



Quitosana-calcita derivada de residuos de camarón como una alternativa verde y ecológica para la extracción en fase sólida de contaminantes orgánicos en agua

Chitosan-calcite derived from shrimp waste as a green and ecological alternative for solid phase extraction of organic contaminants in water

Aranys-del-Carmen-Borja-Urzola*^{1,2}, Laura Paez-Daniels², Ronny Adrián Flores-Ortega³, María-de-Carmen-Durán-Domínguez-de-Bazúa⁴

¹Centro de Investigación e Innovación en Biodiversidad y Cambio Climático, ADAPTIA. Universidad Simón Bolívar. Carrera 53#64-51. Barranquilla-Colombia. Correo-e (*e-mail*):

aranys.borja@unisimon.edu.co, aradelc12@gmail.com

²Programa de Química y Farmacia. Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas. Universidad Simón Bolívar. Carrera 59#59-65. Barranquilla-Colombia

³Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador

⁴Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. 04510 Ciudad de México, México

*Autora a quien debe dirigirse la correspondencia / *Author to whom correspondence should be addressed*

Recibido / *Received*: Septiembre / *September* 13, 2024

Aceptado / *Accepted*: Septiembre / *September* 30, 2024 (Número 1, enero-junio / *Number 1, January-June*)

Resumen

Esta investigación presenta una propuesta para usar la quitosana proveniente de la desacetilación de la quitina presente en residuos de camarón, como un adsorbente verde y ecológico para la extracción en fase sólida de contaminantes orgánicos en agua. El adsorbente compuesto de quitosana y carbonato de calcio se obtuvo a partir de residuos de camarón café (*Farfantepenaeus aztecus*) a los que se les indujo biomineralización de CaCO_3 usando una solución saturada de CaCl_2 en metanol y agua como fuente de iones Ca^{2+} , solvente MAC-141⁹ ®©. La caracterización por IF-TF, DRX, ATG y MEB mostró que el adsorbente contiene carbonato de calcio en forma de calcita, poros en la superficie, estabilidad térmica y grupos NH_2 , OH y NHCOCH_3 en su estructura. Su aplicación como adsorbente en la EFS para extraer contaminantes en agua se evaluó usando tres herbicidas triazínicos como modelo de contaminantes orgánicos (terbutilazina, metribuzina y prometrina). Los resultados de la aplicación en EFS mostraron que la quitosana-calcita obtenida se comporta como una fase normal en su mecanismo de separación y es necesaria la saturación con NaCl para su aplicación cuando la matriz es acuosa. En comparación con fases comerciales, como la C18 y la *Oasis-HLB*, los porcentajes de eficiencia de recuperación indicaron que la quitosana-calcita puede aplicarse en EFS de contaminantes orgánicos de baja y mediana polaridad al modificar la matriz acuosa.

Palabras clave: Adsorbente verde, contaminantes emergentes, preparación de muestras, quitosana

Abstract

*This research presents a proposal to use chitosan from the deacetylation of chitin present in shrimp waste, as a green and ecological adsorbent for the solid phase extraction of organic contaminants in water. The chitosan and calcium carbonate composite adsorbent was obtained from brown shrimp (*Farfantepenaeus aztecus*) waste that was induced to biomineralize CaCO_3 using a saturated solution of CaCl_2 in methanol and water as a source of Ca^{2+} ions, solvent MAC-141¹⁰ ®©. The characterization by FT-IR, XRD, TGA, and SEM showed that the adsorbent contains calcium carbonate in the form of calcite, pores on the surface, thermal stability and NH_2 , OH and NHCOCH_3 groups in its structure. Its application as an adsorbent in SPE to extract contaminants in water was evaluated using three triazine herbicides as models of organic contaminants (terbutylazine, metribuzin and prometryn). The results of the SPE application showed that the obtained chitosan-calcite behaves*

⁹ Al final del artículo se encuentra un glosario con el significado de las siglas

¹⁰ At the end of the articles there is a glossary with the meaning of the acronyms

as a normal phase in its separation mechanism and saturation with NaCl is necessary for its application when the matrix is aqueous. Compared with commercial phases, such as C18 and Oasis-HLB, the recovery efficiency percentages indicated that chitosan-calcite can be applied in SPE of low and medium polarity organic contaminants by modifying the aqueous matrix.

Keywords: Green adsorbent, emerging contaminants, sample preparation, chitosan

Introducción

La búsqueda de alternativas sostenibles en el ámbito de la preparación de muestras en la química analítica es, hoy en día, uno de los escenarios más prometedores en el desarrollo e innovación de métodos adaptados a los conceptos de sostenibilidad, eficiencia y economía, derivados de los principios de la química analítica verde (Jagirani y Soylak, 2024; Pacheco-Fernández et al., 2020; Werner et al., 2024a). En este contexto, la extracción en fase sólida (SPE) emergió y se sostiene como una técnica de separación y preconcentración de analitos de gran relevancia debido a sus ventajas en cuanto a la reducción del consumo de disolventes, simplicidad y selectividad. Sin embargo, entra en desventaja al hablar de química analítica verde, ya que se usan normalmente como fases sólidas o adsorbentes, materiales comerciales y de alto valor económico o provenientes de procesos de síntesis que generan residuos y demanda un consumo energético. Una de las tendencias actuales en su adaptación a los principios de la química analítica verde es el desarrollo de materiales adsorbentes que sean económicos, amigables con el ambiente y con las propiedades que se requieren para su aplicación en procesos de extracción (Jagirani y Soylak, 2024; Sajid, 2022a). En este sentido, los adsorbentes que proviene de fuentes naturales y renovables se convierten en una opción sostenible y en un campo de investigación y desarrollo con potencial a futuro.

Las tendencias actuales dentro de esta área de investigación se han centrado en el uso de materiales altamente porosos para preparar polímeros de imprenta molecular (He et al., 2015; Martins et al., 2015) y nanotubos de carbono (Han et al., 2016) que muestran buenas recuperaciones y selectividad hacia compuestos orgánicos. Sin embargo, es preocupante en el ámbito ambiental el efecto nocivo y el alto valor económico de los reactivos requeridos en sus rutas sintéticas (Pacheco-Fernández et al., 2020). Por estas razones, se hace necesario la búsqueda de alternativas respetuosas con el ambiente y de bajo costo para obtener nuevos adsorbentes. Se han usado materiales naturales y desechos biológicos, como cáscaras de frutas, residuos de café, corcho, etc. (Sun et al., 2022; Werner et al., 2024a,b), hongos, algas, bacterias (Xiong et al., 2016), y biopolímeros naturales, como celulosa, alginato, agarosa y quitosana (de-Oliveira-Arias et al., 2014, 2018; Pacheco-Fernández et al., 2020).

Los adsorbentes a base de polímeros naturales, como la quitosana y la quitina, son abundantes, renovables, biodegradables y han mostrado eficiencia en la adsorción de metales, fenoles y otros contaminantes (Jagirani y Soylak, 2024; Sajid, 2022b; Salamatinia y Amouzgar, 2015). Los residuos de crustáceos son la principal fuente de biomasa en la producción de quitina y quitosana y por eso su uso ayuda a la sostenibilidad del ambiente (Bakshi et al., 2020). La quitosana, que proviene de la desacetilación de la quitina tiene en su estructura principalmente grupos $-NH_2$, $-OH$ y $-NHCOCH_3$ que la hacen reactiva y le confieren la habilidad de interactuar con diferentes tipos de contaminantes por mecanismos de complejación, intercambio iónico, interacciones electroestáticas, puentes de hidrógeno e interacciones dipolo-dipolo (Bhatnagar y Sillanpää, 2009; Salehi et al., 2016; Wan-Ngah et al., 2011; Werner et al., 2024a,b). Sin embargo, sus características físicas y mecánicas, como su baja área superficial y carencia de poros en la superficie, hace que las propuestas para su aplicación incluyan modificaciones químicas o físicas igual de contaminantes (Wang y Zhuang, 2017; Werner et al., 2024a,b) que las realizadas en las fases convencionales comerciales.

En esta investigación se usa la metodología de obtención de quitosana a partir de residuos de camarón propuesta en investigaciones anteriores (Borja-Urzola et al., 2020) para inducir la biomineralización de carbonato de calcio por medio de la quitosana al usar un disolvente compuesto de metanol, agua y

cloruro de sodio para así obtener un adsorbente a base de quitosana y carbonato de calcio con propiedades que permitan su aplicación como fase sólida. El carbonato de calcio, es un agente porogéno usado para mejorar la porosidad de los adsorbentes (Rekik et al., 2019; Salehi et al., 2016; Salehi y Madaeni, 2014; Wahba, 2017) y a la vez aportar rigidez y estabilidad, propiedades que se requieren para la *SPE*. La aplicación como fase sólida en el proceso de extracción de contaminantes orgánicos presentes en agua se evaluó en tres herbicidas triazínicos (terbutilazina, metribuzina y prometrina) de gran importancia ambiental debido a su toxicidad y presencia en matrices de agua superficial y subterránea (Herrera-Herrera et al., 2015; Mojiri et al., 2020; Zhao et al., 2011). En estudios previos (Borja-Urzola et al., 2021) se evaluó la capacidad de adsorción de la quitosana calcita frente a estos mismos compuestos y se encontró que el adsorbente permite su remoción de matrices acuosas en experimentos en lote. Borja-Urzola et al. (2021) reportaron que la quitosana calcita es capaz de interactuar con la metribuzina, prometrina y terbutilazina principalmente a través de la formación de puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y interacciones dipolo-dipolo; por eso la importancia de estudiar su aplicación como posible fase sólida para la extracción y concentración de triazinas en matrices acuosas ambientales ya que promete ser un adsorbente con propiedades promisorias en su aplicación en la química analítica. Los resultados obtenidos son la base para futuros estudios sobre la aplicación de la quitosana como adsorbente verde y ecológico para la *SPE* u otras técnicas de preparación de muestras para extraer y concentrar contaminantes orgánicos en matrices ambientales.

Materiales y métodos

La quitosana-calcita se obtuvo aplicando la metodología reportada en trabajos previos (Borja-Urzola et al., 2020). Para su obtención se utilizaron residuos de camarón marrón (*Farfantepenaeus aztecus*) y la reacción de desacetilación y la biomineralización del carbonato de calcio se hizo usando una solución de cloruro de calcio en agua y metanol, asistida por agitación y ultrasonido. El acetato de etilo (AcET), acetona (AcTN), isopropanol (iPrOH), acetonitrilo (ACN), metanol (MeOH) y Hexano utilizados en *SPE* fueron grado cromatográfico (J.T. Baker, México). El NaCl, Florisil®, alumina y la sílica se obtuvieron de Sigma-Aldrich. La metribuzina y prometrina de 99.9 y 99.5% de pureza, respectivamente, fueron obtenidas de ChemService, México. Terbutilazina de 98.0% de pureza fue obtenida de Sigma-Aldrich, Mexico. Para elaborar los cartuchos SPE de quitosana-calcita se utilizaron reservorios de polipropileno (6 mL-Part N°. 12131009) y *frits* de polipropileno (Part N°. 12131021) de *Agilent Technologies*. Para comparar los cartuchos de quitosana calcita con fases comerciales se utilizaron cartuchos C18-Chromabond (500 mg/6mL) y Oasis HLB de Waters (200 mg/6mL). La cuantificación de terbutilazina, metribuzina y prometrina se hizo utilizando el cromatógrafo de gases 7890A de Agilent Technologies con detector de fotoionización de flama (FID). Para esto se empleó una columna DB-5% proporcionada por Agilent Technologies, México.

Caracterización de la quitosana-calcita

La quitosana-calcita fue caracterizada usando FT-IR, XRD, SEM y TGA. Los espectros FT-IR fueron obtenidos usando un espectrómetro PerkinElmer (*Spectrum 100*). Los análisis XRD se obtuvieron usando un difractómetro modelo D8 ADVANCE DAVIN con radiación de Cu-Mo y detector Lynxeye. La morfología del adsorbente fue estudiada usando espectroscopía de difracción de rayos X (EDS) empleando un JEOL JSM-5900 LV y finalmente, el perfil térmico fue analizado usando un equipo TGA 4000 de PerkinElmer.

Extracción en fase sólida

Los cartuchos utilizados se prepararon pesando una cantidad de quitosana-calcita y colocando en un reservorio de polipropileno para *SPE* de 6 mL. La inmovilización del adsorbente se hizo usando dos *frits* de polipropileno. Todos los experimentos se hicieron por triplicado y se evaluó la recuperación obtenida por comparación de las áreas de los analitos, con aquellas obtenidas por inyección directa de la mezcla de estándares a la misma concentración. Para estudiar el comportamiento de la quitosana-

calcita como fase sólida se comparó la eficiencia de recuperación de los analitos de estudio frente a cartuchos elaborados con quitosana comercial y cartuchos comerciales Oasis HLB. Para ello se colocaron los cartuchos en serie vertical donde el primer contacto con la solución fueron los cartuchos de quitosana y de segundo, los cartuchos comerciales. Para evaluar el proceso de SPE se mantuvo el pH de la solución a 7, debido a que estudios previos de capacidad de adsorción de la quitosana-calcita (Borja-Urzola et al., 2021) mostraron que a este valor de pH se favorece la adsorción de triazinas, ya que se evita la repulsión de cargas. Inicialmente se preparó una solución de 100 µg/L de las triazinas. Los cartuchos fueron acondicionados con 6 mL de metanol y 6 mL de agua ultrapura y se pasaron 100 mL de la muestra acuosa con las triazinas. Posteriormente, se lavaron los cartuchos con 12 mL de agua ultrapura y se secaron durante 20 min en una centrífuga a 3500 rpm. La elución se hizo empleando 6 mL de acetona:metanol (50:50). Este procedimiento se aplicó en los cartuchos de quitosana-calcita, quitosana comercial y *Oasis HLB*. Se optimizaron los parámetros de adición de NaCl, tipo y volumen de disolvente de elución y cantidad de adsorbente. Se evaluó la mejora del efecto matriz y el porcentaje de recuperación de los analitos aplicado el modo de mezcla de adsorbente y posteriormente se comparó el método optimizado con cartuchos comerciales *C18-Cromabond* y *Oasis-HLB* de *Waters*.

Cromatografía de gases con detector de fotoionización de flama (GC-FID)

Los análisis se realizaron en un sistema *GC-FID* de Agilent Technologies, modelo 7890A equipado con una columna DB-5% (30m* 0.25mm* 0.25 µm). El puerto de inyección se configuró a 300°C y se inyectó 1 µL de la muestra en modo *splitless* y el flujo de He se mantuvo a 1.15 mL/min. La temperatura del horno fue la siguiente: Temperatura inicial de 100°C, aumentada a 220°C a 80°C/min manteniéndose por 1 min. Posteriormente se aumentó a 250°C a 10°C/min y se mantuvo por 1 min. La temperatura del detector se programó a 300°C, el flujo de H₂ fue de 35 mL/min, aire de 350 mL/min y He (*make up*) de 35 mL/min.

Resultados y discusión

Caracterización de la quitosana-calcita

En el espectro *FT-IR* de la quitosana calcita se observa una banda de absorción en 824 cm⁻¹ que se atribuye al carbonato de calcio (Espíndola-Cortés et al., 2017; Mohammed et al., 2013) (Figura 1a). El adsorbente presenta una banda de adsorción alrededor de 1630 cm⁻¹. Esta banda es característica del doble enlace carbono-oxígeno de la amida I. También se observa una banda, alrededor de los 1621 cm⁻¹, que es un indicador de la formación de la amina primaria después del proceso de desacetilación (Mohammed et al., 2013). La presencia de los enlaces -O-H y -N-H se observa en las bandas de absorción alrededor de 3450 y 3322 cm⁻¹, respectivamente. Se observa una banda en 2924 cm⁻¹ que es característica del enlace -C-H y en 1156, 1060 y 1033 cm⁻¹ que corresponde al enlace -C-O. Las bandas de absorción observadas estuvieron de acuerdo con las bandas encontradas en trabajos previos reportados por Borja-Urzola et al. (2020).

En el difractograma de la quitosana-calcita (Figura 1b) se observan dos picos de difracción alrededor de 9.5° y 19.5° característicos de la quitosana (El-Knidri et al., 2016, 2018). Adicionalmente presenta picos cristalinos en 29.3°, 36.0°, 47.5° y 48.4° asignados a los planos (104), (110), (024) y (018), respectivamente, de la calcita, por lo que es posible que los iones Ca²⁺ sean estabilizados por los monómeros de quitina que no sufren desacetilación (Morse et al., 2007).

El análisis termogravimétrico de la Figura 1c muestra que la descomposición térmica de la quitosana-calcita ocurre en dos etapas. La primera entre 45-110°C con una pérdida de masa del 4-6%, correspondiente a la evaporación de agua (Erdogan y Kaya, 2016). La segunda etapa ocurre a una temperatura de 388°C con una pérdida de masa del 27.64%. Los resultados muestran que la quitosana-calcita presenta estabilidad térmica superior a la reportada por otros autores (Erdogan y

Kaya, 2016; Kaya et al., 2014; Tolesa et al., 2019) que encontraron valores en un intervalo de 295-310°C.

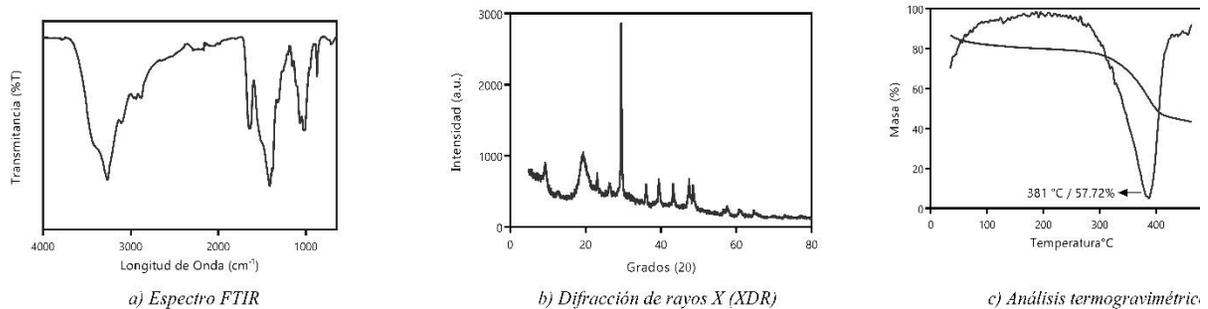


Figura 1. Caracterización de la quitosana-calcita derivada de los residuos de camarón

La morfología de la superficie (Figura 2) indicó que la quitosana presentó una superficie no homogénea que estuvo conformada por una parte lisa y otra rugosa en forma de aglomeraciones. También, se observaron poros de diferentes tamaños distribuidos de manera irregular en la superficie y la formación de pequeños cristales en forma de aglomeraciones.

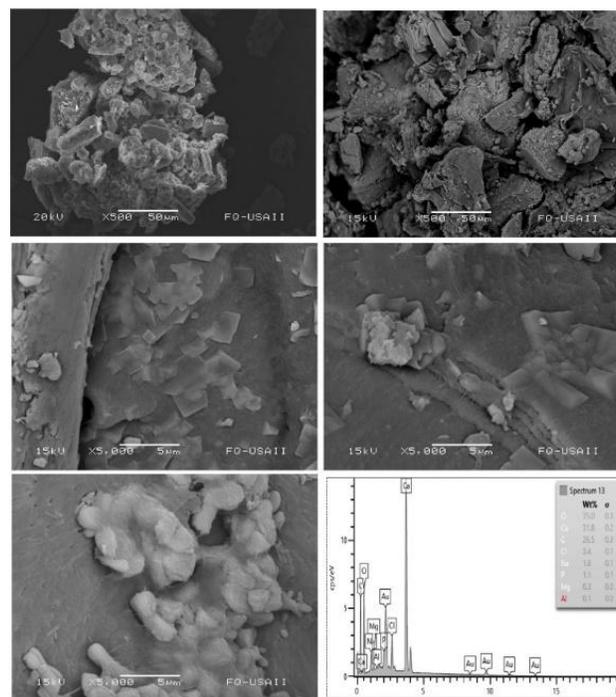


Figura 2. Imágenes de SEM de la morfología de la quitosana-calcita

La presencia de Ca se confirmó mediante el análisis de espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDS). Se observa cómo la solución saturada de CaCl_2 en agua y metanol induce la formación de cristales de carbonato de calcio en la superficie del biopolímero confirmando la biomineralización por parte de la quitosana al estar presente una fuente de iones Ca^{2+} (Díaz-Dosque et al., 2008). La presencia de oxígeno y carbono en un porcentaje de masa total del 35 y 26.5%, respectivamente,

implica la presencia de una gran cantidad de grupos funcionales en la superficie del adsorbente que pueden interactuar por medio de reacciones hidrofóbicas o enlaces de hidrógeno.

Optimización de la extracción en fase sólida usando Quitosana-Calcita como adsorbente

En estudios previos se reportó la capacidad de adsorción de la quitosana calcita frente a la terbutilazina, metribuzina y prometrina (Borja-Urzola et al., 2021). En este estudio se reportó que las interacciones químicas entre la quitosana-calcita y las triazinas ocurre por la presencia de varios grupos, -OH, -NH₂ y -NHCOCH₃, presentes en su estructura. Las eficiencias de adsorción reportadas fueron de 76.57±1.28% para la prometrina, 79.22±0.55% para la metribuzina y 68.35±0.46% para la terbutilazina. De acuerdo con estos resultados en un primer intento de evaluar su funcionalidad como fase sólida, se pasó una solución de triazinas a una concentración de 100 µg/L en cartuchos de quitosana-calcita y *Oasis HLB*. Los cartuchos fueron acondicionados con 6 mL de metanol y 6 mL de agua ultrapura. Posteriormente, se pasaron 100 mL solución. El lavado de los cartuchos se hizo con 12 mL de agua ultrapura y se secaron durante 20 min con una centrífuga a 3500 rpm. La elución se hizo empleando 4 mL de una mezcla acetonitrilo:metanol 50:50. Con la finalidad de corroborar la retención y la fugacidad de los analitos en la fase de quitosana, los cartuchos se colocaron en secuencia vertical. El primer cartucho correspondía al de la quitosana-calcita y el segundo al cartucho *HLB*. Los resultados obtenidos mostraron que no hubo retención en los cartuchos elaborados con la quitosana-calcita, debido a que el 90% de los analitos se encontraron en los cartuchos *HLB*. Esto puede deberse a dos factores: 1) La superficie de contacto se ve afectada al momento de empacar el adsorbente en una columna de lecho fijo, por lo que la adsorción de los analitos requiere más tiempo y 2) La quitosana-calcita no funciona bajo el mecanismo de fase reversa y el agua presente en la solución de triazinas compite por los sitios activos polares debido a la formación de puentes de hidrógeno, lo que limita la retención de los analitos.

De acuerdo con lo anterior, se estudió la influencia del cambio de matriz de los analitos sobre la eficiencia de recuperación de los analitos. Para esto se evaluó la saturación de la solución acuosa con NaCl y el cambio de agua a un solvente no polar como el hexano, ya que es posible que debido al grado de desacetilación, %DD, de la quitosana-calcita y la presencia de grupos -NH₂ libres esta se comporte como las fases normales usadas en cromatografía. Los resultados del efecto de la saturación se muestran en la Figura 3a y se observa que el cambio de matriz acuosa a no polar mejora la eficiencia del proceso de extracción en un 100% usando a la quitosana-calcita como fase sólida. Con esto se comprueba que la quitosana-calcita se comporta como un adsorbente altamente polar y que el agua donde están disueltas las triazinas interactúa formando puentes de hidrógeno con los grupos polares del adsorbente. Este hecho, hace que disminuyan los sitios activos y, por tanto, no ocurra la retención de las triazinas. Al momento de pasar la matriz de hexano, las interacciones se hacen específicas y selectivas debido a su mediana polaridad. Esto hace que el hexano pase a través de la columna sin generar interacciones. La saturación mejora significativamente la eficiencia de recuperación de los analitos. Se observa que una saturación del 20% permite recuperar los analitos por encima del 60%. Al evaluar una saturación del 40% se recuperan el 90% de los analitos, por lo que la adición de NaCl favorece la adsorción y elución de la metribuzina, prometrina y terbutilazina en la quitosana-calcita al momento de la *SPE*.

La adición de NaCl incrementa la fuerza iónica de la muestra acuosa y disminuye la solubilidad de los compuestos orgánicos. En consecuencia, se incrementaron los coeficientes de distribución entre la fase sólida y la matriz, mejorando la sensibilidad de los métodos de *SPE*. De acuerdo con Kharbouche et al. (2019) al agregar NaCl en una matriz acuosa las moléculas de agua forman esferas de hidratación alrededor de las moléculas de NaCl, reduciendo así la cantidad de agua disponible para interactuar con los analitos polares. Este paso favorece la transferencia de compuestos polares de la fase acuosa o al adsorbente y mejora los porcentajes de recuperación (Anastassiades et al., 2003). En otras palabras, la muestra se hace menos polar y, por lo tanto, menos receptiva a los analitos polares. De

acuerdo con estos resultados la optimización del proceso de *SPE* se hizo saturando la muestra acuosa al 40% con NaCl.

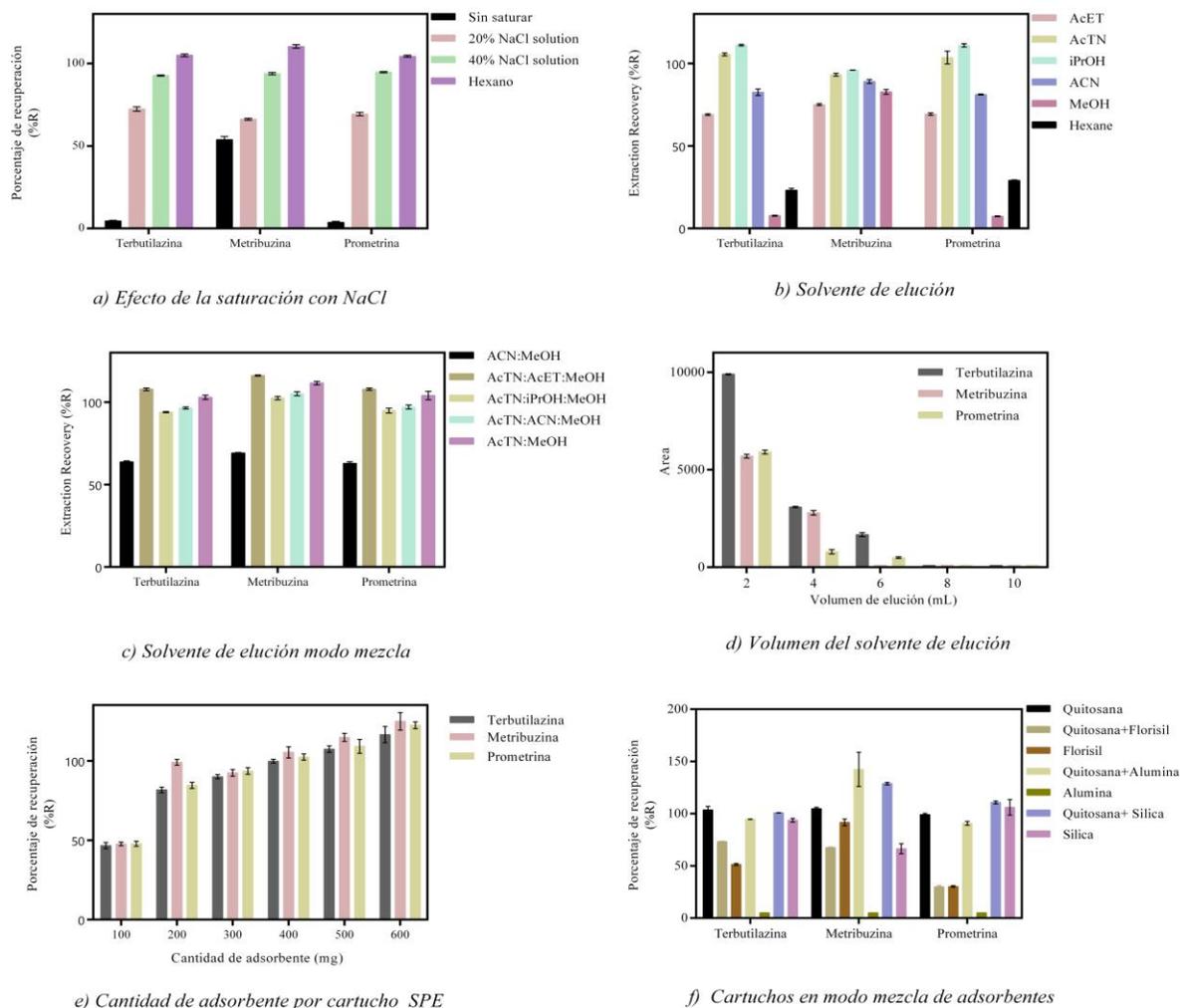


Figura 3. Optimización de la extracción en fase sólida usando quitosana-calcita

La optimización del proceso *SPE* usando quitosana-calcita como adsorbente y terbutilazina, metribuzina y prometrina como analitos se muestra en la Figura 3. El tipo de disolvente y el volumen óptimo de elución se muestran en las Figuras 3b, c y d. La metribuzina fue eluida con un porcentaje de recuperación del $82.78 \pm 1.49\%$ al usar metanol, mientras que la terbutilazina y la prometrina se recuperaron en menos de un 10%. Al usar el hexano se observó un comportamiento inverso con respecto del metanol. En este caso, la metribuzina no logró eluir del cartucho, mientras que la terbutilazina y la prometrina lo hicieron en un 23.08 ± 1.27 y $29.11 \pm 0.26\%$, respectivamente. Este comportamiento indica que la fuerza de las interacciones con las que son retenidos cada uno de los compuestos en la quitosana-calcita es diferente. En el caso de la metribuzina, la interacción quitosana-metribuzina viene dada por una interacción del tipo puente de hidrógeno. Por esta razón el metanol, que es un disolvente altamente polar, fue capaz de romper esta interacción al formar también puentes de hidrógeno con la metribuzina. Para la terbutilazina y la prometrina, la interacción por puentes de

hidrógeno no podría asegurarse y, más bien, podrían ocurrir interacciones polares un poco más débiles como las interacciones hidrofílicas o dipolo-dipolo. Por esta razón no logran ser eluidos por el metanol y se eluyen completamente con los disolventes medianamente polares, como el isopropanol o con los disolventes apróticos, como la acetona, acetato de etilo y acetonitrilo, que son incapaces de interaccionar formando puentes de hidrógeno (Zhou et al., 2017).

La evaluación de la mezcla de disolventes mostró que en todas las mezclas evaluadas la eficiencia de recuperación fue superior al 90%, excepto para la mezcla 50:50 acetonitrilo:metanol, donde los porcentajes de recuperación fueron cercanos al 60% para todos los compuestos. Las mezclas acetona:acetato de etilo:metanol y acetona:metanol mostraron porcentajes de recuperación del 107.92±0.83 y 102.94±1.27% para la terbutilazina, 116.21±0.33 y 111.59±1.05% para la metribuzina y de 107.03±0.69 y 104.03±2.54% para la prometrina, respectivamente. Aunque ambas mezclas mostraron recuperaciones por encima del 100%, se seleccionó la mezcla acetona:metanol (50:50) como disolvente de elución ya que involucraba menos reactivos químicos. En la Figura 3d se observa que la elución completa de los analitos se presentó a los 6 mL al utilizar la mezcla acetona:metanol 50:50.

Con la finalidad de conocer la cantidad óptima de quitosana en los cartuchos *SPE*, éstos fueron empacados con 100, 200, 300, 400, 500 y 600 mg del compuesto y se hizo pasar una solución de 50 mL a una concentración de 50 µg/L. Los resultados se muestran en la Figura 3e y se observa que las recuperaciones aumentan conforme se incrementa la cantidad de adsorbente con una eficiencia de recuperación superior al 100% para todos los compuestos a partir de los 400 mg. Se seleccionaron 400 mg de fase sólida para asegurar un menor volumen de elución posteriormente. A esta cantidad de fase sólida se necesitaron adicionar 6 mL de la mezcla acetona:metanol para lograr recuperaciones cercanas al 100%. Con 600 mg, la cantidad óptima de disolvente era de 10 mL y las recuperaciones seguían siendo cercanas al 100%.

Debido a que la interacción de la quitosana con el agua disminuye su eficiencia de adsorción en *SPE* se evaluó el comportamiento de la eficiencia de recuperación al mezclar la quitosana con un adsorbente más polar como el *florisil*®, la alúmina y la sílice. Esta mezcla de adsorbentes, conocida como *Mixed-Mode Sorbents*, en inglés, permite obtener extractos muchos más limpios (disminuyendo el efecto de la matriz) y una mejora en la reproducibilidad del método y en el incremento de los porcentajes de recuperación (Fontanals et al., 2010, 2020; Moral et al., 2023). En la literatura hay propuestas de procesos de extracción con mezclas de adsorbentes (Caban et al., 2019; Fontanals et al., 2020; Moral et al., 2023) donde se usan con la finalidad de reducir el efecto de los componentes de la matriz al ser empleados en el análisis ambiental de muestras acuosas. En la Figura 3f se observa que la sílice y el *florisil*® por sí solos retuvieron a las triazinas ya que se recuperó una parte de los analitos añadidos, mientras que la alúmina no retuvo a los compuestos. Los mayores porcentajes de recuperación los presentó la sílice (93.79±1.75% para la terbutilazina, 66.38±4.86% para la metribuzina y 106.05±7.50% para la prometrina). Los porcentajes de recuperación en el cartucho de quitosana (cercanos al 100%) mejoraron para la metribuzina con la adición de alúmina, presentado un porcentaje del 142.48±16.33% para la misma solución de 50 µg/L, lo cual es muy interesante, ya que es posible que la alúmina permita la retención y elución de la metribuzina con mayor facilidad y, por eso, su respuesta es diferente a la obtenida con la evaluación de la linealidad a la misma concentración. Este valor de porcentaje de recuperación por encima del 100% es posible debido a que la *SPE* es una técnica de preconcentración de compuestos en concentraciones trazas, por lo que una ligera variación en el volumen de elución y en el final recuperado, hace que la calibración previamente realizada en el equipo instrumental, presente variaciones de unidades. La sílice junto con la quitosana permitió obtener eficiencias mayores de recuperación que al evaluar la quitosana por sí sola. También se obtuvo menos variación y la desviación estándar de los resultados disminuyó, indicando que quizás la sílice ayudó a disminuir el efecto matriz del agua saturada. Los cartuchos de *florisil*® no permitieron

que la muestra fluyera con facilidad a través del cartucho, por lo que no es adecuado mezclar quitosana con *florisil*® ya que la transferencia de masa de los analitos al adsorbente se vería afectada.

Rendimiento analítico de *SPE* y comparación con alternativas comerciales

Para validar el rendimiento del método *SPE* propuesto, se determinó el rango lineal, el coeficiente de determinación (R^2) y la comparación con fases de *SPE* comerciales. Todo esto en función de las condiciones óptimas realizadas en los experimentos anteriores. La linealidad se evaluó en un rango de 10 a 100 $\mu\text{g/L}$, obteniéndose valores de R^2 de 0.988, 0.976 y 0.983 para la terbutilazina ($y = 104.41x - 236.92$), metribuzina ($y = 62.21x - 267.36$), prometrina ($y = 97.58x - 77.52$), respectivamente. Los valores de R^2 obtenidos indican una relación entre la concentración de los analitos y la respuesta del método de *SPE* propuesto.

La comparación con fases comerciales comunes empleadas para la extracción de las triazinas estudiadas se muestra en la Figura 4. La quitosana-calcita puede lograr porcentajes de recuperación cercanos al 100% al igual que lo hacen las fases comerciales, lo cual demuestra que es posible usar la quitosana calcita obtenida de los residuos de camarón como adsorbente en procesos de extracción en fase sólida. Esta quitosana presenta la ventaja de ser un adsorbente efectivo, económico y amigable con el ambiente, ya que la quitosana es biodegradable y proviene de una fuente renovable, los residuos de camarón.

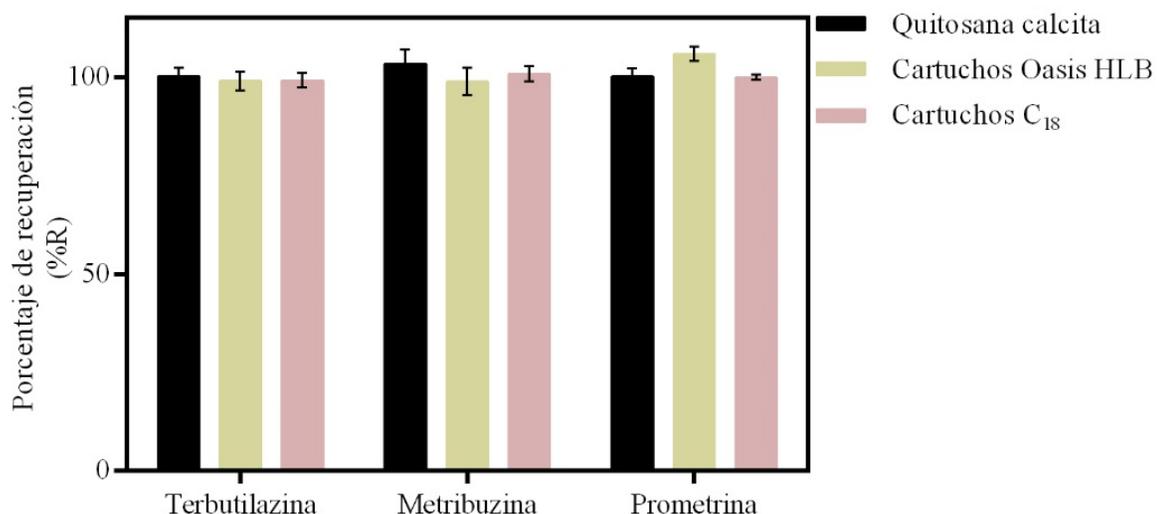


Figura 4. Comparación con fases sólidas comerciales, *C18-Cromabond* y *Oasis HLB-Waters*

Conclusiones

La quitosana-calcita puede considerarse un adsorbente de bajo-coste ya que proviene de residuos sin valor agregado de la industria de alimentos y se obtiene por una metodología que requiere poco procesamiento y además, se evita el uso de reactivos agresivos como el NaOH concentrado, el cual es usado en los métodos de extracción convencional. La quitosana-calcita como fase sólida se caracteriza por ser una fase polar debido a la presencia de los grupos $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ y $-\text{NHCOCH}_3$. El agua desactiva su función como adsorbente al saturar los sitios polares activos. Esta investigación demostró que su aplicación en matrices polares necesita una modificación de la matriz, por ejemplo, una saturación con sales, como el NaCl. Los analitos usados para evaluar el proceso de *SPE* presentan baja a mediana polaridad, mostrando una retención y posterior elución de manera eficiente. La quitosana-calcita puede presentar limitaciones al usarse con compuestos muy polares, que pueden generar interacciones muy

fuertes, que requieran un volumen muy alto de disolvente para su elución o que impida su completa desorción de adsorbente.

La quitosana-calcita obtenida por la metodología propuesta por Borja-Urzola et al. (2020) presenta un %DD cercano al 60%. Este valor de %DD es muy importante debido a que en comparación con la quitosana comercial que presenta un %DD entre 75-85% su aplicación como adsorbente en SPE no es posible al momento de usar una matriz acuosa sin modificación. El %DD limita su aplicación como fase sólida al momento de estudiar analitos de baja y mediana polaridad presentes en matrices acuosas. Un mayor grado de desacetilación se asocia con una mayor cantidad de grupos aminos libres y, por ende, las interacciones por puentes de hidrógeno con el agua se incrementan y llevan a una hidratación del adsorbente o retención de agua, limitando el paso de la muestra a través de la columna. Sin embargo, es posible su aplicación en otras técnicas de preparación de muestras destinadas a matrices de naturaleza diferente a la acuosa o como adsorbente de limpieza en procesos de "Clean-up" donde se requiere de eliminar las interferencias polares de las muestras a estudiar. Estos resultados explican por qué en la literatura no hay reportes del uso de la quitosana en SPE y sí los hay en el proceso de "clean-up" (de-Oliveira-Arias et al., 2014, 2018).

Glosario

Términos y siglas	Significado
AcET	Acetato de etilo
ACN	Acetonitrilo
AcTN	Acetona
<i>C18-Cromabond</i>	Cartuchos comerciales <i>C18-Cromabond</i> - Fase sólida de n-octadecilo ligado a sílice
<i>DB-5%</i>	Columna no polar usada en cromatografía de gases compuesta de (5%-Fenil)-metilpolisiloxano
<i>EDS</i>	Espectroscopía de dispersión de energía de rayos X por sus siglas en inglés, <i>energy dispersive spectroscopy</i>
<i>FID</i>	Siglas en inglés para detector de ionización de flama (<i>Flame ionization detector</i>)
<i>Florisil®</i>	Silicato de magnesio activado. Fase sólida comercial usada como adsorbente en cromatografía
<i>FT-IR</i>	Siglas en inglés para IR-FT, infrarrojo con Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared</i>)
<i>GC-FID</i>	Siglas en inglés para CG-DIF, cromatografía de gases acoplado a un detector de ionización de flama o llama (<i>gas chromatograph-flame ionization detector</i>)
He	Helio
H ₂	Hidrógeno
iPrOH	Isopropanol
MAC-141 ®©	Disolvente formado por una mol de metanol, cuatro moles de agua y una mol de cloruro de calcio (Flores-Ortega et al., 2004)
<i>make up</i>	Términos usados para hacer referencia al gas auxiliar empleado en cromatografía de gases
MeOH	Metanol
min	Minutos
mL	Mililitros
NaCl	Cloruro de sodio
<i>Oasis-HLB-Waters</i>	Cartucho comercial conocido como <i>Oasis HLB</i>
rpm	Revoluciones por minuto

Términos y siglas	Significado
<i>SEM</i>	Microscopía electrónica de barrido por sus siglas en inglés, <i>scanning electron microscopy</i>
<i>SPE</i>	Extracción en Fase Sólida (<i>SPE</i> , por sus siglas en inglés <i>Solid Phase Extraction</i>)
<i>TGA</i>	Análisis termogravimétrico por siglas en inglés, <i>thermogravimetric analysis</i>)
<i>XRD</i>	Difracción de Rayos X (<i>XRD</i> , por sus siglas en inglés <i>X Ray Diffraction</i>)
Símbolos griegos y otros	
µg	Unidad de masa-Microgramos
°C	Unidad de Temperatura- grados Celsius
%DD	Porcentaje de desacetilación de la quitosana

Reconocimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por medio de los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQyQA) de la Facultad de Química para la realización de los experimentos de optimización de la extracción en fase sólida y la caracterización de la quitosana.

Referencias bibliográficas

- Anastassiades, M., Lehotay, S.J. Stajnbaher, D., Schenck, F.J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction / Partitioning and "Dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*. 86(2):412-431.
- Bakshi, P.S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., Kumar, N.S. 2020. Chitosan as an environment friendly biomaterial – A review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 150:1072-1083. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113>
- Bhatnagar, A., Sillanpää, M. 2009. Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater - A short review. *Advances in Colloid and Interface Science*. 152(1-2):26-38. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2009.09.003>
- Borja-Urzola, A.d.C., García-Gómez, R.S., Bernal-González, M., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2021. Chitosan-calcite from shrimp residues: A low-cost adsorbent for three triazines removal from aqueous media. *Materials Today Communications*. 26: 102131. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102131>
- Borja-Urzola, A.d.C., García-Gómez, R.S., Flores, R., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2020. Chitosan from shrimp residues with a saturated solution of calcium chloride in metanol and water. *Carbohydrate Research*. 497:108116 <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.108116>
- Caban, M., Lis, H., Kobylis, P., Stepnowski, P. 2019. The triple-sorbents solid-phase extraction for pharmaceuticals and estrogens determination in wastewater samples. *Microchemical Journal*. 149: 103965. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.103965>
- de-Oliveira-Arias, J.L., Rombaldi, C., Caldas, S.S., Primel, E.G. 2014. Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1360:66–75. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.082>
- de-Oliveira-Arias, J.L., Schneider, A., Batista-Andrade, J.A., Vieira, A.A., Caldas, S.S., Primel, E.G. 2018. Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. *Food Chemistry*. 240:1243–1253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.041>
- Díaz-Dosque, M., Aranda, P., Darder, M., Retuert, J., Yazdani-Pedram, M., Luis Arias, J., Ruiz-Hitzky, E. 2008. Use of biopolymers as oriented supports for the stabilization of different polymorphs of biomineralized calcium carbonate with complex shape. *Journal of Crystal Growth*. 310(24):5331-5340. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2008.08.057>
- El-Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., Lahsini, A. 2018. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 120:1181-1189. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>
- El-Knidri, H., El-Khalifaouy, R., Laajeb, A., Addaou, A., Lahsini, A. 2016. Eco-friendly extraction and characterization of chitin and chitosan from the shrimp shell waste via microwave irradiation. *Process Safety and Environmental Protection*. 104:395-405. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.09.020>
- Erdogan, S., Kaya, M. 2016. High similarity in physicochemical properties of chitin and chitosan from nymphs and adults of a grasshopper. *International Journal of Biological Macromolecules*. 89:118-126. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.059>

- Espíndola-Cortés, A., Moreno-Tovar, R., Bucio, L., Gimeno, M., Ruvalcaba-Sil, J.L., Shirai, K. 2017. Hydroxyapatite crystallization in shrimp cephalothorax wastes during subcritical water treatment for chitin extraction. *Carbohydrate Polymers*. 172:332–341. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.055>
- Flores-Ortega, R.A., Barrera-Rodríguez, S., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C. 2004. Extracción ecológica de quitina y subproductos. Patente Núm. 264482. Solicitud de Registro: Octubre 1, 2004. Facultad de Química, UNAM. IMPI. PA/a/2004/009517. Otorgada el 12 de febrero de 2009. Ciudad de México, México.
- Fontanals, N., Borrull, F., Marcé, R.M. 2020. Mixed-mode ion-exchange polymeric sorbents in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*. 1609: 460531. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460531>
- Fontanals, N., Marcé, R.M., Borrull, F., Cormack, P.A.G. 2010. Mixed-mode ion-exchange polymeric sorbents: dual-phase materials that improve selectivity and capacity. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 29(7):765-779. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.03.015>
- Han, Y., Song, L., Zou, N., Chen, R., Qin, Y., Pan, C. 2016. Multi-residue determination of 171 pesticides in cowpea using modified QuEChERS method with multi-walled carbon nanotubes as reversed-dispersive solid-phase extraction materials. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 1031:99-108. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.07.043>
- He, J., Song, L., Chen, S., Li, Y., Wei, H., Zhao, D., Gu, K., Zhang, S. 2015. Novel restricted access materials combined to molecularly imprinted polymers for selective solid-phase extraction of organophosphorus pesticides from honey. *Food Chemistry*. 187:331-337. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.069>
- Herrera-Herrera, A.V., Asensio-Ramos, M., Hernández-Borges, J., Rodríguez-Delgado, M.A. 2015. Pesticides and Herbicides: Types, Uses, and Determination of Herbicides. *Encyclopedia of Food and Health*. Pp. 326-332. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00536-5>
- Jagirani, M.S., Soylak, M. 2024. Green sorbents for the solid phase extraction of trace species. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 47:100899. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2024.100899>
- Kaya, M., Baublys, V., Can, E., Šatkauskienė, I., Bitim, B., Tubelytė, V., Baran, T. 2014. Comparison of physicochemical properties of chitins isolated from an insect (*Melolontha melolontha*) and a crustacean species (*Oniscus asellus*). *Zoomorphology*. 133(3):285–293. <https://doi.org/10.1007/s00435-014-0227-6>
- Kharbouche, L., Gil-García, M.D., Lozano, A., Hamaizi, H., Galera, M.M. 2019. Solid phase extraction of pesticides from environmental waters using an MSU-1 mesoporous material and determination by UPLC-MS/MS. *Talanta*. 199:612–619. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.02.092>
- Martins, N., Carreiro, E.P., Locati, A., Ramalho, J.P.P., Cabrita, M.J., Burke, A.J., Garcia, R. 2015. Design and development of molecularly imprinted polymers for the selective extraction of deltamethrin in olive oil: An integrated computational-assisted approach. *Journal of Chromatography A*. 1409:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.07.025>
- Mohammed, M.H., Williams, P.A., Tverezovskaya, O. 2013. Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. *Food Hydrocolloids*. 31(2):166–171. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.021>
- Mojiri, A., Zhou, J.L., Robinson, B., Ohashi, A., Ozaki, N., Kindaichi, T., Farraji, H., Vakili, M. 2020. Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. *Chemosphere*. 253:126646. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126646>
- Moral, A., Clivillé-Cabrè, P., Borrull, F., Furton, K.G., Kabir, A., Marcé, R.M., Fontanals, N. 2023. Application of a homemade silica-based mixed-mode ion-exchange sorbent for the determination of drugs in environmental water samples. *Advances in Sample Preparation*. 7: 100074. <https://doi.org/10.1016/j.sampre.2023.100074>
- Morse, J.W., Arvidson, R.S., Lüttge, A. 2007. Calcium carbonate formation and dissolution. *Chemical Reviews*. 107(2):342–381. <https://doi.org/10.1021/cr050358j>
- Pacheco-Fernández, I., Allgaier-Díaz, D.W., Mastellone, G., Cagliero, C., Díaz, D.D., Pino, V. 2020. Biopolymers in sorbent-based microextraction methods. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 125: 115839 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115839>
- Rekik, S.B., Gassara, S., Bouaziz, J., Deratani, A., Baklouti, S. 2019. Enhancing hydrophilicity and permeation flux of chitosan/kaolin composite membranes by using polyethylene glycol as porogen. *Applied Clay Science*. 168:312–323. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.11.029>
- Sajid, M. 2022a. Chitosan-based adsorbents for analytical sample preparation and removal of pollutants from aqueous media: Progress, challenges and outlook. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 36: e00185 <https://doi.org/10.1016/j.teac.2022.e00185>
- Sajid, M. 2022b. Chitosan-based adsorbents for analytical sample preparation and removal of pollutants from aqueous media: Progress, challenges and outlook. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 36:e00185 <https://doi.org/10.1016/j.teac.2022.e00185>
- Salamatinia B., Amouzgar, P. 2015. A short review on presence of pharmaceuticals in water bodies and the potential of chitosan and chitosan derivatives for elimination of pharmaceuticals. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*. S4:001. <https://doi.org/10.4172/1747-0862.s4-001>
- Salehi, E., Daraei, P., Shamsabadi, A.A. 2016. A review on chitosan-based adsorptive membranes. *Carbohydrate Polymers*. 152:419-432. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.033>
- Salehi, E., Madaeni, S.S. 2014. Influence of poly(ethylene glycol) as pore-generator on morphology and performance of chitosan/poly(vinyl alcohol) membrane adsorbents. *Applied Surface Science*. 288:537-541. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.10.067>
- Sun, R., Lu, F., Yu, C., Yang, Y., Qiao, L., Liu, A. 2022. Peanut shells-derived biochars as adsorbents for the pipette-tip solid-phase extraction of endocrine-disrupting phenols in water, milk and beverage. *Journal of Chromatography A*. 1673:463101. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463101>
- Tolesa, L.D., Gupta, B.S., Lee, M.J. 2019. Chitin and chitosan production from shrimp shells using ammonium-based ionic liquids. *International Journal of Biological Macromolecules*. 130:818–826. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.018>

-
- Wahba, M.I. 2017. Porous chitosan beads of superior mechanical properties for the covalent immobilization of enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 105:894–904. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.102>
- Wan-Ngah, W.S., Teong, L.C., Hanafiah, M.A.K.M. 2011. Adsorption of dyes and heavy metal ions by chitosan composites: A review. *Carbohydrate Polymers*. 83(4):1446–1456. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.11.004>
- Wang, J., Zhuang, S. 2017. Removal of various pollutants from water and wastewater by modified chitosan adsorbents. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 47(23):2331–2386. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1421845>
- Werner, J., Frankowski, R., Grześkowiak, T., Zgoła-Grześkowiak, A. 2024a. Green sorbents in sample preparation techniques – naturally occurring materials and biowastes. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 176:117772 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117772>
- Werner, J., Zgoła-Grześkowiak, A., Grześkowiak, T., Frankowski, R. 2024b. Biopolymers-based sorbents as a future green direction for solid phase (micro)extraction techniques. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 173:117659 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117659>
- Xiong, Y., Wan, L., Xuan, J., Wang, Y., Xing, Z., Shan, W., Lou, Z. 2016. Selective recovery of Ag(I) coordination anion from simulate nickel electrolyte using corn stalk based adsorbent modified by ammonia-thiosemicarbazide. *Journal of Hazardous Materials*. 301:277–285. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.09.003>
- Zhao, G., Song, S., Wang, C., Wu, Q., Wang, Z. 2011. Determination of triazine herbicides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography using graphene-coated magnetic nanoparticles as adsorbent. *Analytica Chimica Acta*. 708(1–2):155–159. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.10.006>
- Zhou, N.Z., Liu, P., Su, X.C., Liao, Y.H., Lei, N.S., Liang, Y.H., Zhou, S.H., Lin, W.S., Chen, J., Feng, Y.Q., Tang, Y. 2017. Low-cost humic acid-bonded silica as an effective solid-phase extraction sorbent for convenient determination of aflatoxins in edible oils. *Analytica Chimica Acta*. 970:38–46. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.02.029>