. En comparación con las resinas empleadas, la SDB-1 presentó mejores resultados, por tanto, fue seleccionada como la resina comercial que será empleada para la funcionalización del dispositivo 3D.

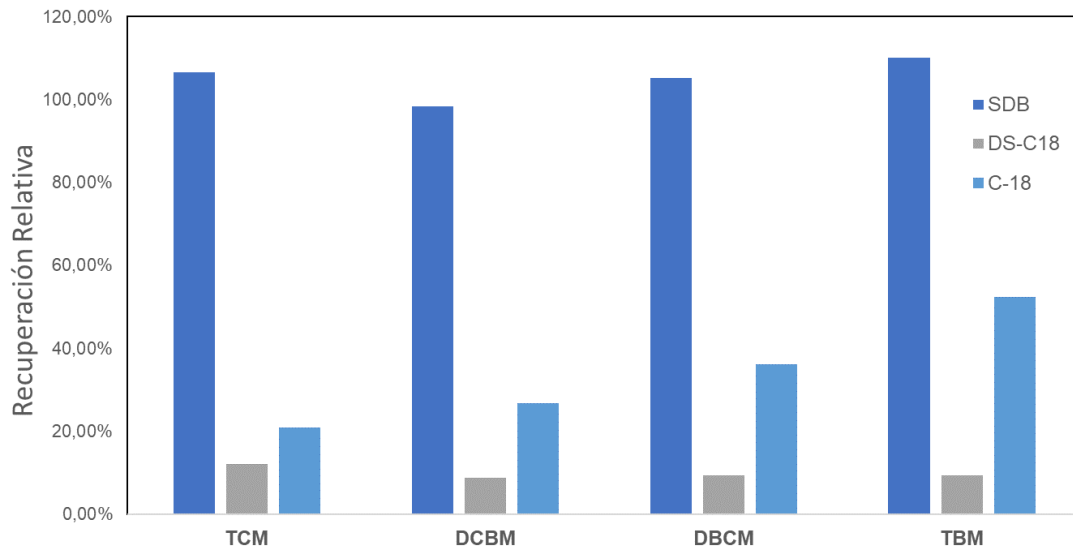


Figura 5. Comparación de porcentajes de recuperación relativa de 3 resinas comerciales de SPE. Fuente: elaboración propia.

3.4. Diseño y funcionalización del dispositivo 3D

El dispositivo impreso en 3D es un cilindro con un diámetro y una altura de 16,02 y 9,59 mm respectivamente. La estructura está compuesta por pequeños cilindros que forman una rejilla como observa en la figura 6. En este diseño cada cilindro tiene un volumen de 2,066 mm³ y la separación entre cilindros es de 2,02 mm.

El objetivo de este diseño es tener un dispositivo con una gran área superficial para soportar la resina de extracción y al mismo tiempo evitar problemas de flujo por la obstrucción de los canales como si se suele presentar en columnas de extracción tradicionales o discos de extracción [79].

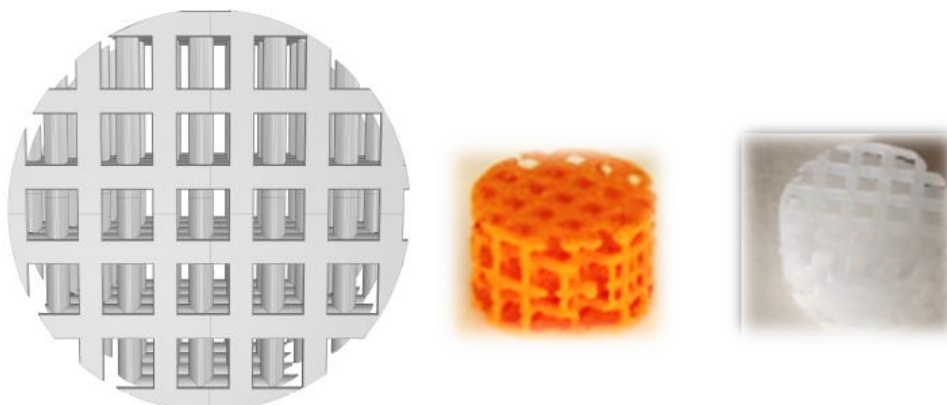


Figura 6. a) vista superior del diseño del dispositivo 3D. b) dispositivo 3d impreso y funcionalizado. c) dispositivo 3D sin funcionalizar. Fuente: Elaboración propia.

El dispositivo 3D fue funcionalizado como se menciona en el apartado 2.3.1.3. por la técnica de Stick & cure. Con el objetivo de evaluar la impregnación de la resina sobre la superficie del dispositivo se llevó a cabo una caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM).

Los resultados obtenidos mediante SEM se encuentran resumidos en las imágenes de la figura 7. Como podemos observar a), b) y c) son imágenes del dispositivo impreso en 3D sin modificar y por su parte d), e) y f) son imágenes del dispositivo luego del proceso de inmovilización de la resina de SDB-1. Las figuras 7a y 7d nos muestra una fotografía tomada a 4.00 mm en la cual ya se notan diferencias y cambios en la estructura, las figuras 7b y 7e fueron realizadas a 3.00 mm en estas se puede evidenciar una adhesión de la resina comercial tanto en la parte externa como interna y finalmente las figuras 7c y 7f se realizaron a 500 μm donde se puede apreciar la variación de la estructura superficial del dispositivo 3D con un buen detalle. Con esto se pudo observar que el proceso de inmovilización de la resina en la estructura del dispositivo fue satisfactorio, las diferencias entre las diferentes figuras son realmente apreciables, puesto que se evidencia como la resina ha sido agregada en la superficie del dispositivo, denotando el potencial que tienen los dispositivos 3D como instrumento para soportar resinas de extracción comerciales.

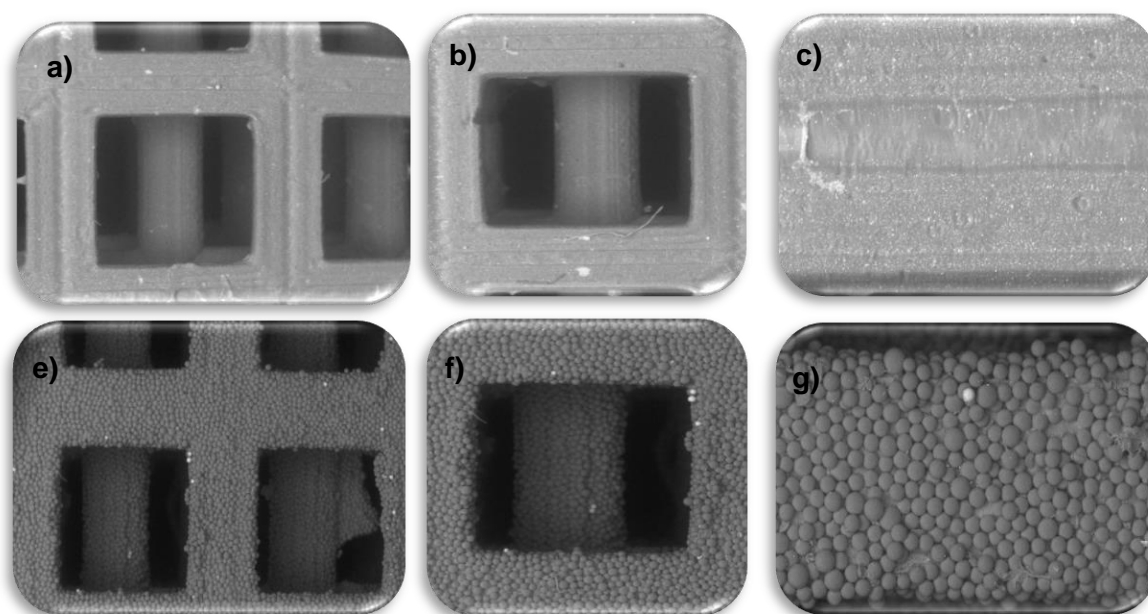


Figura 7. a) b) y c) imágenes del dispositivo 3D sin funcionalizar obtenidas mediante SEM.
d) e) y f) imágenes SEM del dispositivo 3D luego de la funcionalización

3.5. Extracción y preconcentración con dispositivo 3D

Inicialmente se llevó a cabo la aplicación de la SPE de manera dinámica o tradicional, en este proceso el dispositivo 3D se fijó en una tubería y a través de esta se hizo pasar el

volumen de muestra de agua ultrapura (1000 mL), en la cual se adicionaron previamente la mezcla de THMs hasta alcanzar una concentración determinada, que posteriormente fueron eluidos con un volumen de 8 mL de MTBE con el fin de alcanzar un factor de preconcentración de 125, los porcentajes de recuperación relativa fueron calculados mediante la ecuación 3, los resultados obtenidos no fueron satisfactorios debido a que el mayor valor obtenido fue de $16,97\% \pm 5,22\%$ correspondiente al TBM (Figura 10).

Debido a este resultado inicial se procedió a emplear el dispositivo 3D como un agitador magnético (SPE con agitación), la decisión fue tomada con el fin de validar el potencial de extracción del dispositivo 3D esto pues, de la teoría se sabe que al estar sumergido en una cierta cantidad de muestra por un tiempo determinado trae consigo el aumento en la transferencia de masa lo que nos lleva a obtener resultados óptimos en términos de recuperación relativa para cada analito.

El procedimiento descrito a detalle en la sección 2.4.3. se llevó a cabo obteniendo una mejoría en los porcentajes de recuperación relativa, especialmente cuando el tiempo de extracción empleado fue de 120 min (Figura 8).

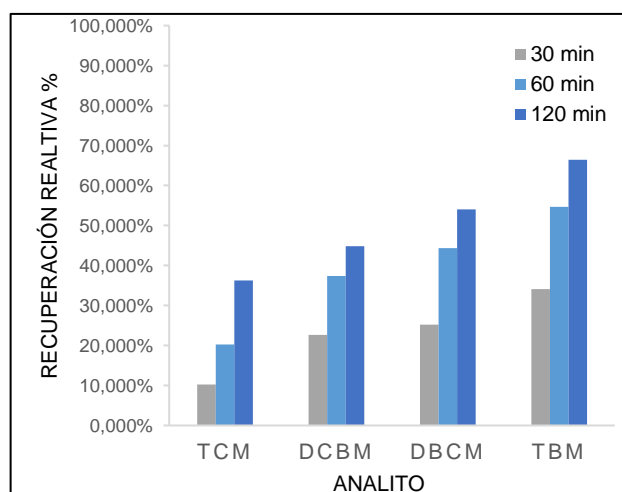


Figura 8. Porcentajes de recuperación relativa: SPE con agitación a diferentes tiempos de extracción: 30, 60 y 120 min.

En este punto los experimentos fueron realizados con dispositivos que tenían diferentes fechas de impresión y funcionalización entre sí, cabe destacar que se encontraron resultados incongruentes como consecuencia de estas diferencias de las fechas de impresión de algunos dispositivos, por ende, con el fin de establecer conclusiones acertadas se evaluó el efecto que tuvo el tiempo desde que los dispositivos 3D fueron impresos y funcionalizados hasta su aplicación para los experimentos de extracción.

Para este caso se utilizaron dispositivos 3D con 3 días de envejecimiento (Tipo 1), dispositivos 3D con envejecimiento mayor a 1 semana (Tipo 2) y por último dispositivos 3D con 1 semana pero que justo después de su impresión y funcionalización fueron guardadas

en 5 mL de MeOH hasta su uso (Tipo 3). Como se pudo observar en los resultados obtenidos (Figura 9) el procedimiento tipo 3 presentó los mejores resultados y mejoró los porcentajes de recuperación relativa obtenidos inicialmente, los resultados óptimos fueron a un tiempo de extracción de 120 min como era de esperarse, el envejecimiento probablemente esté relacionado con la naturaleza química de la fase de extracción.

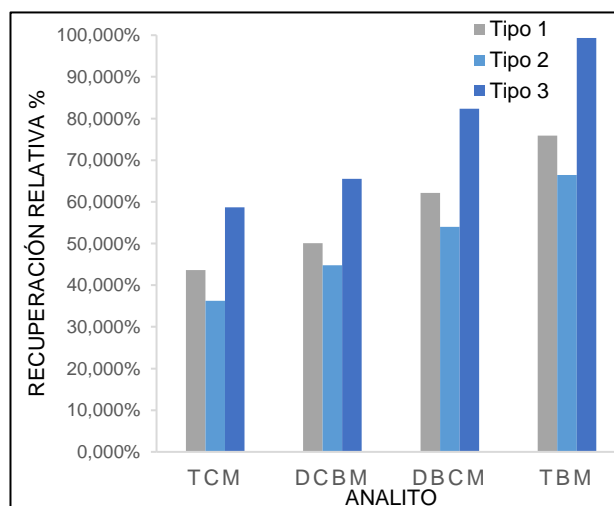


Figura 9. SPE con agitación y dispositivos 3D con envejecimiento: de 3 días (Tipo 1); > 1 semana (Tipo 2) y >1 semana con acondicionamiento (Tipo 3), todos a un tiempo de extracción de 120 min.

3.5.1. Optimización de SPE estático sin agitación

Con la finalidad de aplicar el método en campo y teniendo en cuenta el parámetro del envejecimiento de los dispositivos 3D, se empleó el método de SPE estático sin agitación descrito previamente en la sección 2.4.3, por naturaleza como el método con agitación tiende a ser más eficiente se propuso emplear dos dispositivos de impresión 3D por extracción en lugar de uno, por otro lado, se emplearon dispositivos 3D tipo 3 y el tiempo de extracción inicial empleado fue de 120 min. Los resultados de recuperación relativa obtenidos estuvieron en un rango de 43,3 - 85,9% tal como se puede observar a detalle en la figura 10.

Con el fin de alcanzar el rendimiento máximo para este procedimiento de extracción en fase sólida, diferentes parámetros se evaluaron. La eficiencia de extracción de SPE es fuertemente dependiente e influenciada por muchos factores generalmente, tales como pH, volumen de muestra, volumen de eluyente, las propiedades fisicoquímicas de la fase estacionaria etc. [53]

En este estudio, el volumen de muestra seleccionado fue de 50 mL, esto con el fin de poder facilitar la portabilidad del experimento para su aplicación en campo, los siguientes parámetros se evaluaron y optimizaron: tiempo de elución, volumen de eluyente, método de elución, número de dispositivos y tiempo de extracción. Un parámetro importante como

el pH no fue evaluado en este estudio, principalmente porque se ha reportado en diversos estudios la inestabilidad que presentan no solo los THMs sino los demás DBPs en cuanto a las variaciones de pH, por ejemplo, un incremento o disminución del pH trae consigo la descomposición de muchos DBPs y posterior formación de otros, recordemos que muchos DBPs son precursores de otros, como es el caso de la formación de THMs a pH bajos a partir de los ácidos haloacéticos [53], [80]. Aunque el efecto del pH no fue estudiado, si fue medido con el fin de garantizar condiciones naturales, el pH de todas las muestras analizadas siempre estuvo en un rango de pH de 7-9, pH típico de las aguas naturales a estudiar.

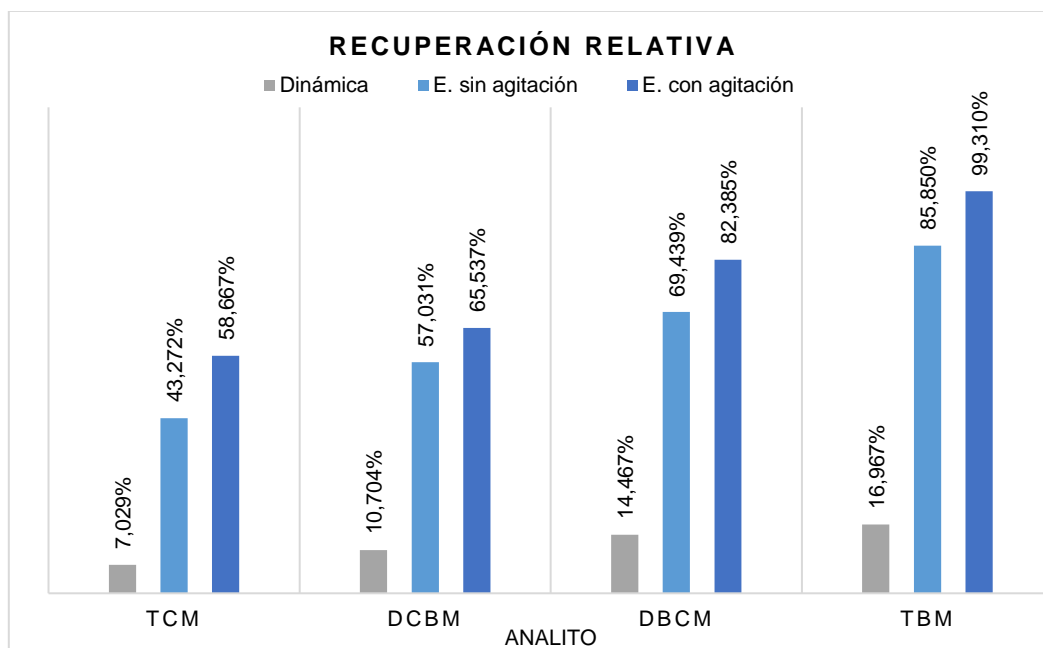


Figura 10. Porcentajes de recuperación relativa: 1) SPE dinámica con 1 dispositivo 3D. 2) SPE sin agitación con dos dispositivos 3D y un tiempo de extracción de 120 min. 3) SPE con agitación con un dispositivo 3D y tiempo de extracción de 120 min.

3.5.1.1. Método de elución

En este punto se evaluó si existían diferencias sometiendo el dispositivo 3D dentro del eluyente a agitación mecánica o agitación por ultrasonidos a un tiempo determinado (5 min), el volumen de elución empleado fue de 10 mL. Al final se pudo evidenciar que no se encontraron diferencias en el rendimiento de la extracción (Figura 11a.). Por otra parte, lo que si se notó fue una afectación en las propiedades mecánicas de los dispositivos 3D sometidos a elución por ultrasonido, se pudo observar una pérdida exagerada de resina de extracción debido al ultrasonido y debilidad estructural en los dispositivos luego de la elución. Por ende, se entendió en este caso a la agitación mecánica como el mejor método de elución de los THMs.

3.5.1.2. *Tiempo de elución*

El procedimiento se realizó como fue descrito en la sección 2.4.3. la variación se llevó a cabo en el tiempo de agitación mecánica al cual se sometían los dispositivos 3D junto con el eluato, se evaluaron tiempos de elución de 0, 1, 5 y 10 min, ajustados a la velocidad máxima del equipo. En este punto se pensó que a mayor tiempo de contacto del eluyente con el dispositivo 3D se lograba un aumento de la transferencia de masa del dispositivo hacia el disolvente, sin embargo, los resultados obtenidos y resumidos en la figura 11b., muestran que, aunque la agitación es necesaria, no hace falta un excesivo tiempo de esta, basta solo con 1 min para alcanzar el porcentaje de recuperación relativo óptimo. Las diferencias presentadas en el grafico son tan mínimas que se compensan estadísticamente con la desviación estándar relativa de cada uno de los análisis.

3.5.1.3. *Volumen de eluyente*

Ajustado el tiempo óptimo de elución, se trabajó con volúmenes de eluyente en un rango de 2,5 a 10 mL, el objetivo de este punto fue disminuir al máximo el volumen de eluyente sin afectar el porcentaje de recuperación. Optimizar este parámetro trae consigo el aumento de la eficiencia de extracción, ya que según la ecuación 1, el volumen del disolvente orgánico es inversamente proporcional a la eficiencia de extracción. Volúmenes menores a 2,5 mL no pudieron ser estudiados debido a que la recuperación del volumen empleado fue un difícil, por otro lado, con volúmenes menores de 2,5 mL los dispositivos 3D no quedaban sumergidos por lo que se evidenciaba un problema de contacto lo que indudablemente se espera que disminuya la transferencia de masa.

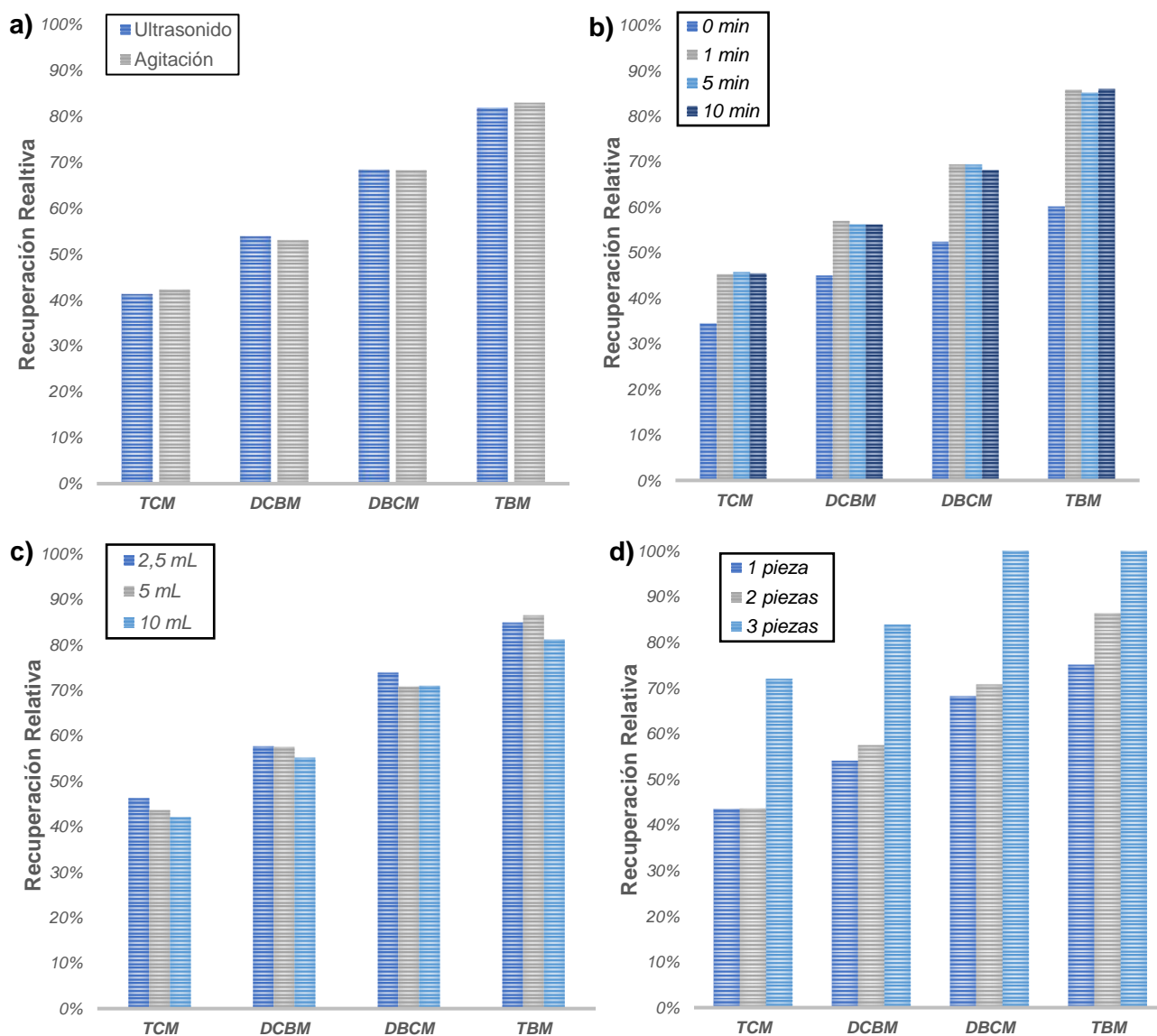
Los resultados obtenidos (figura 11c.) muestran que es posible lograr una disminución apreciable del volumen de disolvente orgánico (MTBE) utilizado y así pasar de un factor de preconcentración de 5 a 20, lo que trae consigo llegar a límites de detección un poco más bajo que los planteados de manera inicial y, por otra parte, una ventaja adicional es disminuir el uso de cantidades apreciables de disolventes que pueden suponer tratamientos especiales y cuidadosos para su manejo y eliminación.

3.5.1.4. *Numero de dispositivos*

Optimizados los parámetros anteriores y con el fin de mejorar los porcentajes de recuperación relativa se realizaron extracciones con las condiciones optimizadas pero esta vez se estudió el efecto con 1, 2 y 3 dispositivos impresos y funcionalizados. Los resultados obtenidos (figura 11d.) se pueden entender perfectamente y fueron totalmente esperados. Se evidencia que a mayores números de dispositivos la eficiencia de extracción aumenta, esto se puede explicar debido a que cuando aumenta el número de dispositivos aumenta el área superficial que ocupa la resina de extracción por ende se da un aumento apreciable de la transferencia de masa observado directamente en el resultado de recuperación relativa. Una desventaja que se puede observar en este punto es el uso de una mayor cantidad de resina de extracción, sin embargo, vale la pena sacrificar este punto por obtener resultados de recuperaciones relativas mayores a 70% como se evidencia en la figura 11d.

3.5.1.5. Tiempo de extracción

Inicialmente el tiempo de extracción empleado para todos los experimentos realizados fue de 120 min, para efectos prácticos y de portabilidad del método se hizo esencial disminuir el tiempo de extracción, bajo este principio se realizaron pruebas con las condiciones optimizadas de los experimentos anteriores variando el tiempo en un rango de 15 a 120 min. El objetivo final de la optimización de este parámetro fue obtener los mismos porcentajes de recuperación, pero con un tiempo menor, se evidenció que a un tiempo de 30 min los resultados de extracción con 3 dispositivos 3D fueron similares que los obtenidos en un tiempo de 120 min (Figura 11e.). Las pequeñas diferencias observadas se compensan con los datos de desviación estándar relativa para cada caso.



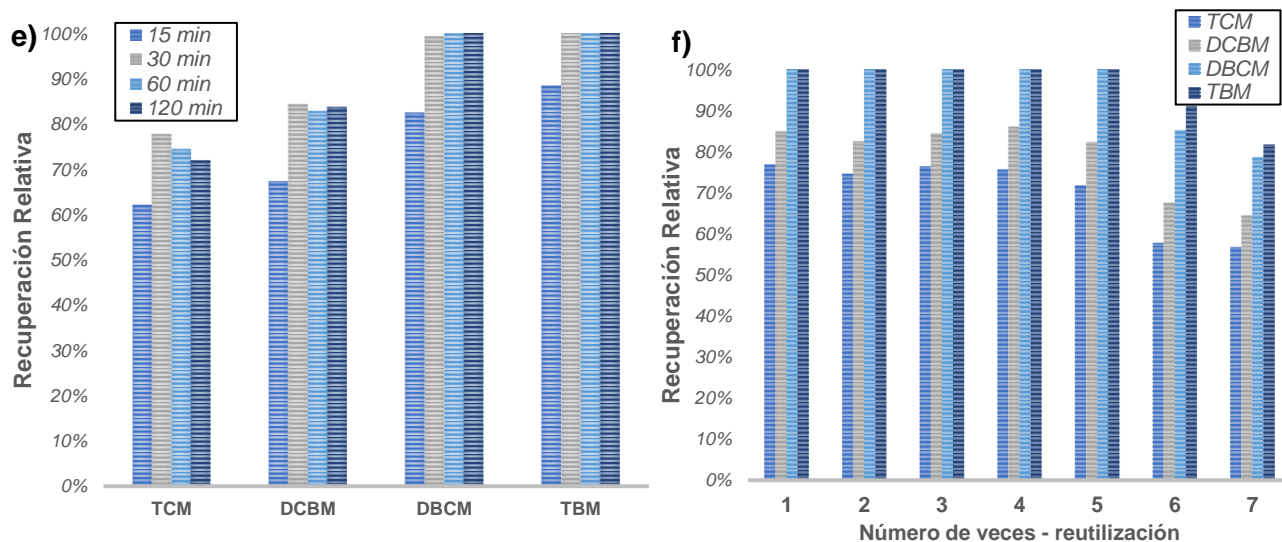


Figura 11. Eficiencia de extracción sobre el efecto de a) método de elución; b) tiempo de elución; c) volumen de eluyente; d) número de dispositivos 3D; e) tiempo de extracción y f) reutilización de dispositivos 3D, en términos de % recuperación relativa.

3.5.1.6. Reutilización de los dispositivos 3D

Como último parámetro de estudio, se evaluó la posibilidad de reutilizar los dispositivos impresos en 3D. Los dispositivos luego de cada extracción se sometieron a un paso de secado a temperatura ambiente por 4 horas, luego cada dispositivo 3D fue enjuagado individualmente con dos alícuotas de agua ultrapura (5 mL) y guardadas en 5 mL de MeOH hasta su uso nuevamente. Los dispositivos 3D fueron utilizados nuevamente a partir de 24 h después del enjuague. Los resultados muestran que, aunque se da una reducción leve en el porcentaje de recuperación relativa, el dispositivo 3D puede ser utilizado hasta en 5 ocasiones distintas como se evidencia en la figura 11f. Luego de este punto se ve comprometida la estabilidad mecánica y física de los dispositivos tal y como se puede observar en la figura 12, en la cual se da una disminución de las capas del dispositivo por el desprendimiento de partes más que todo en el proceso de agitación mecánica. Por otro lado, se presenta una disminución más pronunciada de la recuperación relativa (figura 11f.), este resultado coincide con lo observado en las imágenes obtenidas en el microscopio SEM resumidas en la figura 13, en la cual se observa que con el paso de las extracciones se da una pérdida de resina en las caras posteriores del dispositivo 3D (figura 13b.), sin embargo, parte de esta permanece inmobilizada en las caras internas del dispositivo cilíndrico (figura 13c.). Este comportamiento es similar a los obtenidos en estudios anteriores [79]. Aunque los resultados obtenidos en este punto son prometedores, se recomienda un estudio más exhaustivo en la optimización de este parámetro, ya que al no tener una recuperación relativa de 100% para todos los THMs probablemente se presente en algún momento contaminación cruzada en especial para esos compuestos con porcentajes mucho menores de 100% como es el caso del TCM específicamente.

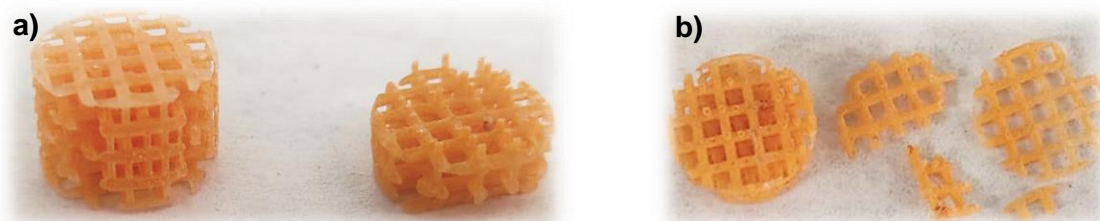


Figura 12. a) Comparativa de dos dispositivos: reutilizado 1 vez vs reutilizado más de 5 veces. b) afectación de las propiedades físicas de un dispositivo 3D reutilizado más de 5 ocasiones.

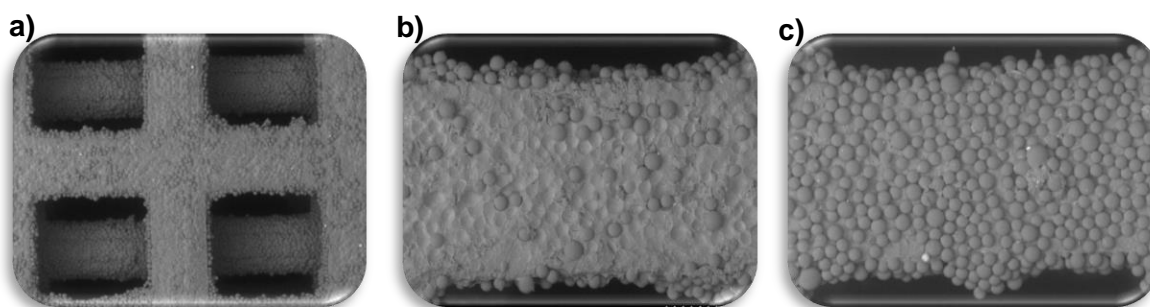


Figura 13. a) imagen del dispositivo 3D luego de su reutilización en 5 ocasiones. b) imagen SEM de una cara externa del dispositivo 3D luego de reutilizado en 5 ocasiones. c) imagen SEM de una cara interna del dispositivo 3D luego de reutilizado en 5 ocasiones.

3.5.2. SPE dinámico en tubo

Otra alternativa propuesta para la aplicación en campo del dispositivo 3D fue realizar una SPE colocando el dispositivo 3D funcionalizado dentro de un sistema ideado para conectarse directamente a un grifo. El procedimiento fue llevado a cabo tal y como fue descrito en la sección 2.3.3.2. Las pruebas fueron realizadas a dos niveles de concentración de los THMs para esto se prepararon soluciones de 100 y 1000 mL con concentraciones de 40 y 5 ppb respectivamente, teniendo en cuenta la optimización realizada para la SPE estática sin agitación se utilizaron 3 dispositivos 3D por cada extracción y un volumen de elución de 2,5 mL de MTBE. Finalmente se calcularon los porcentajes de recuperación relativa mediante la ecuación 1 junto con su desviación estándar en la cual se obtuvieron porcentajes de recuperación de $19,3 \pm 5,2\%$ para

TCM; $23,2 \pm 3,3\%$ para BDCM; $28,7 \pm 4,5\%$ para DBCM y $34,3 \pm 4,9\%$, tal y como se evidencia en la figura 14.

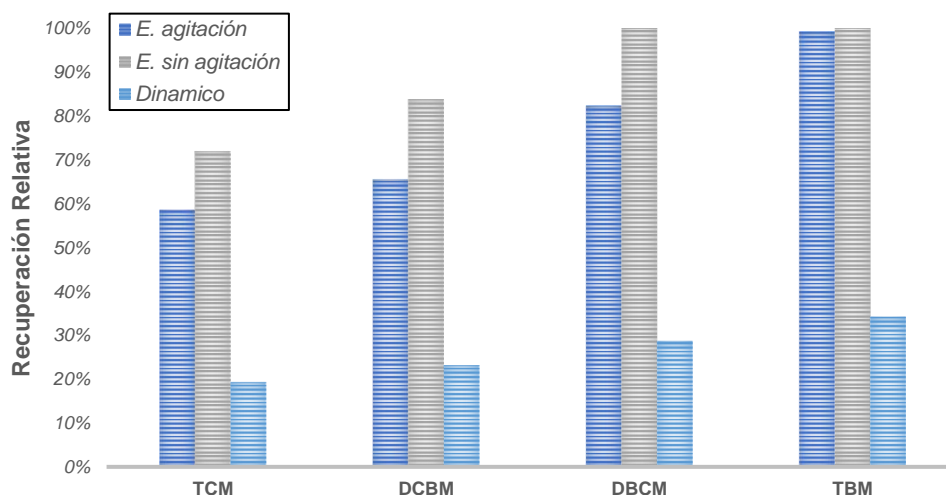


Figura 14. Porcentajes de recuperación relativa: 1) SPE dinámica con 3 dispositivos 3D. 2) SPE sin agitación con 3 dispositivos 3D y un tiempo de extracción de 30 min. 3) SPE con agitación con un dispositivo 3D y tiempo de extracción de 120 min.

3.6. Validación analítica del método

Mediante los resultados obtenidos en la figura 14 se decidió que el método a aplicar en campo, debido a sus mejores resultados ($\%RR \geq 72\%$) y fácil portabilidad fue el método SPE estático sin agitación para esto se empleó un tiempo de extracción de 30 min, 2,5 mL de MTBE como disolvente extractante y agitación mecánica por 1 min. Por tanto, se graficaron curvas de calibración con las condiciones optimizadas previamente en el apartado 3.5.1. con el fin de demostrar la viabilidad del método de SPE estático sin agitación para el análisis de THMs en muestras de aguas. La validación del método optimizado fue llevada a cabo como se enunció en la sección 2.6., las figuras analíticas de mérito se encuentran resumidas en la tabla 7.

Tabla 7. figuras analíticas de mérito del método SPE-GC-ECD propuesto.

	TCM	BDCM	DBC	TBM
Tiempo de retención (min)	3,776	5,356	8,359	12,943
LOD (ppb)	0,046	0,016	0,026	0,048
LOQ (ppb)	0,152	0,052	0,087	0,161
Rango lineal (ppb)	0,25 -100	0,25 -100	0,25 -100	0,25 -100
Curva de Calibración (n=3)	$y = 0,0245x + 0,0193$	$y = 0,1198x - 0,1285$	$y = 0,0754x - 0,062$	$y = 0,0211x + 0,0036$
Coefficiente de determinación (R²)	0,9984	0,9988	0,9995	0,9994
Tiempo de extracción (min)	30	30	30	30
EE a 0,5 ppb (%)	71,9 ± 3,4	86,3 ± 4,9	105,5 ± 8,9	109,8 ± 8,9
EE a 2 ppb (%)	74,8 ± 1,8	82,7 ± 3,7	101,5 ± 5,1	107,3 ± 7,1
EE a 40 ppb (%)	76,9 ± 1,8	85,1 ± 2,9	104,9 ± 5,6	106,1 ± 7,2
EF	16,45	18,18	22,32	23,62
Repetitibilidad (RSD%) (n=3)	1,83	2,76	2,49	4,15
Reproducibilidad (RSD%) (n=3)	5,35	3,34	3,46	9,37

El rango de trabajo se estableció, tal como se explicó anteriormente, teniendo en cuenta el límite máximo permisible regulado por la EPA (80 ppb)[2], [3]. Las curvas de calibración fueron construidas con 3 réplicas, se realizaron teniendo en cuenta el método del estándar interno, en el cual las curvas fueron obtenidas mediante la relación del área de pico de un analito con el estándar interno versus la concentración. Los datos fueron ajustados mediante regresión de mínimos cuadrados mostrando buenos coeficientes de correlación $0,9984 \geq R^2 \leq 0,9994$ en un amplio rango de concentraciones de 0,25 – 100 ppb para todos los THMs indicando una alta confiabilidad del método desarrollado en este trabajo.

Los límites de detección (LOD) se determinaron como la mínima concentración detectable de THMs, pero no necesariamente cuantificable, mientras que el límite de cuantificación (LOQ) es la concentración más baja que se puede cuantificar con las condiciones optimizadas del método con una precisión aceptable[76]. LOD y LOQ fueron determinados mediante la ecuación 1, como se muestra en la tabla 7 los mayores valores para LOD y LOQ fueron 0,048 y 0,161 ppb respectivamente, correspondientes al TBM.

La exactitud del método fue evaluada como se detalla en la sección 2.6. a varios niveles de concentración (0,5; 2 y 40 ppb), calculada y expresada como eficiencia de extracción (EE) mediante la ecuación 2. Los resultados observados en la tabla 7 muestran tasas de recuperación en rango desde 71,971 ($\pm 3,431$) % a 109,789 ($\pm 8,894$). Cabe destacar que este rango de recuperación se encuentra dentro del rango aceptado por el EPA (70-130%) por tanto, el método propuesto puede ser utilizado para cuantificar THMs a varios niveles de concentración con un alto grado de confiabilidad [81], [82].

El factor de enriquecimiento, uno de los parámetros importantes en métodos de SPE, fue calculado como la relación entre la concentración de analito en la fase aceptora o fase orgánica y la concentración inicial de analito en la muestra, tal como está descrito en la ecuación 3 [4]. Los factores de enriquecimiento se determinaron a 3 niveles de concentración (0,5; 2 y 40 ppb) el valor promedio de los resultados obtenidos se observa en la tabla 7, en el cual el rango de los factores de enriquecimiento es 16,45 – 23,62.

La repetitibilidad del método o precisión intra-día fue evaluada mediante la extracción y análisis de 3 réplicas de agua ultrapura enriquecida a 40 ppb en un mismo día, por su parte la reproducibilidad o precisión inter-día se determinó mediante la extracción y posterior análisis de 3 réplicas de muestras de agua ultrapura en 3 días distintos enriquecida con una concentración de 40 ppb de THMs. Tanto como la repetitibilidad y la reproducibilidad se determinaron como porcentajes de la desviación estándar relativa (%RSD). Según los datos resumidos en la tabla 7, se encontraron RSD desde 1,83 a 4,15% en un día y desde 3,34 a 9,37% en tres días distintos, estos valores de precisión son aceptables según los parámetros enunciados por el EPA en el cual la desviación estándar relativa (%RSD) debe tener un valor inferior o igual a 10% [60].

3.7. Aplicación a muestras reales

Finalizada la validación, el método desarrollado, propuesto y optimizado se aplicó en muestras reales con el fin de analizar el contenido de los 4 THMs en muestras de aguas procedentes a la salida del tratamiento terciario de una EDAR (Calviá, España) y por otra parte en muestras de aguas de grifo. Las muestras de la EDAR fueron recolectadas como se detalla en el apartado 2.5., de igual manera, una extracción in-situ se llevó a cabo con el fin de evaluar la aplicabilidad del método en condiciones reales tal y como se observa en la figura 15.

Por otro lado, para el análisis de las muestras de agua de grifo, estas fueron obtenidas en las instalaciones de la UIB. Los resultados analíticos de ambas muestras se encuentran resumidos en la tabla 8 en la cual se evidencia que todos los analitos objetivos fueron encontrados. Las concentraciones encontradas estuvieron comprendidas en un rango de 3,19 – 11,96 ppb para las muestras procedentes de la EDAR y de 9,12 – 40,32 ppb para las muestras de grifo. Los THMs que se encontraron más abundantes en ambos casos, fueron los de mayor peso molecular, para el caso del agua de grifo se determinó que el analito más abundante fue TBM, por su parte para el agua procedente de la EDAR se encontró al DBCM como el analito de mayor concentración.

El TTHMs fue mayor para el agua de grifo, sin embargo, los resultados analizados están dentro de los valores típicos comúnmente encontrados en las aguas potables tratadas mediante procesos de cloración en Francia y Europa, en los cuales las concentraciones se encuentran en el rango de 0,1 – 80 ppb para TCM y 0,1 – 50 ppb para cada uno de los THMs restantes (DBCM, BDCM, TBM) [53].



Figura 15. Extracción de THMs in-situ en una estación depuradora de aguas residuales (EDAR, Calviá 2000).

El máximo nivel de TTHMs establecido por la EPA y la Unión Europea es de 80 ppb. Otro de los valores guías es el propuesto por la organización mundial de la salud (WHO) la cual establece que las concentraciones de THMs en agua potable deben cumplir con la siguiente ecuación[6], [83]:

$$SV = \frac{C_{TBM}}{GV_{TBM}} + \frac{C_{DBCM}}{GV_{DBCM}} + \frac{C_{BDCM}}{GV_{BDCM}} + \frac{C_{TCM}}{GV_{TCM}} \leq 1 \quad (5)$$

Donde C indica la concentración, y GV es el valor guía propuesto por la WHO, los cuales son 100, 100, 60 y 200 ppb para TBM, DBCM, BDCM y TCM respectivamente [83]. En la tabla 8 podemos observar que para ambos casos no se superan los valores estipulados para el cumplimiento de agua potable, aunque los valores de agua de grifo sean mayores a comparación de los obtenidos para las muestras de agua procedentes del tratamiento terciario de la EDAR.

Las muestras de aguas estudiadas se enriquecieron con los THMs estudiados a dos niveles de concentración (6,25 y 40 ppb) con la finalidad de evaluar el efecto matriz. Para tal fin se realizaron estudios de recuperación expresados como recuperación relativa (RR%) y estudios de repetitibilidad expresado como porcentaje de desviación estándar relativa (RSD%). Como se observa en la tabla 8 los porcentajes de recuperación se encuentran en un rango aceptable, ya que la mayor parte de los resultados se encuentran dentro del rango permitido por el EPA (70-130%). Los valores de repetitibilidad son todos $\leq 10\%$ por lo cual podemos evidenciar que la precisión del método cuando se aplica a estas matrices es muy buena.

A modo de comparación entre las dos matrices estudiadas encontramos que los valores de recuperación relativa aumentan cuando se emplea agua de grifo, en especial para los THMs de bajo pesos moleculares como lo son TCM y BDCM. Además, no se encontraron interferencias que impidan la determinación inequívoca de cada uno de los analitos estudiados, lo que nos permite demostrar la selectividad del método propuesto.

Finalmente, los resultados obtenidos indican que las aguas de la salida de una EDAR y las aguas de grifo no presentan efectos adversos sobre la eficiencia del método SPE propuesto. Por lo tanto, se puede inferir que el método es ideal para la determinación a niveles trazas y ultra trazas de THMs en diferentes matrices de aguas en términos de recuperación, sensibilidad y precisión con una selectividad adecuada. Además, en lo que se conoce este es el primer estudio para la extracción in-situ de THMs en aguas utilizando SPE con dispositivos 3D funcionalizados, lo que puede suponer un punto de partida hacia la utilización y mejoramiento de esta técnica para el análisis de THMs con el fin de aprovechar sus ventajas en cuanto a portabilidad, economía, rapidez y precisión.

*Tabla 8. Aplicación del método SPE-GC-ECD propuesto para la determinación de THMs en muestras de diferentes matrices de agua. Ct = concentración teórica o añadida; Cc= concentración calculada mediante el método propuesto. * Valor calculado como la suma de cada uno de los THMs. ** Valor calculado mediante la ecuación 5.*

Analito	Tratamiento terciario EDAR					Agua de grifo			
	pH	Ct (ppb)	Cc(ppb)	RR(%)	RSD(%) (n=3)	pH	Ce(ppb)	RR(%)	RSD(%) (n=3)
TCM	6,84	0	3,19	–		7,07	13,01		
		6,25	7,51	69,0	4,33		17,76	76,1	2,39
		40	31,93	71,8	1,45		47,71	86,8	1,29
BDCM		0	7,57	–			9,12		
		6,25	12,67	81,5	6,32		14,53	86,6	4,28
		40	38,93	78,4	3,30		46,50	93,5	5,33
DBCM		0	11,96	–			15,71		
		6,25	18,60	106,2	3,57		21,88	98,7	2,96
		40	50,61	96,6	1,05		57,14	103,6	2,52
TBM		0	11,39	–			40,32		
		6,25	18,76	117,9	8,30		46,35	96,6	3,27
		40	51,67	100,7	2,85		80,19	99,7	1,34
TTHMs*			34,12 ppb				78,14 ppb		
TTHMs**			0,38				0,78		

CAPITULO 4. CONCLUSIONES

En este trabajo se desarrolló, validó e implementó un método de extracción in-situ utilizando dispositivos 3D funcionalizados basado en la técnica de extracción en fase sólida para la determinación de THMs en matrices de agua.

Se seleccionó y estandarizó un método GC-ECD en el cual se determinaron las mejores condiciones instrumentales y se seleccionó MTBE como disolvente óptimo para el estudio realizado.

El método SPE fue aplicado con resinas comerciales (DSC-18, C-18 y SDB-1) en muestras de agua ultrapura previamente enriquecidas, obteniendo los mejores resultados con la resina SDB-1 cuyos porcentajes de recuperación relativa fueron mayores a 98%.

Se diseñaron e imprimieron dispositivos 3D para aplicación in-situ del método de extracción en fase sólida. La resina SDB-1 se impregnó con éxito en la superficie del dispositivo mediante la técnica de Stick & Cure, no se presentaron problemas de flujo ni obstrucción de canales como suele suceder en ocasiones con la SPE tradicional.

El dispositivo 3D fabricado fue evaluado mediante tres alternativas de extracción propuesta: SPE dinámica, SPE con agitación y SPE sin agitación. Debido a su fácil portabilidad se eligió SPE sin agitación como el método in-situ, con el fin de lograr una mayor eficiencia en la extracción de los THMs, optimizar recursos y aumentar la sensibilidad del método; parámetros como método de elución, tiempo de elución, volumen de eluyente, número de dispositivos, tiempo de extracción y reutilización de los dispositivos fueron evaluados

Las figuras analíticas del método SPE sin agitación seguido de GC- ECD (SPE-GC-ECD) fueron evaluadas en muestras de agua ultrapura enriquecidas. El rango lineal de trabajo y los LODs de los cuatro THMs fueron suficientes para analizar THMs por debajo de las regulaciones oficiales. Por último, el método se aplicó con éxito para el análisis de muestras de aguas, procedentes de la salida del tratamiento terciario de una EDAR y de agua de grifo en las cuales se identificaron y cuantificaron de manera adecuada los cuatro THMs en ambas matrices. El método SPE-GC-ECD fue puesto a prueba mediante ensayos de adición-recuperación en las dos matrices evaluando su porcentaje de recuperación relativa y repetibilidad, obteniendo resultados satisfactorios. Aunque se detectó la presencia de los THMs en las muestras de agua, estas cantidades no sobrepasaron los límites estipulados por organismos oficiales como la WHO, EPA y la Unión Europea.

Referencias bibliográficas

- [1] J. N. Murakami *et al.*, "Formation potential and analysis of 32 regulated and unregulated disinfection by-products: Two new simplified methods," *Journal of Environmental Sciences*, vol. 117, pp. 209–221, Jul. 2022, doi: 10.1016/J.JES.2022.04.037.
- [2] Y. Tang *et al.*, "Bibliometric review of research trends on disinfection by-products in drinking water during 1975–2018," *Sep Purif Technol*, vol. 241, p. 116741, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.SEPPUR.2020.116741.
- [3] S. Chowdhury, K. Al-hooshani, and T. Karanfil, "Disinfection byproducts in swimming pool: occurrences, implications and future needs," *Water Res*, vol. 53, pp. 68–109, Apr. 2014, doi: 10.1016/J.WATRES.2014.01.017.
- [4] A. Dominguez-Tello, A. Dominguez-Alfaro, J. L. Gómez-Ariza, A. Arias-Borrego, and T. García-Barrera, "Effervescence-assisted spiral hollow-fibre liquid-phase microextraction of trihalomethanes, halonitromethanes, haloacetonitriles, and halo ketones in drinking water," *J Hazard Mater*, vol. 397, p. 122790, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.JHAZMAT.2020.122790.
- [5] C. Sfyntia, T. Bond, R. Kanda, and M. R. Templeton, "Simultaneous prediction of trihalomethanes, haloacetic acids, haloacetonitriles and haloacetamides using simulated distribution system tests," *Environ Sci (Camb)*, vol. 8, no. 4, pp. 742–756, Mar. 2022, doi: 10.1039/D1EW00824B.
- [6] J. L. Pérez Pavón, S. Herrero Martín, C. García Pinto, and B. Moreno Cordero, "Determination of trihalomethanes in water samples: A review," *Anal Chim Acta*, vol. 629, no. 1–2, pp. 6–23, Nov. 2008, doi: 10.1016/J.ACA.2008.09.042.
- [7] A. McCulloch, "Chloroform in the environment: occurrence, sources, sinks and effects," *Chemosphere*, vol. 50, no. 10, pp. 1291–1308, Mar. 2003, doi: 10.1016/S0045-6535(02)00697-5.
- [8] E. J. Hoekstra, J. H. Duyzer, E. W. B. de Leer, and U. A. T. Brinkman, "Chloroform – concentration gradients in soil air and atmospheric air, and emission fluxes from soil," *Atmos Environ*, vol. 35, no. 1, pp. 61–70, Jan. 2001, doi: 10.1016/S1352-2310(00)00285-5.
- [9] V. Matamoros, R. Mujeriego, and J. M. Bayona, "Trihalomethane occurrence in chlorinated reclaimed water at full-scale wastewater treatment plants in NE Spain," *Water Res*, vol. 41, no. 15, pp. 3337–3344, Aug. 2007, doi: 10.1016/J.WATRES.2007.04.021.
- [10] S. By and R. Guo, "Polysaccharide Materials and Sorption Studies of Chloroform and Total Trihalomethanes (TTHMs) in Aqueous Solution," 2013. Accessed: Aug. 29, 2022. [Online]. Available: <https://harvest.usask.ca/handle/10388/ETD-2013-03-981>
- [11] "Report on the Carcinogenesis Bioassay of Chloroform (CAS No. 67-66-3) - PubMed." <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25299382/> (accessed Aug. 30, 2022).

- [12] T. A. Bellar, J. J. Lichtenberg, and R. C. Kroner, "The Occurrence of Organohalides in Chlorinated Drinking Waters," *J Am Water Works Assoc*, vol. 66, no. 12, pp. 703–706, Dec. 1974, doi: 10.1002/J.1551-8833.1974.TB02129.X.
- [13] W. Liu, Y. Zhao, C. W. K. Chow, and D. Wang, "Formation of disinfection byproducts in typical Chinese drinking water," *Journal of Environmental Sciences*, vol. 23, no. 6, pp. 897–903, Jun. 2011, doi: 10.1016/S1001-0742(10)60493-7.
- [14] S. D. Richardson, "Disinfection By-Products: Formation and Occurrence in Drinking Water," *Encyclopedia of Environmental Health*, pp. 110–136, Jan. 2011, doi: 10.1016/B978-0-444-52272-6.00276-2.
- [15] D. M. Kurtz and W. P. Feeney, "The Influence of Feed and Drinking Water on Terrestrial Animal Research and Study Replicability," *ILAR J*, vol. 00, no. 00, pp. 1–22, 2020, doi: 10.1093/ilar/ilaa012.
- [16] F. Momeniha, A. A. Oskouie, A. Esrafil, L. Janani, and A. J. Jafari, "Trihalomethanes in exhaled air, indoor air and water: A parallel design trial in chlorine and ozone-chlorine disinfected swimming pools," *Build Environ*, vol. 205, p. 108316, Nov. 2021, doi: 10.1016/J.BUILDENV.2021.108316.
- [17] C. Lourencetti *et al.*, "Trihalomethanes in chlorine and bromine disinfected swimming pools: Air-water distributions and human exposure," *Environ Int*, vol. 45, no. 1, pp. 59–67, Sep. 2012, doi: 10.1016/J.ENVINT.2012.03.009.
- [18] Y. Zhang, N. Zhang, and Z. Niu, "Health risk assessment of trihalomethanes mixtures from daily water-related activities via multi-pathway exposure based on PBPK model," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 163, pp. 427–435, Nov. 2018, doi: 10.1016/J.ECOENV.2018.07.073.
- [19] J. Grellier *et al.*, "Review Article: Exposure to Disinfection By-products, Fetal Growth, and Prematurity: A Systematic Review and Meta-analysis," *Epidemiology*, vol. 21, no. 3, pp. 300–313, 2010, Accessed: Aug. 30, 2022. [Online]. Available: <https://www.jstor.org/stable/25662864>
- [20] J. Xiao, B. Gao, Q. Yue, Y. Gao, and Q. Li, "Removal of trihalomethanes from reclaimed-water by original and modified nanoscale zero-valent iron: Characterization, kinetics and mechanism," *Chemical Engineering Journal*, vol. 262, pp. 1226–1236, Feb. 2015, doi: 10.1016/J.CEJ.2014.10.080.
- [21] L. Zhang *et al.*, "Comparison of DNA damage in human-derived hepatoma line (HepG2) exposed to the fifteen drinking water disinfection byproducts using the single cell gel electrophoresis assay," *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 741, no. 1–2, pp. 89–94, Jan. 2012, doi: 10.1016/J.MRGENTOX.2011.11.004.
- [22] C. M. Villanueva, M. Kogevinas, and J. O. Grimalt, "Cloración del agua potable en España y cáncer de vejiga," *Gac Sanit*, vol. 15, no. 1, pp. 48–53, Jan. 2001, doi: 10.1016/S0213-9111(01)71517-8.

- [23] S. D. Richardson and C. Postigo, "Drinking Water Disinfection By-products," *Handbook of Environmental Chemistry*, vol. 20, pp. 93–137, 2012, doi: 10.1007/698_2011_125/TABLES/3.
- [24] V. Matamoros, R. Mujeriego, and J. M. Bayona, "Trihalomethane occurrence in chlorinated reclaimed water at full-scale wastewater treatment plants in NE Spain," *Water Res*, vol. 41, no. 15, pp. 3337–3344, Aug. 2007, doi: 10.1016/J.WATRES.2007.04.021.
- [25] L. Font-Ribera *et al.*, "Trihalometanos en el agua de piscinas en cuatro zonas de España participantes en el proyecto INMA," *Gac Sanit*, vol. 24, no. 6, pp. 483–486, Nov. 2010, doi: 10.1016/J.GACETA.2010.07.003.
- [26] L. Font-Ribera, M. Kogevinas, M. J. Nieuwenhuijsen, J. O. Grimalt, and C. M. Villanueva, "Patterns of water use and exposure to trihalomethanes among children in Spain," *Environ Res*, vol. 110, no. 6, pp. 571–579, Aug. 2010, doi: 10.1016/J.ENVRES.2010.05.008.
- [27] "National Primary Drinking Water Regulations | US EPA." <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> (accessed Aug. 30, 2022).
- [28] WHO, "Guidelines for Drinking-water Quality," *World Health Organization*, vol. 1, pp. 1–668, 2008.
- [29] "BOE.es - DOUE-L-1998-82174 Directiva 98/83/CE del Consejo, de 3 de noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano." <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1998-82174> (accessed Aug. 30, 2022).
- [30] "BOE.es - DOUE-L-2020-81947 Directiva (UE) 2020/2184 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2020 relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano (versión refundida)." <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2020-81947> (accessed Sep. 07, 2022).
- [31] "BOE.es - BOE-A-2003-3596 Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano." <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2003-3596> (accessed Aug. 30, 2022).
- [32] E. K. Wujcik, S. E. Duirk, G. G. Chase, and C. N. Monty, "A visible colorimetric sensor based on nanoporous polypropylene fiber membranes for the determination of trihalomethanes in treated drinking water," *Sens Actuators B Chem*, vol. 223, pp. 1–8, Feb. 2016, doi: 10.1016/J.SNB.2015.09.004.
- [33] F. Fattahi and M. Shariati-Rad, "A cotton pad-based sensor for the detection and determination of trihalomethanes in water by the colorimetric method," *Analytical Methods*, vol. 12, no. 13, pp. 1779–1785, Apr. 2020, doi: 10.1039/C9AY02732G.
- [34] M. Shariati-Rad and F. Fattahi, "A simple equipment and colorimetric method for determination of chloroform in water," *Anal Chim Acta*, vol. 1100, pp. 208–214, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.ACA.2019.11.066.

- [35] J. Baker, "A study to assess the viability of novel in-situ techniques for determining chloroform in drinking water in developing countries," *The Plymouth Student Scientist*, vol. 14, no. 2, pp. 160–190, 2021.
- [36] E. S. Franco *et al.*, "Validation of a robust LLE-GC-MS method for determination of trihalomethanes in environmental samples," *Environ Monit Assess*, vol. 190, no. 8, pp. 1–9, Aug. 2018, doi: 10.1007/S10661-018-6835-8/TABLES/6.
- [37] A. R. Trussell, M. D. Umphres, L. Y. C. Leong, and R. R. Trussell, "Precise Analysis of Trihalomethanes," *J Am Water Works Assoc*, vol. 71, no. 7, pp. 385–389, Jul. 1979, doi: 10.1002/J.1551-8833.1979.TB04378.X.
- [38] S. Allard, J. W. A. Charrois, C. A. Joll, and A. Heitz, "Simultaneous analysis of 10 trihalomethanes at nanogram per liter levels in water using solid-phase microextraction and gas chromatography mass-spectrometry," *J Chromatogr A*, vol. 1238, pp. 15–21, May 2012, doi: 10.1016/J.CHROMA.2012.03.020.
- [39] R. Rahnama Kozani, Y. Assadi, F. Shemirani, M. R. Milani Hosseini, and M. R. Jamali, "Determination of trihalomethanes in drinking water by dispersive liquid-liquid microextraction then gas chromatography with electron-capture detection," *Chromatographia*, vol. 66, no. 1–2, pp. 81–86, Jul. 2007, doi: 10.1365/S10337-007-0226-6/TABLES/3.
- [40] U. K. Ahmad, W. H. Mechor, and M. Mohamed, "Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled to Gas Chromatography-Electron Capture Detection for the Analysis of Trihalomethane Formation Potential," *Anal Lett*, vol. 45, no. 15, pp. 2198–2209, Oct. 2012, doi: 10.1080/00032719.2012.682242.
- [41] B. Liu, X. Zheng, Y. Ke, X. Cao, Q. Sun, and H. Wu, "Automated headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of trihalomethane and typical nitrogenous disinfection by-products in water," *J Chromatogr A*, vol. 1673, p. 463068, Jun. 2022, doi: 10.1016/J.CHROMA.2022.463068.
- [42] A. Tor and M. E. Aydin, "Application of liquid-phase microextraction to the analysis of trihalomethanes in water," *Anal Chim Acta*, vol. 575, no. 1, pp. 138–143, Aug. 2006, doi: 10.1016/J.ACA.2006.05.054.
- [43] S. Valencia, J. Marín, and G. Restrepo, "Method for trihalomethane analysis in drinking water by solid-phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry detection," *Water Supply*, vol. 13, no. 2, pp. 499–506, Mar. 2013, doi: 10.2166/WS.2013.052.
- [44] J. Kuivinen and H. Johnsson, "Determination of trihalomethanes and some chlorinated solvents in drinking water by headspace technique with capillary column gas-chromatography," *Water Res*, vol. 33, no. 5, pp. 1201–1208, Apr. 1999, doi: 10.1016/S0043-1354(98)00311-X.
- [45] A. D. Nikolaou, T. D. Lekkas, S. K. Golfopoulos, and M. N. Kostopoulou, "Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water," *Talanta*, vol. 56, no. 4, pp. 717–726, Mar. 2002, doi: 10.1016/S0039-9140(01)00613-0.

- [46] R. S. Zhao, W. J. Lao, and X. B. Xu, "Headspace liquid-phase microextraction of trihalomethanes in drinking water and their gas chromatographic determination," *Talanta*, vol. 62, no. 4, pp. 751–756, Mar. 2004, doi: 10.1016/J.TALANTA.2003.09.035.
- [47] A. Lara-Gonzalo, J. E. Sánchez-Uría, E. Segovia-García, and A. Sanz-Medel, "Critical comparison of automated purge and trap and solid-phase microextraction for routine determination of volatile organic compounds in drinking waters by GC–MS," *Talanta*, vol. 74, no. 5, pp. 1455–1462, Feb. 2008, doi: 10.1016/J.TALANTA.2007.09.036.
- [48] M. de Fátima Alpendurada, "Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis," *J Chromatogr A*, vol. 889, no. 1–2, pp. 3–14, Aug. 2000, doi: 10.1016/S0021-9673(00)00453-2.
- [49] C. F. Poole, "New trends in solid-phase extraction," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 22, no. 6, pp. 362–373, Jun. 2003, doi: 10.1016/S0165-9936(03)00605-8.
- [50] V. Camel, "Solid phase extraction of trace elements," *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc*, vol. 58, no. 7, pp. 1177–1233, Jul. 2003, doi: 10.1016/S0584-8547(03)00072-7.
- [51] L. D. Alexandrou, M. J. S. Spencer, P. D. Morrison, B. J. Meehan, and O. A. H. Jones, "Micro versus macro solid phase extraction for monitoring water contaminants: A preliminary study using trihalomethanes," *Science of The Total Environment*, vol. 512–513, pp. 210–214, Apr. 2015, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2015.01.057.
- [52] H. Piri-Moghadam, F. Ahmadi, and J. Pawliszyn, "A critical review of solid phase microextraction for analysis of water samples," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 85, pp. 133–143, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.TRAC.2016.05.029.
- [53] A. Roumigières, A. Kinani, S. Bouchonnet, and S. Kinani, "Development and validation of a multiclass method for the determination of organohalogen disinfectant by-products in water samples using solid phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry," *J Chromatogr A*, vol. 1579, pp. 89–98, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.CHROMA.2018.10.016.
- [54] M. L. di Gioia, A. Leggio, A. le Pera, A. Liguori, A. Napoli, and C. Siciliano, "SPE–GC–MS Analysis of Chloroform in Drinking Water," *Chromatographia 2004 60:5*, vol. 60, no. 5, pp. 319–322, Aug. 2004, doi: 10.1365/S10337-004-0387-5.
- [55] Epa, "EPA - 500 Series - 501.1 - The Analysis Of Trihalomethanes In Drinking Water By The Purge And Trap Method," 1996.
- [56] Epa, "EPA - 500 Series - 501.2 - Analysis Of Trihalomethanes In Drinking Water By Liquid/ Liquid Extraction," 1996.
- [57] Epa, "EPA Method 501.3 (EPA 500-Serie) TITLE: Measurement Of Trihalomethanes In Drinking Water With Gas Chromatography/Mass Spectrometry And Selected Ion Monitoring ," 1996.

- [58] U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, "VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS IN WATER BY PURGE AND TRAP CAPILLARY COLUMN GAS CHROMATOGRAPHY WITH PHOTOIONIZATION AND ELECTROLYTIC CONDUCTIVITY DETECTORS IN SERIES Revision 2.1," *NATIONAL EXPOSURE RESEARCH LABORATORY OFFICE OF RESEARCH AND DEVELOPMENT*.
- [59] U. Environmental Protection Agency, "METHOD 524.2. MEASUREMENT OF PURGEABLE ORGANIC COMPOUNDS IN WATER BY CAPILLARY COLUMN GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY Revision 4.1".
- [60] "EPA Method 551.1: Determination of Chlorination Disinfection Byproducts, Chlorinated Solvents, and Halogenated Pesticides/Herbicides in Drinking Water by Liquid-Liquid Extraction and Gas Chromatography With Electron-Capture Detection | US EPA." <https://www.epa.gov/esam/epa-method-5511-determination-chlorination-disinfection-byproducts-chlorinated-solvents-and> (accessed Aug. 15, 2022).
- [61] J. M. Miller, *Chromatography: concepts and contrasts*, 2nd edition. Wiley-Blackwell, 2009. Accessed: Sep. 05, 2022. [Online]. Available: <https://www.wiley.com/en-us/Chromatography%3A+Concepts+and+Contrasts%2C+2nd+Edition-p-9780470530252>
- [62] E. Lundanes, L. Reubsæet, and T. Greibrokk, *Chromatography: Basic Principles, Sample Preparations and Related Methods*. WILEY-VCH, 2013. Accessed: Sep. 05, 2022. [Online]. Available: <https://www.wiley.com/en-us/Chromatography%3A+Basic+Principles%2C+Sample+Preparations+and+Related+Methods-p-9783527336203>
- [63] *Encyclopedia of Chromatography*, 3rd Edition. CRC Press, 2009. doi: 10.1201/9780429105432/ENCYCLOPEDIA-CHROMATOGRAPHY-JACK-CAZES.
- [64] H. Agrawaal and J. E. Thompson, "Additive manufacturing (3D printing) for analytical chemistry," *Talanta Open*, vol. 3, p. 100036, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.TALO.2021.100036.
- [65] M. Rodas Ceballos, F. González Serra, J. M. Estela, V. Cerdà, and L. Ferrer, "3D printed resin-coated device for uranium (VI) extraction," *Talanta*, vol. 196, pp. 510–514, May 2019, doi: 10.1016/J.TALANTA.2018.12.055.
- [66] C. Calderilla, F. Maya, V. Cerdà, and L. O. Leal, "Direct photoimmobilization of extraction disks on 'green state' 3D printed devices," *Talanta*, vol. 202, pp. 67–73, Sep. 2019, doi: 10.1016/J.TALANTA.2019.04.026.
- [67] D. J. Cocovi-Solberg, P. J. Worsfold, and M. Miró, "Opportunities for 3D printed millifluidic platforms incorporating on-line sample handling and separation," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 108, pp. 13–22, Nov. 2018, doi: 10.1016/J.TRAC.2018.08.007.
- [68] C. K. Su, "Review of 3D-Printed functionalized devices for chemical and biochemical analysis," *Anal Chim Acta*, vol. 1158, p. 338348, May 2021, doi: 10.1016/J.ACA.2021.338348.

- [69] M. Subhi Sammani, S. Clavijo, A. Figuerola, and V. Cerdà, "3D printed structure coated with C18 particles in an online flow system coupled to HPLC-DAD for the determination of flavonoids in citrus external peel," *Microchemical Journal*, vol. 168, p. 106421, Sep. 2021, doi: 10.1016/J.MICROC.2021.106421.
- [70] G. Gonzalez, A. Chiappone, K. Dietliker, C. F. Pirri, and I. Roppolo, "Fabrication and Functionalization of 3D Printed Polydimethylsiloxane-Based Microfluidic Devices Obtained through Digital Light Processing," *Adv Mater Technol*, vol. 5, no. 9, p. 2000374, Sep. 2020, doi: 10.1002/ADMT.202000374.
- [71] A. I. Cherevko, G. L. Denisov, I. A. Nikovskii, A. v. Polezhaev, A. A. Korlyukov, and V. v. Novikov, "Composite Materials Manufactured by Photopolymer 3D Printing with Metal-Organic Frameworks," *Russian Journal of Coordination Chemistry/Koordinatsionnaya Khimiya*, vol. 47, no. 5, pp. 319–325, May 2021, doi: 10.1134/S107032842105002X/FIGURES/6.
- [72] A. Figuerola *et al.*, "Metal–organic framework mixed-matrix coatings on 3D printed devices," *Appl Mater Today*, vol. 16, pp. 21–27, Sep. 2019, doi: 10.1016/J.APMT.2019.04.011.
- [73] A. Svensson, "Developing a Portable Prototype to Utilize an Electrospun Colorimetric Sensor for the Detection of Trihalomethanes in Water," *Williams Honors College, Honors Research Projects*, Jan. 2019, Accessed: Sep. 04, 2022. [Online]. Available: https://ideaexchange.uakron.edu/honors_research_projects/902
- [74] "National Primary Drinking Water Regulations | US EPA." <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> (accessed Aug. 22, 2022).
- [75] Y. Liu, J. Duan, W. Li, Q. Lai, C. P. Saint, and D. Mulcahy, "Determination of Volatile Disinfection Byproducts in Water by Gas Chromatography–Triple Quadrupole Mass Spectrometry," <http://dx.doi.org/10.1080/00032719.2014.930873>, vol. 48, no. 1, pp. 188–203, Jan. 2014, doi: 10.1080/00032719.2014.930873.
- [76] M. Thompson, S. L. R. Ellison, and R. Wood, "Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report)," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 74, no. 5, pp. 835–855, Jan. 2002, doi: 10.1351/PAC200274050835/MACHINEREADABLECITATION/RIS.
- [77] "ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Step 5 NOTE FOR GUIDANCE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY (CPMP/ICH/381/95) APPROVAL BY CPMP November 1994 DATE FOR COMING INTO OPERATION," 1995, Accessed: Aug. 23, 2022. [Online]. Available: <http://www.emea.eu.int>
- [78] "Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Guidance for Industry | FDA." <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q2r1-validation-analytical-procedures-text-and-methodology-guidance-industry> (accessed Aug. 23, 2022).

- [79] M. Rodas Ceballos, F. González Serra, J. M. Estela, V. Cerdà, and L. Ferrer, "3D printed resin-coated device for uranium (VI) extraction," *Talanta*, vol. 196, pp. 510–514, May 2019, doi: 10.1016/J.TALANTA.2018.12.055.
- [80] A. Kinani, S. Kinani, and S. Bouchonnet, "Formation and determination of organohalogen by-products in water – Part II. Sample preparation techniques for analytical approaches," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 85, pp. 281–294, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.TRAC.2016.07.006.
- [81] "QA/QC Guidance for Sampling and Analysis of Sediments, Water, and Tissues for Dredged Material Evaluations | US EPA." <https://www.epa.gov/ocean-dumping/qaqc-guidance-sampling-and-analysis-sediments-water-and-tissues-dredged-material> (accessed Aug. 23, 2022).
- [82] A. Tor and M. E. Aydin, "Application of liquid-phase microextraction to the analysis of trihalomethanes in water," *Anal Chim Acta*, vol. 575, no. 1, pp. 138–143, Aug. 2006, doi: 10.1016/J.ACA.2006.05.054.
- [83] "Guidelines for drinking-water quality, 3rd edition: Volume 1 - Recommendations incorporating the first and second addenda." <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547611> (accessed Aug. 24, 2022).