

Universidad de La Laguna

TESIS DOCTORAL

**DESARROLLO DE METODOLOGÍAS
ANALÍTICAS DE MICROEXTRACCIÓN
EMPLEANDO NOVEDOSOS
MATERIALES BASADOS EN LÍQUIDOS
IÓNICOS Y SUS DERIVADOS**

María José Trujillo-Rodríguez

**Directoras: Verónica Pino Estévez y Ana María Afonso
Perera**

2017

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Dra. Dña. VERÓNICA PINO ESTÉVEZ, Profesora Contratada Doctor Tipo I de la Universidad de La Laguna, y Dra. Dña. ANA MARÍA AFONSO PERERA, Catedrática de Química Analítica de la Universidad de La Laguna,

AUTORIZAN: la presentación de la Tesis Doctoral titulada “Desarrollo de metodologías analíticas de microextracción empleando novedosos materiales basados en líquidos iónicos y sus derivados”, realizada por la Lcda. Dña. MARÍA JOSÉ TRUJILLO RODRÍGUEZ, para optar al grado de Doctor en Química por la Universidad de La Laguna.

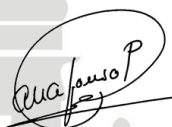
Y para que conste y surta los efectos oportunos, firman la presente en La Laguna, a cinco de mayo de dos mil diecisiete.

Firma de la Directora:



Fdo.: Dra. Verónica Pino Estévez

Firma de la Co-directora:



Fdo.: Dra. Ana María Afonso Perera



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Ahora que mi etapa predoctoral está a punto de terminar, me gustaría agradecer a todas las personas y organismos que de un modo u otro me han ayudado a llegar hasta aquí:

A mis directoras de tesis, la Dra. Verónica Pino Estévez y Dra. Ana M. Afonso Perera. Vero, has sido la mejor mentora que podría haber tenido. Además de toda tu experiencia y conocimientos, me has transmitido la pasión que sientes por esta profesión. A Ana, agradecer toda su dedicación, sus ideas y aportes para llevar todos los trabajos a otro nivel. Muchas gracias a las dos por toda la confianza depositada en mí, por todos los conocimientos que me han transmitido y por todo lo que me han ayudado. Y gracias por su calidad humana, por todas las risas y los buenos momentos vividos.

Al resto de profesores de mi grupo de investigación, los Dr. Juan H. Ayala Díaz y Dr. Venerando González Díaz. Juan, gracias por estar ahí para ayudar con los cables, las conexiones a los HPLC, los swichts, los lan y por las violetitas de Madrid. Gracias también por todos los consejos, conocimientos e ideas que me has transmitido. A Venerando, agradecer en primer lugar el dejarme formar parte de esta familia, y también todos sus conocimientos, aportaciones y buenos momentos pasados en el café.

Además, quisiera agradecer a todos los profesores y miembros del Departamento de Química (en especial al Área de Química Analítica) por su ayuda de forma más o menos directa en el desarrollo de la Tesis.

Al profesor Dr. Jared L. Anderson, gracias por su colaboración durante todo el desarrollo de mi tesis suministrando muchos de los nuevos materiales basados en líquidos iónicos. Además, gracias por permitir que realizara una estancia en sus laboratorios, en Iowa State University, por su hospitalidad y por toda la ayuda prestada.

A otros grupos de investigación con los que hemos colaborado durante el desarrollo de mi Tesis Doctoral: al Laboratorio de rayos X y materiales moleculares (MATMOL) del Departamento de Física de esta universidad (en especial, a la Dra. Catalina Ruiz Pérez y al Dr. Jorge Pasán), y al grupo de investigación de la profesora Dra. Elefteria Psillakis, de Technical University of Crete. También, agradecer su ayuda al Servicio de Medio Ambiente de la Universidad de La Laguna (SEMALL).

A mis compañeros del grupo de investigación: Priscilla, Arturo, Idaira, Adrián y Providencia. Gracias por su ayuda, por sus ideas, por las 3000 millones de referencias numeradas juntos, por soportar mi estado de ánimo tipo “pico cromatográfico” y por hacer más ameno todo el tiempo pasado en el laboratorio juntos. Agradecer también a todos los estudiantes que han trabajado en nuestro grupo de investigación durante estos años, no solo a los doctorandos sino también a los estudiantes de grado y máster. En especial, nombrar a Armide, Juanfra María, Meriem y Leila.

Al Dr. Francisco Conde por, de una forma u otra, seguir conectado con el grupo y facilitar su ayuda cada vez que la necesitamos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

A todos los organismos y proyectos de investigación que han financiado mi investigación durante la realización de la tesis:

- A la Fundación CajaCanarias, con la que disfruté de una beca predoctoral de un año en 2014.
- Al proyecto MAT2013-43101-R de MINECO, gracias al cual disfruté de un contrato como personal investigador en 2015.
- A CajaSiete, gracias a la cual disfruté de una beca de especialización en el Servicio General de Apoyo a la Investigación (SEGAI) de la universidad (2015-2016).
- A la Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información (ACIISI) y el Fondo Social Europeo (FSE), gracias a los cuales disfruté de un contrato predoctoral desde 2016 hasta la actualidad.
- A los proyectos SPDs-AGUA05 de la Fundación CajaCanarias y MAT2014-57465-R del MINECO, que han financiado parte de la investigación de la tesis.

A mis padres Jeny e Isabel, mi hermana Nerea, mis abuelos y en general a toda mi familia. Gracias por ser mi apoyo más incondicional, por estar ahí siempre para ayudarme, animarme a continuar y escuchar mis problemas, aunque en realidad no entendieran muy bien lo que significa eso de que “tengo que inyectar”. Los quiero muchísimo. Nerea, espero que mi trabajo te sirva como referencia para que consigas todas las metas que te propongas.

A mis amigos, en especial a Sara, Silvia, Patricia, Yelitza, Mario, Romén, Nuria y Carolina, que han sido otro punto de apoyo durante todos estos años.

¡Gracias a todos!

¡Ha sido un verdadero placer andar con todos ustedes este camino!

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

*En algún lugar de un libro hay una frase
esperándonos para darle un sentido a la existencia*

Miguel de Cervantes

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

ÍNDICE

ABSTRACT	1
CAPÍTULO I: Introducción	9
I.1. Métodos de microextracción en Química Analítica.....	13
1.1. Microextracción en fase sólida	19
1.1.1. Recubrimientos en microextracción en fase sólida.....	21
1.1.2. Modos de extracción en microextracción en fase sólida	27
1.1.3. Mecanismos de extracción en microextracción en fase sólida	31
1.1.4. Cinética del proceso de extracción	35
1.1.5. Parámetros que influyen en la etapa de extracción	36
1.1.6. Modos de desorción en microextracción en fase sólida.....	39
1.2. Extracción en fase sólida miniaturizada	41
1.2.1. Materiales extractantes en extracción en fase sólida miniaturizada.....	42
1.2.2. Modos de extracción en fase sólida miniaturizada	50
1.2.3. Mecanismos de extracción en fase sólida miniaturizada	56
1.2.4. Parámetros que influyen en la etapa de extracción.....	57
1.3. Microextracción líquido-líquido dispersiva	59
1.3.1. Naturaleza de los disolventes en microextracción líquido- líquido dispersiva.....	60
1.3.2. Modos de extracción en microextracción líquido-líquido dispersiva	63
1.3.3. Mecanismos de extracción en microextracción líquido-líquido dispersiva	68
1.3.4. Cinética del proceso de extracción	69
1.3.5. Parámetros que influyen en la etapa de extracción.....	69
1.4. Microextracción en gota suspendida	72
1.4.1. Tipos de disolventes utilizados en microextracción en gota suspendida.....	72
1.4.2. Modos de extracción en microextracción en gota suspendida.....	73
1.4.3. Mecanismos de extracción en microextracción en gota suspendida.....	80

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

1.4.4. Cinética del proceso de extracción	81
1.4.5. Parámetros que influyen en la etapa de extracción	82
I.2. Líquidos iónicos.....	84
2.1. Estructura y propiedades de los líquidos iónicos	85
2.2. Materiales derivados de los líquidos iónicos	92
2.2.1. Polímeros de líquidos iónicos	92
2.2.2. Surfactantes basados en líquidos iónicos	95
2.2.3. Líquidos iónicos magnéticos.....	100
2.3. Aplicaciones analíticas de los líquidos iónicos y derivados	104
I.3. Objetivos generales	107
Bibliografía	113
Abreviaturas.....	125
CAPÍTULO II: Experimental	129
II.1. Analitos, reactivos, materiales y muestras	131
1.1. Analitos.....	131
1.2. Reactivos y disolventes.....	132
1.3. Materiales de extracción basados en líquidos iónicos, derivados de líquidos iónicos y materiales híbridos.....	134
1.4. Muestras	138
II.2. Instrumentación.....	141
2.1. Cromatografía de gases con detección por ionización en llama.....	141
2.2. Cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas.....	141
2.3. Cromatografía líquida de alta resolución con detección de diodos en línea	142
2.4. Cromatografía líquida de alta resolución con detección fluorescente	142
2.5. Espectrofotometría de absorción atómica en llama	142
2.6. Otra instrumentación.....	142
II.3. Procedimientos	144
3.1. Síntesis de nuevos materiales.....	144

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.1.1. Síntesis de líquidos iónicos y surfactantes basados en líquidos iónicos.....	144
3.1.2. Síntesis y montaje de fibras basadas en polímeros de líquidos iónicos.....	144
3.1.3. Síntesis de líquidos iónicos magnéticos.....	147
3.2. Preparación de disoluciones de trabajo	147
3.3. Metodologías analíticas.....	152
3.3.1. Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza en combinación con cromatografía de gases con detección por ionización en llama (HS-SPME-GC-FID), Sección IV.1	152
3.3.2. Microextracción en fase sólida en inmersión directa totalmente automatizada en combinación con cromatografía de gases con detección por ionización en llama (DI-SPME-GC-FID), Sección IV.2.....	153
3.3.3. Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza con vacío en combinación con cromatografía de gases con detección por ionización en llama (<i>vacuum</i> HS-SPME-GC-FID), Sección IV.3.....	154
3.3.4. Determinación de parámetros micelares e interfaciales de surfactantes basados en ILs dicatiónicos y tricatiónicos, Sección V.1	156
3.3.5. Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva con separación magnética en combinación con cromatografía líquida de alta resolución con detección de diodos en línea (m- μ -dSPE-HPLC-DAD), Sección V.2.....	157
3.3.6. Microextracción líquido-líquido dispersiva y microextracción líquido-líquido dispersiva <i>in situ</i> en combinación con espectrometría de absorción atómica en llama (DLLME-FAAS e <i>in situ</i> DLLME-FAAS), Sección V.3.....	158
3.3.7. Microextracción líquido-líquido dispersiva con separación magnética en combinación con cromatografía líquida de alta resolución con detección fluorescente (DLLME-HPLC-FD), Sección VI.1.....	160

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3.8. Microextracción en gota suspendida en espacio en cabeza con vacío en combinación con cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas (<i>vacuum</i> HS-SDME-GC-MS), Sección VI.2.....	161
Bibliografía	163
CAPÍTULO III: Aspectos teóricos en el empleo de líquidos iónicos en microextracción	165
Section III.1. Ionic liquids in the microextraction context	169
Abstract	169
Keywords	169
1. Introduction	170
1.1. Ionic liquids.....	170
1.2. Microextraction methods in Analytical Chemistry	173
2. Ionic liquids in liquid-phase microextraction	173
2.1. Ionic liquids in single drop microextraction	175
2.2. Ionic liquids in hollow-fiber liquid-phase microextraction	179
2.3. Ionic liquids in dispersive liquid-liquid microextraction	181
2.3.1. Conventional IL-DLLME.....	182
2.3.2. Temperature-assisted IL-DLLME.....	183
2.3.3. Ultrasound-assisted, microwave-assisted, or vortex-assisted IL emulsification microextraction.....	183
2.3.4. <i>In situ</i> IL-DLLME	184
2.3.5. Trends and interest of IL-DLLME methods.....	185
3. Ionic liquids in solid-based microextraction	186
3.1. Ionic liquids in micro-solid phase extraction	186
3.1.1. Ionic liquids in non-dispersive μ -SPE.....	188
3.1.2. Ionic liquids in dispersive μ -SPE	190
3.2. Ionic liquids in solid-phase microextraction	191
3.2.1. IL-based sorbent coatings.....	192
3.2.2. PIL-based sorbent coatings.....	196
3.2.3. Hybrid ILs/PILs sorbent coatings.....	198
3.2.4. Analytical applications	200

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3. Ionic liquids in stir bar sorptive extraction	201
3.4. Ionic liquids in stir cake sorptive extraction	202
4. Conclusions and trends	203
Acknowledgements	203
References	204
Abbreviations	216
CAPÍTULO IV: Aplicaciones basadas en el uso de polímeros de líquidos iónicos.....	219
Section IV.1. Polymeric ionic liquid coatings versus commercial solid-phase microextraction coatings for the determination of volatile compounds in cheeses	223
Graphical abstract	223
Abstract	224
Keywords.....	224
1. Introduction.....	225
2. Experimental	227
2.1. Reagents and materials.....	227
2.2. Instrumentation	230
2.3. SPME procedure	230
2.4. Estimation of partition coefficients in HS-SPME.....	231
3. Results and discussion	232
3.1. Optimization of the HS-SPME-GC-FID method.....	232
3.2. Screening of commercial SPME coatings for the determination of volatiles in cheese	234
3.3. Estimation of partition coefficients.....	235
3.4. Analytical performance of the HS-SPME-GC-FID method	238
3.5. Extraction efficiency evaluated as normalized calibration slope	244
4. Conclusions.....	247
Acknowledgements	248
References	249
Annex material.....	251

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section IV.2. Automated direct-immersion solid-phase microextraction using crosslinked polymeric ionic liquid sorbent coatings for the determination of water pollutants by gas chromatography..... 259

Graphical abstract..... 259

Abstract 260

Keywords..... 260

1. Introduction..... 261

2. Experimental 263

 2.1. Reagents and materials..... 263

 2.2. Instrumentation 266

 2.3. Synthesis of the ILs and preparation of the PIL-based SPME fibers..... 267

 2.4. SPME procedure 268

 2.5. Estimation of partition coefficients 268

3. Results and discussion 269

 3.1. Optimization of the DI-SPME-GC-FID method..... 269

 3.2. Evaluation of the extraction efficiency with commercial SPME fibers..... 272

 3.3. Estimation of partition coefficients 272

 3.4. Analytical performance of the overall DI-SPME-GC-FID method with all coatings 276

 3.5. Evaluation of the extraction efficiency of the PIL-based fibers expressed as normalized calibration slope 281

 3.6. Analysis of real samples with PIL-based SPME fibers 283

4. Conclusions..... 286

Acknowledgements 287

References 288

Annex material..... 290

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section IV.3. Vacuum-assisted headspace-solid phase microextraction for determining volatile free fatty acids and phenols. Investigations on the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system.....	309
Graphical abstract.....	309
Abstract	310
Keywords.....	310
1. Introduction.....	311
2. Experimental	313
2.1. Chemicals, materials, and samples.....	313
2.2. Modification of the crimp-top Mininert® valve	314
2.3. Vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures.....	316
2.4. GC-FID analysis.....	316
3. Results and discussion	317
3.1. Optimization of vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures	317
3.1.1. Vacuum HS-SPME and regular HS-SPME sampling using commercial and PIL-based SPME fibers.....	318
3.1.2. Effect of salt and GC desorption time	321
3.1.3. Effect of extraction time.....	322
3.1.4. Effect of sampling temperature	325
3.1.5. Analytical implications of the optimum conditions found for vacuum HS-SPME and regular HS-SPME.....	327
3.2. Analytical performance of the optimized vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures	330
3.3. Analysis of milk and milk derivatives samples using vacuum HS-SPME.....	330
4. Conclusions.....	334
Acknowledgements	335
References	336
Annex material.....	338

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

CAPÍTULO V: Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos	347
Section V.1. Interfacial and aggregation behavior of dicationic and tricationic ionic liquid-based surfactants in aqueous solution	351
Graphical abstract	351
Abstract	352
Keywords	352
1. Introduction	353
2. Experimental	355
2.1. Reagents	355
2.2. Synthesis of tricationic IL-based surfactants	356
2.2.1. Synthesis of 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(1,3,5)tris (methylene) benzene imidazolium bromide ((C ₈ Im) ₃ Bn-3Br)	356
2.2.2. Synthesis of 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(2-ethyl amino)imidazolium bromide ((C ₈ Im) ₃ Am-3Br)	358
2.3. Instrumentation and equipment	358
2.4. Procedures	359
2.4.1. Surface tension measurements	359
2.4.2. Conductivity measurements	359
2.4.3. Fluorescence measurements	360
3. Results and discussion	360
3.1. Synthesis of novel tricationic IL-based surfactants	361
3.2. Determination of micellization parameters by conductivity measurements	361
3.2.1. Determination of CMC	361
3.2.2. Determination of the degree of micelle dissociation (α) and the degree of counterion binding to micelles (β)	363
3.2.3. Influence of acetonitrile content in micellization parameters	365
3.3. Determination of micellization parameters by fluorescence measurements	366
3.3.1. Determination of CMC	366

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3.2. Determination of N_{agg}	369
3.4. Determination of micellization behavior by surface tension measurements.....	371
3.4.1. Determination of CMC and surface activity of tricationic IL-based surfactants.....	371
3.4.2. Effect of salt additives on solubility and CMC of tricationic IL-based surfactants	374
3.4.3. Effect of electrolytes on the interfacial adsorption of tricationic IL-based surfactants	377
4. Conclusions	379
Acknowledgements	380
References	381
Annex material	383

Section V.2. Double salts of ionic liquid-based surfactants in microextraction: application of their mixed hemimicelles as novel sorbents in magnetic-assisted micro-dispersive solid-phase extraction for the determination of phenols	399
Graphical abstract	399
Abstract	400
Keywords	400
1. Introduction	401
2. Experimental	403
2.1. Reagents and materials.....	403
2.2. Instrumentation	405
2.3. Procedures	406
2.3.1. Synthesis and characterization of Fe_3O_4 MNPs	406
2.3.2. Synthesis of IL-based surfactants	406
2.3.3. Preparation of DSIL-based surfactant solutions.....	407
2.3.4. Optimum m- μ -dSPE procedure.....	408
2.3.5. HPLC-DAD method.....	410

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3. Results and discussion	410
3.1. HPLC-DAD determination of the group of phenols in presence of IL-based surfactants	410
3.2. Optimization of the m- μ -dSPE procedure j	411
3.3. Use of mixed hemimicelles of DSIL-based surfactants in m- μ -dSPE.....	412
3.4. Analytical performance of the m- μ -dSPE method using C ₁₂ C ₁₂ Im-Br and the optimum DSIL	414
3.5. Analysis of water samples using the developed m- μ -dSPE method with the optimum DSIL C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ ($x_I = 0.5$) & C ₁₆ MIm ⁺	421
4. Conclusions	422
Acknowledgements	424
References	425
Annex material	427

Section V.3. Ionic liquids versus ionic liquid-based surfactants in dispersive liquid-liquid microextraction for determining copper in water by flame-atomic absorption spectrometry	445
Graphical abstract	445
Abstract	446
Keywords	446
1. Introduction	447
2. Experimental	449
2.1. Chemicals, reagents and materials	449
2.2. Equipment	450
2.3. Procedures	451
2.3.1. Synthesis of the IL-based surfactant C ₁₆ C ₄ Im-Br	451
2.3.2. IL-DLLME method using C ₄ MIm-PF ₆	451
2.3.3. <i>In situ</i> IL-DLLME method using C ₁₆ C ₄ Im-Br	453
2.3.4. FAAS conditions for Cu ²⁺ determination in a micro-droplet	453

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3. Results and discussion	454
3.1. Copper determination in a micro-droplet by FAAS.....	454
3.2. Optimization of the IL-DLLME-FAAS method using C ₄ MIm-PF ₆	454
3.2.1. Previous considerations	454
3.2.2. Influence of pH and ionic strength	455
3.2.3. Experimental design	456
3.3. Optimization of the <i>in situ</i> IL-DLLME-FAAS method using C ₁₆ C ₄ Im-Br.....	458
3.4. Analytical performance of both IL-DLLME methods	459
3.5. Accuracy, intermediate precision, robustness, and extraction performance of the IL-DLLME-FAAS method with C ₄ MIm-PF ₆	462
3.6. Analysis of real samples with the optimized IL-DLLME-FAAS method with C ₄ MIm-PF ₆	466
3.7. Study of foreign ions for the IL-DLLME-FAAS method with C ₄ MIm-PF ₆	466
4. Conclusions	467
Acknowledgements	468
References	469
Annex material	470

**CAPÍTULO VI: Aplicaciones basadas en el uso de líquidos iónicos
magnéticos**

Section VI.1. Magnetic ionic liquids as non-conventional extraction solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons	479
Graphical abstract	479
Abstract	480
Keywords	480
1. Introduction	481
2. Experimental	483
2.1. Chemicals, reagents, materials. and samples	483
2.2. Instrumentation	484

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.3. Procedures	486
2.3.1. HPLC-FD	486
2.3.2. MIL-based microextraction method	487
3. Results and discussion	489
3.1. Use of MILs in the microextraction method for determining PAHs	489
3.1.1. Previous considerations of the MIL-based microextraction method.....	489
3.1.2. Screening of MILs in the microextraction method for determining PAHs	490
3.2. Optimization of the MIL-based microextraction-HPLC-FD method.....	490
3.2.1. Optimization of the extraction step	492
3.2.2. Optimization of the MIL-DLLME back-extraction step	493
3.3. Analytical performance of the MIL-based microextraction-HPLC-FD method	494
3.4. Analysis of real aqueous samples	497
4. Conclusions.....	498
Acknowledgements	498
References	499
Annex material.....	502

Section VI.2. Magnetic ionic liquids as extraction solvents in vacuum headspace single-drop microextraction	517
Graphical abstract.....	517
Abstract	518
Keywords.....	518
1. Introduction.....	519
2. Experimental	521
2.1. Chemicals, reagents, materials. and samples	521
2.2. Instrumentation	522
2.3. Procedures	524
2.3.1. Cap design for vacuum MIL-HS-DME and modification of the headspace vial	524

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.3.2. Vacuum MIL-HS-SDME and MIL-HS-SDME procedures.....	526
2.3.3. Quality assurance and quality control procedures.....	527
3. Results and discussion	528
3.1. Selection of the MIL.....	528
3.2. HSD-GC-MS analysis.....	530
3.3. Influence of the extraction time in vacuum MIL-HS-SDME and MIL-HS-SDME.....	531
3.4. Optimization of other parameters influencing vacuum MIL-HS-SDME.....	533
3.4.1. Influence of the MIL volume.....	533
3.4.2. Influence of the extraction temperature.....	534
3.4.3. Influence of stirring rate.....	535
3.4.4. Ensuring a higher preconcentration in the entire method.....	535
3.5. Analytical performance.....	536
3.6. Analysis of milk samples.....	539
4. Conclusions	540
Acknowledgements	541
References	542
Annex material	544
CONCLUSIONS	577

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Sample preparation refers to all steps required to minimize the sample complexity and to eliminate most matrix interferences, while ensuring proper preconcentration of target analytes before analysis in the proper determination technique. It is still the bottleneck of any analytical method. Despite the impressive advances in detection systems, it is fair to recognize that direct trace analysis of complex samples is hardly achieved. In this sense, sample preparation not only increase the entire analysis time, but also commonly utilizes large amounts of organic solvents, characterized by their toxicity, environmental-unfriendly facet, and high costs.

Trends in Analytical Chemistry are focused on the development of simpler, faster and sustainable methods for sample preparation, following the principles of Green Analytical Chemistry. In this sense, efforts have been shifted towards the reduction (or if possible elimination) of the organic solvents commonly required in sample preparation, and/or towards the use of alternative green solvents, reducing the amount and toxicity of the wastes generated in the analytical laboratory.

Regarding the reduction of organic solvents during sample preparation, microextraction procedures have arisen as alternative to conventional extraction methods. Two main microextraction modes can be distinguished: solid phase-based microextraction and liquid-phase based microextraction (LPME). Both types of methodologies are based on the extraction and preconcentration of the analytes using low amounts of extraction materials. The nature of the extraction material depends on the type of microextraction: a solid material is used in solid phase-based microextraction while a liquid extraction material is required for LPME. The use of all these microextraction techniques under their different modes generate a wide range of possibilities for carrying out an analysis.

Among solid phase-based microextraction procedures, solid-phase microextraction (SPME), and micro-solid phase extraction (μ -SPE) can be highlighted. SPME uses fibers of ~1 cm long coated by a low volume of sorbent, supported onto a solid material and mounted in a device that resembles a syringe. The SPME fiber is

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

exposed to the sample (headspace or direct liquid sample) and analytes can be extracted by adsorption or absorption onto the coating material. Then, the extracted analytes can experience desorption in an analytical instrument, by using high temperatures (i.e. in gas chromatography) or by the help of a low amount of organic solvent (i.e. for combinations with liquid-chromatography or capillary electrophoresis). μ -SPE is the miniaturized version of solid phase extraction (SPE). Analytes are extracted in a small amount of a sorbent material, which is placed in a cartridge or is dispersed on the matrix sample. Then, analytes are eluted from the sorbent material using a proper solvent (and usually <0.5 mL).

In the case of LPME, two different modes can be also highlighted: dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) and single drop microextraction (SDME). DLLME is based on the use of two different solvents during the extraction: a dispersive solvent and an extraction solvent. The extraction solvent is immiscible with the aqueous sample while the dispersive solvent is miscible with both the sample and the extraction solvent. The contact of these three components creates a cloudy solution in which the extraction solvent is dispersed in the sample solution forming multiple microdroplets. The partitioning of the analytes to the extraction solvents is highly favored by the high surface area of the microdroplets formed in solution. On the other hand, SDME uses a low volume of extraction solvent (few microliters usually). This solvent is suspended to the sample solution (headspace or direct liquid immersion) with the help of a microsyringe. Analytes are extracted and highly preconcentrated into the small microdroplet of the extraction solvent.

Apart of the use of microextraction methods, the abovementioned second trend in Analytical Chemistry is focused on the replacement of commonly organic solvents by more sustainable solvent materials. These materials must perform, if possible, with improved performance over conventional materials, to obtain more efficient and sensitive methodologies.

Ionic liquids (ILs) and its derivatives are non-conventional solvents that represents a sustainable alternative to common organic solvents in sample preparation. Thus, ILs are non-molecular solvents with boiling points below to 100 °C, possessing a wide variety of physicochemical properties, including low to negligible vapor pressure at room temperature, and high chemical and electrochemical stability. ILs that possess melting points below to room temperature are commonly referred to as room temperature ionic

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

liquids (RTILs). ILs are composed completely of ions, normally including asymmetric organic cations containing nitrogen or phosphorous atoms, and inorganic or organic anions. There are two aspects of ILs that makes them suitable extraction solvents: first, small modifications to the IL structure are accompanied by dramatic modifications in a high number of IL properties, such as water solubility and viscosity. Furthermore, the incorporation of polar or non-polar moieties into the IL structure can promote different interactions with analytes resulting in impressive solvation capabilities for different compounds. As a result, ILs can be tailored for specific applications and have been tagged as designer solvents.

A large number of IL derivatives have been designed, including polymeric ionic liquids (PILs), IL-based surfactants, and magnetic ionic liquids (MILs). These materials combine the inherent properties of ILs with those derived from their polymeric, surfactant and paramagnetic character, respectively.

Thus, PILs improve the mechanical and thermal stability of their corresponding IL monomers, making them suitable for applications that require high temperatures. In addition, the viscosity of PILs does not significantly change when the material is exposed to high temperatures.

IL-based surfactants contains long alkyl chains in their structures, either in the cation or in the anion, and are indeed ionic surfactants by nature. They form micellar aggregate when dissolved in water above their critical micelle concentration (CMC). In general, IL-based surfactants have lower CMC values than conventional surfactants with comparable structures. Thus, less amount of IL-based surfactants will be required for specific applications when compared to conventional surfactants.

The combined use of two or more ILs (or IL-based surfactants) have been also described. When these mixtures are utilized in aqueous samples, the inherent character of the individual IL (or IL-based surfactant) is lost. In these cases, the term double salt ionic liquids (DSILs) – or DSIL-based surfactants – is used. These materials present a different behavior respect to their corresponding “neat” ILs. The behavior is the result of the combination of ILs types and their ratios.

Regarding MILs, they are designed to incorporate paramagnetic metal ions or metal complexes within their chemical structures, permitting them to be controlled and

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

manipulated under a magnetic field. Their paramagnetic behavior together with their IL characteristics make them outstanding solvents for magnetic-assisted LPME methods.

Another advantage of the use of ILs or derivatives is related to the possibility of combine them with other materials with different nature, generating hybrid materials. Among all possible combinations, the combination IL-nanomaterial (NM) should be highlighted. NMs are characterized by a high surface area, thus implying a large number of active sites for the interaction with different compounds. Thus, it is of interest to set up applications that combine the use of ILs or derivatives with nanomaterials such as multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), graphene, nanoparticles (NPs) or magnetic nanoparticles (MNPs).

It is evident that the utilization of microextraction procedures together with all described materials based on ILs can be a good choice to follow the principles of Green Analytical Chemistry. Up to date, ILs have been applied in a wide variety of microextraction procedures. However, the number of applications regarding the use of their derivatives (PILs, MILs, DSILs, or hybrid materials based on ILs) is much lower. In addition, a number of microextraction modes has been not studied yet together with ILs neither derivatives.

In any case, the exciting combination of ILs and derivatives (including hybrid materials) with microextraction approaches, must be devoted to the analysis of samples of environmental and/or food interest. Thus, target analytes in environmental samples can be organic pollutants or metals. Among the studied organic pollutants, it is important the monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and/or endocrine disrupting compounds such as bisphenol A or nonylphenol. In the case of food analysis, it is also of high interest the monitoring of compounds responsible of the nutritional value or flavor of food, including free fatty acids (FFAs), several phenols, and even carboxylic compounds.

Given the fact that the majority of these compounds are presented at quite low contents in the sample, it is of interest to couple microextraction methods with analytical instrumentation of high sensitivity. With this purpose, high-performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography (GC) have been used for the monitoring of organic compounds, whereas atomic absorption spectrometry (AAS) has been employed when monitoring metals.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Given these consideration, the main objective of this Doctoral Thesis has been the development of microextraction procedures (SPME, μ -SPE, DLLME or SDME) that use ILs and derivatives (PILs, IL-based surfactants, MILs, DSILs, and hybrid materials based on IL-NMs) to follow current trends of Green Analytical Chemistry. The developed methods are optimized to monitor target analytes in environmental and food analysis.

This Doctoral Thesis have been divided in six chapters. Chapter I is a general introduction, presenting the state-of-the-art in sample preparation, focusing on microextraction, ILs and derivatives, and food and environmental analysis. Chapter II is a summary of the experimental sections of the Thesis. Chapter III includes an overview of the developed analytical applications that uses ILs and derivatives. Chapters IV, V and VI includes the three main research lines of the current Doctoral Thesis. These research lines have been organized as a function of the nature of the IL-based material used.

The first research line (Chapter IV) is focused on PIL-based applications developed during the Doctoral Thesis, and it contains three different sections. Section IV.1 describes the development of PIL-based sorbent coatings for SPME in the headspace mode (HS-SPME) for the determination of a group of flavor compounds (FFAs, phenols, and carboxylic compounds) in cheese, in combination with GC-flame ionization detection (GC-FID). Section IV.2 describes the use of different PIL-based sorbent coatings (including a hybrid material containing PIL-MWCNT) for SPME in a totally automated direct immersion mode (DI-SPME) for the determination of disrupting phenols and PAHs in waters. Section IV.3 describes a new SPME methodology termed as vacuum HS-SPME, which is based on the use of reduced pressure conditions during the extraction. Different SPME fibers were tested with this methodology, including PIL-based sorbent coatings. The method is combined with GC-FID for the determination of FFAs and phenols in milk and milk derivatives. In all studies, PILs of different nature and complexity, using different synthetic approaches for their preparation, and even an improved procedure to ensure an increase of the PIL coating thickness onto the fiber support, have been developed successfully.

The second research line (Chapter V) is related to the developed applications using IL-based surfactants. This chapter also contains three different sections. Section V.1 is devoted to the synthesis and characterization of two different types of trigonal tricationic IL-based surfactants. The micellar and interfacial aggregation behavior of these materials was studied, and compared with other dicationic IL-based surfactants that have been

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

recently described. Section V.2 utilizes a hybrid material based of mixed hemimicelles of IL-based surfactants (or DSIL-based surfactants) supported onto Fe₃O₄ MNPs for a magnetic-assisted dispersive μ -SPE. The procedure is combined with HPLC-diode array detection (HPLC-DAD) for the determination of disrupting phenols in environmental waters. Section V.3 compares two different DLLME methods: a conventional DLLME procedure using a hydrophobic IL and an *in situ* DLLE methodology based on the use of an IL-based surfactant. Both microextraction procedures were optimized for the determination of copper in environmental waters by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). In the entire section is intended to demonstrate the wide applicability of IL-based surfactants, their double salts, and the non-explored (or at least not deeply) up to date the interest of multicationic IL-based surfactants.

The third research line (Chapter VI) includes two sections concerning MIL-based applications. Section VI.1 proposes a magnetic-assisted DLLME method using MILs as extraction materials for the monitoring of PAHs in environmental waters and tea, and in combination with HPLC-fluorescence detection (HPLC-FD). Section VI.2 describes the development of a new SDME mode based of the use of reduced pressure conditions during the extraction via headspace. The new method is termed as vacuum HS-SDME, and it is only possible due to the use of MILs as extraction materials. MILs can be supported onto a rod magnet during the extraction (avoiding the use of a microsyringe), and resist vacuum conditions without falling neither degradating. The method was applied to the determination of FFAs in milk and yogurt in combination with GC-mass spectrometry (GC-MS). The scarce applications using MILs, and the ability of these novel solvents to set up new microextraction approaches such as vacuum HS-SDME (not useful when any other solvent is utilized) clearly highlight the interest of these materials.

Finally, the last Chapter of this Doctoral Thesis includes a summary of the conclusions derived from Chapters IV to VI.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Capítulo I

Introducción

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Con el desarrollo y sofisticación de la instrumentación analítica y los procedimientos cada vez más automatizados, la preparación de muestras se ha convertido en la etapa limitante del método analítico [1]. Esto obedece, fundamentalmente, a que los procedimientos de extracción y preconcentración utilizados en la misma, la hacen lenta y tediosa, y además generalmente requieren del consumo de grandes cantidades de disolventes orgánicos (principalmente clorados). Estos disolventes se caracterizan por ser caros, tóxicos y por generar compuestos orgánicos volátiles (VOCs) que pasan a la atmósfera, con los consiguientes riesgos potenciales para el medio ambiente y para la salud de las personas expuestas a los mismos. Las metodologías convencionales que habitualmente se emplean en el laboratorio para una correcta preparación de muestras, también generan multitud de residuos y por tanto también son fuente de contaminación. Asimismo, resulta sorprendente el hecho de que, en algunas circunstancias y particularmente en análisis medioambiental, los reactivos empleados durante el análisis llegan a ser más tóxicos que los contaminantes determinados [2].

A finales de los años 90 emerge lo que se conoce como Química Analítica Verde (o *Green Analytical Chemistry*, GAC) [3,4]. La GAC incorpora la filosofía de la Química Verde (o *Green Chemistry*) en los laboratorios analíticos, en el sentido de que trata de emplear técnicas y metodologías que reduzcan o eliminen el uso o generación de materias primas, productos, subproductos, reactivos o disolventes que sean peligrosos para la salud humana o el medioambiente [2]. Así, en la actualidad, se han propuesto un gran número de metodologías analíticas amables con el medioambiente, las cuales se caracterizan por seguir uno o varios de los doce principios de la GAC, los cuales se resumen a continuación [5,6]:

- i. Aplicar técnicas analíticas directas que no requieran de etapas de tratamiento de muestra.
- ii. Minimizar el tamaño de muestra y usar el mínimo número de muestras.
- iii. Fomentar la realización de medidas *in situ*.
- iv. Integrar los procesos y operaciones analíticas para ahorrar energía y reducir el uso de reactivos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- v. Utilizar metodologías de análisis miniaturizadas y/o automatizadas.
- vi. Evitar el uso de procedimientos de derivatización.
- vii. Evitar la generación de residuos y gestionar los residuos analíticos.
- viii. Diseñar métodos multi-analito o multi-parámetro en lugar de métodos que determinen un único analito / parámetro en cada análisis.
- ix. Minimizar el uso de energía.
- x. Fomentar el uso de reactivos obtenidos de fuentes renovables o reciclados.
- xi. Eliminar o reemplazar el uso de reactivos tóxicos.
- xii. Incrementar la seguridad del analista.

La Figura 1 resume los doce principios de la GAC en seis cuestiones claves: los aspectos relacionados con la muestra, los reactivos, el instrumento analítico, el método, la generación de residuos y el operador o analista.

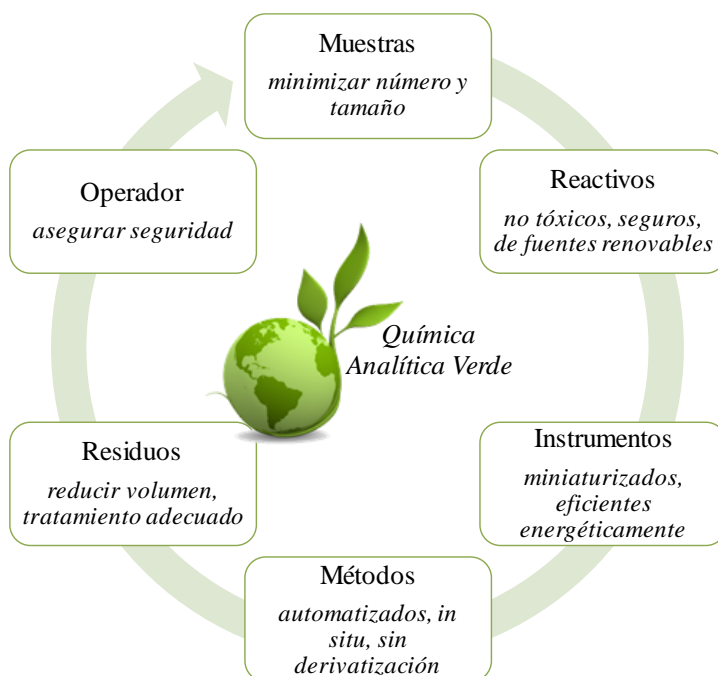


Figura 1. Resumen de los doce principios de la GAC.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Resulta evidente que, de estos doce principios, *v*, *vii* y *xi* son de gran importancia en los laboratorios analíticos. Es por ello que, en los últimos años se ha explorado en profundidad la utilización de procedimientos microextractivos que minimicen (o eliminen) el consumo de disolventes orgánicos en el laboratorio, y/o la sustitución de los mismos por otros reactivos menos contaminantes; permitiendo, la reducción del volumen y toxicidad de los residuos generados.

En lo que respecta al principio *v*, y en relación a la utilización de procedimientos microextractivos, cabe destacar tanto la microextracción que hace uso de sorbentes sólidos como la microextracción en fase líquida. Por otra parte, en lo que se refiere al principio *xi*, los líquidos iónicos (ILs) y sus derivados – polímeros de líquidos iónicos (PILs), surfactantes basados en ILs y los líquidos iónicos magnéticos (MILs) –, entre otros surgen como alternativas viables a los disolventes convencionales. En este capítulo se resumen las bases de los procedimientos microextractivos y las características de estos nuevos materiales.

I.1. Métodos de microextracción en Química Analítica

El análisis directo de muestras complejas es difícil debido a dos razones principales: en primer lugar, por la elevada complejidad de la matriz de la muestra, que puede dificultar o influir en la respuesta de las especies analizadas. En segundo lugar, debido a que muchos de los analitos están presentes en la muestra a bajas concentraciones (en el orden de los microgramos por gramo o los nanogramos por gramo). Por estos motivos, en general es necesario recurrir a etapas de preparación de la muestra para llevar a cabo cualquier tipo de análisis [7]. El análisis de muestras sometidas a pretratamiento, además, minimiza los gastos de mantenimiento de los diferentes instrumentos de determinación analítica. La preparación de la muestra implica en muchos casos una o varias etapas de extracción y/o preconcentración de los analitos estudiados. La mayoría de métodos de microextracción integran estos dos procedimientos, lo cual justifica que el desarrollo de estrategias de microextracción constituya en la actualidad una de las tendencias más importantes dentro de la Química Analítica [8-11].

Las metodologías de microextracción se basan en el empleo de pequeñas cantidades de material de extracción, pero sin comprometer las características analíticas

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

del método en términos de eficacia, robustez y reproducibilidad [12]. Esta minimización del consumo de reactivos respecto del resto de métodos de extracción convencionales es acorde con los principios de la GAC [5,13,14].

Tal y como se señaló con anterioridad, se diferencian dos grandes tipos de métodos de microextracción: la microextracción basada en sorbentes sólidos y la microextracción en fase líquida (LPME). Ambas metodologías se caracterizan por ser técnicas no exhaustivas de extracción (aunque pueden serlo en algunos casos) y de preconcentración, y se fundamentan en el mismo principio: el reparto de los analitos a extraer desde la matriz de la muestra hasta una fase extractante de naturaleza sólida o líquida, que actúa como material de extracción. Como su nombre indica, la microextracción basada en sorbentes sólidos se refiere a métodos que utilizan un sólido como fase extractante (o un líquido viscoso depositado sobre un sólido) mientras que la LPME se caracteriza por utilizar un extractante de naturaleza líquida. En la Figura 2 se muestra un esquema resumen de las vías de microextracción más empleadas en Química Analítica.

La microextracción basada en sorbentes sólidos incluye diferentes técnicas que utilizan soportes de extracción de diferentes geometrías, tales como la microextracción en fase sólida (SPME), entendida como la modalidad que utiliza fibras para la extracción [15], la microextracción en fase sólida *in tube* (*in tube* SPME) [16], la extracción asistida por barritas agitadoras magnéticas (SBSE) [17] y la extracción asistida por *stir-cake* (SCSE) [18], entre otras. Otras técnicas de microextracción basadas en sorbentes sólidos se basan en la drástica disminución del volumen de muestra y reactivos, y de hecho tienen su fundamento en la extracción en fase sólida (SPE) convencional. Entre ellas se incluyen la extracción en fase sólida miniaturizada (μ -SPE) [19] y la extracción miniaturizada adsorptiva ($A\mu E$) [20].

La SPME se caracteriza por utilizar como fase estacionaria un pequeño volumen de un recubrimiento sorbente con un grosor entre 1–100 μm , que es inmovilizado en un soporte sólido en forma de fibra de aproximadamente de un centímetro de longitud [15]. Esta técnica presenta múltiples ventajas tales como simplicidad, facilidad de automatización y elevada capacidad de preconcentración. Además, desde el punto de vista medioambiental, no requiere de la utilización de ningún tipo de disolvente en la etapa de extracción, tampoco requiere disolventes en la etapa de desorción si se combina con cromatografía de gases (GC), y en cualquier caso un muy bajo consumo de disolvente

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

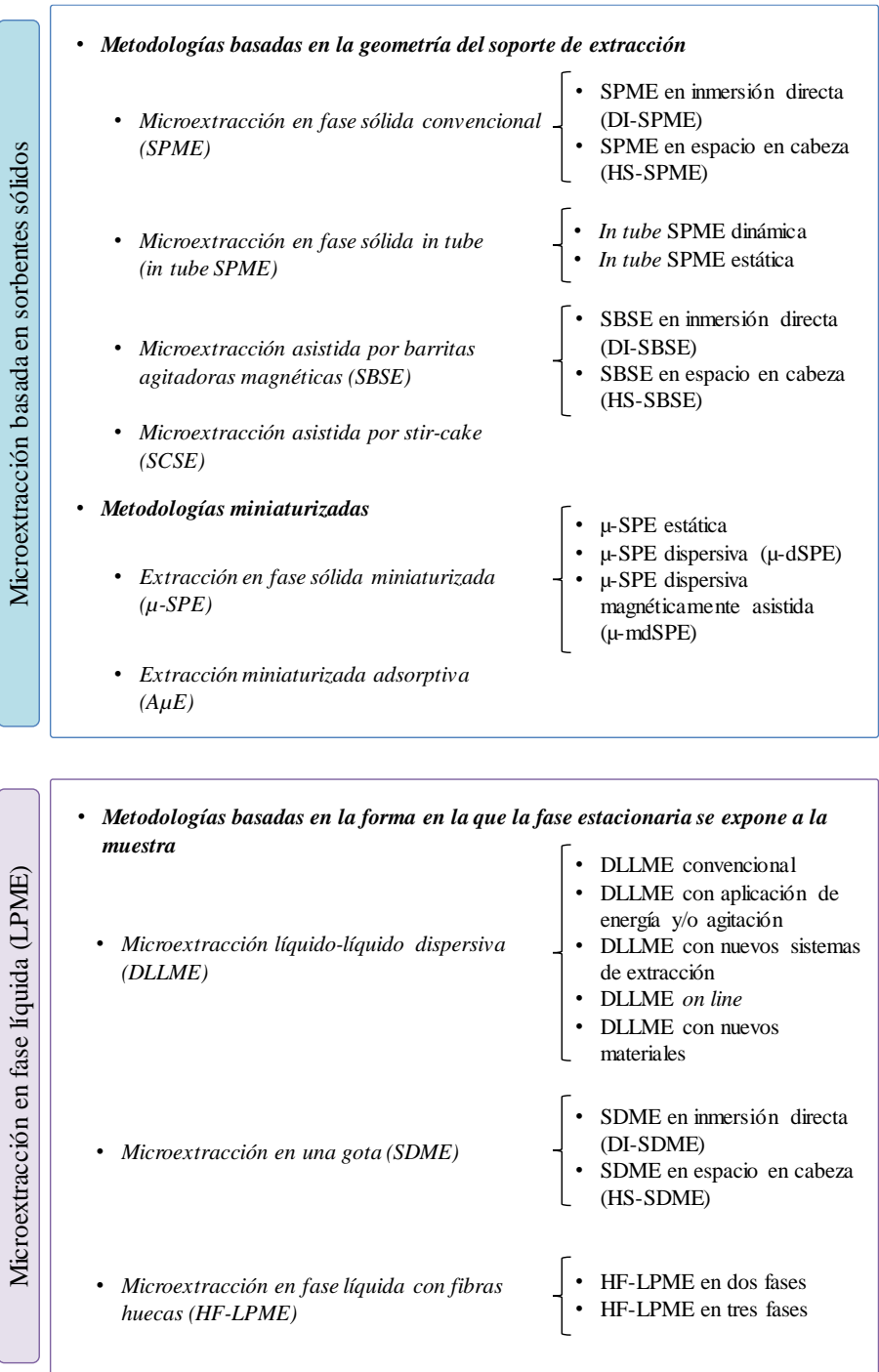


Figura 2. Principales métodos de microextracción en Química Analítica.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

orgánico si se combina con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o electroforesis capilar (CE).

La modalidad *in tube* SPME, también llamada microextracción capilar (CME) [21], se basa en el uso de un tubo capilar recubierto con una capa interna de fase extractante [16]. La muestra se hace pasar a través del tubo de forma dinámica o bien se permite que los analitos se transfieran hacia el sorbente por difusión [22]. De forma general, se utilizan tubos capilares de sílice fundida, aunque también se han utilizado capilares fabricados con materiales poliméricos [23], polímeros de impronta molecular (MIPs) [24] o capilares monolíticos con grupos octadecilo (C₁₈) [25]. Esta modalidad permite de un modo sencillo la automatización de la SPME, sobre todo cuando se combina con HPLC, y resulta especialmente ventajoso para el análisis *in vivo*.

En cuanto a la SBSE, en esta técnica se utilizan barritas agitadoras magnéticas de ~10–20 mm recubiertas por un material sorbente que actúa como fase extractante [17]. La fase extractante, más utilizada es polidimetilsiloxano (PDMS), siendo la única comercializada para SBSE, pudiéndose recubrir con volúmenes comprendidos entre 20–125 µL de este material. Es de destacar que las fibras de SPME recubiertas con PDMS poseen un volumen máximo de ~0.5 µL [17]. De esta forma, utilizando SBSE se consiguen mayores eficacias de extracción, y factores de enriquecimiento hasta cien veces superiores respecto a los obtenidos en SPME [17]. Como desventaja, señalar que el uso de grandes volúmenes de sorbente requiere mayores tiempos de extracción para alcanzar el equilibrio.

La SCSE se basa, por su parte, en el uso de un material monolítico sorbente como fase extractante [18]. Este sorbente monolítico se coloca en un soporte de plástico o vidrio adoptando una forma que recuerda a la de un pastel. El soporte posee un alambre metálico que hace posible la aplicación de agitación magnética durante la extracción. Además, el diseño del soporte de *stir-cake* permite que el material sorbente no toque las paredes del vial de extracción, a diferencia de la SBSE. Esto conlleva dos ventajas: por un lado, se elimina la fricción entre el vial de extracción y el material sorbente, y por otro, se puede utilizar una elevada velocidad de agitación. Como resultado, el *stir cake* puede utilizarse hasta 100–300 extracciones (~1000 h). Mientras, las barritas agitadoras magnéticas utilizadas en SBSE se deterioran con más facilidad, y su uso se limita a 20–60 extracciones (~200 h) [18,26,27].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Con respecto a las variantes más próximas a la SPE convencional, destaca principalmente la μ -SPE, que constituye la modalidad miniaturizada [19]. Si se compara con la SPE convencional, los procedimientos de μ -SPE presentan la ventaja de que reducen tanto el consumo de muestra como el de material extractante (menos de ~ 100 mg de muestra, y ~ 500 mg de material extractante).

La A μ E, por su parte, utiliza una pequeña cantidad de material sorbente poroso como fase extractante, al contrario que en el caso de la SBSE, que generalmente requiere del uso de materiales absorbentes como PDMS [28]. Como materiales porosos en A μ E, generalmente se utilizan nanopartículas en un entramado constituido por microporos (< 2 nm) y mesoporos (entre 2–50 nm). Se estima que los poros de estos materiales ocupan aproximadamente un 60% de su volumen, de modo que sus áreas superficiales específicas son elevadas, de hasta $1000 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, y por tanto presentan una elevada capacidad extractante (~ 100 – $500 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-1}$) [28]. Otra característica de la A μ E reside en que el material se dispone en forma de polvo y se inmoviliza sobre soportes sólidos de distinta geometría, tales como fibras huecas (de unos 3 mm de diámetro) o multi-esferas fijadas entre ellas [20]. La modalidad de A μ E que utiliza fibras huecas recubiertas (BA μ E) es la versión miniaturizada de la SBSE. Durante la extracción, se utilizan elevadas velocidades de agitación, de forma que el material de extracción permanece flotando en la muestra sin pérdida del recubrimiento extractante por fricción con las paredes del vial de extracción. Esta técnica resulta especialmente útil para la extracción de analitos de naturaleza polar.

Si se utilizan extracciones miniaturizadas en las que el material de extracción es un líquido (LPME), cabe señalar que las principales modalidades son la microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), la microextracción en gota suspendida (SDME) y la microextracción en fase líquida con fibras huecas (HF-LPME). La principal ventaja de la LPME respecto a la extracción líquido-líquido convencional (LLE) es que se consigue una reducción del consumo de disolventes orgánicos, que llega a ser del orden de microlitros (~ 2 – $300 \text{ } \mu\text{L}$). De esta forma, se produce una mínima generación de residuos, además de conseguir una mayor capacidad de preconcentración.

La DLLME se basa en el uso de dos tipos de disolventes durante la extracción: uno de ellos actúa como extractante y el otro como dispersante [29]. El disolvente de extracción es inmiscible con la muestra mientras que el dispersante es miscible tanto con la muestra como con el disolvente de extracción. El contacto de estos tres componentes (muestra, extractante y dispersante) favorece la dispersión del extractante en la matriz de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

la muestra, maximizando la superficie de contacto entre fases por formación de multitud de microgotas de extractante en la fase acuosa, y acelerando el reparto de los analitos hacia el disolvente de extracción.

La SDME utiliza como fase extractante unos pocos microlitros (~1–15 µL) de un disolvente, el cual generalmente se expone a la muestra como una gota colgante con ayuda de una microjeringa [30]. La técnica precisa de pequeños volúmenes de muestra y puede utilizarse para la extracción y preconcentración de especies volátiles y no volátiles. Las principales ventajas de la técnica son su simplicidad, la inexistencia de efecto memoria (en comparación con las técnicas de microextracción basadas en sorbentes sólidos), puesto que en cada extracción se utiliza una microgota nueva de disolvente extractante, y la posibilidad de automatización de la técnica.

Por otra parte, la HF-LPME se basa en el uso de una fibra hueca inerte en cuyos poros se dispone la fase extractante (o disolvente de extracción) [31]. La fibra hueca generalmente es de polipropileno con una longitud entre 1.5–10 cm [32]. Dicha fibra hueca entra en contacto con tres componentes: la fase dadora (o muestra), la fase extractante y la fase aceptora. La fase extractante se dispone en los poros de la fibra hueca y este sistema se sumerge en la fase dadora. Así, ambas fases no están en contacto directo y la extracción se realiza a través de la membrana líquida soportada en el interior de la fibra hueca. Además, la fase extractora queda protegida por la fibra hueca, de forma que no se producen pérdidas significativas de la misma. En cuanto a la fase aceptora, se coloca en el interior de la fibra hueca antes del inicio de la extracción. Como fase aceptora puede utilizarse el mismo disolvente usado como fase extractora o un disolvente de distinta naturaleza. En base a ello, se distingue entre HF-LPME de dos fases o tres fases, respectivamente [32]. En general, comparada con la SDME, la HF-LPME utiliza un volumen mucho mayor de disolvente de extracción, de forma que pueden obtenerse elevadas eficacias de extracción. Además, esta técnica resulta ventajosa para la extracción de muestras complejas puesto que la fibra hueca actúa como barrera protectora frente a componentes indeseables.

Resulta evidente que la utilización de todas estas técnicas, así como otras variantes de las metodologías descritas, genera un amplio abanico de opciones a la hora de realizar un análisis concreto. La elección de un método u otro se hará en base a la naturaleza de la muestra a analizar y tipo de compuestos determinados, así como a la posterior etapa de análisis. En las siguientes secciones se profundizará en las distintas modalidades de

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

SPME y μ -SPE, en lo que respecta a las técnicas de microextracción basadas en sorbentes sólidos, y en las modalidades de DLLME y SDME, en lo que se refiere a LPME; técnicas de microextracción que han sido objeto de estudio de la presente Tesis Doctoral.

1.1. Microextracción en fase sólida

La microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica de extracción y preconcentración desarrollada en 1989 por Pawliszyn [33]. Esta metodología se basa en el uso de una fase estacionaria que recubre un soporte sólido en forma de fibra. Como soporte sólido se suele utilizar un capilar de sílice fundida [34] o un alambre metálico (incluyendo titanio [35], aleaciones como el nitinol [36] o acero inoxidable [37]). El material sorbente se coloca de forma que recubra la parte inferior del soporte (generalmente, 1 cm de longitud y un grosor de recubrimiento de entre 7 y 100 μm) [12] y es el sitio activo de la fibra, concentrando los analitos en su superficie. Para fijar ambos componentes de la fibra de SPME (soporte y sorbente), en ocasiones es necesario someter al soporte a procedimientos de derivatización previo a su recubrimiento con el sorbente [35,36,37]. La fibra resultante se dispone en un soporte que asemeja a una microjeringa, favoreciendo su manipulación y protegiendo a la fibra durante su almacenamiento [33]. En la Figura 3 se muestran imágenes de fibras de SPME comerciales y su montaje en el soporte de SPME [38]. El soporte posee un émbolo que permite de modo sencillo exponer la fibra de SPME a la muestra.

La SPME se lleva a cabo en dos etapas: la *extracción* y la *desorción* [39]. En la *extracción*, la fibra de SPME se pone en contacto con la muestra durante un período de tiempo prefijado en el cual los analitos migran desde la matriz de la muestra hasta el material sorbente de la fibra. La extracción se consigue gracias al establecimiento de un equilibrio de reparto de los analitos entre estas dos fases (la matriz de la muestra y el sorbente de SPME). Si el tiempo de extracción es suficiente, se alcanza el estado de equilibrio [22]. En determinadas ocasiones, incluso, el uso de tiempos de extracción superiores al tiempo de equilibrio puede provocar una disminución de la eficacia extractiva. Finalizada esta etapa, en la *desorción* los analitos pasan desde la fibra hasta el instrumento analítico para efectuar su determinación analítica. Una vez terminado el

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

proceso, el material de la fibra mantiene su integridad física y puede volver a reutilizarse, al menos, durante un número determinado de veces.

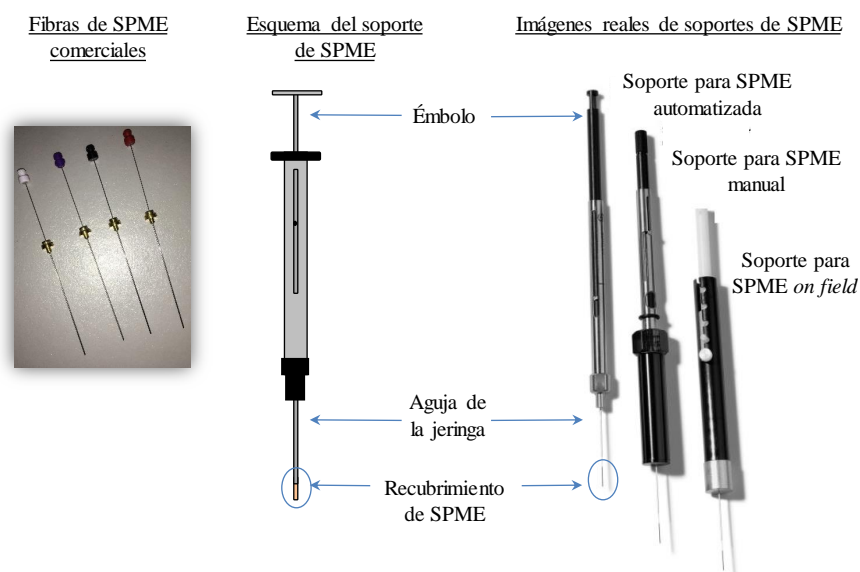


Figura 3. Imágenes de fibras de SPME comerciales y montaje en el soporte de SPME (casa comercial Supelco).

La SPME presenta importantes ventajas respecto a las técnicas convencionales de extracción. Entre ellas, cabe destacar que:

- Es una técnica simple, rápida y automatizable.
- Permite el análisis en el laboratorio o de campo (*on field*).
- No emplea disolventes orgánicos en la etapa extractiva.
- Utiliza volúmenes pequeños de muestra.
- Se puede aplicar para el análisis de muestras gaseosas, líquidas y sólida, y para la determinación de analitos volátiles, semivolátiles y no volátiles.
- Se consigue elevada sensibilidad y reproducibilidad en las extracciones.
- Puede combinarse fácilmente a GC, y con pequeñas modificaciones a HPLC y CE.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.1.1. Recubrimientos en microextracción en fase sólida

Los recubrimientos comerciales disponibles actualmente suelen ser de naturaleza polimérica. La casa comercial Supelco (actualmente Sigma-Aldrich), que hasta 2016 poseía la patente para la fabricación y comercialización de fibras de SPME, distribuye actualmente seis tipos de fibras poliméricas de distinta naturaleza, las cuales a su vez pueden ser adquiridas con distinto grosor de recubrimiento [38]. Recientemente, con la expiración de la patente de Supelco, otras casas comerciales tales como Restek [40] distribuyen fibras de SPME de similar naturaleza.

Los recubrimientos comerciales pueden ser recubrimientos poliméricos homogéneos, como es el caso de las fibras de polidimetilsiloxano (PDMS) y poliacrilato (PA), o también recubrimientos porosos presentes en una fase polimérica [41]. En este último caso se encuentran las fibras polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS-DVB), carboxen/polidimetilsiloxano (CAR-PDMS), carbowax/polietilenglicol (CW/PEG), carbowax/divinilbenceno (CW/DVB) y carbowax/resinas moldeadoras (CW/TPR). Estas fibras porosas se caracterizan por poseer una mayor área superficial respecto de los recubrimientos poliméricos homogéneos, de forma que se consigue una mayor capacidad extractiva de la fibra. La fibra divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR-PDMS), por su parte, es una fibra porosa heterogénea formada por dos tipos de recubrimiento: una primera capa de CAR-PDMS sobre la cual se encuentra una segunda capa de DVB. La Tabla 1 muestra alguna de las propiedades de estos recubrimientos. De entre ellos, CW/DVB y CW/TPR no se han incluido porque han dejado de ser comercializados.

Todos estos recubrimientos se disponen sobre soportes sólidos que pueden ser tanto de sílice fundida o aleaciones metálicas. También, en determinadas ocasiones en lugar del soporte de sílice fundida convencional se utiliza un soporte de sílice fundida derivatizado denominado *StableFlex* que genera una fibra maleable, más estable y flexible [41].

La inmovilización del recubrimiento en el soporte puede generar cuatro tipos de fibras distintas: fibras no enlazadas, enlazadas, parcialmente entrelazadas y altamente entrelazadas [42]. Las *fibras no enlazadas* poseen recubrimientos que no están unidos mediante enlaces al soporte sólido sino por otros procesos físicos, como la adsorción. Se trata de fibras estables frente a algunos disolventes orgánicos miscibles con el agua, pero pueden experimentar un ligero hinchamiento cuando se utilizan con disolventes no

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Tabla 1. Características de los recubrimientos de SPME comercialmente disponibles actualmente.

Grosor recubrimiento (μm)	Soporte sólido	Tipo de fibra	Polaridad	Analitos	Aplicaciones
<i>Polidimetilsiloxano (PDMS)</i>					
7	Sílice fundida	Enlazada	No polar	No polares	GC / HPLC
7	Aleación metálica			(MW = 125–600 uma)	
30	Sílice fundida	No enlazada		No polares y semi-volátiles	
30	Aleación metálica			(MW = 80–500 uma)	
100	Sílice fundida			Volátiles	
100	Aleación metálica			(MW = 60–275 uma)	
<i>Polidimetilsiloxano-divinilbenceno (PDMS-DVB)</i>					
60	<i>StableFlex</i> ^a	Altamente entrelazada	Semipolar	Polares y volátiles, aminas y compuestos nitro-aromáticos	HPLC
65	Sílice fundida	Parcialmente entrelazada		(MW = 50–300 uma)	GC
65	Aleación metálica				
65	<i>StableFlex</i> ^a	Altamente entrelazada			
<i>Carboxen-polidimetilsiloxano (CAR-PDMS)</i>					
75	Sílice fundida	Parcialmente entrelazada	Bipolar	Polares y volátiles	GC
85	Aleación metálica			(MW = 30–225 uma)	
85	<i>StableFlex</i> ^a	Altamente entrelazada			
<i>Divinilbenceno/carboxen-polidimetilsiloxano (DVB/CAR-PDMS)</i>					
50/30 ^b	Aleación metálica	Altamente entrelazada	Semipolar	Volátiles y semi-volátiles, aromas	GC
50/30 ^b	<i>StableFlex</i> ^a			(MW = 40–275 uma)	
<i>Poliacrilato (PA)</i>					
85	Sílice fundida	Parcialmente entrelazada	Polar	Polares y semi-volátiles	GC/ HPLC
				(MW = 80–300 uma)	
<i>Carbowax/polietilenglicol (CW/PEG)</i>					
60	Aleación metálica	Parcialmente entrelazada	Polar	Polares y alcoholes	GC
				(MW = 40–275 uma)	

^a recubrimiento en un soporte de sílice fundida flexible (*StableFlex fiber*), en lugar de la sílice fundida estándar

^b recubrimientos disponibles con longitudes de recubrimiento de 1 o 2 cm

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

polares. Las *fibras enlazadas*, por su parte, poseen recubrimientos enlazados químicamente al soporte. Son estables frente a todos los disolventes, a excepción de algunos disolventes no polares. Las *fibras parcialmente entrelazadas* poseen un comportamiento intermedio al de los dos tipos anteriores y son estables frente a la mayoría de disolventes orgánicos, polares y no polares. Las *fibras altamente entrelazadas* son equivalentes a las fibras anteriores, excepto por el hecho de que se consigue que el recubrimiento quede anclado al *core* del soporte. El tipo de fibra (no enlazado, enlazado o entrelazado) no depende de la naturaleza del recubrimiento sino más bien de su grosor. Por ejemplo, la fibra PDMS se comercializa con tres grosores distintos: 7, 30 y 100 μm . De ellos, el de 7 μm es entrelazado mientras que los otros dos son de tipo no enlazado (Tabla 1).

Una de las principales desventajas de la SPME reside en el bajo número de fibras de distinta naturaleza disponibles comercialmente (Tabla 1). Como alternativa a ellas, en los últimos años se han desarrollado a nivel de laboratorio gran variedad de fibras de SPME. En concreto, con estas nuevas fibras se persigue mejorar las características de robustez, eficacia extractiva y selectividad de las fibras comerciales poliméricas. Como soporte sólido, se utilizan los mismos materiales utilizados para fibras comerciales. Así, los avances han sido dirigidos a la búsqueda de nuevos recubrimientos y nuevas metodologías de síntesis.

Entre los nuevos materiales utilizados como fases extractantes, destaca el empleo de sorbentes de reconocimiento molecular [24], nanomateriales [43], redes metal-orgánicas (MOFs) [44], ILs y derivados [45]. Además, hay descritas aplicaciones que utilizan combinaciones de dos o más materiales, generando así recubrimientos híbridos para SPME [36]. La Tabla 2 resume el uso de todos estos materiales en SPME [46,70].

Los *sorbentes de reconocimiento molecular* son materiales de elevada selectividad pues poseen puntos específicos y activos para la extracción de grupos determinados de moléculas [24,71]. Los materiales con estas características más empleados en SPME incluyen tanto receptores de origen natural (inmunosorbentes y aptámeros) como polímeros de origen artificial, incluyendo en este grupo a los polímeros de impronta molecular (MIPs).

Los inmunosorbentes son sorbentes basados en el uso de anticuerpos de origen natural que se inmovilizan covalentemente a un sólido. Los anticuerpos son aislados mediante extracción y purificación de la fracción de inmunoglobulina G (IgG) del suero

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Tabla 2. Nuevos materiales utilizados como fases estacionarias en SPME y/o μ -SPE.

Tipo de material	Características principales	Material específico	Ejemplos de aplicaciones	
			SPME	μ -SPE
Sorbentes de reconocimiento molecular	Poseen puntos activos y específicos para la extracción de determinadas moléculas	Inmunosorbentes	[46]	[47]
		Aptámeros	[48]	[49]
		Polímeros de impronta molecular (MIPs)	[50]	[51]
		Polímeros de impronta iónica (IIPs)	-	[52]
Nanomateriales	Poseen una elevada área superficial, lo que mejora la eficacia extractiva	Basados en carbono:		
		- <i>Nanotubos de carbono (CNTs)</i>	[53]	[54]
		- <i>Grafeno y óxido de grafeno</i>	[55]	[56]
		- <i>Fullerenos</i>	-	[57]
		- <i>Nanoconos, nanodiscos, nanofibras y nanocuernos</i>	-	[58]
		Nanofibras electrohiladas	[59]	[60]
		Dendrímeros	[61]	[62]
		Nanopartículas (NPs) de metales y óxidos metálicos	[63]	[64]
Redes metal-orgánicas (MOFs)	Poseen elevada área superficial y cavidades/poros ordenados en toda la estructura	Nanopartículas magnéticas (MNPs)	-	[65]
		-	[66]	[67]
Líquidos iónicos (ILs) y polímeros de líquidos iónicos (PILs)	Poseen la capacidad de solvatar gran variedad de especies	-	[36]	[68]
Surfactantes anclados en un soporte sólido	Se basan en monocapas o bicapas de surfactante sobre un sólido	-	-	[69]
Sorbentes poliméricos para fase dual	Se pueden utilizar en fase reversa o como intercambiadores de iones	-	-	[70]
Otros materiales híbridos	Combinan el uso de varios de los materiales anteriores	-	[36]	[69]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

de animales [72]. Como soporte sólido, generalmente se emplean fibras de sílice fundida derivatizadas [46]. Las aplicaciones que utilizan este tipo de fibras basadas en inmunosorbentes están dirigidas al análisis de muestras biológicas.

Los aptámeros son un tipo de oligonucleótidos de cadena sencilla (DNA/RNA monocatenario) formados por hasta 110 pares de bases [73]. Estas especies poseen formas características que, usadas como fases extractantes en SPME, dan elevada especificidad en las extracciones [74]. El reconocimiento molecular se consigue gracias a interacciones por enlaces de hidrógeno o fuerzas de van der Waals, entre otras. Además de su especificidad, se trata de especies de baja toxicidad y elevada estabilidad. En SPME, se han empleado metodologías basadas en procesos sol-gel para la generación de fibras de esta naturaleza [48]. Del mismo modo, se han diseñado diferentes polímeros con aptámeros funcionalizados en su superficie que recubren alambres de acero inoxidable [75].

Los MIPs son sorbentes poliméricos entrecruzados formados por la copolimerización de un monómero y uno o varios *crosslinkers*, actuando estos últimos como elementos de entrecruzamiento [71]. La característica principal de los MIPs reside en incorporar durante su síntesis otras moléculas junto al monómero y *crosslinker* que actúan como plantillas moldeadoras. Una vez sintetizado el material, se elimina la plantilla del polímero, quedando el material sorbente como una macromolécula polimérica con una estructura tridimensional que posee cavidades aptas para la extracción selectiva de especies con similar estructura a la de la molécula usada como plantilla [71]. En concreto, estas cavidades actúan como sitios de reconocimiento complementarios en tamaño, forma y funcionalidad química respecto de la molécula plantilla. En SPME, se han diseñado recubrimientos basados en MIPs mediante la inmovilización *in situ* del material sobre el soporte sólido (sílice o aleaciones metálicas) [76]. Otros recubrimientos se consiguen por la electrodeposición de MIPs basados en polipirrol sobre soportes metálicos [77]. Del mismo modo, se ha descrito el desarrollo de MIPs monolíticos en SPME [78].

Los *nanomateriales* son otro interesante grupo de sorbentes utilizados en SPME. La principal ventaja de su uso radica en que son materiales que poseen una elevada área superficial, de forma que un mayor número de sitios activos de la fase extractante entra en contacto con la muestra cuando se usan con fines extractivos. Además, son fácilmente derivatizables y poseen propiedades térmicas, mecánicas y electrónicas únicas [43].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Dentro de este grupo destacan los nanomateriales basados en carbono, las nanofibras electrohiladas, los dendrímeros y las nanopartículas (NPs) metálicas o de óxidos metálicos.

Los nanomateriales basados en carbono son nanoestructuras mono-, bi- o tridimensionales formadas exclusivamente por átomos de carbono. Estas especies interactúan con compuestos orgánicos vía interacciones no covalentes, incluyendo fuerzas electrostáticas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones π - π e interacciones hidrofóbicas [72]. Dentro de este grupo, se han desarrollado fibras de SPME que utilizan nanotubos de carbono (CNTs) [53], grafeno y óxido de grafeno [55]. Estos materiales se utilizan como único material de extracción o en combinación con otros materiales, generando fases extractantes de naturaleza híbrida.

Las nanofibras electrohiladas son otro tipo de materiales utilizados en SPME que poseen estructuras porosas sintetizadas por procesos de electrohilado [72]. Estos nanomateriales son sintetizados a partir de una disolución de un polímero viscoelástico al que se le aplica un campo electrostático. Cuando las fuerzas electrostáticas superan la tensión superficial de la disolución, un chorro de la misma es expulsado y acelerado por un campo eléctrico hacia un colector. Las nanofibras se generan por solidificación del chorro de disolución en el colector [59]. Si se compara con el resto de materiales poliméricos utilizados en SPME, las nanofibras electrohiladas son más flexibles.

Los dendrímeros son un tipo de material esférico macromolecular formado mediante procesos de auto-ensamblado que ocurren a escala nanométrica [72]. Estos materiales se caracterizan por poseer una estructura tridimensional altamente ramificada y funcionalizada. Las aplicaciones que describen el uso de dendrímeros en SPME se basan en el uso de sílice mesoporosa altamente funcionalizada [61]. Los poros relativamente grandes de la sílice mesoporosa favorecen la funcionalización y eliminan la posibilidad de bloquear el poro del material resultante.

Las NPs incluyen una gran variedad de especies inorgánicas que, presentes a escala nanométrica, poseen propiedades útiles para ser utilizadas en SPME [63,72]. Entre los diferentes tipos de NPs, destaca el uso de NPs de metales nobles como el oro, la plata o el platino, debido a su elevada estabilidad química. También, se han empleado NPs de óxidos metálicos, tales como Fe_3O_4 , TiO_2 , Al_2O_3 , ZrO_2 o MnO [43].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los *MOFs*, por su parte, son redes tridimensionales cristalinas formadas por un centro metálico unido a una serie de ligandos orgánicos mediante enlaces de coordinación [44]. Se trata de materiales porosos con elevada área superficial y elevada estabilidad térmica (entre 200 y 400 °C) y mecánica. Asimismo, el carácter cristalino de los MOFs crea cavidades y poros ordenados y de igual diámetro en toda la red. A estas propiedades se debe añadir la facilidad para diseñar redes con tamaños de poros específicos en base a la aplicación. Las fibras de SPME basadas en MOFs utilizan como soporte sólido acero inoxidable, sílice fundida o cuarzo, normalmente previamente derivatizado [44]. El recubrimiento de MOF sobre el soporte sólido se consigue mediante la deposición directa del MOF en los poros del soporte [66], pegando directamente el MOF con pegamento epoxi [79], o bien haciendo crecer el MOF *in situ* sobre el soporte, normalmente en reactores solvotermales [80].

Los *ILs* son disolventes no moleculares formados exclusivamente por iones [45]. Estos materiales se caracterizan por poseer presiones de vapor despreciables a temperatura ambiente, elevada estabilidad térmica, mecánica y electroquímica, y la capacidad para solvatar a gran variedad de analitos [81]. Además, determinados ILs con grupos vinílicos pueden polimerizarse, generando los polímeros de líquidos iónicos (PILs) [82]. Tanto los ILs como los PILs se han utilizado solos o en combinación con otros materiales para generar gran variedad de fibras de SPME [12]. El uso de estos materiales en SPME se discutirá con detalle en el **Capítulo IV** de la presente Tesis Doctoral.

1.1.2. Modos de extracción en microextracción en fase sólida

La etapa de extracción en SPME puede llevarse a cabo de dos formas diferentes: en inmersión directa [33] y en espacio en cabeza [83]. La Figura 4 esquematiza las diferencias entre estos dos modos de extracción.

- *Microextracción en fase sólida en inmersión directa (DI-SPME)*

En esta modalidad, la fibra se sumerge en el vial que contiene la disolución de la muestra, y los analitos son extraídos directamente desde la matriz de la muestra al material sorbente (Figura 4 (A)). La *DI-SPME* puede aplicarse para el análisis de muestras líquidas o gaseosas [22]. En el caso de muestras gaseosas, la convección natural permite alcanzar rápidamente el equilibrio. Sin embargo, el análisis de muestras líquidas generalmente

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

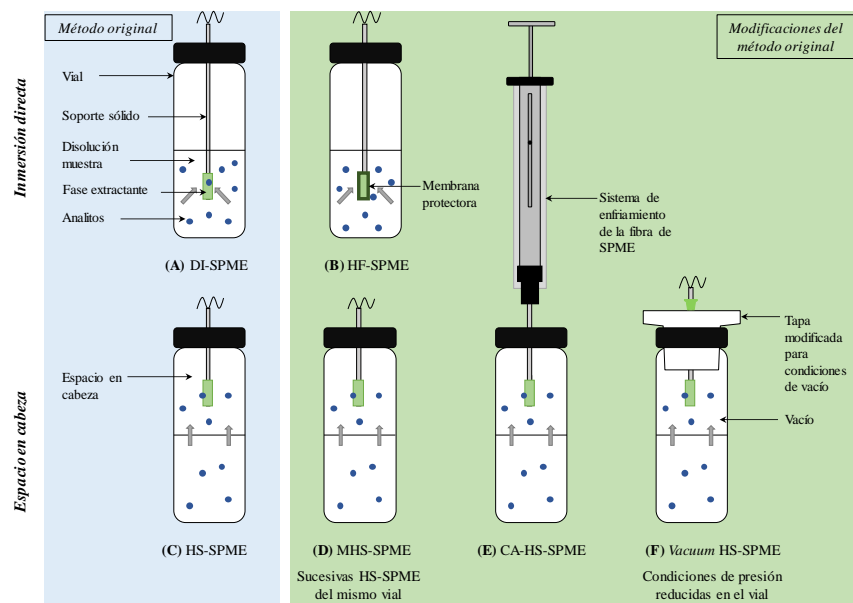


Figura 4. Modos de extracción en SPME: (A) SPME en inmersión directa (DI-SPME), (B) SPME con fibras protegida con membranas huecas (HF-SPME), (C) SPME en espacio en cabeza (HS-SPME), (D) SPME en espacio en cabeza múltiple (MHS-SPME), (E) SPME en espacio en cabeza asistida por frío (CA-HS-SPME) y (F) SPME en espacio en cabeza en condiciones de vacío (*vacuum* HS-SPME).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

requiere del uso de agitación para acelerar la velocidad de transporte de los analitos desde el seno de la disolución hacia la fibra [22].

Una variante de esta técnica es la *microextracción en fase sólida protegida con fibras huecas* (HF-SPME) [84]. En esta modalidad, la fibra de SPME es separada de la muestra con una membrana semipermeable que permite el paso a través de ella de los analitos de interés e impide el paso de las interferencias (Figura 4 (B)). De esta forma, se protege a la fibra frente a compuestos de elevado peso molecular que pueden retenerse irreversiblemente y deteriorar el recubrimiento, sobre todo en el caso de muestras con matrices complejas. Por ello, generalmente se utiliza en el análisis biológico. El proceso de extracción es más lento que la DI-SPME ya que los analitos deben difundir a través de la membrana antes de llegar al recubrimiento. Para mejorar la cinética de la reacción se utilizan membranas delgadas y elevadas temperaturas de extracción.

- *Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza (HS-SPME)*

En HS-SPME, la fibra se coloca en la capa gaseosa o espacio en cabeza que se crea en el vial de extracción, por encima de la muestra (Figura 4 (C)). Se establece un equilibrio de reparto de los analitos en tres fases distintas: la muestra acuosa o sólida, el espacio en cabeza y el recubrimiento de la fibra [83]. Así, los analitos deben ser transportados desde la muestra al espacio en cabeza antes de alcanzar el recubrimiento.

Esta técnica resulta especialmente ventajosa para la determinación de compuestos volátiles y con elevadas constantes de Henry (K_H), que vienen definidas por la Ecuación (1):

$$K_H = \frac{\text{presión del gas (bar)}}{\text{Concentración del gas (mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{)}} \quad (1)$$

En estos casos, la concentración de los analitos en el espacio en cabeza es alta pues su difusión desde la muestra es rápida, alcanzando el estado de equilibrio en menor tiempo. Además, puesto que la fibra no se expone directamente a la muestra, se protege del deterioro debido a interacciones con compuestos no volátiles o de alto peso molecular que pueden estar presentes en la muestra (por ejemplo, proteínas o ácidos húmicos). Además, la HS-SPME permite modificaciones de la matriz de la muestra (incluyendo modificaciones extremas de pH) sin que estas afecten o deterioren la fibra.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Se diferencian tres variantes de la HS-SPME: la *microextracción en fase sólida en espacio en cabeza múltiple* (MHS-SPME) [85], la *microextracción en fase sólida en espacio en cabeza asistida por frío* (CA-HS-SPME) [86] y la *microextracción en fase sólida en espacio en cabeza en vacío* (*vacuum* HS-SPME) [87]. La MHS-SPME es especialmente ventajosa para la determinación de compuestos volátiles en muestras sólidas. Aprovechando el hecho de que la HS-SPME es una técnica de extracción no exhaustiva, en MHS-SPME se realizan múltiples (sucesivas) HS-SPME del mismo vial de extracción (Figura 4 (D)). Para la cuantificación, se relaciona la respuesta total obtenida tras estas sucesivas extracciones con la concentración de analito presente en la muestra [85].

Las metodologías de CA-HS-SPME y *vacuum* HS-SPME, por su parte, se caracterizan por modificar algunos de los parámetros que afectan a la HS-SPME para mejorar la sensibilidad del método: la temperatura y la presión, respectivamente. Además, ambas técnicas requieren la utilización de nuevas configuraciones para realizar la extracción vía HS-SPME.

La CA-HS-SPME (Figura 4 (E)) se basa en el uso de elevadas temperaturas en el vial durante la extracción a la vez que se enfría la fibra de SPME [88]. El incremento de la temperatura en el vial de extracción favorece el paso de los analitos al espacio en cabeza, por un lado, y su paso desde el espacio en cabeza a la superficie de la fibra. Al mismo tiempo, el mecanismo por el cual los analitos son retenidos en la fase extractante, que generalmente es un proceso exotérmico [89], se ve favorecido debido al enfriamiento simultáneo del recubrimiento de extracción.

La *vacuum* HS-SPME (Figura 4. (F)) utiliza un sistema que permite condiciones de presión reducida en el vial de extracción [87]. Estas condiciones se alcanzan en una etapa previa a la extracción en la que se evacua el aire existente en el vial con ayuda de una bomba de vacío. Tras esto, la muestra se inyecta y la fibra de SPME se expone al espacio en cabeza del vial durante un tiempo prefijado, y utilizando unas condiciones de temperatura y agitación determinadas. Las condiciones de vacío favorecen el paso de los analitos hacia el espacio en cabeza, de forma que se consigue un aumento de la eficacia de extracción a la vez que se requieren condiciones de extracción más suaves (menor temperatura y tiempo de extracción) [90]. Esta técnica resulta especialmente útil para compuestos semivolátiles que posean bajos valores de K_H (en el orden de 10^{-6}

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

atm·m³·mol⁻¹ o inferiores) [87], aunque recientemente también se ha aplicado para la extracción de compuestos volátiles con exitosos resultados [90].

1.1.3. Mecanismos de extracción en microextracción en fase sólida

El transporte de los analitos desde la matriz de la muestra hacia el material sorbente de la fibra de SPME comienza desde el momento en el que la fibra se pone en contacto con la muestra. En primer lugar, se produce la difusión y transporte de los analitos a la interfaz muestra-fibra [22]. Tras esto, se produce la extracción por mecanismos diferentes (adsorción/absorción) en función del material sorbente [22]. La Figura 5 muestra un esquema de estos dos tipos de mecanismos.

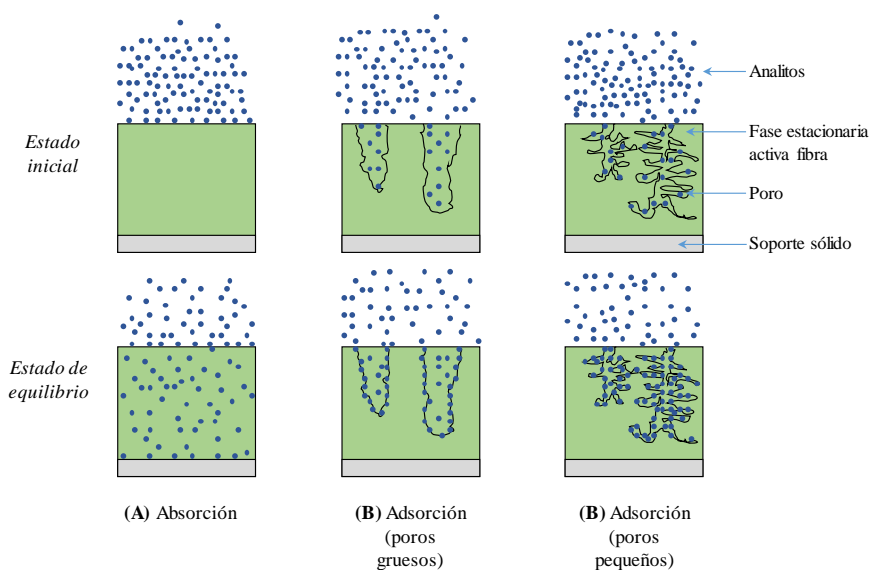


Figura 5. Mecanismos de extracción en SPME: (A) mecanismo de absorción y (B) mecanismo de adsorción.

La extracción siguiendo un mecanismo de *absorción* tiene lugar cuando el coeficiente de difusión de los analitos en la fase extractante es elevado. La Figura 5 (A) muestra un esquema del mecanismo. Este tipo de proceso extractivo se favorece cuando se utilizan materiales sorbentes de pequeño grosor, o en el caso de las fibras comerciales PDMS y PA, que son recubrimientos poliméricos líquidos. La principal ventaja de la

absorción es que la cantidad de analito extraído se relaciona con la concentración inicial de analito en la muestra siguiendo una isoterma lineal para un intervalo amplio de concentraciones [22].

Si el coeficiente de difusión de los analitos en la fase sorbente es bajo, los analitos se quedan en la interface muestra-sorbente, y la extracción se realiza siguiendo un mecanismo de *adsorción*. Este tipo de mecanismo sucede cuando se utilizan fibras porosas (tanto con poros pequeños como grandes), tal y como se muestra en la Figura 5 (B). Este es el caso de las fibras PDMS-DVB, CAR-PDMS, CW/DVB y CW/TPR. Como la difusión de los analitos en la fibra es lenta, los analitos se quedan adheridos a la superficie de los poros. A su vez, dado que los “sitios activos” de los poros son limitados, la cantidad de analito extraído se relaciona con la concentración inicial de analito en la muestra siguiendo una isoterma no lineal, sobre todo en el caso de muestras en las que la concentración de analito es alta [22].

A continuación, se exponen los modelos matemáticos que gobiernan cada uno de estos mecanismos, absorción y adsorción:

- *Ecuaciones que gobiernan la extracción por adsorción*

Independientemente del tipo de mecanismo que gobierne la extracción, la SPME es un proceso de equilibrio multifase. Frecuentemente, si la muestra es compleja, deben ser considerados factores específicos de la misma como posibles pérdidas de analito por degradación o adsorción en las paredes del vial de extracción, etc. Sin embargo, de forma general para un *proceso de absorción que transcurre via DI-SPME*, se puede considerar que sólo hay dos fases presentes: (a) una matriz homogénea acuosa o gaseosa donde inicialmente se encuentran los analitos, y (b) el sorbente o recubrimiento activo de la fibra. Los analitos experimentarán un equilibrio de distribución entre esas dos fases caracterizado por un coeficiente de distribución o reparto (K_{fs}) (Ecuaciones (2) y (3)):

$$\text{Analito}_s \xleftrightarrow{K_{fs}} \text{Analito}_f ; \quad K_{fs} = \frac{c_f^\infty}{c_s^\infty} \quad (2) \text{ y } (3)$$

donde Analito_s y Analito_f denotan el analito presente en la muestra y el recubrimiento activo de la fibra, respectivamente. Mientras, c_f^∞ y c_s^∞ son las concentraciones de analito en el equilibrio en el recubrimiento activo de la fibra y en la muestra, respectivamente.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Cuando el equilibrio se alcanza, la cantidad de analito extraído es contante (dentro del intervalo del error experimental) y se hace independiente del tiempo de extracción. La situación de equilibrio puede describirse mediante la Ecuación (4) [91]:

$$n = \frac{K_{fs}c_0V_sV_f}{V_s + K_{fs}V_f} \quad (4)$$

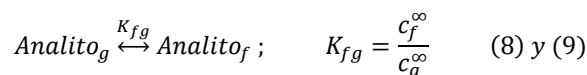
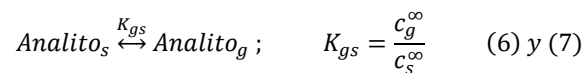
donde n es la cantidad de analito extraído en la fibra, V_f y V_s son los volúmenes de la fibra y de la muestra, respectivamente, y c_0 es la concentración inicial de analito en la muestra.

Considerando que el volumen de recubrimiento de la fibra es mucho más pequeño que el de la muestra ($V_f \ll V_s$) y en el caso de que no exista una gran afinidad del analito por la fibra, la Ecuación (4) se reduce a la Ecuación (5):

$$n = K_{fs}V_f c_0 \quad (5)$$

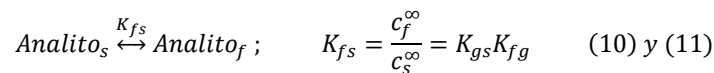
La Ecuación (5) pone de manifiesto que la cantidad de analito extraída es independiente del volumen de muestra.

Por otro lado, si el *proceso de extracción por absorción transcurre vía HS-SPME*, el sistema a considerar está formado por tres fases: (a) la muestra homogénea (fase acuosa o sólida), (b) el espacio en cabeza (fase gaseosa) y (c) el sorbente o recubrimiento activo de la fibra. Esto implica dos interfaces distintas: la interface muestra-espacio en cabeza y la interface espacio en cabeza-fibra. Los analitos experimentarán dos equilibrios de reparto: uno entre la muestra y el espacio en cabeza (con coeficiente de reparto K_{gs}), y otro entre el espacio en cabeza y la fibra (con coeficiente de reparto K_{fg}). Las Ecuaciones (6), (7), (8) y (9) gobiernan el proceso:



donde Analito_g expresa el analito presente en el espacio en cabeza y c_g^∞ es la concentración de analito en el equilibrio en el espacio en cabeza.

El proceso global será el expresado en las Ecuaciones (10) y (11):



Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

La expresión que relaciona la cantidad de analito extraído en la fibra es la Ecuación (12) [83]:

$$n = \frac{K_{fg}K_{gs}c_0V_sV_f}{K_{fg}K_{gs}V_f + K_{gs}V_g + V_s} \quad (12)$$

donde V_g es el volumen del espacio en cabeza.

Si se tiene en cuenta que el coeficiente de distribución entre la muestra y el espacio en cabeza suele ser pequeño y se considera que el volumen de muestra es mucho mayor que el de la fase gaseosa y el de la fibra ($V_g \ll V_s$; y $V_f \ll V_s$), la expresión (12) se reduce a la Ecuación (13):

$$n = K_{fg}K_{gs}c_0V_f \quad (13)$$

Independientemente del tipo de extracción, DI-SPME o HS-SPME, las Ecuaciones (5) y (13) ponen de manifiesto que, cuando el equilibrio se alcanza, existe una relación directamente proporcional entre la concentración del analito en la muestra (c_0) y la cantidad del analito extraído (n). Esta es la base de la cuantificación por SPME cuando el mecanismo de extracción es la absorción.

- *Ecuaciones que gobiernan la extracción por adsorción*

En el caso de las extracciones que siguen un mecanismo de adsorción, se establece una competencia entre los analitos por los sitios activos de la fibra, que son limitados. Así, las Ecuaciones (5) y (13) sólo son válidas para concentraciones de analito bajas ($c_{f,max} \ll c_g^\infty$). Sólo en esta situación el área superficial total disponible para la adsorción es proporcional al volumen de recubrimiento, asumiendo que la porosidad del recubrimiento es uniforme en todo el material [22]. Para elevadas concentraciones de analito, se debe considerar que los poros se saturan de analito durante el proceso de extracción, de forma que se obtienen isothermas no lineales, tal y como ya se ha señalado anteriormente.

El modelo matemático que explica este proceso obedece a la isoterma de adsorción de Langmuir [92]. En este caso, se debe suponer que se cumple que: (a) la molécula se adsorbe en un estado inmóvil, (b) todos los sitios activos del recubrimiento son equivalentes, (c) en cada sitio activo sólo se va a unir una molécula, y (d) no hay interacciones entre las moléculas adsorbidas en sitios contiguos [92]. La expresión que se obtiene para el proceso de *DI-SPME (dos fases)* es la Ecuación (14):

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

$$n = \frac{K_{fs}^D c_0 V_s V_f (c_{f,max} - c_f^\infty)}{K_{fs} V_f + V_s (c_{f,max} - c_f^\infty)} \quad (14)$$

donde K_{fs}^D es el coeficiente de reparto del analito entre la muestra y la superficie de la fibra. Por otro lado, $c_{f,max}$ indica la concentración máxima de analito y c_f^∞ la concentración final del analito, ambas en la superficie de la fibra.

En el caso de una *extracción vía HS-SPME con un mecanismo de adsorción*, la concentración final de analito en la fibra (c_f^∞) se determina también siguiendo el modelo de Langmuir mientras que la concentración final de analito en el espacio en cabeza de la muestra (c_g^∞) se calcula utilizando la ley de Henry. La expresión que se obtiene es la Ecuación (15):

$$n = \frac{K_{fs}^D K_{gs} c_0 V_s V_f (c_{f,max} - c_f^\infty)}{V_s + K_{gs} V_g + K_{fs}^D K_{gs} V_f (c_{f,max} - c_f^\infty)} \quad (15)$$

En ambos casos, se observa que en las muestras poco concentradas se conserva el comportamiento lineal que se observaba cuando la extracción se oproduce por un mecanismo de absorción, puesto que se cumple que $c_{f,max} \gg c_f^\infty$.

1.1.4. Cinética del proceso de extracción

La cinética del proceso de extracción por SPME está controlada por dos fenómenos distintos: la difusión y la convección [39]. La *difusión* se debe a gradientes de concentración originados en dos zonas del sistema, y obliga a los analitos a desplazarse desde las zonas más concentradas hacia las menos concentradas. La *convección* es debida a otros procesos distintos en el seno de la disolución como la agitación, etc.

Independientemente del nivel de agitación, el contacto de la muestra con la superficie de la fibra es un proceso estacionario, controlado por la difusión del analito hasta la fibra. A medida que aumenta la distancia respecto de la superficie de la fibra, el movimiento de la muestra aumenta gradualmente de forma que en el seno de la disolución (a largas distancias respecto de la fibra), la velocidad del proceso está gobernada por fenómenos de convección [93]. Este comportamiento se esquematiza en la Figura 6, en la cual se representa el perfil de concentración de analito en función de la distancia respecto de la fibra de SPME. La concentración de analito en las zonas cercanas a la fibra y en el seno de disolución es relativamente constante. Sin embargo, la región de transición

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

entre difusión y convección es una zona de composición variable que se denomina *capa límite*. La capa límite es una región en la que el flujo de analito se va haciendo progresivamente más dependiente de la difusión y menos dependiente de la convección hasta que alcanza la superficie de la fibra.

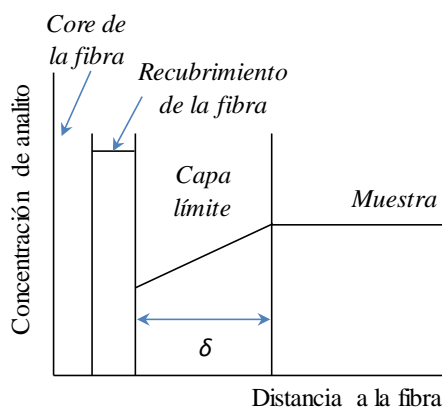


Figura 6. Modelo de la capa límite en SPME: esquema del perfil de concentración de analito en función de la distancia respecto de la fibra de SPME.

El grosor de la capa límite (δ) se define como la posición en la que se produce la transición entre la zona controlada por convección (seno de la disolución) y la zona controlada por difusión (superficie de la fibra). También, se define como el punto en el que la convección dentro de la capa límite es igual a la difusión fuera de la capa límite. El grosor de la capa límite se determina teniendo en cuenta las condiciones de agitación y la viscosidad de la muestra.

1.1.5. Parámetros que influyen en la etapa de extracción

Entre los parámetros que influyen en el proceso de extracción en SPME, cabe destacar: parámetros que dependen del recubrimiento de SPME (naturaleza y grosor del recubrimiento), factores experimentales durante la extracción (agitación, tiempo y temperatura de extracción, presión en el interior del vial de extracción y modo de extracción) y factores que dependen de la muestra (volumen de muestra, pH y fuerza iónica).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- *Parámetros que dependen del recubrimiento de SPME*

La eficacia del proceso de extracción está directamente relacionada con la naturaleza y grosor del recubrimiento activo de la fibra. La naturaleza de la fibra a seleccionar para una aplicación concreta se relaciona con la polaridad y volatilidad de los analitos a extraer [94]. La Tabla 1 muestra el tipo de fibra a seleccionar en base a los analitos a extraer.

El grosor del recubrimiento de la fibra condiciona el tiempo de equilibrio y la sensibilidad del método. De forma general, cuanto mayor sea el grosor del recubrimiento de la fibra de SPME mayor será la eficacia de extracción, pero también será mayor el tiempo necesario para que los analitos alcancen el estado de equilibrio.

- *Parámetros experimentales durante la extracción*

Durante la etapa de extracción en SPME es importante la selección del modo de extracción y el control de las condiciones de agitación, temperatura y tiempo de extracción.

Con respecto al tiempo de extracción, la eficacia extractiva máxima se consigue trabajando en condiciones de equilibrio. Sin embargo, en el caso de analitos con bajas constantes de reparto, se requieren elevados tiempos para alcanzar el estado de equilibrio. En estas circunstancias, se puede trabajar en condiciones de no equilibrio siempre que se alcance la sensibilidad requerida para el método y llevando a cabo un exhaustivo control del tiempo de extracción para obtener resultados reproducibles [34].

La temperatura de extracción tiene dos efectos opuestos en el proceso de SPME. De forma general, su incremento favorece la difusión de los analitos a la fibra, provocando un aumento de la eficacia extractiva. Sin embargo, el incremento en la temperatura reduce también la constante de distribución de los analitos debido a que la extracción es un proceso exotérmico [34]. Suele elegirse una temperatura de compromiso que asegure una buena difusión de los analitos hacia la fibra pero, al mismo tiempo, que asegure una buena absorción/adsorción. Para aumentar la temperatura, es necesario calentar el vial que contiene la muestra a extraer. Esto puede conseguirse con una placa calefactora, un bloque metálico o un horno microondas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

En HS-SPME, el control de la temperatura es crítico, y se relaciona también con el tiempo de extracción. En general, la aplicación de altas temperaturas favorece el paso de analitos al espacio en cabeza, aumentando la eficacia extractiva y acelerando el proceso. En el caso de la modalidad de CA-HS-SPME, el calentamiento del vial de extracción se combina con el enfriamiento del recubrimiento de la fibra. Para ello, se modifica el diámetro interno de la jeringa de SPME y se introduce un refrigerante que consigue el control de la temperatura de la fibra [86].

La presión en el vial de extracción también puede acelerar el proceso de HS-SPME (modalidad de *vacuum* HS-SPME) [90]. Trabajando en condiciones de presión reducida se puede acelerar el paso de los analitos al espacio en cabeza. Esta técnica resulta especialmente ventajosa para la extracción de analitos semivolátiles o volátiles.

La agitación de la muestra, por su parte, favorece la convección de los analitos en el seno de la muestra. Pueden usarse diversos modos de agitación: vortex, agitación magnética, ultrasonidos o cualquier otro tipo de vibración [95]. En la modalidad de DI-SPME, la influencia de la agitación es más importante que en HS-SPME, y se relaciona directamente con el tiempo de extracción.

- *Parámetros que dependen de la muestra*

Los parámetros que se relacionan con la muestra e influyen en el proceso de extracción son el volumen de muestra, el pH y la fuerza iónica, entre otros.

El volumen de la muestra es un parámetro que se debe tener en cuenta pues es directamente proporcional a la sensibilidad del método analítico. De forma general, compuestos con elevados coeficientes de distribución se ven más afectados por los cambios de volumen de muestra.

Otra manera de aumentar la eficacia extractiva, en el caso de que los analitos sean especies con grupos ionizables, es mediante el control o ajuste de pH. Por lo general, se suele escoger un pH inferior al pKa de los analitos, de forma que las especies a extraer se encuentren en forma neutra. En el caso de DI-SPME, se debe tener en cuenta la estabilidad de la fibra de SPME frente al pH.

En relación a la fuerza iónica, muchos estudios señalan que la adición de una sal como el cloruro sódico provoca un aumento de la cantidad de analito extraído [34,90].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Este efecto, denominado *salting out*, se asocia a un incremento de la fuerza iónica del medio, lo cual disminuye la solubilidad de los analitos en la fase acuosa. El resultado final es que los analitos son retenidos más fácilmente por la fibra. Sin embargo, hay que tener en cuenta que este efecto no es general y depende de la polaridad del analito, la concentración de la sal y la naturaleza de la muestra y de la fibra. En el caso de HS-SPME, el uso del *salting out* es más habitual. Sin embargo, en DI-SPME hay que tomar precauciones para evitar depósitos de sales sobre el recubrimiento de la fibra cuando se trabaja a elevadas concentraciones de sal.

1.1.6. Modos de desorción en microextracción en fase sólida

La desorción en SPME se puede realizar atendiendo a tres modos distintos: desorción térmica, desorción con disolventes orgánicos y desorción electrocinética.

- Desorción térmica

La desorción térmica se utiliza cuando la técnica de SPME se acopla a GC [34]. Se utiliza para la desorción de compuestos volátiles o semivolátiles. En este caso, la fibra de SPME se expone a altas temperaturas durante un tiempo prefijado en el inyector del GC. La afinidad de los analitos por la fibra disminuye, y éstos pasan de nuevo a la fase gaseosa, consiguiéndose la desorción. Inmediatamente, los analitos son arrastrados por el gas portador hacia la columna cromatográfica.

El acoplamiento de la SPME con GC puede realizarse fuera de línea o en línea. En el *acoplamiento fuera de línea*, la extracción SPME se realiza en un dispositivo independiente del sistema cromatográfico, normalmente en un sistema que permita calentamiento y/o agitación. Una vez finalizada la extracción, el analista se encarga de exponer la fibra en el inyector del GC para la desorción [34]. Por otro lado, en el *acoplamiento en línea* todo el proceso de extracción y desorción se lleva a cabo utilizando un brazo robótico (tipo CombiPal®) [36]. El brazo robótico es capaz de llevar la muestra hasta una cubeta y exponer la fibra de SPME a la muestra durante la extracción y, tras esto, conducir la fibra hasta el inyector del GC para la desorción.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- *Desorción con disolventes orgánicos*

La desorción en este caso se basa en el uso de un disolvente orgánico cuya elección está condicionada a que cumpla tres características principales: mayor afinidad por los analitos que la fibra de SPME, elevada estabilidad del recubrimiento de la fibra de SPME en el disolvente, al tiempo que no reacciona con los analitos [96]. La fibra se expone a un volumen pequeño del disolvente orgánico (en el orden de los microlitros), durante un tiempo determinado. Tras esto, el disolvente se inyecta en el sistema cromatográfico, generalmente un cromatógrafo líquido (LC). Este tipo de desorción se usa para la determinación de analitos térmicamente inestables o poco volátiles. También, resulta ventajosa para la extracción de analitos iónicos y polares, siempre que se realice una etapa previa de ajuste de pH o derivatización.

Tal y como sucede con la desorción térmica, el acoplamiento de SPME con LC puede ser fuera de línea o en línea. En el *acoplamiento fuera de línea*, las etapas de extracción y desorción de la SPME se realizan en un dispositivo independiente del LC [96]. En el *acoplamiento en línea*, se utiliza una interfaz con una cámara de desorción acoplada al sistema de LC. La interfaz posee una válvula de dos posiciones para realizar la desorción y la posterior inyección en el sistema de LC. La desorción en línea puede ser *dinámica*, si se lleva a cabo con la fase móvil del LC, y *estática*, si se introduce un disolvente adecuado en la cámara de desorción, pero diferente al de la fase móvil.

- *Desorción electrocinética*

La desorción electrocinética se utiliza cuando se acopla *en línea* la técnica de SPME a CE, ya que en los acoplamientos *fuera de línea*, se utiliza un disolvente orgánico (en el orden de mililitros) como en el caso de LC. La desorción se realiza exponiendo la fibra al disolvente orgánico, tras lo cual el disolvente es inyectado en el capilar de CE [97]. En el *acoplamiento en línea* se lleva a cabo la desorción electrocinética, para lo cual ha de modificarse el inyector del CE, de forma que puede introducirse la fibra directamente en el capilar para la desorción.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.2. Extracción en fase sólida miniaturizada

La extracción en fase sólida miniaturizada (μ -SPE) es una técnica analítica que, al igual que la extracción en fase sólida (SPE) convencional, utiliza un material sólido como fase extractante [12]. La principal diferencia entre estas dos metodologías reside en la cantidad de fase extractante y muestra requerida durante la extracción. Así, los procedimientos de SPE convencionales generalmente utilizan sistemas de 3 mL o más de capacidad que permiten el uso de ~500 mg de fase extractante y ~100 mg de muestra (o cantidades mayores) [98]. Los requerimientos de material de extracción y muestra en μ -SPE son menores que las cantidades anteriormente mencionadas. De hecho, en algunas aplicaciones se requieren cantidades de material de extracción del orden de los microgramos. Sin embargo, ambas técnicas se basan en los mismos principios y se utilizan con los mismos fines: tanto para la extracción y preconcentración de analitos [99] o como etapa de limpieza (*clean up*) de la muestra [100].

La μ -SPE se lleva a cabo en dos etapas principales: la extracción y la elución. En la *extracción*, la muestra se pone en contacto con el material sorbente, de forma que se establece un equilibrio de reparto de los analitos entre estas dos fases. Si los analitos son afines por el material sorbente, se consigue la extracción. Tras esto, el material sorbente es separado de la matriz de la muestra, y se procede a la *elución*. En esta etapa, el material sorbente se pone en contacto con un pequeño volumen de un disolvente, generalmente de naturaleza orgánica. Los analitos de nuevo experimentan reparto entre estas dos fases, de forma que al final son eluidos en el disolvente orgánico.

Entre las ventajas de la μ -SPE respecto del resto de técnicas convencionales, cabe destacar:

- Con su uso se consigue una minimización significativa del consumo de disolventes orgánicos.
- Se alcanzan altos factores de enriquecimiento.
- Es una técnica económica, fácil y rápida, y por tanto más conveniente para trabajo de rutina.
- Se puede automatizar y acoplar fácilmente con cualquier tipo de técnica analítica.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.2.1. Materiales extractantes en extracción en fase sólida miniaturizada

Los materiales sorbentes utilizados en μ -SPE disponibles comercialmente son los mismos que los utilizados en SPE convencional: sílice, sílice derivatizada, polímeros, carbono grafitizado y alúmina [101]. En general, los materiales más empleados en μ -SPE se pueden clasificar (de forma análoga a la de SPE convencional) en: fases extractantes en modo reverso, en modo normal, de intercambio iónico o de adsorción [102]. Más recientemente, también se incluyen materiales que se caracterizan por participar en interacciones hidrofílicas, análogos a los que se utilizan como fases estacionarias en cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC). La selección de un tipo de material u otro se hará en base al tipo de matriz y a los analitos que se quieren extraer. La Tabla 3 muestra un resumen de las características de estos materiales extractantes.

- *Fases extractantes en modo reverso*

La μ -SPE en fase reversa se utiliza para la extracción de analitos no polares de una matriz polar o moderadamente polar. Para ello, se utiliza una fase extractante no polar, como son las fases basadas en sílice con grupos alquilo o arilo enlazados. Las fases comerciales más empleadas son las que emplean octadecil-sílice (C_{18}) u octil-sílice (C_8). Los analitos son extraídos debido al establecimiento de interacciones débiles de tipo Van der Waals o mediante fuerzas de dispersión entre el analito y los grupos activos de la fase extractante.

Otras posibles fases extractantes están basadas en polímeros, y sílice recubierta con polímeros. Las fases extractantes poliméricas como las basadas en estireno/divinilbenceno (estireno/DVB) retienen compuestos hidrofóbicos con pequeños grupos hidrofílicos enlazados, como los compuestos fenólicos. Estas fases poliméricas usan un copolímero entrecruzado por lo que son altamente hidrofóbicas. Además, presentan la ventaja de que resisten pH extremos, lo cual no sucede con las fases extractantes basadas en sílice [103].

Los materiales de extracción de sílice recubierta con polímeros hidrofóbicos también se usan en fase reversa para la extracción de compuestos orgánicos hidrofóbicos pequeños, tales como drogas en matrices que contienen proteínas y otras biomoléculas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Tabla 3. Características principales de los materiales de extracción comerciales utilizados en μ -SPE.

Tipo de fase extractante	Naturaleza de la fase extractante	Analitos	Muestras	Tipo de interacción analito-fase estacionaria
Fase extractante en modo reverso	No polar: *Sílice enlazada con grupos C ₁₈ o C ₈ *Polímeros como el estireno/DVB *Mezcla de sílice y polímeros	No polares: *La mayoría de compuestos orgánicos con grupos alquílicos, aromáticos o alicíclicos	Naturaleza polar: *Fluidos biológicos (orina, suero, plasma) *Extractos acuosos de tejidos *Agua, vino, cerveza	Interacciones hidrofóbicas: *Interacciones de Van der Waals *Fuerzas de dispersión
Fase extractante en modo normal	Polar: *Sílice enlazada con grupos -CN, -NH ₂ o grupos diol	Polares: *Compuesto con grupos hidroxilo, carbonilo, amino y dobles enlaces *Compuestos con heteroátomos (C, N, S, P)	Naturaleza no polar: *Extractos orgánicos de sólidos *Disolventes no polares *Aceites, grasas e hidrocarburos	Interacciones hidrofílicas *Enlaces de hidrógeno *Interacciones π - π *Interacciones dipolo-dipolo *Interacciones dipolo-dipolo inducido
Fase extractante de intercambio aniónico	Grupo ionizable con anión como contraión: *Sílice enlazada con grupos amino cuaternarios	Compuestos ácidos: *Ácidos carboxílicos *Ácidos sulfónicos *Fosfatos	Muestras acuosas u orgánicas con baja concentración de sal: *Fluidos biológicos *Intermedios de reacción en síntesis	Atracciones electroestáticas entre el grupo cargado del analito y de la superficie de la fase estacionaria

Introducción

43

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Tabla 3. (continuación) Características principales de los materiales de extracción comerciales utilizados en μ -SPE.

Tipo de fase extractante	Naturaleza de la fase extractante	Analitos	Muestras	Tipo de interacción analito-fase estacionaria
Fase extractante de intercambio catiónico	Grupo ionizable con catión como contraión: *Sílice enlazada con grupos sulfónicos o carboxílicos	Compuestos básicos: *Aminas (primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias)		
Fase extractante de adsorción	*Sílice sin modificar *Alúmina *Silicato de magnesio *Carbono grafitizado *Resinas	Polares o no polares; con grupos ionizables, dependiendo de la fase estacionaria	Muestras acuosas u orgánicas	Interacciones hidrofóbicas o hidrofílicas, dependiendo de la fase estacionaria
Fase extractante de interacción hidrofílica	*Materiales de tipo zwitteriónico *Sílice enlazada a macromoléculas como poliaspartamida o sacáridos	Polares e hidrofílicos: *Moléculas orgánicas pequeñas *Macromoléculas como carbohidratos, sacáridos o péptidos	Naturaleza polar	Interacciones hidrofílicas y otras aún objeto de estudio: *Enlaces de hidrógeno *Interacciones dipolo-dipolo *Interacciones dipolo-dipolo inducido *Interacciones electrostáticas

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

- *Fases extractantes en modo normal*

La μ -SPE en fase normal resulta ventajosa para la extracción de analitos polares de matrices no polares o relativamente no polares. Ejemplos de este tipo de analitos son la acetona o compuestos clorados. Para ello, se utilizan fases extractantes polares como la sílice con grupos funcionalizados polares (cadenas alquílicas pequeñas con grupos polares). La retención de los analitos se debe a interacciones entre los grupos polares de la superficie de la fase estacionaria y los analitos. Estas interacciones pueden ser enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido, etc.

En concreto, las fases de sílice con pequeñas cadenas alquílicas con grupos polares pueden usarse en μ -SPE en fase normal para la extracción de compuestos polares, pero también en fase reversa (con fases acuosas), aprovechando la existencia de las pequeñas cadenas alquílicas.

- *Fases extractantes de intercambio iónico*

La μ -SPE de intercambio iónico se utiliza para la extracción de especies cargadas presentes en una disolución (acuosa u orgánica). La extracción tanto de aniones como de cationes se realiza con fases extractantes basadas en sílice con diferentes grupos funcionales. El mecanismo de retención principal son atracciones electrostáticas de los grupos funcionales cargados de los analitos y de la superficie de la fase estacionaria. En estos casos, el control del pH de la disolución es crucial para mantener los analitos y los grupos funcionales de la fase estacionaria cargados. En general, para mantener un analito ácido como anión (o un analito básico como catión), es necesario utilizar un pH que sea al menos 2 unidades superior a su pKa.

Las fases extractantes de intercambio aniónico suelen tener grupos amonio cuaternario (con Cl⁻ como contra-anión) enlazados a la superficie de la sílice, que atraen a analitos aniónicos presentes en la disolución. El pKa del amonio cuaternario es alto (> 14), por lo que se utiliza para extraer analitos con bajos pKa.

Las fases extractantes de intercambio catiónico contienen sílice con grupos sulfónicos (con Na⁺ como contra-catión) enlazados a la sílice (pKa < 1) o grupos carboxilatos (con Na⁺ como contra-catión, siendo el pKa de 4.8), que favorecen la extracción de especies catiónicas en disolución.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- *Fases extractantes de adsorción*

Las fases extractantes de adsorción utilizadas para μ -SPE se basan en el uso de materiales sin modificar tales como la sílice, alúmina, silicato de magnesio, materiales basados en carbono grafitizado y resinas. El mecanismo de extracción puede ser tanto por establecimiento de interacciones hidrofóbicas como hidrofílicas, dependiendo de la fase extractante, de forma que pueden utilizarse para la extracción de analitos no polares (como ocurría en μ -SPE en fase reversa) como polares (fase normal). En ocasiones, incluso, estas fases extractantes actúan como intercambiadores de iones. Las fases extractantes que pueden actuar por varios mecanismos en base a la muestra y los analitos presentes en la misma se denominan fases duales o multi-modo [104].

Las fases basadas en sílice sin derivatizar se usan en modo normal para extraer compuestos relativamente polares como alcoholes, aldehídos, aminas, fenoles.

Las fases extractantes basadas en alúmina se pueden utilizar con diferentes fines dependiendo del pH del medio. Así, los medios ácidos (pH ~5) se usan como intercambiadores de aniones y para la extracción de compuestos polares como las vitaminas; mientras que los medios básicos (pH ~8.5) funcionan como intercambiadores de cationes. Los medios neutros (pH ~6.5), por su parte, resultan eficaces en la extracción de vitaminas, antibióticos, enzimas y hormonas.

En cuanto a las fases extractantes basadas en silicato de magnesio y en resinas, se utilizan en modo normal para la extracción de otros compuestos polares.

Las fases basadas en carbono suelen estar formadas por carbono grafitizado. En concreto, estas fases extractantes resultan ventajosas para la extracción de moléculas aromáticas planas o compuestos con cadenas alquílicas. El mecanismo de extracción se basa más en la estructura del analito (tamaño y forma), que en el establecimiento de interacciones analito-material de extracción, y funcionan tanto en modo reverso como en modo normal, para la extracción de especies no polares o polares.

- *Fases extractantes de interacción hidrofílica*

La cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) es una técnica que ha despertado gran interés en los últimos años y que se emplea para la separación de compuestos polares e hidrofílicos, incluyendo moléculas orgánicas de pequeño tamaño

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

pero también carbohidratos o péptidos [105]. Esta técnica se basa en el empleo de fases móviles polares (normalmente conteniendo un 60-70% de acetonitrilo) conjuntamente con fases estacionarias de (1) sílice derivatizada (con grupos amino, diol o ciano), del mismo tipo de las empleadas en cromatografía líquida en fase normal; (2) materiales modificados de tipo zwitteriónico, o (3) fases especialmente diseñadas para HILIC, con grupos amida, carbohidratos u oligosacáridos [105]. Dentro de este grupo también se incluyen fases estacionarias con macromoléculas hidrofílicas enlazadas, y columnas monolíticas.

Las fases estacionarias empleadas en HILIC también pueden utilizarse como fases extractantes en μ -SPE para la extracción del mismo tipo de compuestos (polares e hidrofílicos). Tal y como ocurre en HILIC, se ha probado que la retención de estos analitos se basa en un mecanismo multi-modal que incluye otras interacciones como enlaces de hidrógeno o interacciones electrostáticas y dipolares.

Además de las fases extractantes comerciales disponibles, en los últimos años se ha explorado el uso de *nuevos materiales extractantes*. La mayoría de estos materiales son los mismos que se utilizan para SPME (Tabla 2): sorbentes de reconocimiento molecular, nanomateriales, MOFs e ILs y derivados. Paralelamente, se utilizan otro tipo de fases extractantes, como los basados en surfactantes adsorbidos sobre un soporte sólido y los materiales extractantes poliméricos para fase dual.

En cuanto a los *materiale extractantes de reconocimiento molecular* utilizados en μ -SPE, destaca el uso de inmunosorbentes, aptámeros, MIPs y polímeros de impronta iónica (IIPs).

Los inmunosorbentes y aptámeros empleados en μ -SPE se inmovilizan covalentemente sobre un sólido o gel activo como la sílice, sefariosa o celulosa [72]. El soporte sólido se selecciona en base a los siguientes criterios: (1) debe ser un material poroso capaz de retener al inmunosorbente o aptámero en su superficie, y (2) debe ser un material hidrofílico para evitar interacciones no-específicas [72]. La extracción se realiza por interacciones altamente específicas del anticuerpo del sorbente con antígenos de la muestra [106]. En el caso de los aptámeros, existen aplicaciones descritas en las que se anclan a CNTs, óxido de grafeno o NPs de oro (Au-NPs) [73].

Los MIPs utilizados en μ -SPE generalmente están basados en PA o sílice-gel [51], entre otros. Los materiales generados se emplean en μ -SPE en modo normal y modo

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

reverso. También se han diseñado fases extractantes tipo *core-shell* en las que se utilizan capas de MIPs que recubren un *core* de NPs.

Los IIPs son materiales poliméricos similares a los MIPs. Sin embargo, estos materiales están diseñados para el reconocimiento selectivo de iones metálicos [52]. Así, se diseñan utilizando como plantilla un ligando metálico determinado. En μ -SPE, se utilizan para la extracción específica de metales de muestras que contienen otros iones metálicos.

Los *nanomateriales* utilizados como sorbentes en μ -SPE pueden ser nanomateriales basados en carbono, nanofibras electrohiladas, dendrímeros y NPs.

Entre los nanomateriales basados en carbono se han utilizado como materiales extractantes fullerenos, CNTs, grafeno y óxido de grafeno [19]. Estos materiales tienden a agregarse, especialmente cuando se disponen en los sistemas utilizados en la modalidad de μ -SPE estática, que se discutirá en la Sección 1.2.2 de este capítulo. Como solución, se han propuesto dos alternativas: por un lado, la funcionalización del material, generando un material híbrido basado en carbono más estable. Por otro lado, se han utilizado materiales alternativos como los nanoconos, nanodiscos, nanofibras y nanocuernos basados en carbono [72]. Estas estructuras poseen dimensiones significativamente mayores que los CNTs o el grafeno, de forma que pueden ser usados como sorbentes sin necesidad de funcionalización previa.

Las nanofibras electrohiladas de materiales visco-elásticos también se han utilizado en μ -SPE. En general, se utilizan nanofibras electrohiladas basadas en poliestireno o en nylon [107]. En comparación, las nanofibras electrohiladas tipo nylon se caracterizan por poseer una elevada fuerza mecánica.

Los dendrímeros sintetizados para μ -SPE se anclan en materiales como la sílice mesoporosa [108] o poliamidoamina [109].

Los materiales de extracción para μ -SPE basados en NPs son los mismos que los que se emplean en SPME. De entre estos nanomateriales, las nanopartículas magnéticas (MNPs) son un subgrupo de NPs que se caracterizan por presentar paramagnetismo. Así, se mueven con la aplicación de un campo magnético externo. Sin embargo, una vez el campo cesa, las MNPs no retienen ningún tipo de magnetismo [43]. Las MNPs comprenden especies con elementos como el hierro, níquel y sus óxidos. Destaca el uso de magnetita (α -Fe₃O₄), que es un óxido mixto, formado por iones Fe²⁺ y Fe³⁺. Este

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

material se utiliza directamente o como *core-shell*, recubriéndose con una capa de sílice o polímeros.

Los materiales de extracción que requieren del uso de *MOFs* son de similar naturaleza que los empleados en SPME [72]. Estos materiales se han empleado para la extracción y preconcentración de moléculas orgánicas pequeñas en muestras acuosas (agua principalmente) [67].

Las fases extractantes que utilizan *surfactantes anclados en un soporte sólido* se basan en el uso de surfactantes iónicos a concentraciones ligeramente inferiores a sus respectivas concentraciones micelares críticas (CMC) [110]. A estas concentraciones, los surfactantes iónicos pueden ser adsorbidos en la superficie de un sólido activo presente en la disolución, formando monocapas o bicapas del material sobre el sólido [19]. Estas estructuras se denominan hemimicelas y admicelas, respectivamente. Como sólidos activos se puede emplear alúmina, sílice, titanio, óxidos de hierro, etc. La Figura 7 muestra un esquema de estas estructuras. En las hemimicelas, la cadena alquílica hidrofóbica del surfactante queda expuesta a la muestra por lo que los correspondientes materiales sorbentes presentarán una elevada afinidad por analitos no polares. Por el contrario, en las admicelas o bicapas, la cabeza o parte hidrofílica del surfactante es la que se expone a la muestra, haciendo al sorbente más eficaz para la extracción de analitos polares [111]. Del mismo modo, en determinadas condiciones es posible encontrar a la vez monocapas y bicapas de surfactante. Este tercer tipo de estructuras, denominado hemimicelas mixtas, se utiliza para extraer analitos no polares con grupos hidrofílicos. La mayoría de aplicaciones con estos materiales como fases extractantes utilizan la modalidad de μ -SPE dispersiva (μ -dSPE), que se discutirá en la Sección 1.2.2 de este capítulo. Cabe resaltar que hemimicelas, admicelas y hemimicelas mixtas también pueden ser ancladas sobre nanomateriales y materiales metálicos. En este último caso, la extracción puede ser asistida magnéticamente.

Del mismo modo, en cuanto al uso de ILs y derivados, hay aplicaciones que describen el uso de surfactantes basados en ILs anclados sobre sólidos para μ -dSPE [69] mientras que otros autores utilizan PILs como material sorbente [68]. La combinación de estos materiales con otros sorbentes sólidos es común en μ -SPE. El uso de estos materiales en μ -SPE se discutirá en el **Capítulo V** de la presente Tesis Doctoral.

Otro tipo de fases extractantes desarrolladas son los *materiales de extracción poliméricos para fase dual*. Algunos materiales extractantes comerciales basados en sílice

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

pueden actuar de forma dual, es decir, en modo reverso y/o como intercambiador iónico dependiendo de los analitos a extraer. Del mismo modo, recientemente se han desarrollado materiales de extracción con estas características que se basan en el uso de polímeros. Este tipo de materiales resulta especialmente indicado para la extracción de especies polares e iónicas de matrices de elevada complejidad [70]. La naturaleza polimérica de la fase la hace más estable que las basadas en sílice.

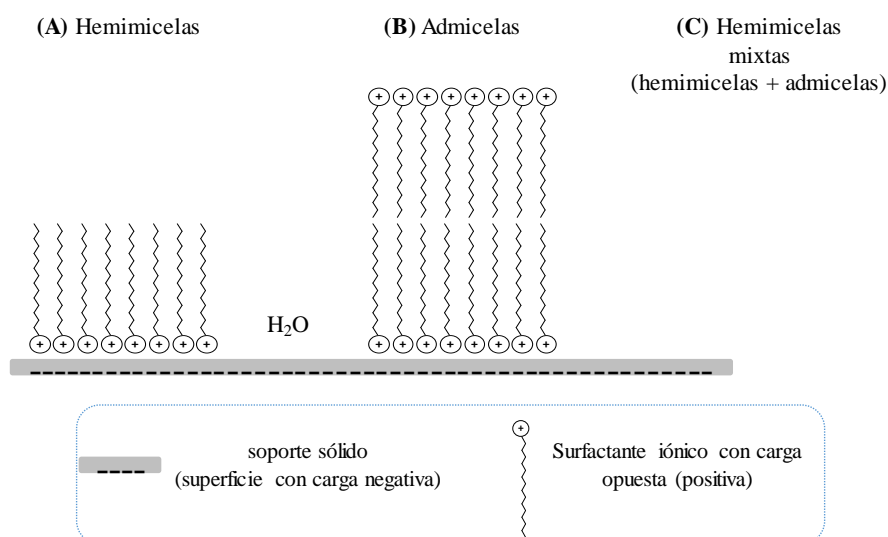


Figura 7. Esquema de la estructura de: **(A)** hemimicelas y **(B)** admicelas de surfactante ancladas en un soporte sólido para μ -dSPE. Las **(C)** hemimicelas mixtas se forman a concentraciones de surfactante en las cuales existen ambas especies: hemimicelas y admicelas.

1.2.2. Modos de extracción en fase sólida miniaturizada

Se distinguen principalmente dos modos de μ -SPE: la μ -SPE estática y la μ -SPE dispersiva.

- *Extracción en fase sólida miniaturizada estática*

Esta modalidad es la que sin duda más se asemeja a la SPE convencional, pero en versión miniaturizada. En ella, el material de extracción se coloca en un sistema de forma que permanece estático [12], y la muestra se hace pasar a través del material de extracción.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

La modalidad de μ -SPE estática más utilizada es la que utiliza cartuchos en los que se dispone la fase estacionaria. Los cartuchos de μ -SPE son pequeños tubos de polipropileno o jeringas de vidrio abiertas. En comparación, los tubos de vidrio presentan ventajas respecto a los de plástico porque son inertes. En cambio, los cartuchos de polipropileno pueden retener compuestos de bajo peso molecular [72]. Durante el procedimiento de extracción se distinguen cuatro etapas principales, las cuales se muestran en la Figura 8. Estas etapas implican el paso de muestra o disolventes a través del cartucho, ya sea por acción de la gravedad o mediante la aplicación de presiones positivas (paso de aire o nitrógeno) o negativas (vacío) [72]. Asimismo, algunas aplicaciones requieren de una etapa previa de acondicionamiento del material sorbente, para lo cual se hace pasar un disolvente adecuado o una determinada disolución acuosa a través del cartucho, y a un flujo determinado. En el caso de las fases extractantes basadas en sílice funcionalizada, que operan en fase reversa, el acondicionamiento con un disolvente orgánico como el metanol es importante para que los grupos funcionales de la sílice se encuentren completamente accesibles y puedan interactuar con los analitos [103]. Cuando se utilizan fases extractantes de intercambio iónico, es necesario acondicionar con una disolución de un pH determinado. Tras esta etapa, se realiza la extracción de los analitos pasando la muestra a través del cartucho a un flujo determinado. Los analitos experimentarán reparto entre la muestra y la fase estacionaria, de forma que se consigue la extracción. A continuación, puede ser necesaria una o varias etapas de lavado del cartucho. El objetivo de las etapas de lavado es eliminar otros compuestos extraídos presentes en la matriz de la muestra que pueden interferir en la posterior determinación analítica. En algunos casos, además, puede ser necesaria una etapa adicional de secado del cartucho. Finalmente, se realiza la etapa de elución, haciendo pasar a través del cartucho un disolvente de mayor afinidad para los analitos. El procedimiento de elución implica un nuevo equilibrio de reparto, de forma que el disolvente se enriquece en los analitos. En algunos casos, las etapas de acondicionamiento, lavado, y secado, no son necesarias.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

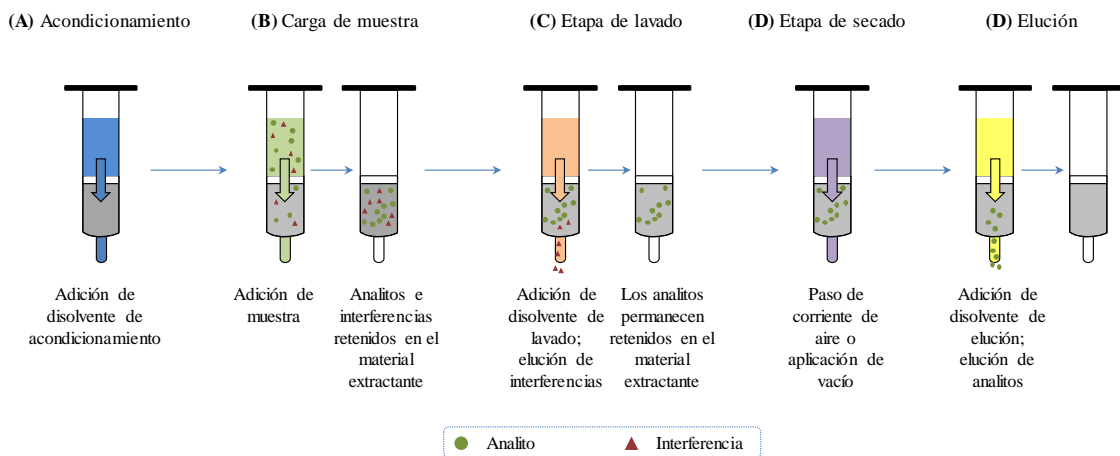


Figura 8. Etapas principales de la μ -SPE estática: (A) acondicionamiento, (B) carga de la muestra, (C) lavado, (D) secado y (E) elución. Las etapas (C) y (D) no son siempre necesarias.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Además de la modalidad en cartuchos, existen otros sistemas para μ -SPE estática, tales como el uso de discos [112], puntas de micropipeta [113,114], el sistema 96-well [115], micro-columnas [116] y micro-jeringas [117]. La Figura 9 muestra algunos de estos sistemas. La ventaja de su uso respecto de los cartuchos es que reducen los requerimientos de material sorbente, de forma que se consiguen métodos más rápidos [72]. Las modalidades de μ -SPE estática en micro-columna o micro-jeringa utilizan un procedimiento de extracción muy similar al de los sistemas en cartuchos.

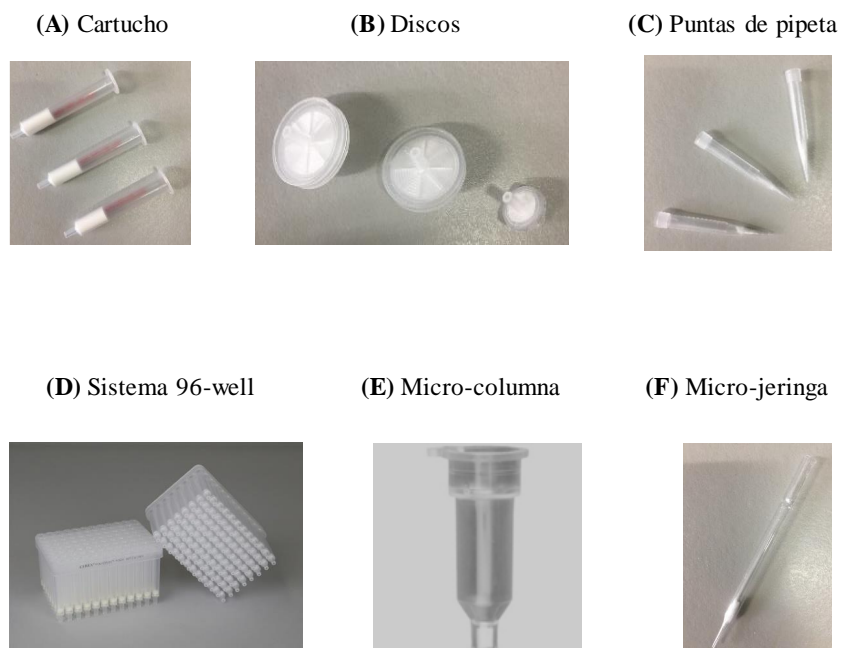


Figura 9. Sistemas de extracción utilizados en μ -SPE estática: (A) cartucho, (B) discos, (C) puntas de pipeta, (D) sistema 96-well, (E) micro-columna y (F) micro-jeringa.

Los sistemas basados en discos utilizan materiales extractantes con diámetros de partícula más pequeños que los empleados en μ -SPE en cartuchos [118]. Las ventajas que conlleva el uso de estos materiales son, entre otras: (1) la posibilidad de incrementar el flujo de carga de la muestra, reduciendo el tiempo de análisis, (2) incrementar el área de contacto, la uniformidad y la densidad del relleno, de forma que hay un menor riesgo de pérdida de analitos o de que pase materia en suspensión presente en la muestra a través del material sorbente, y (3) reducir el volumen del relleno y de disolventes de elución.

Los sistemas de μ -SPE en disco inmovilizan el material extractante en polímeros como el PTFE o en fibras de vidrio, o bien empaquetan el material entre dos filtros de fibra de vidrio [72].

En los sistemas de μ -SPE basados en puntas de pipeta el material de extracción se empaqueta en la punta de plástico de una micro-pipeta. Los analitos son extraídos gracias a aspiraciones y desorciones sucesivas de la muestra con ayuda de la micro-pipeta [119]. Se pueden utilizar tanto micro-pipetas de canal simple como multi-canal. Este sistema se caracteriza por reducir drásticamente la cantidad de material sorbente y de disolvente de elución, reduciendo costes [72].

Por otra parte, los procedimientos de μ -SPE basados en platos multi-well favorecen la automatización de la metodología analítica. Los sistemas multi-well poseen paneles con 96, 384 o hasta 1536 “pozos” o huecos que favorecen la realización de diversas etapas de preparación de muestra de forma automatizada [119]. Los sistemas más utilizados en μ -SPE son los 96-well. En cada hueco se coloca un pequeño cartucho de μ -SPE con cantidades entre 3–300 mg de material sorbente, de forma que se pueden realizar múltiples extracciones. El sistema dispone de otro panel de colección del eluato, y puede conectarse a vacío.

Además del empleo de estos nuevos sistemas de μ -SPE, en los últimos años los avances de la técnica se han centrado en el desarrollo de metodologías *on line* o automatizadas. La automatización de la metodología puede incluir únicamente la etapa de μ -SPE o todo el procedimiento analítico (incluyendo la posterior etapa de determinación). Algunas de las ventajas de los sistemas de μ -SPE *on line* son: (1) la reducción del tiempo total de análisis, (2) la disminución del peligro de contaminación de la muestra, o de pérdida por evaporación, (3) el aumento de la reproducibilidad y de la sensibilidad del método [120].

La mayoría de los procedimientos de μ -SPE *on line* utilizan técnicas de análisis en flujo tales como el análisis por inyección en flujo (FIA) o el análisis por inyección secuencial (SIA) [121].

En los sistemas FIA, se utiliza una bomba peristáltica conectada a una columna de μ -SPE mediante una válvula de inyección. La columna de SPE se encuentra directamente conectada al sistema de medida. Los disolventes de acondicionamiento, limpieza y desorción son impulsados gracias a la bomba peristáltica. Mientras, la muestra es inyectada directamente a través de la válvula [122].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los procedimientos basados en SIA, por su parte, utilizan un sistema formado por una válvula de 6 posiciones conectada a la columna o cartucho de μ -SPE y al posterior sistema de detección [123]. Cuando la válvula se encuentra en la posición de carga, la muestra atraviesa la columna de μ -SPE y los analitos son extraídos. Tras esto, en la posición de inyección se hace pasar el disolvente de elución por el cartucho y, posteriormente, por el instrumento de medida. Este tipo de sistemas *on line* resultan especialmente útiles cuando se combinan con HPLC ya que se utiliza la propia fase móvil como disolvente de elución de μ -SPE [123].

- *Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva*

La modalidad de μ -SPE dispersiva (μ -dSPE) se basa en la dispersión del material sorbente en la muestra durante la etapa de extracción con el objetivo de mejorar el contacto entre ambas fases [124]. La dispersión puede alcanzarse químicamente (por medio de la adición de un disolvente o reactivo) o bien gracias al uso del algún tipo de agitación, incluyendo el uso de vortex o ultrasonidos [125]. Una vez finaliza la extracción, es necesaria una etapa de filtración o centrifugación para separar la matriz de la muestra del material sorbente. Finalmente, los analitos extraídos son eluidos con un disolvente adecuado, y sometidos a la correspondiente determinación analítica.

Esta metodología resulta especialmente ventajosa cuando se emplean nanomateriales como fases extractantes (Tabla 2) [124]. Además, si se utilizan nanomateriales magnéticos como es el caso de las MNPs de óxidos metálicos, la μ -dSPE puede realizarse utilizando una variante magnéticamente asistida (m- μ -dSPE) [69,126]. La ventaja del uso de la modalidad m- μ -dSPE reside en que se evitan las etapas de filtración y centrifugación y el material sorbente puede separarse de la matriz de la muestra por separación magnética. La separación magnética generalmente requiere del empleo de un imán de alta fuerza de Nd-Fe-B [127]. El imán se coloca en las paredes del vial de extracción, y el material sorbente experimenta atracción hacia el imán debido a su carácter paramagnético. Así, la matriz de la muestra puede ser fácilmente separada del sorbente, por medio de una simple decantación.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.2.3. Mecanismos de extracción en fase sólida miniaturizada

El mecanismo de extracción de μ -SPE se basa en el establecimiento de un equilibrio de reparto de los analitos entre las dos fases presentes: la muestra líquida y la fase estacionaria (un sorbente sólido). Las ecuaciones en las que se basa la extracción son las mismas que ya fueron formuladas en DI-SPME (Ecuaciones (2) y (3)), considerando en este caso que el subíndice “ f ”, que se refiere a la fase extractante, en este caso es un material sorbente confinado en un sistema o que se dispersa en la muestra (en lugar de un recubrimiento en forma de fibra, como ocurre en la SPME).

El reparto puede realizarse mediante procesos de absorción, adsorción o mediante intercambio iónico, tal y como ocurre en las separaciones en SPE [120]. Es importante resaltar que la mayoría de fases extractantes utilizadas en μ -SPE no siguen un único mecanismo de extracción. Así, las fases extractantes basadas en sílice poseen grupos silanol libres en los que se pueden dar fenómenos de absorción [120]. Sin embargo, pueden producirse paralelamente fenómenos de adsorción y/o intercambio iónico dependiendo de las cadenas alquílicas y/o grupos funcionales que tenga enlazada la sílice [120]. Del mismo modo, muchas de las teorías que se proponen para explicar los mecanismos de extracción de μ -SPE (al igual que de SPE convencional) no coinciden en cuáles son las interacciones predominantes: interacciones débiles, fuerzas electrostáticas o fuerzas electromagnéticas [128]. Las interacciones débiles incluyen interacciones de van der Waals y enlaces por puentes de hidrógeno [129]. Las interacciones electrostáticas incluyen los procesos de intercambio iónico, interacciones iónicas, o por interacciones π - π , como ocurre en el caso de las fases extractantes basadas en carbono. Las interacciones electromagnéticas son las que tienen lugar con fases extractantes basadas en MNPs.

En el caso concreto de aplicaciones que emplean fases extractantes que operan en modo reverso, que son los sorbentes más usados, Andrade-Eiroa *et al.* han propuesto un mecanismo para explicar la retención, que se basa en la polarizabilidad de la fase extractante en presencia de la muestra (entendida como una disolución de elevada constante dieléctrica y elevado momento dipolar, como el agua o un disolvente orgánico como el acetonitrilo) [130]. La superficie polarizada de la fase extractante interactuará con los analitos polarizables, de forma que se retienen en el sorbente. Aunque este mecanismo fue inicialmente propuesto para LC en fase reversa, es totalmente aplicable para los procedimientos de μ -SPE que utilizan este tipo de fases extractantes. La única diferencia con respecto a LC son las bajas presiones utilizadas en μ -SPE. Como

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

consecuencia, la hidrodinámica es más importante en el caso de la μ -SPE, sobre todo si se realiza en la modalidad estática [120].

1.2.4. Parámetros que influyen en la etapa de extracción

Los parámetros que influyen en el procedimiento de μ -SPE están relacionados con la fase extractante (naturaleza y cantidad de material sorbente), con la muestra (volumen de muestra y pH) y con factores experimentales durante la extracción y la elución.

- *Parámetros que dependen de la fase extractante*

La naturaleza de la fase extractante se selecciona en relación a la polaridad de la muestra y analitos a extraer. La Tabla 3 muestra el tipo de fase estacionaria comercial (fase reversa, fase normal, intercambio iónico o adsorción) a utilizar para cada tipo de aplicación.

La cantidad de material sorbente está relacionada con la eficacia del procedimiento. En general, la μ -SPE requiere de cantidades menores de los ~500 mg de material sorbente [12], y en ocasiones se utilizan cantidades del orden de unos pocos miligramos [113]. Esta miniaturización conlleva a reducir los requerimientos de muestra a unos 20–100 mL y los requerimientos de disolvente de elución a unos pocos mililitros o incluso microlitros. Así, se consiguen factores de preconcentración elevados, de forma que la sensibilidad del método total es mayor en μ -SPE.

- *Parámetros que dependen de la muestra*

Entre los parámetros relacionados con la muestra que influyen en el procedimiento de μ -SPE, cabe destacar el volumen de muestra y el pH.

El volumen de muestra se selecciona dependiendo de la capacidad máxima del material sorbente. Dado que en μ -SPE se utilizan pequeñas cantidades de sorbente, en general se precisan de volúmenes de muestra menores que en SPE convencional. Esto resulta especialmente ventajoso para la extracción de muestras biológicas, donde el volumen del que se puede disponer es normalmente limitado.

El pH de la muestra es otra variable a optimizar en μ -SPE. En el caso de metodologías que impliquen un proceso de intercambio iónico, se precisa que los analitos

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

en la muestra se encuentren como especies cargadas. Así, se requiere de, como mínimo, un pH que sea 2 unidades superior a los pKa de los analitos. Para el resto de metodologías de μ -SPE, se precisa que los analitos se encuentren en la muestra como especies neutras, por lo que se necesitan pH inferiores a los valores de pKa. Del mismo modo, se debe considerar el rango de estabilidad del material sorbente en relación al pH. Por ejemplo, las fases extractantes basadas en sílice con grupos funcionales enlazados son estables a pH comprendidos entre 2–7.5 [102]. Si se emplean valores de pH por encima o debajo de este rango se puede provocar la hidrólisis del material. Sin embargo, en el caso de que se requiera del uso de pH extremos y/o elevados tiempos de extracción, las fases extractantes de sílice pueden ser sustituidas por otras basadas en polímeros o carbono, que son más estables a dichos valores de pH [131].

- *Parámetros experimentales durante la extracción y la elución*

Los parámetros a optimizar durante las etapas de extracción y elución en μ -SPE dependen de la modalidad utilizada. En μ -SPE estática, es importante el flujo de carga tanto de la muestra como del disolvente de elución. Estos parámetros condicionan la eficacia del proceso y también el tiempo de análisis [116]. Un aumento del flujo de carga y/o de elución disminuye el tiempo de análisis. Sin embargo, puede provocar una disminución de la eficacia extractiva del método si el flujo seleccionado impide que los analitos experimenten reparto. Así, se requiere de unas condiciones de flujo intermedias, alcanzando una situación de compromiso entre sensibilidad y tiempo de análisis.

En μ -dSPE, es importante la selección del agente de dispersión: un disolvente dispersante o algún tipo de agitación. La dispersión por agitación es el método más utilizado, ya sea con ayuda de vortex o ultrasonidos. Otro parámetro que influye en esta modalidad es el tiempo de extracción, definido como la suma del tiempo de dispersión más el tiempo de equilibración (de ser necesario). El efecto es similar al del flujo en μ -SPE estática: se requiere de un tiempo de extracción de compromiso para conseguir una adecuada sensibilidad y moderados o cortos tiempos de análisis.

En ambas modalidades, μ -SPE y μ -dSPE, la naturaleza del disolvente de elución es un parámetro a controlar. Por lo general, un disolvente de elución adecuado debe cumplir las siguientes características: (1) no reaccionar con el material de extracción, (2)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

poseer una naturaleza y polaridad similar a la de los analitos y (3) ser compatible con la posterior determinación analítica.

1.3. Microextracción líquido-líquido dispersiva

La microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) es una técnica de microextracción en fase líquida propuesta por Rezaee *et al.* en 2006 [132]. Esta técnica se basa en la formación de un sistema ternario compuesto por una disolución acuosa (la muestra, conteniendo los analitos a extraer), un disolvente inmiscible con el agua que actúa como disolvente de extracción, y un disolvente dispersante que es miscible tanto con la muestra como con el disolvente de extracción [8,133]. El volumen necesario de disolvente de extracción se encuentra en el orden de los microlitros mientras que el de disolvente dispersante puede variar desde los microlitros hasta unos pocos mililitros [9]. El contacto de estos tres componentes (muestra, extractante y dispersante) genera un sistema formado por una gran cantidad de microgotas del disolvente de extracción en la muestra, lo que maximiza la superficie de contacto entre fases, y acelera y favorece un rápido reparto de los analitos hacia la fase extractante. En ocasiones la dispersión puede promoverse o mejorarse mediante calentamiento del sistema [134] o por la aplicación de algún tipo de agitación externa, ya sea con la ayuda de vortex [135], ultrasonidos [136], microondas [137] o cualquier otro tipo de agitación externa [138]. La agitación causa un efecto similar al que genera la adición del disolvente dispersante, de forma que, en determinadas ocasiones, el uso de disolvente dispersante puede ser innecesario [139]. Una vez finalizada la etapa de reparto de los analitos desde la muestra hacia la fase extractante, el disolvente de extracción, conteniendo los analitos extraídos, puede ser separado del resto de componentes del sistema mediante centrifugación [8,133]. A continuación, la microgota de disolvente extractante puede ser físicamente separada con ayuda de una microjeringa. La determinación de los analitos puede realizarse a continuación mediante la técnica analítica más adecuada para el grupo de analitos en estudio [133,140,141]. La Figura 10 muestra a modo de esquema el procedimiento de DLLME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

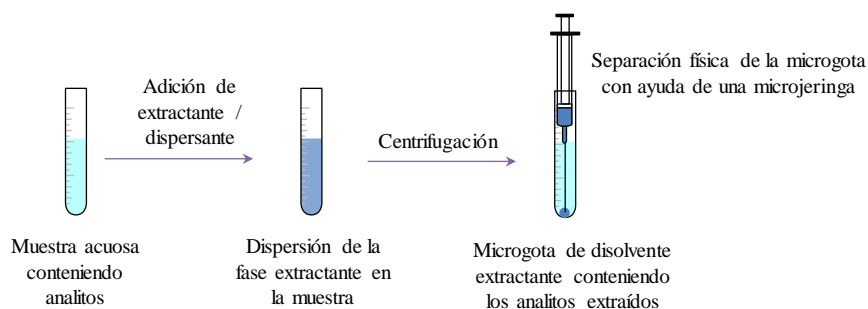


Figura 10. Esquema general del procedimiento de DLLME en la modalidad convencional.

La DLLME presenta múltiples ventajas respecto a otras técnicas convencionales de extracción, destacando:

- Es una técnica muy rápida y sencilla.
- Se requiere bajas cantidades de disolvente extractante y dispersante.
- Se consigue una mayor transferencia de masa con la dispersión del disolvente extractante, alcanzándose por ende eficacias extractivas mayores respecto a otras técnicas de LLE convencionales.
- Se alcanzan elevados factores de preconcentración.

1.3.1. Naturaleza de los disolventes en microextracción líquido-líquido dispersiva

La DLLME generalmente implica el uso de dos tipos de disolventes distintos: un disolvente extractante y un disolvente dispersante.

Como **disolvente dispersante**, se utilizan disolventes que sean miscibles tanto con la muestra como con el disolvente extractante. Entre los disolventes que cumplen estos requisitos suelen incluirse, en general, etanol, metanol, acetona y acetonitrilo, entre otros disolventes orgánicos [133]. De forma más reciente, hay aplicaciones que describen el uso de nuevos disolventes, tales como surfactantes iónicos [142], ILs o surfactantes basados en ILs [143].

Como **disolvente de extracción**, se requiere de disolventes que cumplan con dos características principales: (1) poseer una naturaleza afín a la de los analitos a extraer y (2) ser inmiscibles con la muestra a extraer. Entre los disolventes que cumplen con estas

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

características se encuentran tanto una serie de disolventes orgánicos convencionales como nuevos materiales.

Los *disolventes orgánicos* utilizados pueden ser de dos tipos, según su densidad respecto a la de la muestra acuosa. Los disolventes orgánicos más densos que el agua más empleados en DLLME son el cloroformo, triclorometano o sulfuro de carbono [144]. También, se han empleado otros disolventes bromados, yodados o halogenados más densos que el agua, pero de menor toxicidad que los anteriores, tales como el 1-bromo-3-metilbutano [145]. Algunos autores incluso describen el empleo de un sistema de cuatro componentes formado por la muestra, extractante, dispersante, y un disolvente auxiliar. El disolvente auxiliar suele ser un disolvente halogenado más denso que el agua [146]. Los métodos de DLLME que utilizan disolventes orgánicos más densos que la muestra a extraer se caracterizan porque la microgota de disolvente extractante, separada tras la etapa de centrifugación, se localiza en la parte inferior del vial de extracción.

Por otra parte, los disolventes orgánicos menos densos que el agua más usados en DLLME incluyen alcoholes de cadena larga como el hexanol, octanol, nonanol o decanol, o especies como el hexano, ciclohexano o tolueno [8]. La microgota de extractante tras la extracción se localiza en la parte superior del vial de extracción. En ocasiones, con estos disolventes se utilizan viales de extracción especiales que favorecen la separación de la microgota de disolvente extractante [147,148].

En concreto, se considera que el 1-octanol es el disolvente de extracción ideal debido a su baja solubilidad en agua, baja presión de vapor y estructura. Esta estructura permite tanto extraer moléculas de baja polaridad, gracias a su larga cadena hidrocarbonada, como analitos relativamente más polares, gracias a su grupo hidroxilo [149]. Debido a ello, existen numerosos métodos empíricos y semi-empíricos para la estimación de los equilibrios de distribución de gran variedad de analitos en el sistema 1-octanol – agua [150]. De esta forma, los coeficientes de reparto octanol-agua (K_{ow}) se utilizan frecuentemente como una medida de la capacidad extractiva de los distintos analitos presentes en una muestra acuosa.

En cuanto a las aplicaciones de DLLME que utilizan como disolvente de *extracción nuevos materiales*, destaca el empleo de ILs, derivados de ILs, disolventes de punto eutéctico ultra-bajo (DESs) y disolventes supramoleculares (SUPRAS). En cuanto al empleo de ILs, surfactantes basados en ILs y líquidos iónicos magnéticos (MILs) como

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

extractantes en DLLME, se discutirá en los **Capítulos V y VI** de la presente Tesis Doctoral.

Los **DESs** son disolventes análogos a los ILs formados por una mezcla de dos componentes: un aceptor y un dador de enlaces de hidrógeno (HBA y HBD, respectivamente) [151]. Como HBA se suelen utilizar sales cuaternarias mientras que como HBD se emplean ácidos carboxílicos, alcoholes o carbohidratos, como se muestra en la Figura 11. Estos materiales se sintetizan fácilmente, son baratos y biodegradables. Además, poseen puntos de ebullición más bajos que los componentes (HBA o HBD) por separado. El número de aplicaciones en DLLME que utilizan DESs es significativamente menor que las del resto de materiales dada su relativamente reciente utilización en Química Analítica [152]. Sin embargo, es de esperar que se incremente el uso de estos disolventes en los próximos años [153].

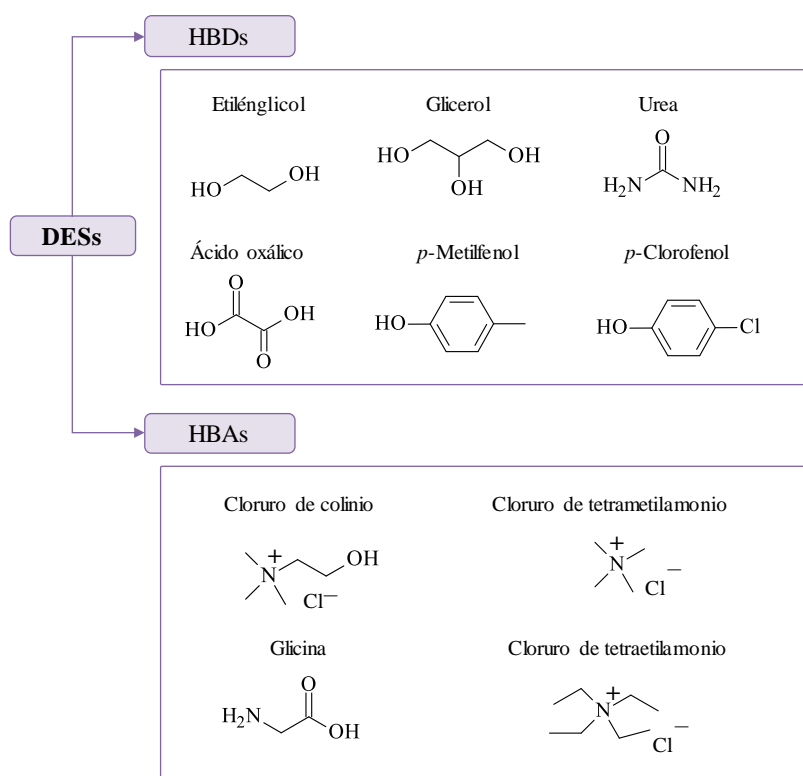


Figura 11. Algunos de los HBA y HBD utilizados para generar DESs susceptibles de ser utilizados en DLLME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los **SUPRAS** son disolventes sintetizados a partir de componentes supramoleculares dispersados en una fase continua [154]. Estos disolventes se generan en un proceso en dos etapas, una de ellas a escala molecular y la otra a nivel nanomolecular. En la etapa nanomolecular, se genera un agregado tridimensional mientras que, en la etapa molecular, las estructuras nanomoleculares se agregan por la acción de estímulos externos (temperatura, pH...). Estos agregados se comportan como líquidos inmiscibles con el agua. El número y tamaño de los poros dependen del tipo de material [154]. En algunas aplicaciones basadas en DLLME, el disolvente supramolecular se genera gracias al disolvente dispersante, que causa la agregación del disolvente extractante [29].

1.3.2. Modos de extracción en microextracción líquido-líquido dispersiva

La DLLME puede realizarse utilizando distintas modalidades. La modalidad más convencional es la que se representa en la Figura 10, la cual implica la mezcla de muestra, dispersante y extractante. La muestra se agita ligeramente de forma manual y, posteriormente, se somete a una etapa de centrifugación.

Sin embargo, con el desarrollo de la técnica, se han producido adaptaciones del método de DLLME convencional con el objetivo de mejorar la eficacia extractiva, reducir el tiempo de extracción y simplificar o automatizar la metodología. Así, es importante mencionar técnicas de DLLME que implican la aplicación de algún tipo de energía externa, técnicas que implican el uso de nuevos sistemas que facilitan la extracción, técnicas de DLLME automatizadas y técnicas asistidas mediante el uso de nuevos materiales. La Figura 12 esquematiza el conjunto de modalidades más utilizadas en DLLME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

DLLME convencional

DLLME con aplicación de energía

- DLLME con control de la temperatura
- DLLME con solidificación de gota flotante
- DLLME asistida por vortex, ultrasonidos, microondas o agitación de cualquier tipo
- DLLME efervescente

DLLME con nuevos sistemas de extracción

- DLLME en tubo de centrifuga con diseños especiales
- DLLME en matraces de extracción modificados
- DLLME en jeringa
- DLLME en sistemas de plástico

DLLME *on line* o automatizada

- DLLME basada en análisis por inyección secuencial (SIA)
- DLLME basada en análisis por inyección en flujo con multi-jeringas (MSFIA)
- DLLME basada en análisis por inyección en flujo (FIA)

DLLME asistidas mediante el uso de nuevos materiales

- DLLME con separación magnética
- *In situ* IL-DLLME

Figura 12. Principales modalidades de DLLME.

- *DLLME con aplicación de energía*

Las técnicas de DLLME que implican la aplicación de energía utilizan procedimientos de agitación, calentamiento y/o enfriamiento para mejorar la superficie de contacto entre la muestra y disolvente de extracción, mejorando la eficacia del método y/o facilitando el proceso de extracción. Dentro de este grupo, se encuentra la DLLME con temperatura controlada, la DLLME con solidificación de gota flotante, y las técnicas de DLLME asistidas por vortex, ultrasonidos, microondas o algún tipo de agitación externa. La Figura 13 muestra un esquema de todas estas modificaciones. También, dentro de este grupo puede incluirse la DLLME efervescente.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

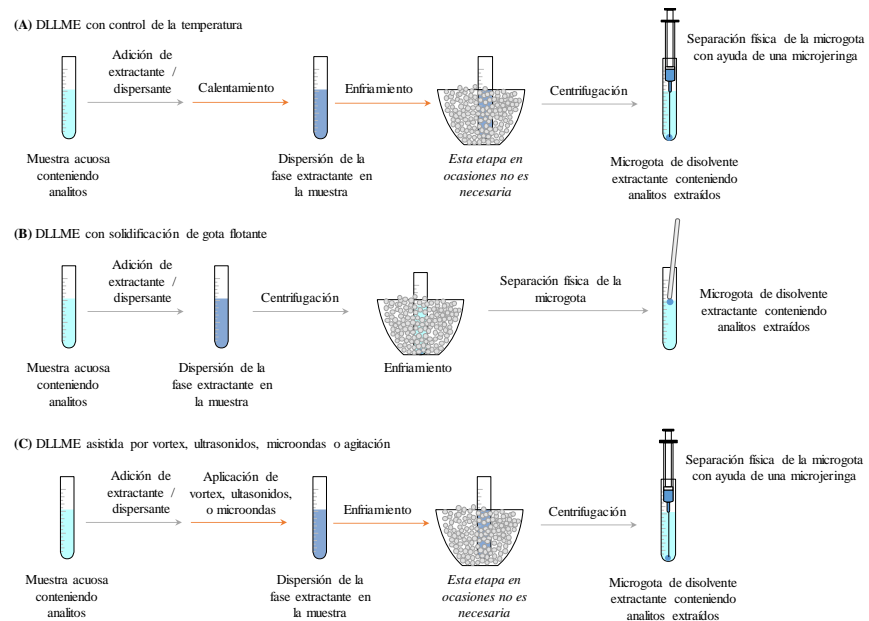


Figura 13. Esquema del procedimiento de las técnicas de DLLME que implican la aplicación de energía, siendo (A) DLLME con control de la temperatura, (B) DLLME con solidificación de gota flotante y (C) DLLME asistida por vortex, ultrasonidos, microondas o agitación.

Introducción

59

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

En la modalidad de DLLME con control de temperatura (Figura 13 (A)), el sistema ternario se calienta a una temperatura determinada [134]. La solubilidad del disolvente de extracción en la muestra aumenta, lo cual implica una mayor área de contacto entre fases. En algunos casos, es necesaria una etapa posterior de enfriamiento en un baño de hielo para favorecer la separación de fases antes de la centrifugación [134].

La DLLME con solidificación de gota flotante (Figura 13 (B)) utiliza como extractante un disolvente de densidad menor que el agua [8]. La mezcla ternaria se centrifuga sin aplicación de ningún tipo de agitación previa, y, a continuación, el vial de extracción se coloca en un baño de hielo. De esta forma, se consigue la solidificación del disolvente de extracción, facilitando su separación física del resto de componentes de la mezcla [155].

Una ruta adicional para acelerar la extracción en DLLME es a través de las modalidades que aplican vortex [135], ultrasonidos [136], microondas [137] o cualquier otro tipo de agitación [138] (Figura 13 (C)). Esta fuerte agitación del sistema ternario implica un ligero calentamiento del sistema, que favorece la extracción. Luego, puede ser necesaria alguna etapa de enfriamiento, seguido de centrifugación. Con la aplicación de esta etapa adicional, se consigue un aumento de la reproducibilidad del método (en comparación con la DLLME convencional en la que comúnmente se utiliza agitación manual). El empleo de estos requerimientos energéticos puede combinarse con otras innovaciones de la técnica de DLLME.

La DLLME efervescente se caracteriza por facilitar la dispersión de las fases mediante la adición de una pastilla efervescente [156]. Esta pastilla está formada por dos tipos de sales que, al contacto con el agua, generan dióxido de carbono. El burbujeo de este gas a través de la muestra favorece la dispersión, por lo que pueden incluirse dentro del grupo de técnicas de DLLME con aplicación de energía. En otras aplicaciones similares, se añade ácido y base directamente al vial de extracción para generar el burbujeo de dióxido de carbono [157].

- *DLLME empleando nuevos sistemas de extracción*

En cuanto a las *técnicas de DLLME que implican el uso de nuevos sistemas de extracción*, se han desarrollado diversos sistemas que facilitan la separación física de la microgota de disolvente extractante, en el caso de que este sea menos denso que el agua

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

[146-148,158-160]. Estos sistemas se fabrican a escala de laboratorio e implican tubos de centrifuga especiales [147,148], matraces modificados [159], jeringas [159] o sistemas de plástico [146]. En algunas ocasiones, el empleo de estos sistemas puede combinarse con la aplicación de agitación [146,159]. Otros sistemas no requieren de etapa de centrifugación [159] o hacen uso de jeringas con las que se aspira repetidas veces la mezcla muestra-extractante para mejorar la dispersión [161].

- *DLLME on line o automatizada*

Por otro lado, también se han diseñado *técnicas de DLLME on line o automatizadas*. Los procedimientos de DLLME de este tipo utilizan técnicas de análisis en flujo [121,162], incluyendo sistemas SIA [163], sistemas de análisis por inyección en flujo con multi-jeringas (MSFIA) [164] y FIA [165]. Estos métodos se caracterizan por ser robustos (la manipulación controlada del flujo, elimina los errores experimentales cometidos durante la manipulación manual de las muestras), de elevada eficacia, económicos, compactos, amables con el medioambiente y versátiles [162].

En las aplicaciones de DLLME on line basadas en SIA, todos los componentes del sistema son aspirados y mezclados en una cámara de mezcla [163]. Tras un tiempo corto de espera, el disolvente extractante se separa y parte de él es aspirado hacia el sistema de detección.

Las metodologías basadas en MSFIA son similares a las anteriores, con la diferencia de que emplean múltiples jeringas conectadas a una válvula de multi-posición [121]. Las jeringas se mueven simultáneamente durante la extracción, mezclando muestra, disolvente de extracción y otros componentes del sistema [164]. En algunos casos se realizan etapas de tratamiento pre-DLLME o post-DLLME. En otros casos, se detiene el flujo y se aplica algún tipo de agitación para incrementar el área de contacto entre fases. A veces, se ubica una microcolumna de μ -SPE antes del sistema de detección [166].

Algunas de las metodologías basadas en FIA también combinan DLLME con μ -SPE [165]. Los sistemas basados en FIA están formados por una bomba peristáltica conectada a una microcolumna de μ -SPE y una o varias válvulas de 6 posiciones. Tanto la muestra, como extractante y dispersante se mezclan de forma manual y, después, se hacen pasar a través de la columna de μ -SPE.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- *DLLME asistida mediante el uso de nuevos materiales*

En relación a otras *técnicas de DLLME asistidas mediante el uso de nuevos materiales*, son destacables las técnicas de DLLME con separación magnética, la modalidad de *in situ* DLLME y la DLLME efervescente, entre otras modalidades.

La DLLME con separación magnética presenta la ventaja de que elimina la necesidad de la etapa de centrifugación para separar el disolvente extractante de la muestra. En este tipo de aplicaciones, la separación de fases se consigue mediante separación magnética por lo que es necesario que la fase extractante tenga propiedades paramagnéticas. Esto se puede conseguir de dos formas distintas: (1) mediante la adición de un material magnético, como es el caso de las MNPs, que se combinan con el disolvente de extracción [167], o (2) mediante el uso de un disolvente extractante con inherente paramagnetismo, como es el caso de los MILs [168].

La modalidad de *in situ* DLLME se basa en el uso de ILs como disolventes extractantes. Para llevar a cabo la extracción, se utiliza un IL de naturaleza hidrofílica y un reactivo de intercambio aniónico. La mezcla de estos dos componentes en la muestra promueve una reacción de metátesis en la que el IL hidrofílico se transforma *in situ* en un IL hidrofóbico a la vez que se consigue la extracción de los analitos [169,170].

1.3.3. Mecanismos de extracción en microextracción líquido-líquido dispersiva

En el caso de la DLLME, la extracción se consigue gracias al establecimiento de un equilibrio de reparto de los analitos entre dos fases líquidas: la muestra y un disolvente extractante. Así, para bajas concentraciones de analito, y considerando que los analitos no interaccionan entre sí, el estado de equilibrio vendrá representado por una isoterma lineal expresado mediante la Ecuación (16) [149]:

$$C_{ext} = \frac{KC_s^0}{1 + \frac{KV_{ext}}{V_s}} \quad (16)$$

donde C_{ext} es la concentración de analito extraído, K es la constante de equilibrio, C_s^0 es la concentración de analito que queda en la muestra en el equilibrio, y V_{ext} y V_s son los volúmenes de disolvente extractante y de muestra, respectivamente.

Si se compara esta Ecuación (16) con la Ecuación (4), que expresa el equilibrio de distribución en la modalidad de DI-SPME (considerando un mecanismo de absorción),

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

se observa que son expresiones similares. La Ecuación (16), al igual que la Ecuación (4), no considera los procedimientos de adsorción que pueden ocurrir en la interfaz muestra-aire o disolvente extractante-aire. Esta suposición es válida excepto en el caso de analitos de naturaleza anfílica o con una superficie activa [149]. En dicho caso, el equilibrio de distribución debe expresarse en función de isothermas de adsorción.

1.3.4. Cinética del proceso de extracción

La cinética del proceso de extracción mediante DLLME está controlada por los mismos fenómenos que en el caso de la microextracción basada en sorbentes sólidos: difusión y convección. El transporte de analitos mediante difusión está controlado por la transferencia de masa y las leyes de Fick [149]. Por otro lado, la convección depende de la agitación mecánica y de la dispersión del disolvente extractante en la muestra en forma de una fina suspensión de micro- o nano-gotas. La distancia que recorre una molécula de analito durante la extracción (d) en un período de tiempo determinado (t) se relaciona con el coeficiente de difusión (D) a través de la Ecuación (17), conocida como la relación de Einstein-Smoluchowski [149]:

$$d = \sqrt{2Dt} \quad (17)$$

Para valores de D de $5 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ y t de 10 s, los valores de la distancia d es 0.01 cm. En general, en DLLME no se requiere de distancias mayores que dicho valor, por lo que puede concluirse que el equilibrio en DLLME se alcanza rápidamente.

1.3.5. Parámetros que influyen en la etapa de extracción

Entre los parámetros que influyen en el procedimiento de DLLME, cabe destacar aquellos que dependen de los disolventes extractante y dispersante (naturaleza, volumen), los que dependen de la muestra a extraer (volumen de muestra, pH, fuerza iónica) y los relacionados con requerimientos experimentales (tiempo de extracción, calentamiento, agitación, adición de otros aditivos, tiempo y velocidad de centrifugación...).

- *Parámetros que dependen de los disolventes extractante y dispersante*

La naturaleza tanto de disolvente extractante como dispersante está directamente relacionada con la eficacia del procedimiento de extracción. En la Sección 1.3.1 de este capítulo se comentaron los tipos de disolventes empleados en DLLME.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

También, es importante considerar los volúmenes de disolventes dispersante y extractante, pues la proporción utilizada de ambos disolventes influye en la eficacia extractiva y en el volumen final de gota a separar. En general, el volumen de disolvente extractante limita el volumen máximo de microgota a obtener tras la DLLME. Sin embargo, también influye el volumen de dispersante: el uso de grandes volúmenes de dispersante puede solubilizar el extractante en la muestra acuosa, de forma que disminuya el volumen final de microgota. En determinadas condiciones, incluso, la separación de fases no se observa tras la centrifugación. El uso de volúmenes muy pequeños de disolvente dispersante, por su parte, puede limitar la correcta dispersión del extractante, de forma que disminuye la eficacia extractiva.

- *Parámetros que dependen de la muestra a extraer*

El volumen de muestra influye en el procedimiento de DLLME. En general, volúmenes grandes de muestra combinados con volúmenes pequeños de disolvente de extracción implican una mayor preconcentración de los analitos y, por tanto, una mayor sensibilidad. Sin embargo, estas condiciones pueden dificultar la adecuada dispersión de las fases, afectando tanto a la eficacia extractiva como al tiempo de extracción.

Otro factor importante a considerar es el pH de la muestra: en general, un ajuste de pH es necesario en el caso de analitos con grupos ionizables. Se debe escoger un valor de pH de forma que las especies a extraer estén en forma neutra.

La adición de una sal (o modificación de la fuerza iónica) puede aumentar la eficacia de extracción debido al efecto de *salting out*. Como sales, se pueden emplear especies como el cloruro sódico o el fosfato sódico. Los analitos que más se ven influenciados por la fuerza iónica son especies con valores de K_{ow} menores que 1000 [171]. Analitos con valores de K_{ow} superiores están menos influenciados por este efecto.

- *Requerimientos experimentales durante la extracción*

El tiempo de extracción es un parámetro importante a estudiar durante la optimización del método de DLLME. En general, la dispersión conseguida durante la extracción asegura que el equilibrio se alcance rápidamente. Así, en la modalidad de DLLME convencional, la agitación manual del vial de extracción durante unos pocos

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

segundos asegura alcanzar las condiciones de equilibrio. Sin embargo, en algunas ocasiones es necesario un tiempo de equilibración previo a la centrifugación.

En las modalidades de DLLME que implican calentamiento y/o agitación, el tiempo de extracción es un parámetro a estudiar. Cuanto mayor sea el tiempo de extracción en estas aplicaciones, una mayor cantidad de analito podrá experimentar reparto hacia la fase extractante, mejorando la eficacia extractiva.

La temperatura de calentamiento se relaciona con el coeficiente de difusión de los analitos a través de la interface muestra-extractante [171]. En general, los resultados experimentales indican que temperaturas muy altas no son favorables para la extracción vía DLLME. El aumento de temperatura se consigue mediante el calentamiento del vial de extracción o mediante la aplicación de energía de microondas [137].

En cuanto al tipo de agitación, en la Sección 1.3.2 de este capítulo se han discutido diferentes tipos de agitación del vial. El objetivo es mejorar la convección del sistema y asegurar una mayor dispersión de fases, de forma que se reduce el tiempo de extracción y mejora la eficacia de extracción.

Por otra parte, algunos procedimientos de DLLME añaden otros reactivos al vial de extracción. Estos reactivos pueden actuar como agentes quelatantes, en el caso de la determinación de metales [165], o como agentes derivatizantes de los analitos [172]. Algunas aplicaciones, especialmente las que utilizan como disolvente de extracción ILs, emplean reactivos para impedir que el IL se adhiera a las paredes del vial de extracción [173].

El tiempo y velocidad de centrifugación, en el caso de aplicaciones que requieren de esta etapa para separar las fases del sistema, también deben ser estudiadas y optimizadas.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.4. Microextracción en gota suspendida

La microextracción en gota suspendida (SDME) es una técnica de extracción y preconcentración que se basa en el uso de una microgota de disolvente extractante, la cual se expone a la muestra para la extracción de los analitos [174,175]. Liu y Dasgupta presentaron en 1995 el concepto de SDME como una técnica para la extracción de compuestos gaseosos (amoníaco y dióxido de azufre) [176]. Simultáneamente, Jeannot y Cantwell desarrollaron una técnica similar que utilizaba como disolvente de extracción una microgota de octano (8 µL) [177].

La suspensión de la gota en la muestra puede realizarse de diferentes formas, exponiendo una microgota de disolución extractante directamente a la muestra o en el espacio en cabeza, y de forma estática o dinámica, entre otras modalidades [175]. El tiempo necesario para que los analitos alcancen el estado de equilibrio en SDME puede ser desde unos pocos segundos a horas, dependiendo de las condiciones experimentales. Una vez terminada la extracción, la microgota se lleva al sistema de análisis adecuado [179].

La SDME presenta múltiples ventajas frente a otras técnicas de extracción y preconcentración, incluyendo:

- Minimiza el consumo de disolvente extractante a unos pocos microlitros.
- Se consigue una elevada preconcentración.
- Es una técnica sencilla y económica.
- No existe efecto memoria o *carry over* ya que el disolvente de extracción se renueva en cada extracción.
- Es un método fácilmente automatizable.

1.4.1. Tipos de disolventes utilizados en microextracción en gota suspendida

Como disolvente extractante en SDME se han utilizado tanto disolventes orgánicos como nuevos tipos de disolventes. A diferencia de la DLLME, los disolventes extractantes en SDME pueden ser tanto inmiscibles como miscibles con la muestra a extraer [175]. Sin embargo, el empleo de un disolvente miscible se limita únicamente a las aplicaciones de SDME que implican el uso del espacio en cabeza.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Otras características que los disolventes de extracción utilizados en SDME deben cumplir son: (1) poseer un elevado punto de ebullición (y una baja presión de vapor) para evitar su evaporación durante la extracción, (2) ser compatibles con la posterior técnica de análisis, (3) tener una viscosidad relativamente alta para que la gota no se desprenda del dispositivo que la soporta durante la extracción, pero no muy alta para asegurar la difusión de los analitos durante el proceso, y (4) ser de naturaleza similar a los analitos a extraer [175].

Entre los *disolventes orgánicos* convencionalmente utilizados en SDME, al igual que ocurría en DLLME, destaca el 1-octanol, al poseer muchas de las características anteriormente mencionadas. Otros disolventes orgánicos inmiscibles empleados en SDME son hexadecano, dodecano, decano, tolueno, ciclohexano, acetato de butilo, y ftalato de butilo [174]. En cuanto a disolventes orgánicos miscibles, se han utilizado butanol, hexanol, alcohol bencílico, etc [174]. Algunos disolventes como dietiléter, cloruro de metileno, cloroformo o acetato de etilo, de adecuada aplicabilidad en algunas variantes de LPME, no se utilizan como disolventes de extracción en SDME al ser muy volátiles [175]. Algunas aplicaciones utilizan disolventes no polares e inmiscibles en agua como el tolueno combinándolos con un disolvente de elevada polaridad actuando como modificador del disolvente no polar [180].

Como alternativa a estos disolventes orgánicos, se han empleado *nuevos disolventes de extracción* como ILs hidrofóbicos y/o hidrofílicos [181]. Recientemente, se han descrito algunas aplicaciones que emplean MILs [153] y ya hay incluso descrita una aplicación que utiliza DESs como disolventes de extracción [182]. Se espera un mayor número de aplicaciones en un futuro próximo que impliquen el uso de DESs en SDME [153].

1.4.2. Modos de extracción en microextracción en gota suspendida

Las distintas modalidades de SDME pueden clasificarse en: SDME en dos fases y SDME en tres fases, dependiendo del número de fases que coexistan durante el equilibrio [175]. La Figura 14 muestra un esquema de todas las posibles modalidades de SDME.

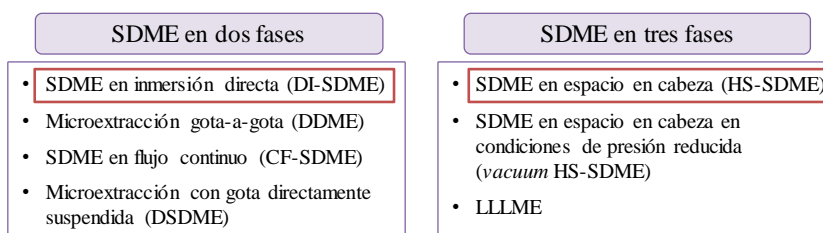
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

• **Clasificación en función del número de fases en equilibrio**



• **Clasificación en función del movimiento del disolvente de extracción**

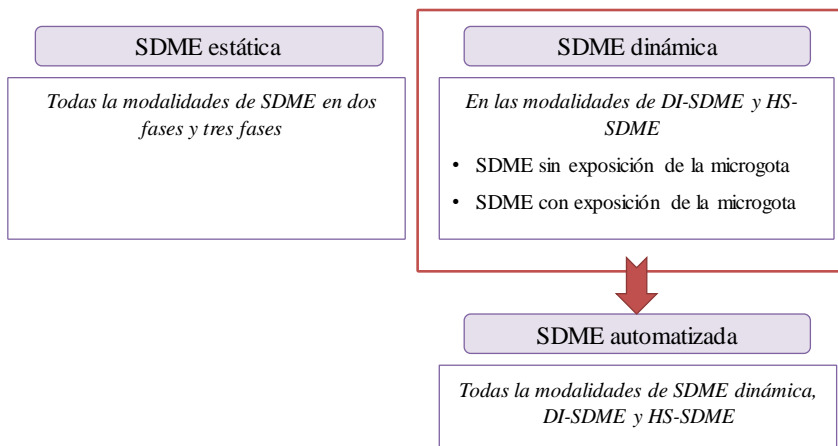


Figura 14. Esquema general de las posibles modalidades de SDME.

- *SDME en dos fases*

Existen cuatro modalidades de *SDME en dos fases*: SDME en inmersión directa (DI-SDME), microextracción gota-a-gota (o del inglés, “drop-to-drop”, DDME), SDME con flujo continuo (CF-SDME) y microextracción con gota directamente suspendida (DSDME).

En la modalidad de DI-SDME, el disolvente de extracción se expone directamente en la muestra líquida con ayuda de una microjeringa [30]. Para ello, la microjeringa se sumerge en la muestra (muestra con un volumen del orden de mililitros), y se expone una microgota de 0.3–3 µL del disolvente extractante. La microgota queda suspendida en la aguja de la microjeringa y la extracción transcurre generalmente con agitación controlada de la muestra, tal y como se muestra en la Figura 15 (A). Transcurrido el tiempo de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

extracción fijado, la gota se retrae en la microjeringa y se procede a la determinación analítica de los analitos extraídos en la microgota. El requisito indispensable en este tipo de aplicaciones es que el disolvente extractante sea inmisible con la muestra. La principal limitación de esta técnica es la dificultad para mantener la microgota suspendida de la microjeringa durante el tiempo de extracción. Para facilitar el procedimiento, generalmente se emplean condiciones suaves de agitación, disolventes de extracción de elevada viscosidad (como es el caso de los ILs) y microjeringas con agujas biseladas o que contienen adaptadores. En el caso del uso de adaptadores, hay descritas aplicaciones en las que se envuelve la aguja de la microjeringa con una cinta de plástico que proporciona una mayor superficie de adhesión de la microgota [183]. Otros trabajos han descrito la fijación de un tubo polimérico a la aguja de la microjeringa [184,185], consiguiendo la suspensión de hasta 150 μL de disolvente extractante [185].

Existe una variante de la DI-SDME conocida como DI-SDME de burbuja en gota (en inglés, “*bubble-in-drop*”) que se utiliza para incrementar la eficacia extractiva y disminuir el tiempo de análisis [186]. En esta modalidad, se incorpora un volumen de aire constante dentro de la gota, haciendo al disolvente de extracción más denso que el agua e impidiendo que la microgota caiga fácilmente durante la extracción.

La DDME es la versión aún más miniaturizada de la DI-SDME [30,175]. En este modo, tanto la muestra como el disolvente extractante son del orden de los microlitros (Figura 15 (B)). Es por ello que esta técnica resulta especialmente útil para el análisis de muestras de las que se dispone de un volumen limitado, como sucede por ejemplo con las muestras biológicas (sangre, suero y orina, entre otras) [187]. Debido a los bajos requerimientos de extractante y muestra, el equilibrio de reparto de los analitos se alcanza rápidamente si existe afinidad entre los analitos y el disolvente extractante seleccionado, y la agitación de la muestra no es necesaria.

La CF-SDME requiere del uso de un sistema de extracción especial formado por una cámara de extracción en la que se expone una microgota de disolvente extractante (Figura 15 (C)). La gota se sostiene con una punta de plástico y la muestra se hace fluir continuamente a través de la cámara de extracción gracias al empleo de una bomba peristáltica [188,189]. En general, en este tipo de SDME se utilizan disolventes de extracción no polares, que son estables en las condiciones experimentales, por lo que la extracción se limita a especies de similar naturaleza como pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) o compuestos aromáticos [175].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

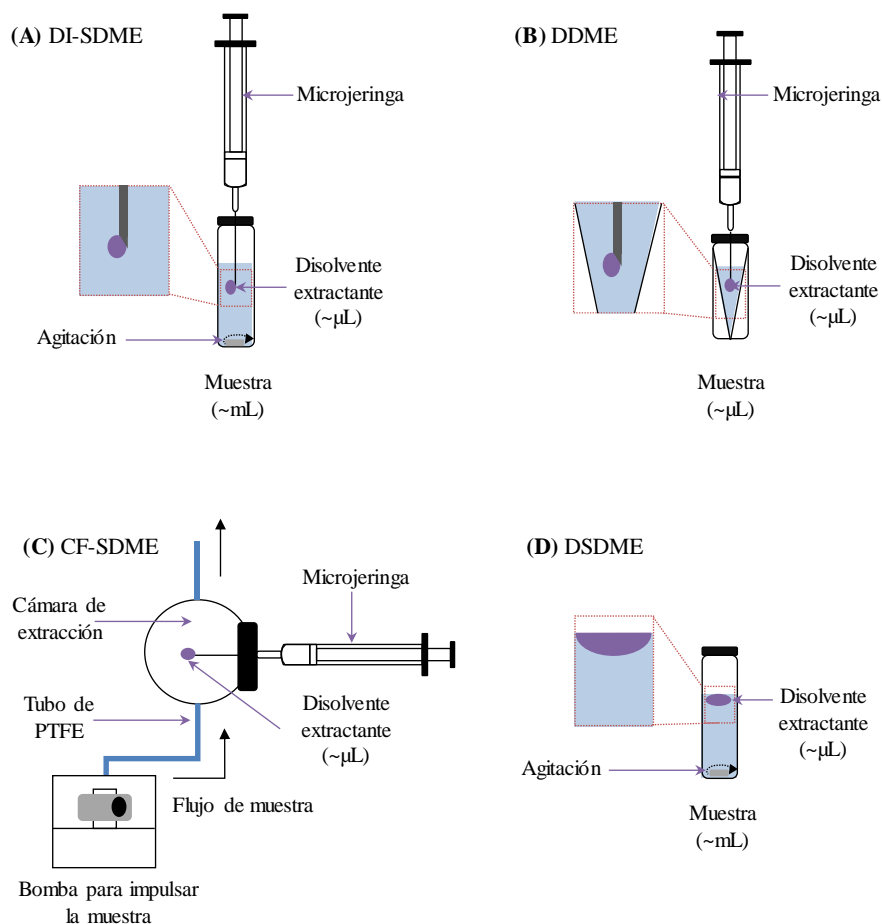


Figura 15. Esquema del procedimiento utilizado en las modalidades de SDME en dos fases, siendo (A) DI-SDME, (B) DDME, (C) CF-SDME y (D) DSDME.

La DSDME es otra modalidad de SDME en dos fases, y se basa en el uso de una gota de disolvente extractante inmiscible con el agua (5–100 μL) que se añade directamente a la muestra (sin necesidad de mantenimiento de la misma con ayuda de una microjeringa). La gota queda en suspensión en el vial de extracción y se aplica agitación por vortex para mejorar el área de contacto entre fases [190]. La gota suele tener una viscosidad adecuada para permitir posteriormente una fácil captación con una microjeringa y proceder a la determinación analítica de los compuestos extraídos. La Figura 15 (D) muestra un esquema del procedimiento que se sigue en DSDME.

- *SDME en tres fases*

En cuanto a la *SDME en tres fases*, las modalidades utilizadas incluyen: la SDME en espacio en cabeza (HS-SDME), la HS-SDME asistida por vacío o en condiciones de presión reducida (*vacuum* HS-SDME), y la microextracción líquido-líquido-líquido (LLLME).

La HS-SDME viene a ser la modalidad en tres fases de la DI-SDME. La Figura 16 (A) muestra un esquema del procedimiento. La muestra (con un volumen del orden de mililitros), se dispone en un vial de extracción y una microgota del disolvente de extracción (que puede ser miscible o inmisible con la muestra) se expone al espacio en cabeza del vial con ayuda de una microjeringa [30,175]. Los analitos experimentan reparto primero hacia la fase gaseosa del espacio en cabeza y, finalmente, hacia el disolvente extractante. Para favorecer la extracción, la muestra se somete a agitación y/o calentamiento. Como la gota se encuentra suspendida en el espacio en cabeza, se puede aplicar condiciones de agitación más fuertes que en DI-SDME sin pérdida de la estabilidad de la microgota. Además, dado que se utiliza esta fase intermedia gaseosa, la HS-SDME resulta ventajosa para la determinación de compuestos volátiles o semivolátiles presentes en muestras líquidas o sólidas [30,175]. La importancia del espacio en cabeza durante la extracción puede ser estimada a través del uso de los valores de K_H de los analitos.

En las aplicaciones de HS-SDME que utilizan MILs como disolventes de extracción, se utiliza un imán de Nd-Fe-B cilíndrico en lugar de una microjeringa para suspender la microgota de extractante [191]. La fuerza magnética establecida entre el material de extracción y el imán provoca un aumento de la estabilidad de la gota y, al mismo tiempo, se pueden emplear mayores volúmenes de disolvente de extracción.

Una variante de la HS-SDME es la *vacuum* HS-SDME, que se basa en utilizar condiciones de presión reducidas en el vial de extracción (Figura 16 (B)). Se trata de una técnica análoga a la *vacuum* HS-SPME (Sección 1.1.2 de este capítulo) con la diferencia de que en lugar de utilizar una fibra de SPME, como material de extracción se emplea una microgota de un MIL que se expone a la muestra con ayuda de un imán cilíndrico, habiéndose desarrollado esta metodología en la presente Tesis Doctoral [192]. El imán se encuentra soportado en un vial de extracción modificado que permite trabajar en condiciones de vacío. Tras añadir una microgota de MIL (10–30 μ L) al vial, y quedar retenida por el imán del sistema, se procede a evacuar el aire de dentro del vial con ayuda

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

de una bomba de vacío. Tras esto, la muestra líquida es inyectada y la extracción se lleva a cabo durante un tiempo prefijado, controlando las condiciones de temperatura y agitación [192]. Esta técnica resulta particularmente útil para la extracción de analitos volátiles y semivolátiles con valores de K_H relativamente bajos (del orden de 10^{-6} atm·m³·mol⁻¹ o incluso valores inferiores).

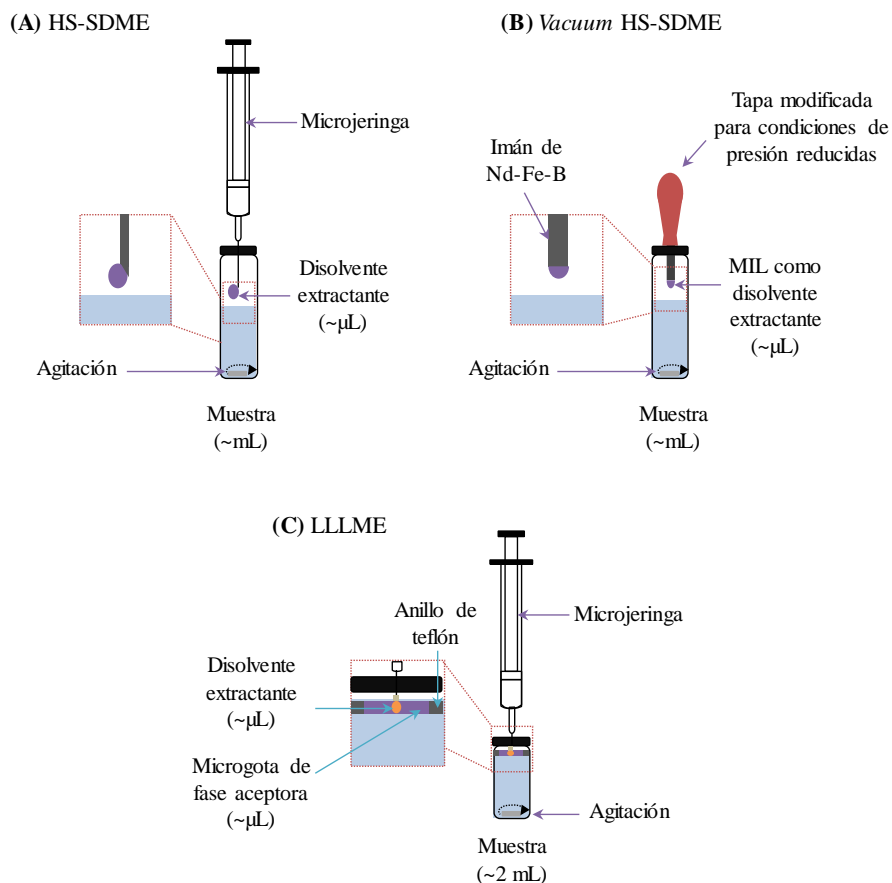


Figura 16. Esquema del procedimiento utilizado en las modalidades de SDME en tres fases, siendo (A) HS-SDME, (B) *vacuum* HS-SDME y (C) LLLME.

La LLLME es la tercera variante en tres fases de la SDME [30]. Este tipo de procedimiento se emplea para la extracción y determinación de analitos ionizables, e implica tres fases líquidas distintas: la muestra, un disolvente orgánico, que actúa como disolvente extractante, y una fase acuosa a un pH determinado, que se emplea como fase aceptora [193]. El disolvente orgánico se expone a la muestra formando una membrana líquida con ayuda de un anillo de teflón. Mientras, una microgota de fase acuosa aceptora se expone con ayuda de una microjeringa, como se muestra en la Figura 16 (C). Los analitos en la muestra se encuentran en forma neutra, por lo que experimentan reparto primero hacia la fase orgánica y, finalmente hacia la fase aceptora donde se ionizan. Así, también puede ser entendida como una DSDME con re-extracción de los analitos o “*back-extraction*” [194]. La fase orgánica actúa en cualquier caso como una fase intermedia entre las dos fases acuosas.

Las modalidades de SDME anteriormente descritas se realizan exponiendo el disolvente de extracción a la muestra de *modo estático* (sin movimiento). Sin embargo, las modalidades de DI-SDME y HS-SDME también pueden llevarse a cabo de *forma dinámica*. Este tipo de procedimientos implica que tanto la muestra como el disolvente extractante se encuentren en movimiento [175]. Existen dos variantes de la SDME dinámica: los procedimientos con exposición y sin exposición de la microgota. En los procedimientos sin exposición de la microgota, se realizan ciclos sucesivos de carga y descarga de una mezcla del disolvente de extracción y la muestra líquida o espacio en cabeza [195]. En los procedimientos con exposición de la microgota, el disolvente de extracción se expone repetidas veces a la muestra líquida o espacio en cabeza con ayuda de una microjeringa [196]. A diferencia del caso anterior, el disolvente extractante queda suspendido en la aguja de la microjeringa.

Por último, es importante resaltar que existen métodos que realizan procedimientos de DI-SDME o HS-SDME (en modo estático y/o dinámico) de forma *automatizada* [197]. En este tipo de procedimientos, la manipulación de la microjeringa y vial de extracción se automatiza completamente utilizando un automuestreador y controlando el procedimiento mediante ordenador. Con este tipo de procedimientos se consigue una mejora de la reproducibilidad y una adecuada eficacia de extracción.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.4.3. Mecanismos de extracción en microextracción en gota suspendida

El mecanismo de extracción en SDME dependerá de si el proceso se realiza en la modalidad de dos fases o tres fases (Figura 14).

Los procedimientos de *SDME en dos fases* implican un mecanismo de extracción similar al expresado para DLLME en la Sección 1.3.3 de este capítulo: la extracción se consigue por el establecimiento de un equilibrio de reparto de los analitos entre la muestra líquida, según la siguiente expresión [149,175]:

$$C_{ext} = \frac{K C_s^0}{1 + \frac{K V_{ext}}{V_s}} \quad (18)$$

donde C_{ext} es la concentración de analito extraído, K es la constante de equilibrio, C_s^0 es la concentración de analito que queda en la muestra en el equilibrio, y V_{ext} y V_s son los volúmenes de disolvente extractante y de muestra, respectivamente.

Por otro lado, en los procedimientos de *SDME en tres fases*, el mecanismo implica el transporte de los analitos entre tres fases distintas. En el caso de la HS-SDME, que es la modalidad de tres fases más usada, implica la muestra (líquida o sólida), el espacio en cabeza (gas) y el disolvente de extracción (líquido). La Ecuación (19) describe el mecanismo de extracción [149,175]:

$$C_{ext} = \frac{K_{ext,s} C_s^0}{1 + \frac{K_{HS,s} V_{HS}}{V_s} + \frac{K_{ext,s} V_{ext}}{V_s}} \quad (19)$$

donde C_{ext} es la concentración de analito extraído, $K_{ext,s}$ y $K_{HS,s}$ son las constante de los equilibrios de distribución del analito entre la muestra y el disolvente extractante, y entre la muestra y el espacio en cabeza, respectivamente; C_s^0 es la concentración de analito que queda en la muestra en el equilibrio y V_{HS} , V_s y V_{ext} son los volúmenes de gas (espacio en cabeza), muestra y disolvente de extracción, respectivamente.

Es importante considerar que si se utilizan volúmenes pequeños de espacio en cabeza o coeficientes de distribución entre la muestra y el espacio en cabeza pequeños simplifican la Ecuación (19) a la Ecuación (18). Del mismo modo, conviene señalar que el equilibrio de reparto entre la muestra y el espacio en cabeza ($K_{HS,s}$), está relacionado con la K_H de los analitos a extraer, asumiendo que se cumple la condición de gas ideal para los analitos [149]:

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

$$K_{HS,s} = \frac{K_H}{RT} \quad (20)$$

donde R es la constante de los gases ideales y T la temperatura del sistema.

1.4.4. Cinética del proceso de extracción

El transporte de los analitos desde la muestra a la microgota de disolvente de extracción está controlado por la difusión lenta de los analitos. La temperatura y la viscosidad del disolvente de extracción influyen en la velocidad de difusión. Sin embargo, también influye la convección debido a que la mayoría de procedimientos están asistidos por la agitación de la muestra. Existen dos modelos que explican el reparto de los analitos considerando a la vez difusión y convección para el caso de SDME: la teoría de la capa y la teoría de la penetración [149].

La teoría de la capa implica asumir que se consigue la mezcla completa de la muestra y disolvente de extracción hasta unas distancias a la interface denominadas δ_s y δ_{ext} , respectivamente (Figura 17). Estas distancias se relacionan a través de las leyes de Fick con los coeficientes de transferencia de masa (β_s y β_{ext}) según las Ecuaciones (21) y (22):

$$\beta_s = \frac{D_s}{\delta_s} \quad (21)$$

$$\beta_{ext} = \frac{D_{ext}}{\delta_{ext}} \quad (22)$$

donde D_s y D_{ext} son los coeficientes de difusión en la muestra y en el disolvente de extracción, respectivamente.

La teoría de la penetración, por su parte, relaciona el tiempo de contacto (t_e) asociado al flujo de la muestra y el flujo inducido asociado al disolvente extractante:

$$\beta = 2 \sqrt{\frac{D}{\pi t_e}} \quad (23)$$

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

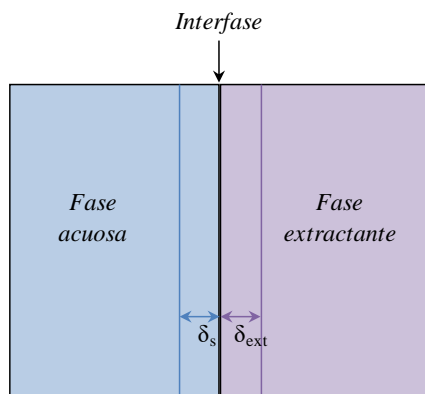


Figura 17. Esquema de la interfase fase acuosa (muestra) – fase extractante en DI-SDME.

1.4.5. Parámetros que influyen en la etapa de extracción

Los parámetros que más influencia tienen en la SDME están relacionados con el disolvente de extracción (tipo y volumen), con la muestra a extraer (volumen de muestra, pH, fuerza iónica) y con los requerimientos experimentales (tiempo de extracción, agitación, temperatura de extracción, etc).

- *Parámetros relacionados con el disolvente de extracción*

En la Sección 1.4.1 de este capítulo se indicaron los tipos de disolventes extractantes más empleados en SDME. En resumen, se requiere de un disolvente de naturaleza similar a los analitos a extraer, pero de baja volatilidad y presión de vapor. La viscosidad del disolvente de extracción también es importante en SDME. En general, se requiere de disolventes de viscosidad relativamente alta para que la gota se mantenga suspendida en la microjeringa durante el tiempo de extracción. Sin embargo, tal y como ya se ha comentado anteriormente, en disolventes muy viscosos disminuye la difusión del analito, aumentando considerablemente el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. En cuanto a la miscibilidad del disolvente de extracción con la muestra, se pueden utilizar disolventes inmiscibles para todas las modalidades de SDME y disolventes tanto inmiscibles como miscibles en el caso de HS-SDME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

El volumen del disolvente de extracción afecta a la eficacia y al tiempo de extracción. Teóricamente la cantidad de analito extraída aumenta cuando se utilizan mayores volúmenes de microgota [175]. Sin embargo, las aplicaciones que emplean microjeringas en DI-SDME o HS-SDME, que son las modalidades más utilizadas, limitan el volumen de extracción a ~2–3 μL . El uso de volúmenes mayores genera inestabilidad de la microgota. Para solucionar este problema e incrementar el volumen de microgota, algunas aplicaciones utilizan jeringas modificadas [183] o incluso imanes para soportar el disolvente de extracción, en el caso de que éste tenga propiedades magnéticas [192] (Sección 1.4.2 de este capítulo). Sin embargo, el uso de un mayor volumen de disolvente extractante, requiere mayor tiempo para alcanzar el equilibrio. Como resultado, en estas aplicaciones se recurre a una situación de compromiso entre eficacia y tiempo de extracción, o bien se trabaja en condiciones de no-equilibrio (siempre que se alcance la sensibilidad requerida para el método, y controlando exhaustivamente las condiciones experimentales para conseguir reproducibilidad).

- *Parámetros relacionados con la muestra a extraer*

En DI-SDME, en general se emplean volúmenes pequeños de muestra (1–4 mL). Volúmenes mayores son beneficiosos únicamente para analitos con K_{ow} mayores que 1000. Sin embargo, estas aplicaciones requieren de mayores tiempos de extracción.

En las aplicaciones de HS-SDME, el uso de volúmenes pequeños de espacio en cabeza favorece la difusión de los analitos a la fase extractante. Sin embargo, el volumen de espacio en cabeza debe ser tal que permita suspender la microgota sin que entre en contacto con la muestra.

El pH es un parámetro a considerar que afecta de forma similar que en DLLME. En la modalidad de LLLME, por su parte, indudablemente el control del pH es crucial para conseguir la extracción en la fase acuosa final.

La fuerza iónica de la muestra también influye en SDME. Se puede conseguir un aumento de la eficacia de extracción añadiendo una sal a la muestra extraer (efecto *salting out*), especialmente cuando se extraen analitos polares y de bajo peso molecular [175]. Sin embargo, en algunas aplicaciones en DI-SDME, el empleo de muestras con elevada fuerza iónica puede provocar cambios físicos del disolvente de extracción, y que pueden

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

llegar a afectar negativamente a la extracción (cambios en la viscosidad o tensión superficial del disolvente extractante).

- *Parámetros experimentales*

El tiempo de extracción en SDME depende de los volúmenes de disolvente extractante y de muestra, como ya se ha indicado, así como de otras condiciones experimentales tales como la temperatura o la agitación.

El control de la temperatura resulta importante, especialmente en la modalidad de HS-SDME. En general, un incremento de la temperatura favorece el paso al espacio en cabeza de analitos no polares, mejorando la eficacia extractiva. No obstante, el empleo de elevadas temperaturas puede provocar la caída de la microgota de disolvente de extracción y, al mismo tiempo, aumentar la solubilidad en la fase acuosa de analitos moderadamente polares que pretenden ser extraídos.

La agitación es otro parámetro importante que actúa disminuyendo el tiempo de extracción. La agitación en SDME se consigue mediante agitación magnética, o ultrasonidos. En general, se utilizan velocidades de agitación de 300–600 rpm en DI-SDME y ligeramente más elevadas, entre 500–1000 rpm, en HS-SDME, dado el menor riesgo de caída de la microgota por agitación de la muestra [175].

I.2. Líquidos iónicos

Los líquidos iónicos (ILs) son un tipo de sales orgánicas caracterizadas por poseer punto de fusión inferiores a 100 °C, de forma que pueden presentarse como líquidos en un rango de temperaturas relativamente bajas y actuar como disolventes no-moleculares [45]. Los ILs se diferencian claramente de las sales convencionales que funden a elevadas temperaturas y poseen limitados rangos de temperatura en las que son líquidas [198].

Dentro de los ILs se diferencia el grupo de los líquidos iónicos a temperatura ambiente (RTILs, del inglés “*Room-temperature ionic liquids*”) que se caracterizan por tener puntos de fusión inferiores a la temperatura ambiente, y entre ellos, incluso existen RTILs que son líquidos a temperaturas de incluso -96 °C [199].

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

El primer trabajo en el que se habla de “sales líquidas” se atribuye a Walden en 1914, en el cual se sintetizó el IL nitrato de etilamonio, que posee un punto de fusión de 13–14 °C [200]. Sin embargo, el interés por estos nuevos materiales no comenzaría hasta 1992, cuando se sintetizan los primeros ILs basados en imidazolio [201].

2.1. Estructura y propiedades de los líquidos iónicos

Los ILs están formados exclusivamente por iones: cationes y aniones. La Figura 18 muestra los principales tipos de cationes y aniones que forman los ILs.

Los *cationes* que conforman los ILs son generalmente especies orgánicas que contienen átomos de nitrógeno o fósforo como heteroátomos y cadenas alquílicas de distinto tamaño. Cualquier pequeña modificación en el catión de un IL puede ocasionar cambios significativos en los puntos de fusión, viscosidad y miscibilidad del IL [202].

Entre los posibles cationes que se han empleado para diseñar ILs, destacan los cationes basados en anillos heterocíclicos de cinco miembros, como el imidazolio o el pirrolidinio; los cationes basados en anillos heterocíclicos con bencenos fusionados como el piridinio, morfolinio, piperidinio o el benzimidazolio, y otras especies basadas en amonio, fosfonio, sulfonio y guanidinio. Algunos de estos cationes poseen otros grupos funcionales (incluyendo grupos –OH, –NH₂, –SH, –SO₃OH, –CONH₂...) o grupos vinílicos que se enlazan covalentemente a las estructuras anteriormente mencionadas [202]. Cabe destacar el empleo de cationes basados en colinio (catión 2-hidroxiethyltrimetilamonio, abreviado como Ch⁺) [203]. Del mismo modo, se han descrito ILs basados en cationes de naturaleza quiral [204,205]. La Figura 18 (A) muestra todos estos cationes y la nomenclatura utilizada para nombrarlos. La mayoría de los cationes poseen cadenas alquílicas o grupos funcionales, representados en la Figura 18 (A) como “R₁, R₂, R₃”, etc. Los ILs basados en cationes de tipo imidazolio, pirrolidinio, piridinio, morfolinio, piperidinio, benzimidazolio o guanidinio se abrevian nombrando primero los sustituyentes (–M para metilo; –C_n para el resto de cadenas alquílicas, con n = 2–16 átomos de carbono, generalmente; –Vi para el grupo vinilo; –Ph para fenilo; –Bz para bencilo; y –OH para el grupo hidroxilo, entre otros), seguido de los términos Im⁺, Pyr⁺, Py⁺, Mor⁺, Pip⁺, BIm⁺ o Gu⁺, respectivamente (por ejemplo, C₁₆MIm⁺ o catión 1-hexadecil-3-metilimidazolio). Por su parte, los ILs basados en amonio, fofonio o sulfonio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(A) Cationes

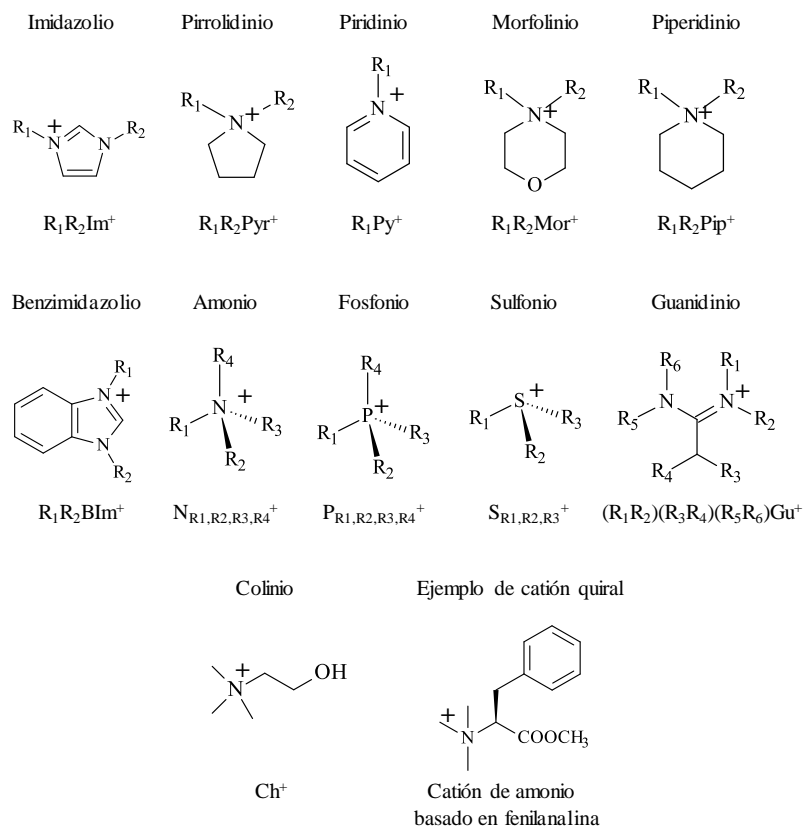


Figura 18. Principales tipos de (A) cationes y (B) aniones que constituyen los ILs.

(B) Aniones

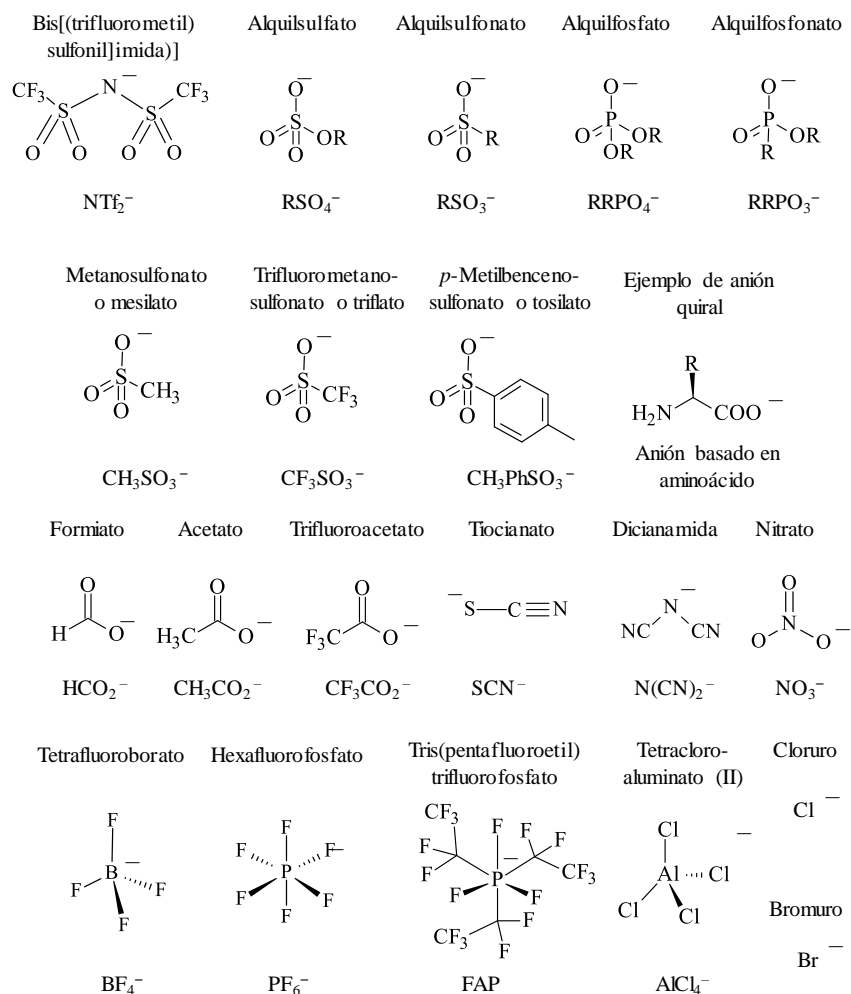


Figura 18. (continuación) Principales tipos de (A) cationes y (B) aniones que constituyen los ILs.

se abrevian por las letras N, P o S, respectivamente, seguido de los sustituyentes expresados como sufijo y separados por coma (utilizando números para las cadenas alquílicas: 1 para metilo, 2 para etilo, 3 para propilo, etc; Ph para el grupo fenilo, B para bencilo y OH para hidroxilo, entre otros). Un ejemplo de la nomenclatura de este tipo de cationes es $N_{1,2,2,2}^+$ o catión metiltrietilamonio.

Es interesante destacar que no sólo se han empleado cationes monovalentes para generar ILs, sino que también se ha descrito la síntesis y uso de ILs dicatiónicos, tricatiónicos, y en general, multicatiónicos [206,207]. Los ILs multicatiónicos suelen estar formados por varias estructuras tipo imidazolio (o varias estructuras tipo fosfonio, amonio o piridinio) enlazadas entre sí mediante un componente central denominado espaciador (del inglés “*spacer*”). La Figura 19 muestra a modo de ejemplo la estructura básica de ILs monocatiónicos y multicatiónicos basados en imidazolio. Las abreviaturas que se utilizan para describir este tipo de cationes nombra primero el anillo de imidazolio con sus sustituyentes (o la estructura de fosfonio, amonio o piridinio), todo ello entre paréntesis indicando con subíndice el número de veces que esta estructura se repite, y finalmente seguido de la abreviatura del espaciador (por ejemplo: $(MIm)_2C_{12}^{2+}$ o catión bis(metilimidazolio)dodecilo).

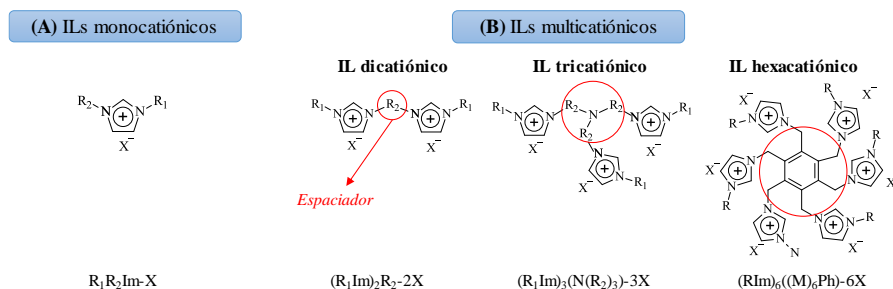


Figura 19. Estructura básica de diferentes tipos de ILs basados en el catión imidazolio, siendo (A) ILs monocatiónicos y (B) ILs multicatiónicos.

Los *aniones* que constituyen los ILs pueden ser tanto de naturaleza orgánica como inorgánica. Se distingue entre aniones de tipo orgánico como el anión bis(trifluorometanosulfonyl)amida (NTf_2^-) y especies tipo alquilsulfatos (RSO_4^-), alquilsulfonatos (RSO_3^-), alquilsulfatos ($RRPO_4^-$) y alquilsulfonatos ($RRPO_3^-$). Dentro de los alquilsulfonatos, destaca el uso del anión metanosulfonato o mesilato ($CH_3SO_3^-$), el

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/		
Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

anión trifluorometanosulfonato o triflato (CF_3SO_3^-) y el anión *p*-metilbencenosulfonato o tosilato ($\text{CH}_3\text{PhSO}_3^-$). Otros aniones que también se emplean son el anión formiato (HCO_2^-), acetato (CH_3CO_2^-), trifluoroacetato (CF_3CO_2^-), tiocianato (SCN^-), dicianamida ($\text{N}(\text{CN})_2^-$) o nitrato (NO_3^-). Entre los aniones de tipo inorgánico, destacan los haluros (aniones cloruro y bromuro), el tetrafluoroborato (BF_4^-), el hexafluorofosfato (PF_6^-), el tris(pentafluoroetil)trifluorofosfato (FAP) o aniones basados en AlCl_3 como el anión tetracloroaluminato (III) (AlCl_4^-). Además, también existen aniones con estructura quiral [205] y aniones basados en metales o complejos metálicos [208]. Algunas de las estructuras de estos aniones se muestran en la Figura 18 (B).

Los ILs poseen gran variedad de propiedades físico-químicas de enorme interés, entre las que se incluye que son líquidos a temperaturas inferiores a los 100 °C [209], lo que permite un fácil empleo de los mismos como disolventes no-moleculares, a diferencia de las dificultades asociadas al manejo de los fundidos de sales convencionales. Además, permanecen como líquidos en un amplio rango de temperaturas (en atmósfera inerte), son conductores iónicos ya que están formados exclusivamente por iones, poseen una baja o despreciable presión de vapor a temperatura ambiente, así como una muy baja inflamabilidad [209].

Asimismo, los ILs se caracterizan por poseer una elevada estabilidad química, electroquímica y térmica [181,210]. Los datos disponibles revelan que la temperatura de descomposición de la mayoría de los ILs es superior a los 200 °C y, en algunos casos, puede llegar hasta los 450 °C [211]. La estabilidad térmica está directamente relacionada con la estructura de IL: los ILs con aniones coordinados o de baja nucleofilia como CF_3SO_3^- o NTf_2^- generalmente son más estables térmicamente. Mientras, los ILs con aniones de haluros poseen baja estabilidad y tendencia a descomponerse vía reacciones de sustitución nucleofílica ($\text{S}_{\text{N}1}$ o $\text{S}_{\text{N}2}$) [212]. En cuanto a la influencia del catión, los ILs con cationes basados en fosfonio suelen ser más estables térmicamente. La longitud de las cadenas alquílicas ancladas al catión del IL, por el contrario, no influye significativamente en la estabilidad térmica [211].

En cuanto a la tensión superficial, suele ser menor que la de los disolventes orgánicos convencionales (por ejemplo, hexano $18 \text{ nM}\cdot\text{m}^{-1}$) y la del agua ($73 \text{ nM}\cdot\text{m}^{-1}$) [181]. Los ILs formados por haluros como aniones, y que por ende son de pequeño tamaño, poseen las tensiones superficiales máximas. A medida que aumenta el tamaño

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

del anión, la tensión superficial decrece siguiendo la serie $\text{BF}_4^- > \text{PF}_6^- > \text{CF}_3\text{SO}_3^- > \text{NTf}_2^-$ [213].

La viscosidad de los ILs es variable y se relaciona fundamentalmente con la naturaleza del anión. Los aniones pequeños tienen menor capacidad para formar enlaces de hidrógeno y suelen formar ILs menos viscosos. Sin embargo, esta baja viscosidad es relativa pues los valores más pequeños que se encuentran suelen estar entorno a los 10–30 mPa (a temperatura ambiente). Esto implica que los ILs poseen viscosidades que son entre una y tres órdenes de magnitud mayores (a temperatura ambiente) que otros disolventes orgánicos [181]. En cuanto a su relación con la naturaleza del catión, la viscosidad aumenta cuando se utilizan cationes con largas cadenas alquílicas [214]. Otra característica de gran importancia es que la viscosidad de los ILs decrece de forma drástica cuando se incrementa la temperatura [210].

La solubilidad en agua también puede controlarse en función de la naturaleza del catión/anión, o mediante la funcionalización del IL. En general, los ILs formados por aniones como el Cl^- , Br^- o BF_4^- (de pequeño tamaño) son solubles mientras que aquéllos que contienen PF_6^- o NTf_2^- son insolubles [181]. La influencia de la naturaleza del catión en la solubilidad es secundaria. La solubilidad de los ILs en agua puede modificarse mediante la adición de sales orgánicas, debido a los efectos de “*salting in*” o “*salting out*”. Por otra parte, la solubilidad de los ILs en alcoholes y otros disolventes aromáticos decrece a medida que aumenta la cadena alquílica del alcohol o el grado de sustitución del anillo aromático [181].

De la misma forma, la incorporación de grupos polares o no polares a la estructura del IL pueden promover diferentes interacciones con analitos, de forma que los ILs poseen una elevada capacidad de solvatación de moléculas de diferente naturaleza. Esto es debido a que, además de las interacciones mostradas por disolventes orgánicos convencionales (enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo o interacciones de Van der Waals), los ILs pueden presentar interacciones iónicas adicionales, tales como interacciones electrostática o repulsión hacia moléculas cargadas [181].

Algunos ILs se comportan como ácidos o bases. De hecho, los ILs pueden clasificarse de acuerdo a la acidez y/o basicidad de los cationes y aniones que forman su estructura [203]. Se diferencia así entre ILs ácidos, básicos, neutros y anfotéros. Los *ILs ácidos* son especies formadas por cationes de tipo amonio, pirrolidinio o imidazolio y/o aniones como el AlCl_4^- . Los *ILs básicos* están formados por aniones tipo carboxilato

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(formiato, acetato), aniones quirales como el lactato, o el anión dicianamida. Los *ILs neutros* poseen aniones como el PF_6^- , NTf_2^- , BF_4^- , mesilato, tosilato, o tiocianato. Este tipo de aniones muestra interacciones electrostáticas débiles con el catión, de forma que los *ILs neutros* generados se caracterizan por poseer bajos puntos de fusión y baja viscosidad. Por último, los *ILs anfotéros* se caracterizan por poseer una naturaleza dual para aceptar o donar protones dependiendo del medio en el que se encuentren. *ILs* basados en aniones como sulfato o dihidrógeno fosfato son de este tipo.

A la vista de estas propiedades, conviene resaltar el hecho de que muchas de ellas, incluyendo conductividad, tensión superficial, viscosidad o solubilidad, dependen del diseño del *IL*. Así, el incluir pequeñas modificaciones en la estructura de un *IL* viene acompañado por profundas modificaciones en sus propiedades [45]. Esto, combinado con el gran número de cationes y aniones con naturaleza diferente disponibles, y la facilidad con la que pueden ser sintetizados, genera un gran abanico de opciones a la hora de diseñar un *IL* para una aplicación en concreto. Por esta razón, se dice que los *ILs* son “disolventes de diseño” [202].

Por último, conviene destacar que los *ILs* constituyen una alternativa a los disolventes orgánicos convencionales, fundamentalmente por su despreciable presión de vapor a temperatura ambiente (de modo que no generan compuestos orgánicos volátiles), mientras que la mayoría de los disolventes orgánicos suelen ser volátiles y tóxicos. Es por ello que los *ILs* han sido considerados como disolventes sostenibles y, por tanto, considerados entre los disolventes ideales dentro de la Química Verde y la GAC [5].

Es necesario señalar que, recientemente, varios estudios sugieren que algunos *ILs* pueden presentar cierta toxicidad, aunque ésta sea menor que la de los disolventes orgánicos clorados [215]. En cualquier caso, estos estudios señalan que los *ILs* que contienen como esqueleto principal piridinio, guanidinio o morfolinio con grupos éster o amino como grupos funcionales escindibles; combinado con el uso de aniones como los alquilsulfatos, puede ser una opción medioambientalmente más sostenible [215]. Del mismo modo, nuestro grupo de investigación ha evaluado la cito-toxicidad de *ILs* basados en guanidinio, mostrando que ésta es significativamente menor que la de análogos *ILs* basados en imidazolio, surfactantes convencionales e incluso menor que otros disolventes convencionales [216].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.2. Materiales derivados de los líquidos iónicos

Paralelamente al desarrollo de los ILs, se han diseñado diversos grupos de materiales derivados de estos que resultan más adecuados para aplicaciones específicas. El objetivo en estos casos ha sido el de obtener un material que combine algunas de las propiedades únicas de los ILs con las ventajas asociadas al uso de otros materiales. Siguiendo esta idea, se han diseñado polímeros de líquidos iónicos (PILs) [217], surfactantes basados en ILs [218] y líquidos iónicos magnéticos (MILs) [208], que combinan algunas de las características inherentes a los ILs con las de los polímeros, surfactantes y materiales paramagnéticos, respectivamente.

Del mismo modo, se han descrito numerosos materiales híbridos que combinan el empleo de ILs o derivados con otro tipo de materiales, tales como sílice o nanomateriales de carbono (CNTs, grafeno...) o NPs.

Otras aplicaciones combinan el uso de dos (o más) ILs hidrofílicos o surfactantes basados en ILs en agua. Cuando dos o más ILs se mezclan y se disuelven en agua, la disolución resultante tiene propiedades diferentes a las de las correspondientes disoluciones de cada IL por separado. Este tipo de disoluciones no pueden ser consideradas como “mezclas de ILs” ya que la identidad inherente de cada IL se pierde al tratarse de especies de naturaleza iónica [219]. Por ello, en este contexto se habla de sales dobles de líquidos iónicos (DSILs) [219]. Las propiedades específicas de cada DSIL dependerán de las diferentes combinaciones de iones y de sus ratios.

2.2.1. Polímeros de líquidos iónicos

Los polímeros de líquidos iónicos (PILs) son polielectrolitos formados por un IL como monómero o unidad repetitiva, conectado mediante una cadena polimérica, formando así una estructura macromolecular [82]. Estas especies tienen la característica de que se sintetizan a partir de monómeros de ILs y no de sus correspondientes sales sólidas, tal y como sí sucede con los polielectrolitos clásicos. La polimerización implica una reacción con iniciación radicalaria [220]. Para que esta reacción se lleve a cabo, se pueden emplear los métodos convencionales de iniciación radicalaria y también nuevos métodos como la polimerización radicalaria por transferencia atómica (ATRP) [221] o la polimerización por adición, fragmentación y transferencia (RAFT) [222].

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

La mayoría de los PILs desarrollados se basan en la polimerización de ILs basados en cationes de imidazolio y aniones de distinta naturaleza, tales como Cl^- , Br^- , NTf_2^- , BF_4^- , PF_6^- , CF_3SO_3^- y otros tipos de sulfonatos. El requisito indispensable para realizar la polimerización es que el catión y/o el anión tengan un grupo vinílico, de forma que pueda iniciarse la reacción radicalaria. En base a ello, se distinguen cuatro tipos distintos de PILs: policationes, polianiones, polizwitteriones y policationes [220]. La Figura 20 muestra un ejemplo representativo de cada tipo. Los *policationes* se generan a partir de monómeros de ILs basados en cationes vinílicos (RVIm^+), de forma que la unidad de carga de la cadena polimérica del PIL resultante es positiva. Es importante resaltar que algunos PILs policationes son de naturaleza multicatiónica. Los *polianiones* utilizan ILs conteniendo aniones con grupos vinílicos, como el vinilsulfonato (VSO_3^-) o el *p*-vinilbencilsulfonato (VBzSO_3^-), generando PILs en los que la unidad de carga es negativa. Por su parte, los *polizwitteriones* son PILs con estructuras en las que la cadena polimérica incluye a la vez carga positiva y negativa. Finalmente, los PILs *policationes* se generan a partir de la copolimerización de un catión y un anión con grupos vinílicos.

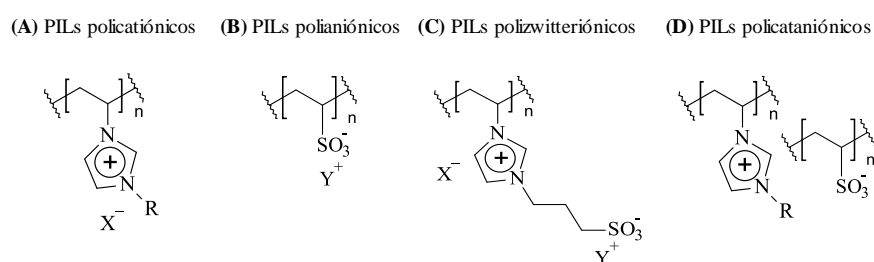


Figura 20. Ejemplos representativos de diferentes tipos de PILs: (A) PILs policationes, (B) PILs polianiónicos, (C) PILs polizwitteriónicos y (D) PILs policationes.

Por otra parte, en función de la repetición o la variedad de los monómeros, se distingue entre homopolímeros o copolímeros [220]. Los *homopolímeros* están constituidos por un mismo tipo de IL monomérico a lo largo de toda la cadena polimérica, formando cadenas lineales del material. En cambio, los *copolímeros* están formados por al menos dos tipos diferentes de monómeros de IL, generando un conjunto de cadenas

lineales largas y ramificadas. Dentro de este último grupo destacan los PILs entrecruzados. Se trata de polímeros diseñados a partir del uso de un IL monocatiónico actuando como monómero y un IL dicatiónico empleado como *crosslinker* o elemento de entrecruzamiento. El *crosslinker* dicatiónico tiene dos puntos de polimerización y se añade durante la síntesis en un porcentaje menor respecto al monómero. De esta forma, el PIL resultante está formado por cadenas poliméricas conteniendo el IL monocatiónico como monómero y conectadas entre sí a través del *crosslinker* [45].

Las estructuras resultantes, tanto de homopolímeros como copolímeros, pueden disponerse de diferentes formas, generando morfologías diferentes de PILs: materiales nanoestructurados, partículas coloidales, estructuras core-shell (cuando se combinan con otros materiales como la sílice), geles supramoleculares voluminosos y materiales mesoporosos, entre otros [217].

En cuanto a sus propiedades, los PILs poseen aquellas inherentes a su carácter de IL y otras debidas a su naturaleza polimérica. Además, algunas de las propiedades de los PILs se ven mejoradas respecto del resto de ILs y polímeros. Entre estas propiedades, cabe destacar la conductividad iónica, la temperatura de transición vítrea, la estabilidad térmica, mecánica y química, la viscosidad y la solubilidad de los PILs.

A diferencia de los ILs, en los que tanto el catión como el anión son móviles, la cadena polimérica de los PILs impide el movimiento de cationes, en el caso de PILs multicationicos, o de aniones, en el caso de PILs polianiónicos. Así, la movilidad iónica de los PILs se limita a los contraiones, los cuales no forman parte del esqueleto del polímero. Se puede concluir que, de forma general, la conductividad iónica de los PILs es inferior a la de los ILs. Además, otros factores como la naturaleza, funcionalidad y arquitectura del polímero, afectan a la conductividad [217].

La mayoría de los PILs desarrollados son sólidos que poseen una temperatura de transición vítrea relativamente baja debido a su elevada densidad de carga [217]. Por el contrario, la mayoría de polielectrolitos sólidos son vítreos hasta su descomposición. En estado sólido, muchos PILs poseen una estructura amorfa debido a la capacidad del contraión para moverse a través de la cadena polimérica, que hace difícil la cristalización. Por otra parte, existe un número más reducido de PILs que son líquidos de elevada viscosidad a temperatura ambiente.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los PILs poseen una estabilidad térmica y mecánica que muchas veces supera a la de los ILs. Esto permite el uso de PILs para aplicaciones que requieran de elevadas temperaturas. La temperatura de descomposición de los PILs está controlada por la naturaleza de su cadena polimérica. Los PILs aromáticos o con largas cadenas alquílicas como sustituyentes son más estables térmicamente que los PILs alifáticos. Del mismo modo, los PILs basados en fosfonio y sulfonio son más estables térmicamente que los de imidazolio o pirroloidinio, pero menos estables químicamente [217]. De la misma forma, la presencia de aniones voluminosos en la estructura del PIL genera materiales térmica- y mecánicamente más estables.

En general, los PILs son estables química y electroquímicamente. La degradación química del PIL ocurre en circunstancias extremas, y la ventana de estabilidad electroquímica es amplia, entre 2.5–5.0 V [217].

La viscosidad de los PILs también es superior a la de sus análogos ILs. Además, la viscosidad de los PILs no se ve significativamente alterada cuando se exponen a altas temperaturas, al contrario de lo que sí le sucede a los ILs.

La solubilidad de los PILs está fuertemente relacionada con la estructura del anión, como sucedía con los ILs. En disolución acuosa, los PILs poseen comportamientos similares a otros polielectrolitos, comportándose como materiales viscoelásticos, es decir, si la disolución está libre de electrolito, el polímero puede expandirse. En la presencia de disoluciones en la que se encuentran otras sales disueltas, el PIL posee un comportamiento de polímero no iónico y la expansión no se observa [220].

2.2.2. Surfactantes basados en líquidos iónicos

Los surfactantes basados en ILs son un grupo de derivados de los ILs que, disueltos en agua a una determinada concentración, son capaces de actuar como surfactantes [218,223].

Los surfactantes son sustancias anfifílicas cuya estructura está formada por una parte hidrofóbica (o apolar) y una parte hidrofílica (polar). Cuando estas sustancias se encuentran disueltas en agua a concentraciones suficientemente diluidas, actúan como electrolitos. Sin embargo, a concentraciones más altas presentan una elevada actividad superficial [224]. Por encima de una determinada concentración, denominada concentración micelar crítica (CMC), son capaces de agregarse y autoensamblarse,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

formando medios micelares: las moléculas de surfactante se ordenan de forma que la parte hidrofóbica se orienta en su interior, mientras que la parte hidrofílica permanece en contacto con el agua [225]. En la práctica, las micelas pueden adoptar una gran variedad de formas, variando desde las prácticamente esféricas hasta las elipsoidales [226]. La Figura 21 muestra algunas de las formas típicas de los surfactantes. La formación de un medio micelar conlleva a cambios bruscos en las propiedades físicas de la disolución, incluyendo la turbidez, presión osmótica, conductividad y tensión superficial.

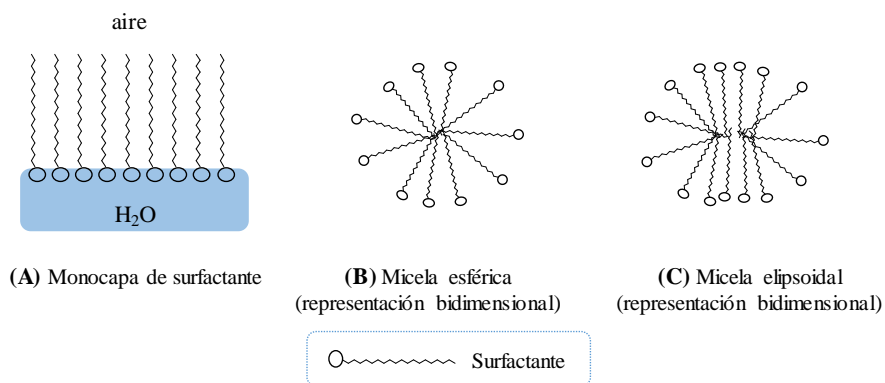


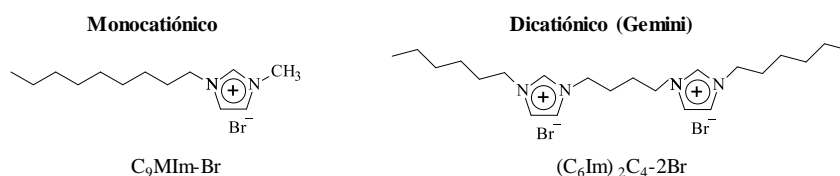
Figura 21. Formas típicas de las micelas de surfactantes disueltos en agua.

Dentro de los surfactantes, se distingue entre surfactantes *iónicos* (catiónicos o aniónicos), *zwitteriónicos* y *no iónicos*, dependiendo de si la parte hidrofílica es un ión (un catión o un anión), de si puede actuar de forma tanto catiónica como aniónica, o de si se trata de un componente no iónico, respectivamente [226]. Ejemplos de surfactantes convencionales son el bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB, surfactante catiónico), el dodecilsulfato sódico (SDS, surfactante aniónico), la sulfobetaína 10 (SB3-10, surfactante zwitteriónico formado por un grupo amonio y un grupo sulfónico) y el polioxietileno-10-lauril éter (surfactante no iónico).

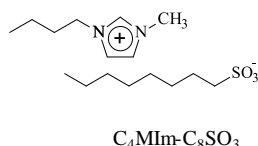
En lo que respecta a los surfactantes basados en ILs, su característica principal que los distingue del resto de ILs es el poseer largas cadenas alquílicas en sus estructuras, ya sea en el catión y/o en el anión [227]. Los surfactantes basados en ILs pueden ser de tipo catiónico, anfifílico o zwitteriónico [227]. La Figura 22 muestra ejemplos representativos de cada uno de estos tipos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(A) Surfactante catiónico



(B) Surfactante bifílico o catiónico



(C) Surfactante zwitteriónico

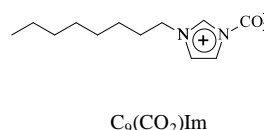


Figura 22. Ejemplos representativos de diferentes tipos de surfactantes basados en ILs de tipo imidazolio: (A) surfactantes catiónicos (monocatiónicos y dicatiónicos), (B) surfactantes bifílicos o catiónicos y (C) surfactantes zwitteriónicos.

Los *surfactantes catiónicos basados en ILs* son los más utilizados (Figura 22 (A)). Poseen estructuras en las que las largas cadenas alquílicas se encuentran en el catión, que suele ser de tipo imidazolio, fosfonio, piridinio, pirrolidinio, piperidinio o amonio. Estos cationes se combinan con aniones de tipo bromuro, cloruro o BF_4^- , que generan ILs solubles en agua [228]. También, se han descrito surfactantes basados en ILs de naturaleza dicatiónica o tricatiónica [206]. En estos casos, el carácter de surfactante se relaciona con el espaciador, que suele ser una cadena alquílica larga de cuatro o más átomos de carbono. Entre los surfactantes multicatiónicos, los surfactantes dicatiónicos (también llamados Gemini) basados en imidazolio son los que más se han utilizado [229].

Los *surfactantes bifílicos basados en ILs* (BAILs), también llamados *surfactantes catiónicos*, están formados por cationes con sustituyentes poco voluminosos combinados con aniones con largas cadenas alquílicas [230]. El término bifílico se emplea debido al carácter anfífilico que presentan ambos constituyentes del material, catión y anión [231]. Sin embargo, es el anión el ion que otorga el carácter de surfactante a este tipo de sustancias. La Figura 22 (B) muestra ejemplos de este tipo de surfactantes basados en ILs. En general, como anión se emplea octilsulfato,

dodecilsulfato, dioctilsulfosucianato o dodecibencenosulfonato [227]. Estos aniones se han combinado con cationes de tipo imidazolio, colinio o guanidinio.

Los *surfactantes zwitteriónicos basados en ILS* poseen estructuras de naturaleza anfílica formadas por un componente hidrofílico que contiene un grupo cargado positivamente y otro cargado negativamente, y una larga cadena alquílica como componente hidrofílico (Figura 22 (C)). La mayoría poseen un grupo amonio combinado con un grupo carboxílico [232]. Estos surfactantes tienen mayor área superficial que los surfactantes zwitteriónicos convencionales. Además, sus propiedades micelares dependen menos del pH y la fuerza iónica que surfactantes catiónicos basados en ILS análogos [233].

En los últimos años, se han desarrollado nuevos tipos de surfactantes basados en ILS funcionalizados. Con la funcionalización se consigue por un lado, diseñar surfactantes más biodegradables [234] y, por otro, mejorar la capacidad de estos materiales para solubilizar analitos mediante el establecimiento de nuevas interacciones analito-IL [235]. También, se ha descrito un nuevo tipo de surfactante zwitteriónico basado en un IL dicatiónico de tipo imidazolio y el grupo Cu-CuCl₂ como espaciador [236]. Del mismo modo, en esta Tesis Doctoral se describe el desarrollo de sales dobles de surfactantes basados en ILS, formados por la combinación en diferentes ratios de dos tipos diferentes de surfactantes catiónicos [69].

Como ocurre con otros derivados de los ILS, los surfactantes basados en ILS combinan algunas de las propiedades derivadas de su carácter de IL con su naturaleza de surfactante. Es importante resaltar el hecho de que la mayoría de autores recomienda el empleo del término “surfactantes basados en ILS” en lugar de hablar de “ILs surfactantes” ya que la mayoría de estas sustancias, a diferencia de los ILS, poseen puntos de fusión por encima de los 100 °C, de forma que son sólidos a temperatura ambiente. Entre las propiedades físico-químicas de los surfactantes basados en ILS, es importante señalar el valor de la CMC y el número de agregación micelar (N_{agg}), que son parámetros asociados a su naturaleza de surfactante. La Tabla 4 muestra los valores de CMC y N_{agg} de algunos surfactantes basados en ILS. Además, cabe señalar las características de viscosidad, solubilidad y estabilidad inherente de su carácter de IL.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Tabla 4. Propiedades micelares (CMC y N_{agg}) de ejemplos representativos de surfactantes basados en ILs.

Catión	Anión	Surfactante basado en ILs	CMC (mmol·L ⁻¹)	N_{agg}
C ₄ MIm ⁺	BF ₄ ⁻	C ₄ MIm-BF ₄	729 [237]–820 [238]	10–27 [238]
	MSO ₄ ⁻	C ₄ MIm-MSO ₄	80 [239]	-
	C ₁₂ SO ₄ ⁻	C ₄ MIm-C ₁₂ SO ₄ ^a	2.4 [231]	-
	AOT ^b	C ₄ MIm-AOT ^a	1.8 [230]	-
C ₆ MIm ⁺	Br ⁻	C ₆ MIm-Br	400 [240]–797 [241]	-
	BF ₄ ⁻	C ₆ MIm- BF ₄	1.9 mmol·mol ⁻¹ [242]	-
C ₈ MIm ⁺	Cl ⁻	C ₈ MIm-Cl	90.0 [238]–234 [243]	23 [240]
	Br ⁻	C ₈ MIm-Br	120 [244]–210 [245]	21–27 [240]
C ₁₀ MIm ⁺	BF ₄ ⁻	C ₈ MIm- BF ₄	28 [237]	-
	Br ⁻	C ₁₀ MIm-Br	20 [246]–47 [247]	27 [241]–47 [240]
	BF ₄ ⁻	C ₁₀ MIm- BF ₄	0.11 mmol·mol ⁻¹ [242]	-
C ₁₂ MIm ⁺	Cl ⁻	C ₁₂ MIm-Cl	12 [248]–20 [249]	51–67 [250]
	Br ⁻	C ₁₂ MIm-Br	4.3 [246]–11 [251]	37 [252]–46 [241]
C ₁₄ MIm ⁺	Cl ⁻	C ₁₄ MIm-Cl	3.0 [250]–4.0 [248]	60–89 [250]
	Br ⁻	C ₁₄ MIm-Br	1.9 [253]–2.9 [252]	48 [252]–61 [254]
C ₁₆ MIm ⁺		C ₁₆ MIm-Br	0.51–2.7 [255]	64 [252]–76 [254]
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺		C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	0.1 [246]	-
C ₁₆ C ₄ Im ⁺		C ₁₆ C ₄ Im-Br	0.08–0.1 [246]	-
(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ ⁺	2·Br ⁻	(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	59 [206]	-
(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ ⁺		(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.66 [206]	-
(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ⁺		(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.19 [206]	-
(C ₈ Im) ₃ Am ⁺	3·Br ⁻	(C ₈ Im) ₃ Am-3Br	4.2 [206]	-
(C ₈ Im) ₃ Bn ⁺		(C ₈ Im) ₃ Bn-3Br	1.9 [206]	-
C ₁₂ MPyrr ⁺	Br ⁻	C ₁₂ MPyrr-Br	14 [256]	-
C ₁₄ MPyrr ⁺		C ₁₄ MPyrr-Br	3.3 [256]	-
C ₁₆ MPyrr ⁺		C ₁₆ MPyrr-Br	0.83 [256]	-
C ₁₈ MPyrr ⁺		C ₁₈ MPyrr-Br	0.25 [256]	-
C ₁₂ MPip ⁺		C ₁₂ MPip-Br	12 [257]	-
C ₁₄ MPip ⁺		C ₁₄ MPip-Br	3.2 [257]	-
C ₁₆ MPip ⁺		C ₁₆ MPip-Br	0.73 [257]	-
P _{14,4,4,4} ⁺	Cl ⁻	P _{14,4,4,4} -Cl	0.60 [258]	-
N _{12,1,1,1} ⁺		N _{12,1,1,1} -Cl	30 [259]	-
C ₈ Gu ⁺		C ₈ Gu-Cl	43 [216]	-
C ₁₀ Gu ⁺		C ₁₀ Gu-Cl	26 [216]	-

^a surfactante basado en ILs de tipo bianfílico^b anión dioctilsulfosuccinato

La CMC es la concentración a partir de la cual la sustancia empieza a agregarse y, por tanto, a actuar como surfactante. Para determinar esta concentración, generalmente se utiliza la medida de una propiedad física asociada a la disolución que indique este cambio. Así, la CMC es la concentración de surfactante correspondiente al máximo cambio de gradiente de la propiedad física medida [260]. Como propiedad física de medida se puede utilizar la tensión superficial, la fluorescencia del estado estacionario, la conductividad del medio y la densidad. En general, los surfactantes basados en ILs se caracterizan por poseer valores de CMC inferiores a la de surfactantes convencionales que poseen estructuras similares en cuanto a longitud de la cadena alquílica. De un modo general, la CMC de este tipo de surfactantes disminuye al aumentar la longitud de la cadena alquílica, independientemente de la posición en la que se encuentre. Asimismo, los surfactantes de tipo dicatiónico y tricatiónico poseen en general valores de CMC mucho más bajos que sus análogos monocatiónicos. Conviene señalar también el hecho de que la CMC se ve fuertemente afectada por las condiciones experimentales del sistema, incluyendo la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de otros disolventes orgánicos [227].

El N_{agg} representa el número de monómeros de surfactante necesarios para formar una micela, y determina indirectamente la forma tridimensional que adquiere la micela en disolución acuosa. El N_{agg} de un surfactante se ve afectado por el mismo tipo de condiciones experimentales que la CMC. En el caso de los surfactantes basados en ILs, conviene resaltar que el alargamiento de la cadena alquílica del surfactante conlleva a un aumento del N_{agg} .

2.3.3. Líquidos iónicos magnéticos

Los líquidos iónicos magnéticos (MILs) son un tipo de RTILs con estructuras diseñadas para incorporar un componente paramagnético, ya sea en el catión o en el anión [208,261]. Se trata de moléculas magnéticas que forman “líquidos o fluidos magnéticos puros”, pues son sales fundidas magnéticas y no disoluciones magnéticas de sales [262].

En lo que respecta a los fluidos magnéticos, se distingue entre fluidos paramagnéticos de primera generación y de segunda generación [263]. *Los fluidos paramagnéticos de primera generación*, también denominados fluidos ferromagnéticos o ferrofluidos, son suspensiones de materiales a escala nanométrica o micrométrica capaces

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

de actuar como imanes permanentes [262,263]. Estas suspensiones están formadas por partículas paramagnéticas dispersadas en un fluido portador, que en muchos casos es un surfactante. Por su parte, los *fluidos paramagnéticos de segunda generación* son materiales en los que el carácter magnético es conferido a escala atómica. Los MILs, por tanto, pueden incluirse dentro de este último grupo.

El carácter magnético de la mayoría de los MILs desarrollados se consigue mediante la incorporación de aniones paramagnéticos. En general, se utilizan aniones de complejos de metales de transición o de lantánidos [208,261]. Los aniones más utilizados están basados en complejos de Fe(III). Ejemplos de estos aniones son los aniones tetracloroferrato (III) (FeCl_4^-), tetrabromoferrato (III) (FeBr_4^-) y bromotricloroferrato (III) (FeBrCl_3^-). Sin embargo, los MILs basados en estos aniones son susceptibles de experimentar hidrólisis en medio acuoso (a temperatura ambiente) y presentan elevada absorbancia a longitudes de onda en la región del UV-Visible, lo cual puede ser una desventaja para su uso en determinadas aplicaciones [264]. Como alternativa a ellos, se han diseñado MILs que utilizan MnCl_4^{2-} como anión, que son más estables frente al pH que los anteriores y, por tanto, menos susceptibles a experimentar hidrólisis [265]. Otros tipos de MILs están basados en aniones de Co(II), Ni(II), Gd(III), Dy(III) o Nd(III) [266]. La Tabla 5 muestra algunos ejemplos de estructuras de diferentes MILs. Entre ellos, resultan especialmente interesantes los aniones basados en complejos de metales coordinados con el ligando hexafluoroacetilacetato (hfacac^-). El hfacac^- actúa como un ligando bidentado formando anillos quelatos con el metal central a través de los átomos de oxígeno de la molécula [266]. Estos nuevos MILs poseen los valores de viscosidad más bajos reportados para este tipo de materiales, lo cual resulta ventajoso en determinadas aplicaciones analíticas [266]. La Tabla 5 también incluye el tipo de cationes que se combinan con estos aniones paramagnéticos. La mayoría están basados en imidazolio, benzimidazolio, amonio o fosfonio. Sin embargo, también hay descritos MILs quirales basados en el catión L-alanina metil ester [271] o MILs de naturaleza dicatiónica o tricatiónica [272]. En el caso de MILs dicatiónicos, se han diseñado MILs que combinan el uso de un tipo de catión (dicatiónico) y un único tipo de anión paramagnético (en estequiometría 1:2), así como MILs basados en tres tipos de iones: catión, anión paramagnético y un tercer anión sin componente paramagnético capaz de modular las características de solubilidad del MIL [272].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Tabla 5. Ejemplos representativos de algunas de las combinaciones de cationes y aniones utilizados para generar MILs.

Anión	Catión	MIL	Referencia
FeCl ₄ ⁻	C ₄ MIm ⁺	C ₄ MIm-FeCl ₄	[267]
	(C ₃ COOH)MIm ⁺	(C ₃ COOH)MIm-FeCl ₄	[268]
	C ₄ Py ⁺	C ₄ Py-FeCl ₄	[267]
	C ₄ MPyr ⁺	C ₄ MPyr-FeCl ₄	[267]
	P _{4,4,4,12} ⁺	P _{4,4,4,12} -FeCl ₄	[269]
	N _{1,6,6,6} ⁺	N _{1,6,6,6} -FeCl ₄	[270]
	L-AlaM ⁺ ^a	L-AlaM-FeCl ₄	[271]
FeCl ₃ Br ⁻ , NTF ₂ ⁻	(BzIm) ₂ C ₁₂ ²⁺	(BzIm) ₂ C ₁₂ -FeCl ₃ Br,NTF ₂	[272]
	(C ₁₂ Im) ₃ ((M) ₃ Ph) ³⁺	(C ₁₂ Im) ₃ ((M) ₃ Ph)-3·FeCl ₃ Br	[272]
FeCl ₃ Br ⁻	N _{Bz,8,8,8} ⁺	N _{Bz,8,8,8} -FeCl ₃ Br	[272]
MnCl ₄ ²⁻	2·C ₄ MIm ⁺	(C ₄ MIm) ₂ -MnCl ₄	[273]
	2·N _{1,8,8,8} ⁺	(N _{1,8,8,8}) ₂ -MnCl ₄	[264]
	2·P _{6,6,6,14} ⁺	(P _{6,6,6,14}) ₂ -MnCl ₄	[264]
DyCl ₆ ³⁻	3·C ₄ MIm ⁺	(C ₄ MIm) ₃ -DyCl ₆	[273]
HoCl ₆ ³⁻		(C ₄ MIm) ₃ -HoCl ₆	[273]
Dy(NO ₃) ₄ ⁻	C ₄ MIm ⁺	C ₄ MIm- Dy(NO ₃) ₄	[274]
Sm(NO ₃) ₄ ⁻		C ₄ MIm- Sm(NO ₃) ₄	[274]
GdCl ₆ ⁻	P _{6,6,6,14} ⁺	P _{6,6,6,14} -GdCl ₆	[275]
Co(hfacac) ₃ ^{-b}		P _{6,6,6,14} -Co(hfacac) ₃	[266]
Mn(hfacac) ₃ ^{-b}		P _{6,6,6,14} -Mn(hfacac) ₃	[266]
Ni(hfacac) ₃ ^{-b}		P _{6,6,6,14} -Ni(hfacac) ₃	[266]
Dy(hfacac) ₄ ^{-b}		P _{6,6,6,14} -Dy(hfacac) ₄	[266]
Gd(hfacac) ₄ ^{-b}		P _{6,6,6,14} -Gd(hfacac) ₄	[266]
Nd(hfacac) ₄ ^{-b}		P _{6,6,6,14} -Nd(hfacac) ₄	[266]

^a catión L-alanina metil éster

^b siendo “hfacac” el ligando hexafluoroacetilacetato

El comportamiento que los MILs y otros fluidos paramagnéticos experimentan cuando se les aplica un campo magnético externo sigue los principios básicos de la física [262]. Considerando que se aplica un campo magnético externo (**H**) paralelo al fluido paramagnético en la interface fluido/aire, la densidad de flujo magnético (**B**, N·A⁻¹·m⁻¹, o Tesla) es un vector que tiene la misma dirección que el vector **H** generado en el fluido. La definición de **B** viene dada por la Ley de Fuerzas de Lorentz [262] a través de la Ecuación (24):

$$\mathbf{F} = q(\mathbf{E} + \mathbf{v} \times \mathbf{B}) \quad (24)$$

donde **F** (N) es la fuerza ejercida por una partícula cargada en movimiento en el campo magnético, *q* es la carga de la partícula, **E** es el campo eléctrico asociado y **v** es la velocidad de la partícula (m·s⁻¹).

La expresión anterior indica que la fuerza generada depende del medio que atraviesa el campo magnético \mathbf{H} y de la partícula cargada en movimiento. La permeabilidad del medio (μ , $\text{N}\cdot\text{A}^{-2}$) es una propiedad que mide esta dependencia y relaciona \mathbf{B} y \mathbf{H} :

$$\mathbf{B} = \mu\mathbf{H} \quad (25)$$

La permeabilidad del medio (μ) indica la facilidad con la que el campo magnético \mathbf{B} puede atravesar el fluido.

A nivel atómico, el spin de un electrón desapareado en un átomo puede considerarse como una partícula cargada en movimiento que genera un campo magnético similar al que genera una corriente eléctrica. Para algunos átomos, como hierro o cobalto, el spin actúa como un imán con magnetización \mathbf{M} ($\text{A}\cdot\text{m}^{-1}$). La magnetización mide la fuerza magnética del spin por unidad de volumen. Este comportamiento se extiende al caso de los MILs. Así, cuando se aplica un campo magnético externo, el spin se alinea de forma arbitraria. Para expresar la susceptibilidad magnética se utilizan diferentes parámetros tales como el volumen de susceptibilidad magnética y el momento magnético efectivo. El volumen de susceptibilidad magnética (χ_v) es una medida del efecto de aplicar un campo magnético externo y viene dado por la Ecuación (26):

$$\chi_v = \frac{M}{H} \quad (26)$$

Dentro del campo magnético, el alineamiento de spines cambia la permeabilidad magnética del medio según la Ecuación (27):

$$\mu = \mu_0 + \mu_0 \chi_v \quad (27)$$

donde μ_0 es la permeabilidad en el vacío.

El momento magnético efectivo (μ_{eff}) puede estimarse a partir del número de electrones desapareados de la molécula (S) utilizando la Ecuación (28):

$$\mu_{\text{eff}} \approx 2.0[0.5S(0.5 + 1)]^{\frac{1}{2}} \quad (28)$$

El μ_{eff} se mide en magnetones de Bohr (μ_B) y se relaciona con el volumen de susceptibilidad magnética según la ecuación (29):

$$\mu_{\text{eff}} = 797.8(\chi_v T V_m)^{1/2} \quad (29)$$

donde T es la temperatura (K) y V_m el volumen molar del fluido ($\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$).

En el caso de los MILs, la presencia de valores elevados de μ_{eff} resulta ventajoso en aplicaciones en las que estos materiales se manipulan con imanes. El μ_{eff} depende de la naturaleza del componente paramagnético. Sin embargo, diversos estudios señalan que la estructura del catión (pese a no poseer el componente magnético) puede afectar a la magnetización del MIL [261].

Además de la magnetización, los MILs presentan otras propiedades físico-químicas únicas debido a su carácter de IL. Entre ellas, destaca su solubilidad, estabilidad térmica y viscosidad.

En cuanto a la solubilidad, muchos MILs basados en aniones de complejos con haluros son hidrofílicos y pueden degradarse debido a procesos de hidrólisis en medio acuoso [261]. Sin embargo, recientemente se han desarrollado MILs con grupos funcionalizados en el catión o largas cadenas alquílicas, o MILs que contienen aniones hidrofóbicos como el NTf_2^- , que generan estructuras más hidrofóbicas insolubles en medio acuoso.

Por otra parte, los MILs están caracterizados por poseer una elevada estabilidad térmica debido a su carácter de IL. La estabilidad térmica se ve influenciada tanto por la estructura del catión como del anión. Las temperaturas de descomposición de los MILs varían desde los $\sim 160^\circ\text{C}$ hasta $\sim 320^\circ\text{C}$ [261].

La viscosidad de los MILs es fácilmente controlable mediante una adecuada selección del catión y/o anión de la estructura. Sin embargo, la existencia de impurezas o la presencia de moléculas de agua pueden alterar la viscosidad, por lo que los procesos de síntesis de MILs requieren de una adecuada purificación del producto. La temperatura, en cualquier caso, influye significativamente en la viscosidad [261].

2.3. Aplicaciones analíticas de los líquidos iónicos y derivados

Los ILs y sus derivados han mostrado su utilidad en una gran variedad de aplicaciones analíticas debido tanto a su versatilidad estructural como al conjunto de propiedades físico-químicas que estos materiales poseen. Así, tanto los ILs como sus derivados se han utilizado en técnicas de separación, en sistemas de detección y en técnicas de preparación de muestras, tanto en procedimientos de extracción como en microextracción. En el capítulo III de la presente Memoria se dará una visión amplia del

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

uso de ILs en técnicas de microextracción. De un modo resumido, se pueden destacar las siguientes aplicaciones de ILs y derivados:

- *Aplicaciones en técnicas de separación*

En *LC*, tanto ILs como surfactantes basados en ILs se han empleado en HPLC como modificadores de la fase móvil [276], como aditivos de las fases móviles para mejorar la separación de compuestos básicos [277] y como fases estacionarias [278]. Además, se han empleado surfactantes basados en ILs como pseudo-fases estacionarias en la modalidad de cromatografía líquida micelar (MLC) [259].

En *CCC*, varios RTILs se han empleado como fases estacionarias y como fases móviles (siendo ambas fases de naturaleza líquida en CCC) [279].

En *GC*, ILs, PILs y MILs han sido especialmente útiles para el desarrollo de novedosas fases estacionarias, caracterizadas por su habilidad para separar simultáneamente analitos de naturaleza polar y no polar [280]. La mayoría de fases estacionarias de esta naturaleza enlazan IL, PIL o MIL a sílice. Además, actualmente se comercializan diversos tipos de columnas capilares basadas en estos materiales [281].

En *CE*, los ILs se han empleado como electrolitos de fondo en electroforesis capilar en zona (CZE) [12]. Además, se han empleado diversos surfactantes basados en ILs como pseudo-fases estacionarias en cromatografía electrocinética micelar (MEKC) [282]. También, cabe destacar el empleo de surfactantes basados en ILs en diversas técnicas de preconcentración *on line* en CE [283].

- *Aplicaciones en sistemas de detección*

Los ILs se han empleado para la fabricación de sensores electroquímicos, en técnicas de espectrometría Vis, Infrarroja y Raman, y en espectrometría de masas.

Como *sensores*, se han empleado RTILs para la fabricación de microbalanzas de cristales de cuarzo [284] o membranas que actúan como sistemas sensibles a gases [285]. También, se han desarrollado *sensores electroquímicos* en los que se deposita una microgota de IL sobre la superficie del electrodo [286], o en los que se utiliza un composite de IL con diversos materiales (grafito, grafeno, CNTs, MNPs o polímeros) para crear un material más estable [287]. Diversos sensores de estos tipos se han empleado en combinación con componentes biológicos para la creación de biosensores [287].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

En *espectrometría Vis, Infrarroja y Raman*, los ILs se emplean como disolventes debido a que poseen unas propiedades ópticas únicas, que en ocasiones provocan un aumento de sensibilidad analítica [288].

En *espectrometría de masas (MS)*, se han empleado ILs como matrices en espectrometría de masas con desorción/ionización láser (MALDI-MS) [289]. También, se han empleado ILs como medios solubilizadores de compuestos para su posterior análisis mediante espectrometría de masas con ionización por electroespray (ESI-MS) [290].

- *Aplicaciones en técnicas de extracción y microextracción*

Tal y como se ha comentado en la Sección I.1, los ILs y derivados se han utilizado en técnicas de extracción y microextracción [12].

En general, se han empleado una gran variedad de ILs hidrofóbicos como disolventes de extracción tanto en LLE como en todas las modalidades de LPME (DLLME, SDME y HF-LPME) [45]. Del mismo modo, también destaca el empleo de ILs hidrofílicos como dispersantes en DLLME [291], en la modalidad de *in situ* DLLME [291], como disolventes de extracción en HS-SDME [181] y como componentes en las extracciones basadas en sistemas bifásicos acuosos (ABS) [292]. Los surfactantes basados en ILs también han sido empleados en algunas de las modalidades de LPME [291]. En cuanto a los MILs, han sido empleados en DLLME, tal y como se reflejará en esta Tesis Doctoral (Sección VI.1) [90], y en SDME (Sección VI.2) [192].

En las modalidades de SPE y microextracciones basadas en sorbentes sólidos, se han empleado distintos tipos de ILs, surfactantes basados en ILs y PILs como materiales extractantes. En estos casos, el empleo de ILs (o derivados) se consigue depositando el material sobre un soporte sólido [45]. De entre la gran variedad de aplicaciones descritas hasta la actualidad, destaca el empleo de PILs en SPME y el uso de surfactantes basados en ILs anclados en sólidos para μ -dSPE.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

I.3. Objetivos generales

Las tendencias actuales en Química Analítica dentro de lo que se conoce como GAC se dirigen, entre otros aspectos, a la mejora de la etapa de preparación de las muestras, que es en muchas ocasiones la etapa limitante del procedimiento analítico. Entre las estrategias utilizadas para mejorar esta etapa, destaca el desarrollo de metodologías de microextracción (tanto microextracción basada en sorbentes sólidos como LPME) y la sustitución de las fases extractantes convencionalmente empleadas por alternativas más eficaces y medioambientalmente más compatibles, como los ILs y sus derivados, fundamentalmente PILs, surfactantes basados en ILs y MILs.

Resulta de especial interés el combinar técnicas de microextracción con nuevos materiales, como los anteriormente citados, para el establecimiento de procedimientos de análisis de muestras de interés medioambiental y agroalimentario, en aras de desarrollar métodos que sigan las prioridades de la GAC y, al mismo tiempo, capaces de abordar el análisis de muestras con elevada complejidad y de naturaleza tanto sólida, líquida como gaseosa.

Los grupos de analitos a monitorizar en muestras de interés medioambiental o agroalimentario incluyen tanto especies de naturaleza orgánica como inorgánica. En muchos casos, se trata de compuestos de reconocida toxicidad para los seres vivos, capaces de causar efectos adversos en la salud humana y en los ecosistemas. La presencia de estas sustancias en muestras medioambientales es debida en gran medida a actividades antropogénicas, considerándose por ello fuente de contaminación. En muestras alimentarias, también es de interés la monitorización de compuestos responsables del aroma o de características nutricionales.

En cualquier caso, es necesario considerar que la mayoría de estos compuestos se encuentran a concentraciones muy bajas, del orden de los microgramos por litro o microgramos por gramo, o incluso nanogramos por litro o nanogramos por gramo. Es por ello que se precisa de técnicas con una capacidad de preconcentración elevada, como son las técnicas de microextracción, y, además, instrumentación de elevada sensibilidad, como es el caso de HPLC, cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC) y GC, para el caso de los contaminantes de naturaleza orgánica, y espectroscopía de absorción atómica (AAS) o plasma acoplado inductivamente (ICP), para los metales; entre otras.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Por todo ello, el objetivo central de la presente Tesis Doctoral ha sido el desarrollo de metodologías analíticas de microextracción en las que se utilicen ILs y derivados, así como materiales híbridos que los incluyan, como novedosos materiales extractivos, dirigiendo dichas metodologías al análisis de muestras de interés medioambiental y agroalimentario.

Para alcanzar este objetivo central, se han planteado los siguientes objetivos parciales:

- **La selección adecuada de un material, ya sea basado en ILs, PILs, surfactantes basados en ILs, DSILs, MILs, o materiales híbridos, para una determinación analítica concreta, fundamentalmente haciendo uso de SPME, μ -SPE, DLLME o SDME.**

La selección adecuada de un material de extracción basado en ILs dependerá de la naturaleza de la muestra y analitos a extraer, así como de la técnica de microextracción seleccionada y la posterior técnica de determinación del conjunto de analitos estudiados.

En el caso de las aplicaciones en las que se combina el uso de PILs con SPME, se diseñarán PILs entrecruzados y que contengan el anión NTf_2^- , entre otros, de forma que se obtengan materiales de elevada estabilidad térmica, para aplicaciones en las modalidades de HS-SPME, *vacuum* HS-SPME o DI-SPME, y en combinación con GC. Además, se combinará el empleo de PILs con otros materiales como los CNTs, generando materiales híbridos para SPME capaces de mejorar la eficacia extractiva y selectividad de los materiales basados exclusivamente en PILs.

En cuanto a las aplicaciones en las que se emplean surfactantes basados en ILs en $m\text{-}\mu\text{-dSPE}$, se seleccionarán ILs simétricos y con largas cadenas alquílicas, ILs dicatiónicos o DSILs, caracterizados por poseer bajos valores de CMC, de forma que se minimice la cantidad de material utilizado durante la extracción. Estas aplicaciones también requieren de la combinación del surfactante basado en IL o DSIL con MNPs de Fe_3O_4 , para mejorar la metodología con el empleo de materiales híbridos.

Por otro lado, las metodologías de DLLME más convencionales basadas en ILs requieren de la selección de un IL de naturaleza hidrofóbica como material de extracción. Por su parte, los métodos de *in situ* DLLME requieren de un IL (aunque también puede utilizarse un surfactante basado en ILs) hidrofílico, el cual es transformado en un IL hidrofóbico durante la extracción por medio de una reacción de metátesis.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Las metodologías que utilizan MILs tanto en DLLME como en SDME requieren del diseño de MILs de naturaleza hidrofóbica, bajos puntos de fusión y elevada susceptibilidad magnética. Para mejorar la hidrofobicidad, algunos de los MILs seleccionados serán de naturaleza dicatiónica, combinando el empleo de un anión paramagnético y NTf_2^- . En cuanto a la viscosidad del MILs, debe ser relativamente baja en DLLME, para asegurar una adecuada dispersión del material en la muestra; y relativamente alta en HS-SDME y *vacuum* HS-SDME, favoreciendo de esta forma que el MIL se mantenga adherido al imán durante toda la extracción.

- **La síntesis y caracterización del correspondiente material (en su caso).**

Se pretende la síntesis adecuada del conjunto de ILs, PILs, surfactantes basados en ILs, DSILs, MILs o materiales híbridos seleccionados en la etapa anterior. Los métodos de preparación de estos materiales en general requerirán de dos etapas principales: la síntesis del material y su posterior purificación y caracterización.

Una caracterización adecuada de los materiales seleccionados se llevará a cabo generalmente haciendo uso de técnicas de MS, resonancia magnética nuclear (RMN), y espectrometría de absorción UV-Visible o Raman, entre otras. En la caracterización de nuevos materiales basados en ILs, como el caso de algunos surfactantes basados en ILs dicatiónicos y tricatiónicos, será importante no sólo la caracterización convencional sino la determinación de sus parámetros micelares (CMC o N_{agg}), así como estudiar la influencia de otros disolventes orgánicos en el sistema agua-IL.

- **La optimización y estudio de las variables más significativas en las estrategias metodológicas que hagan uso de estos novedosos materiales.**

Con este objetivo parcial se pretende la aplicación de métodos de optimización de las variables que ejercen una mayor influencia en el método microextractivo seleccionado. Entre los métodos de optimización utilizados, se empleará tanto el método más clásico de optimización factor a factor como el diseño experimental. Como criterio general durante la optimización se buscará maximizar la eficacia extractiva del método. Sin embargo, también se considerarán otros factores como la minimización del tiempo de extracción, la reducción del consumo de disolventes o la seguridad del operador.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- **La evaluación de la eficacia de los nuevos materiales en la metodología de microextracción seleccionada.**

Entre otros objetivos, se persigue extender el uso de los materiales basados en ILs y derivados en técnicas de microextracción. En ese sentido, los métodos desarrollados deben cumplir adecuadas exigencias de exactitud, precisión, sensibilidad y eficacia extractiva, de forma que sean comparables o incluso mejores que métodos de microextracción análogos que utilicen materiales de extracción convencionales.

- **La puesta a punto y validación de las metodologías analíticas que hagan uso de estos materiales, en combinación con técnicas analíticas (HPLC, GC o FAAS).**

Una vez se confirme la adecuada eficacia de la técnica en combinación con el tipo de material seleccionado, será necesario la validación de la metodología analítica mediante la construcción de las correspondientes curvas de calibrado, estudio de la reproducibilidad y evaluación del efecto matriz.

También, será necesario la puesta a punto y validación del método de HPLC, GC o AAS con el que se combine la técnica microextractiva.

- **El desarrollo de aplicaciones de interés en muestras medioambientales y agroalimentarias.**

El objetivo final de la presente Tesis Doctoral es la determinación de contaminantes (tanto compuestos orgánicos como metales) en muestras medioambientales, así como la determinación de compuestos de elevado valor nutricional y organoléptico en muestras de interés agroalimentario, haciendo uso de las metodologías microextractivas desarrolladas con los materiales seleccionados.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

En relación a estos objetivos, el contenido de la presente Tesis Doctoral se ha dividido en siete capítulos fundamentales:

Capítulo I: Introducción general, en el que se han presentado las técnicas de microextracción y el uso de nuevos materiales basados en ILs y derivados.

Capítulo II: Experimental, en el que se describe el conjunto de materiales, reactivos, instrumentación, procedimientos de síntesis y caracterización de los ILs (y derivados), y metodologías analíticas desarrolladas.

Capítulo III: Aspectos teóricos en el empleo de ILs en microextracción, en el que se dará una visión general del empleo de ILs y derivados en microextracción.

Capítulo IV: Aplicaciones basadas en el uso de PILs, que describen el desarrollo de metodologías analíticas basadas en el uso de dichos materiales en combinación con SPME.

Capítulo V: Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en ILs, en el que se incluye el desarrollo y caracterización de nuevos surfactantes basados en ILs y el empleo de estos materiales en técnicas microextractivas.

Capítulo VI: Aplicaciones basadas en el uso de MILs, en el que se resumen el conjunto de métodos microextractivos empleando este tipo de novedosos disolventes de extracción.

Capítulo VII: Conclusiones, en el que se resumen las conclusiones obtenidas durante el desarrollo de Tesis Doctoral.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Bibliografía

- [1] E.A. Souza-Silva, R. Jiang, A. Rodríguez-Lafuente, E. Gionfriddo, J. Pawliszyn, *Trends Anal. Chem.* 71 (2015) 224–235.
- [2] M. de la Guardia, S. Garrigues, *Trends Environ. Anal. Chem.* 3–4 (2014) 7–13.
- [3] J. Namieśnik, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 30 (2000) 221–269.
- [4] M. de la Guardia, K.D. Khalaf, V. Carbonell, A. Morales-Rubio, *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 462–468.
- [5] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, *Trends Anal. Chem.* 50 (2013) 78–84.
- [6] S. Armenta, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Green Microextraction*, in: M. Valcárcel, S. Cárdenas, R. Lucena (Eds.), *Analytical Microextraction Techniques*, Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE, 2017, pp. 3–27.
- [7] K. Mogolodi Dimpe, P.N. Nomngongo, *Trends Anal. Chem.* 82 (2016) 199–207.
- [8] M.L. Leong, M.R. Fuh, S.D. Huang, *J. Chromatogr. A* 1335 (2014) 2–14.
- [9] A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Talanta* 119 (2014) 34–45.
- [10] M. He, B. Chen, B. Hu, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 2001–2026.
- [11] E.A.S. Silva, S. Risticovic, J. Pawliszyn, *Trends Anal. Chem.* 43 (2013) 24–36.
- [12] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *Ionic liquids in the microextraction context* in: M. Valcárcel, S. Cárdenas, R. Lucena (Eds.), *Analytical Microextraction Techniques*, Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE, 2017, pp. 70–134.
- [13] Y. Li, A.S. Fabiano-Tixier, M.A. Vian, F. Chemat, *Trends Anal. Chem.* 47 (2013) 1–11.
- [14] M. Tobiszewski, A. Mechlińska, J. Namieśnik, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 2869–2878.
- [15] V.N. Zaitsev, M.F. Zui, *J. Anal. Chem.* 69 (2014) 715–727.
- [16] X. Luo, G. Li, Y. Hu, *Talanta* 165 (2017) 377–383.
- [17] F.M. Lancas, M.E.C. Queiroz, P. Grossi, I.R.B. Olivares, *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 813–824.
- [18] X. Huang, L. Chen, F. Lin, D. Yuan, *J. Sep. Sci.* 34 (2011) 2145–2151.
- [19] Y. Wen, L. Chen, J. Li, D. Liu, L. Chen, *Trends Anal. Chem.* 59 (2014) 26–41.
- [20] N.R. Neng, A.R.M. Silva, J.M.F. Nogueira, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7303–7310.
- [21] S. Bigham, J. Medlar, A. Kabir, C. Shende, A. Alli, A. Malik, *Anal. Chem.* 74 (2002) 752–761.
- [22] J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. Sci.* 38 (2000) 270–278.
- [23] T.-T. Wang, Y.-H. Chen, J.-F. Ma, M.-J. Hu, Y. Li, J.-H. Fang, H.-Q. Gao, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 4955–4963.
- [24] S. Ansari, M. Karimi, *Talanta* 164 (2017) 612–625.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [25] Y. Shintania, X. Zhou, M. Furuno, H. Minakuchib, K. Nakanishi, J. Chromatogr. A 985 (2003) 351–357.
- [26] X.J. Huang, D.X. Yuan, J. Chromatogr. A 1154 (2007) 152–157.
- [27] X.J. Huang, N.N. Qiu, D.X. Yuan, Q.M. Lin, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2667–2673.
- [28] J.M. Florêncio Nogueira, Stir bar sorptive extraction and related techniques in: M. Valcárcel, S. Cárdenas, R. Lucena (Eds.), Analytical Microextraction Techniques, Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE, 2017, pp. 219–240.
- [29] H. Yan, H. Wang, J. Chromatogr. A 1295 (2013) 1–15.
- [30] J.M. Kolosa, Trends Anal. Chem. 71 (2015) 194–204.
- [31] D. Han, B. Tang, Y.R. Lee, K.H. Row, J. Sep. Sci. 35 (2012) 2949–2961.
- [32] Y. Meng, J.L. Anderson, Use of unconventional solvents for sample preparation in environmental analysis in: J. Pawliszyn (Ed.), Comprehensive sampling and sample preparation, Volume 3: Extraction techniques and applications: biological/medical and environmental/forensics, Elsevier, 2012, MA, USA, pp. 943–970.
- [33] L.A. Catherine, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62 (1990) 2145–2148.
- [34] M.J. Trujillo-Rodríguez, H. Yu, W.T.S. Cole, T.D. Ho, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, Talanta (2014) 153–162.
- [35] J. Jia, X. Liang, L. Wang, Y. Guo, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A 1320 (2013) 1–9.
- [36] M. Cordero-Vaca, M.J. Trujillo-Rodríguez, C. Zhang, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, Anal. Bioanal. Chem. 407 (2015) 4615–4627.
- [37] J. Feng, M. Sun, L. Xu, J. Li, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 7758–7764.
- [38] Sigma-Aldrich: Selection guide for Supelco SPME fibers, <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytical/selecting-spme-fibers.html#fiber>, Accedido 22 Abril 2017.
- [39] J. Pawliszyn, Handbook of solid phase microextraction, Elsevier, Waltham, MA, USA, 2012.
- [40] Restek Corporation, Restek PAL SPME fibers, <http://www.restek.com/catalog/view/47352>, Accedido 22 Abril 2017.
- [41] V. Mani, Properties of commercial SPME coatings in; J. Pawliszyn (Ed). Applications of solid phase microextraction, Royal Society of Chemistry, Cornwall, United Kingdom, 1999, pp. 57–72.
- [42] H. Kataoka, H.L. Lord, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 880 (2000) 35–62.
- [43] M. Ahmadi, H. Elmongy, T. Madrakian, M. Abdel-Rehim, Anal. Chim. Acta 958 (2017) 1–21.
- [44] P. Rocío-Bautista, I. Pacheco-Fernández, J. Pasán, V. Pino, Anal. Chim. Acta 939 (2016) 26–41.
- [45] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, Anal. Chem. 86 (2014) 262–285.
- [46] H. Yuan, W.M. Mullett, J. Pawliszyn, Analyst 126 (2001) 1456–1461.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [47] F.A. Esteve-Turrillas, J.V. Mercader, C. Agulló, A. Abad-Somovilla, A. Abad-Fuentes, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 4902–4909.
- [48] L. Mu, X. Hu, J. Wen, Q. Zhou, *J. Chromatogr. A* 1279 (2013) 7–12.
- [49] S.N. Aslipashaki, T. Khayamian, Z. Hashemian, *J. Chromatogr. B* 925 (2013) 26–32.
- [50] E.H.M. Koster, C. Crescenzi, W. den Hoedt, K. Ensing, G.J. de Jong, *Anal. Chem.* 73 (2001) 3140–3145.
- [51] B. Gao, Y. Li, Z. Zhang, *J. Chromatogr. B* 878 (2010) 2077–2086.
- [52] X. Chang, N. Jiang, H. Zheng, Q. He, Z. Hu, Y. Zhai, Y. Cui, *Talanta* 71 (2007) 38–43.
- [53] X.-Y. Song, J. Chen, Y.-P. Shi, *Trends Anal. Chem.* 86 (2017) 263–275.
- [54] B. Feist, *Food Chem.* 209 (2016) 37–42.
- [55] H. Amanzadeh, Y. Yamini, M. Moradi, Y.A. Asl, *J. Chromatogr. A* 1465 (2016) 38–46.
- [56] H. Tabani, A.R. Fakhari, A. Shahsavani, M. Behbahani, M. Salarian, A. Bagheri, S. Nojavan, *J. Chromatogr. A* 1300 (2013) 227–235.
- [57] J. Muñoz, M. Gallego, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1055 (2004) 185–190.
- [58] J.M. Jiménez-Soto, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 5626–5633.
- [59] N. Eskandarpour, H. Sereshti, H. Najarzadekan, H. Gaikani, *J. Sep. Sci.* 39 (2016) 4637–4644.
- [60] L. Chu, S. Zheng, B. Qu, S. Geng, X. Kang, *Food Chem.* 227 (2017) 315–321.
- [61] I. Saeedi, P. Hashemi, Z. Ramezani, A. Badiei, *Anal. Methods* 7 (2015) 10185–10191.
- [62] M. Krawczyk, S. Akbari, M. Jeszka-Skowron, E. Pajootanb, F. Shahamati Fard, *J. Anal. At. Spectrom.* 31 (2016) 1505–1514.
- [63] A. Gutiérrez-Serpa, P. Rocío-Bautista, V. Pino, F. Jiménez-Moreno, A.I. Jiménez-Abizanda, *J. Sep. Sci.* 40 (2017) 2009–2021.
- [64] C. Jiang, Y. Sun, X. Yu, Y. Gao, L. Zhang, Y. Wang, H. Zhang, D. Song, *Talanta* 114 (2013) 167–175.
- [65] Q. Wang, L. Huang, P. Yu, J. Wang, S. Shen, *J. Chromatogr. B* 912 (2013) 33–37.
- [66] G. Wang, Y. Lei, H. Song, *Talanta* 144 (2015) 369–374.
- [67] S. Yang, C. Chen, Z. Yan, Q. Cai, S. Yao, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 1283–1290.
- [68] Q. Wen, Y. Wang, K. Xu, N. Li, H. Zhang, Q. Yang, *Anal. Chim. Acta* 939 (2016) 54–63.
- [69] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 8753–8764.
- [70] J. He, M.M. Giusti, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 7914–7922.
- [71] J. Ashley, M.-A. Shahbazi, K. Kant, V.A. Chidambara, A. Wolff, D.D. Bangb, Y. Sun, *Biosens. Bioelectron.* 91 (2017) 606–615.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [72] J. Płotka-Wasyłka, N. Szczepańska, M. de la Guardia, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 77 (2016) 23–43.
- [73] F. Du, L. Guo, Q. Qin, X. Zheng, G. Ruan, J. Li, G. Li, Trends Anal. Chem. 67 (2015) 134–146.
- [74] A. Mehdinia, M.O. Aziz-Zanjani, Trends Anal. Chem. 51 (2013) 13–22.
- [75] F. Du, M.N. Alam, J. Pawliszyn, Anal. Chim. Acta 845 (2014) 45–52.
- [76] E.H.M. Koster, C. Crescenzi, W. den Hoedt, K. Ensing, G.J. de Jong, Anal. Chem. 73 (2001) 3140–3145.
- [77] A. Ameli, N. Alizadeh, Anal. Chim. Acta 707 (2011) 62–68.
- [78] D. Djozan, T. Baheri, J. Chromatogr. A 1166 (2007) 16–23.
- [79] X.-F. Chen, H. Zang, X. Wang, J.-G. Cheng, R.-S. Zhao, C.-G. Cheng, X.-Q. Lu, Analyst 137 (2012) 5411–5419.
- [80] S.-H. Huo, J. Yu, Y.-Y. Fu, P.-X. Zhou, RSC. Adv. 6 (2016) 14042–14048.
- [81] Y. Deng, I. Beadham, M. Ghavre, M.F. Costa Gomes, N. Gathergood, P. Husson, B. Légeret, B. Quilty, M. Sancelme, P. Besse-Hoggan, Green Chem. 17 (2015) 1479–1491.
- [82] J. Yuan, D. Mecerreyes, M. Antonietti, Prog. Polym. Sci. 38 (2013) 1009–1036.
- [83] Z. Zhang, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 65 (1993) 1843–1852.
- [84] Z. Zhang, J. Poerschmann, J. Pawliszyn, Anal. Commun. 33 (1996) 219–221.
- [85] M.T. Tena, J.D. Carrillo, Trends Anal. Chem. 26 (2007) 206–214.
- [86] A.R. Ghiasvand, N. Heidari, Chromatographia 79 (2016) 1187–1195.
- [87] E. Psillakis, E. Yiantzi, L. Sanchez-Prado, N. Kalogerakis, Anal. Chim. Acta 742 (2012) 30–36.
- [88] J. Merib, G. Nardini, J. Nunes Bianchin, A. Neves Dias, V. Simao, E. Carasek, J. Sep. Sci. 36 (2013) 1410–1417.
- [89] A.R. Ghiasvand, S. Hosseinzadeh, J. Pawliszyn. J. Chromatogr. A 1124 (2006) 35–42.
- [90] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, E. Psillakis, J.L. Anderson, J.H. Ayala, E. Yiantzi, A.M. Afonso, Anal. Chim. Acta 962 (2017) 41–51.
- [91] D. Louch, S. Motlagh, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 64 (1992) 1187–1119.
- [92] T. Górecki, X. Yu, J. Pawliszyn, Analyst 124 (1999) 643–649.
- [93] J. Pawliszyn, Solid Phase Microextraction: Theory and Practice, Willey-VCH Inc., New York, 1997.
- [94] S. Risticvic, V.H. Niri, D. Vuckovic, J.Pawliszyn, Anal. Bioanal. Chem. 393 (2009) 781–795.
- [95] G. Vas, K. Vékey, J. Mass Spectrom. 39 (2004) 233–254.
- [96] I. Pacheco-Fernández, A. Najafi, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, Talanta 158 (2016) 125–133.
- [97] X. Zhang, S. Xu, J.-M. Lim, Y.-I. Lee, Talanta 99 (2012) 270–276.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [98] Sigma-Aldrich, SPE cartridge (tube) configuration guide, <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spe/tube-configuration-guide.html>, Accedido 22 Abril 2017.
- [99] N.T. Ng, M.M. Sanagi, W.N.W. Ibrahim, W.A.W Ibrahim, *Food Chem.* 222 (2017) 28–34.
- [100] I. Machado, N. Gérez, M. Pistón, H. Heinzen, M.V. Cesio, *Food Chem.* 227 (2017) 227–236.
- [101] Sigma-Aldrich, SPE cartridges (tubes) phase selection guide, <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spe/phase-selection.html>, Accedido 22 Abril 2017.
- [102] Sigma-Aldrich, Bulletin 910: Guide to solid phase extraction, <http://www.sigmaaldrich.com/>, Accedido 22 Abril 2017.
- [103] N.J.K. Simpson, *Solid-phase extraction: principles, techniques, and applications*, Varian Associates, Inc., CF, USA, 2000.
- [104] F. Augusto, L.W. Hantao, N.G.S. Mogollón, S.C.G.N. Braga, *Trends Anal. Chem.* 43 (2013) 14–23.
- [105] L. Qiao, X. Shi, G. Xu, *Trends Anal. Chem.* 81 (2016) 23–33.
- [106] Y. Li, Z. Wang, S. De Saeger, W. Shi, C. Li, S. Zhang, X. Cao, J. Shen, *Methods* 56 (2012) 192–197.
- [107] S. Chigome, N. Torto, *Trends Anal. Chem.* 38 (2012) 21–31.
- [108] Y. Li, Y. Drabsch, P. Pujuguet, J. Ren, T. van Laar, L. Zhang, H. van Dam, P. Clément-Lacroix, P. ten Dijke, *Breast Cancer Res. Treat.* 17 (2015) 28–44.
- [109] Y. Xu, D. Zhao, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 2369–2375.
- [110] S. Gangula, S.-Y. Suen, E.D. Conte, *Microchem. J.* 95 (2010) 2–4.
- [111] A. García-Prieto, L. Lumar, S. Rubio, D. Pérez-Bendito, *Analyst* 131 (2006) 407–414.
- [112] M. Roldán-Pijuán, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Microchem. J.* 115 (2014) 87–94.
- [113] A. Hussain, M.F. Alajmi, I. Ali, *Biomed. Chromatogr.* 30 (2016) 1935–1941.
- [114] N.T. Tavengwa, P. Nyamukamba, E. Cukrowska, L. Chimuka, *J. Sep. Sci.* 39 (2016) 4819–4827.
- [115] X.S. Li, S. Li, G. Kellermann, *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 2859–2871.
- [116] X. Yang, Y. Hu, G. Li, Z. Zhang, *J. Sep. Sci.* 38 (2015) 1380–1387.
- [117] A. González, J. Avivar, F. Maya, C. Palomino Cabello, G. Turnes Palomino, V. Cerdà, *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 225–234.
- [118] E.M. Thurman, K. Snavely, *Trends Anal. Chem.* 19 (2000) 18–26.
- [119] R.E. Majors, *LC GC North America* 19 (2001) 684–687.
- [120] A. Andrade-Eiroa, M. Canle, V. Leroy-Cancellieri, V. Cerdà, *Trends Anal. Chem.* 80 (2016) 641–654.
- [121] M. Trojanowicz, K. Kołacińska, *Analyst* 141 (2016) 2085–2139.
- [122] M. Serrano, M. Bartolomé, J.C. Bravo, G. Paniagua, J. Gañan, A. Gallego-Picó, R.M. Garcinuño, *Talanta* 166 (2017) 375–382.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [123] C. Seger, K. Tentschert, W. Stöggel, A. Griesmacher, S.L. Ramsay, *Nat. Protoc.* 4 (2009) 526–534.
- [124] J. Płotka-Wasyłka, N. Szczepańska a, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *Trends Anal. Chem.* 73 (2015) 19–38.
- [125] M. Cruz-Vera, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Anal. Methods* 3 (2011) 1719–1728.
- [126] M. Dastkhon, M. Ghaedi, A. Asfaram, M. Arabi, A. Ostovan, A. Goudarzi, *Ultrason. Sonochem.* 36 (2017) 42–49.
- [127] P. Rocío-Bautista, V. Pino, Extraction methods facilitated by the use of magnetic nanoparticles in: J.L. Anderson, A. Berthod, V. Pino, A. Stalcup (Eds.), *Analytical Separation Science*, vol. 5, John Wiley & Sons, NJ, USA, 2015, pp. 1681–1724.
- [128] A. Andrade-Eiroa, T. Le-Cong, M.-L. Nguyen, P. Dagaut, *CheM* 1 (2011) 62–79.
- [129] M. Marczak, L. Wolska, W. Chrzanowski, J. Namieśnik, *Microchim. Acta* 155 (2006) 331–348.
- [130] A. Andrade-Eiroa, R. Shahla, M.N. Romanías, P. Dagaut, *RSC Adv.* 4 (2014) 33636–33644.
- [131] L. Vidal, M.-L. Riekkola, A. Canals, *Anal. Chim. Acta* 715 (2012) 19–41.
- [132] M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, *J. Chromatogr. A* 1116 (2006) 1–9.
- [133] A. Zgoła-Grześkowiak, T. Grześkowiak, *Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 1382–1399.
- [134] S.M. Sorouraddin, S. Nouri, *Anal. Methods* 8 (2016) 1396–1404.
- [135] C. Bosch Ojeda, F. Sánchez Rojas, *Chromatographia* 77 (2014) 745–754.
- [136] S. Wang, R. Yang, F. Ji, H. Li, J. Dong, W. Chen, *Talanta* 166 (2017) 315–320.
- [137] M. Hu, L. Wu, Y. Song, Z. Li, Q. Ma, H. Zhang, Z. Wang, *Food Anal. Methods* 9 (2016) 2124–2132.
- [138] S. Clavijo, J. Avivar, R. Suárez, V. Cerdà, *J. Chromatogr. A* 1443 (2016) 26–34.
- [139] Q. Zhoua, H. Bai, G. Xie, J. Xiao, *J. Chromatogr. A* 1188 (2008) 148–153.
- [140] J. Płotka-Wasyłk, K. Owczarek, J. Namieśnik, *Trends Anal. Chem.* 85 (2016) 46–64.
- [141] W. Ahmad, A.A. Al-Sibaai, A.S. Bashammakh, H. Alwael, M.S. El-Shahawi, *Trends Anal. Chem.* 72 (2015) 181–192.
- [142] K. Molaei, A. A. Asgharinezhad, H. Ebrahimzadeh, N. Shekari, N. Jalilian, Z. Dehghani, *J. Sep. Sci.* 38 (2015) 3905–3913.
- [143] R.-S. Zhao, X. Wang, J. Sun, C. Hu, X.-K. Wang, *Microchim. Acta* 174 (2011) 145–151.
- [144] E. Yilmaz, M. Soylak, *Turk. J. Chem.* 40 (2016) 868–893.
- [145] M.-I. Leong, C.-C. Chang, M.-R. Fuh, S.-D. Huang, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 5455–5461.
- [146] Y.-S. Su, J.-F. Jen, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 5043–5049.
- [147] P. Hashemi, S. Beyranvand, R.S. Mansur, A.R. Ghiasvand, *Anal. Chim. Acta* 655 (2009) 60–65.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [148] M.A. Farajzadeh, S.E. Seyedi, M.S. Shalamzari, M. Bamorowat, *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 3191–3210.
- [149] J.M. Kokosa, A. Przyjazny, M.A. Jeannot, Theory of solvent microextraction in: J.M. Kokosa, A. Przyjazny, M.A. Jeannot (Eds.) *Solvent microextraction: theory and practice*, John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA, 2009, pp. 37–66.
- [150] R.P. Schwarzenbach, P.M. Gschwend, D.M. Imboden, Quantitative approaches to estimate bulk phase partition constants/coefficients: linear free energy relationships (LFERs) in: R.P. Schwarzenbach, P.M. Gschwend, D.M. Imboden (Eds.): *Environmental organic chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA, 2003, pp. 223–235.
- [151] X. Li, K.H. Row, *J. Sep. Sci.* 39 (2016) 3505–3520.
- [152] M.A. Farajzadeh, M.R.A. Mogaddam, B. Feriduni, *RSC Adv.* 6 (2016) 47990–47996.
- [153] J. An, M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1500 (2017) 1–23.
- [154] H.D. de Faria, L.C. de Carvalho Abrão, M. Gonçalves Santos, A.F. Barbosa, E. Costa Figueiredo, *Anal. Chim. Acta* 959 (2017) 43–65.
- [155] M.-I. Leong, S.-D. Huang, *J. Chromatogr. A* 1211 (2008) 8–12.
- [156] W. Jiang, X. Chen, F. Liu, X. You, J. Xue, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 3157–3163.
- [157] J. Ye, Z. Yao, Z. Wang, J. Nie, Z. Li, *Anal. Methods* 8 (2016) 6194–6201.
- [158] A. Saleh, Y. Yamini, M. Faraji, M. Rezaee, M. Ghambarian, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 6673–6679.
- [159] X.-Z. Hu, J.-H. Wu, Y.-Q. Feng, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7010–7016.
- [160] M.A. Farajzadeh, A. Mohebbi, B. Feriduni, *Anal. Chim. Acta* 920 (2016) 1–9.
- [161] M.A. Farajzadeh, M.R.A. Mogaddam, *Anal. Chim. Acta* 728 (2012) 31–38.
- [162] F. Maya, B. Horstkotte, J.M. Estela, V. Cerdà, *Trends Anal. Chem.* 59 (2014) 1–8.
- [163] V. Andruch, C.C. Acebal, J. Škrliková, H. Sklenářová, P. Solich, I.S. Balogh, F. Billes, L. Kocúrová, *Microchem. J.* 100 (2012) 77–82.
- [164] F. Maya, J.M. Estela, V. Cerdà, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 1383–1388.
- [165] E.M. Martinis, L.B. Escudero, P. Berton, R.P. Monasterio, M.F. Filippini, R.G. Wuilloud, *Talanta* 85 (2011) 2182–2188.
- [166] A.N. Anthemidis, K.-I.G. Ioannou, *Anal. Bioanal. Chem.* 404 (2012) 685–691.
- [167] J. Zhang, M. Li, M. Yang, B. Peng, Y. Li, W. Zhou, H. Gao, R. Lu, *J. Chromatogr. A* 1254 (2012) 23–29.
- [168] M.J. Trujillo-Rodríguez, O. Nacham, K.D. Clark, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *Anal. Chim. Acta* 934 (2016) 106–113.
- [169] C. Yao, J.L. Anderson, *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (2009) 1491–1502.
- [170] J.F. Ayala-Cabrera, M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, O.M. Hernández-Torres, A.M. Afonso, J. Sirieix-Plénet, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 407 (2015) 8753–8764.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [171] J.M. Kokosa, A. Przyjazny, M.A. Jeannot, Practical considerations for using solvent microextraction in: J.M. Kokosa, A. Przyjazny, M.A. Jeannot (Eds.) Solvent microextraction: theory and practice, John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA, 2009, pp. 67–100.
- [172] C.F. Nascimento, M.A.S. Brasil, S.P.F. Costa, P.C.A.G. Pinto, M.L.M.F.S. Saraiva, F.R.P. Rocha, Talanta 144 (2015) 1189–1194.
- [173] M.D.M. Abadi, M. Chamsaz, M.H. Arbab-Zavar, Asian J. Chem. 7 (2013) 3984–3988.
- [174] L. Xu, C. Basheer, H.K. Lee, J. Chromatogr. A 1152 (2007) 184–192.
- [175] M.A. Jeannot, A. Przyjazny, J.M. Kokosa, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2326–2336.
- [176] S. Liu, P.K. Dasgupta, Anal. Chem. 67 (1995) 2042–2049.
- [177] M.A. Jeannot, F.F. Cantwell, Anal. Chem. 68 (1996) 2236–2240.
- [178] L. Kocúrová, I.S. Balogh, V. Andruch, J. Sep. Sci. 36 (2013) 3758–3768.
- [179] Z.A. ALOthmana, M. Dawod, J. Kim, D.S. Chung, Anal. Chim. Acta 739 (2012) 14–24.
- [180] R. Battle, C. Nerín, J. Chromatogr. A 1045 (2004) 29–35.
- [181] Ł. Marcinkowski, F. Pena-Pereira, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 72 (2015) 153–168.
- [182] B. Tang, W. Bi, H. Zhang, K.H. Row, Chromatographia 77 (2014) 373–377.
- [183] X. Wen, Q. Deng, J. Wang, S. Yang, X. Zhao, Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr. 105 (2013) 320–325.
- [184] X. Zhang, M.R. Jacob, R. Ranga Rao, Y.H. Wang, A.K. Agarwal, D.J. Newman, I.A. Khan, A.M. Clark, X.C. Li, Res. Rep. Med. Chem. 3 (2013) 9–10.
- [185] R. Čabala, M. Bursová, J. Chromatogr. A 1230 (2012) 24–29.
- [186] D.B.G. Williams, M.J. George, R. Meyer, L. Marjanovic, Anal. Chem. 83 (2011) 6713–6716.
- [187] K. Agrawal, H.-F. Wu, Rapid Commun. Mass Spectrom. 21 (2007) 3352–3356.
- [188] W. Liu, H.K. Lee, Anal. Chem. 72 (2000) 4462–4467.
- [189] Y. He, H.K. Lee, J. Chromatogr. A 1122 (2006) 7–12.
- [190] G. Fakhriyan, H.Z. Mousavi, S.M. Sajjadi, Anal. Methods 8 (2016) 5070–5078.
- [191] J. An, K.L. Rahn, J.L. Anderson, Talanta 167 (2017) 268–278.
- [192] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, J.L. Anderson, Talanta (2017) in press, DOI: 10.1016/j.talanta.2017.05.021.
- [193] I. Costas-Mora, V. Romero, I. Lavilla, C. Bendicho, Anal. Chim. Acta 788 (2013) 114–121.
- [194] M.Ma, F.F. Cantwell, Anal. Chem. 71 (1999) 388–393.
- [195] Y. Wang, Y.C. Kwok, Y. He, H.K. Lee, Anal. Chem. 70 (1998) 4610–4614.
- [196] X. Wang, K. Yuan, H. Liu, L. Lin, T. Luan, J. Sep. Sci. 37 (2014) 1842–1849.
- [197] M. Alexovič, B. Horstkotte, P. Solich, J. Sabo, Anal. Chim. Acta 906 (2016) 22–40.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [198] R.J. Soukup-Hein, M.M. Warnke, D.W. Armstrong, *Annu. Rev. Anal. Chem.* 2 (2009) 145–168.
- [199] S. Pandey, *Anal. Chim. Acta* 556 (2006) 38–45.
- [200] P. Walden, *Bull. Acad. Sci.* 1800 (1914) 405–422.
- [201] J.S. Wilkes, M.J. Zaworotko, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1992) 965–967.
- [202] B. Clare, A. Sirwardana, D.R. MacFarlane, *Synthesis, purification and characterization of ionic liquids in:* B. Kirchner (Ed.), *Topics in current chemistry: Ionic liquids*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 2010, pp. 1–40.
- [203] B.L. Gadilohar, G.S. Shankarling, *J. Mol. Liq.* 227 (2017) 234–261.
- [204] S. Kirchhecker, D. Esposito, *Curr. Opin. Green Sustain. Chem.* 2 (2016) 28–33.
- [205] C.P. Kapnissi-Christodoulou, I.J. Stavrou, M.C. Mavroudi, *J. Chromatogr. A* 1363 (2014) 2–10.
- [206] O. Nacham, A. Martín-Pérez, D.J. Steyer, M.J. Trujillo-Rodríguez, J.L. Anderson, V. Pino, A.M. Afonso, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 469 (2015) 224–234.
- [207] J. González-Álvarez, D. Blanco-Gomis, P. Arias-Abrodo, D. Díaz-Llorente, Nicolás Ríos-Lombardía, E. Busto, V. Gotor-Fernández, M.D. Gutiérrez-Álvarez, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 273–279.
- [208] E. Santos, J. Albob, A. Irabien, *RSC Adv.* 4 (2014) 40008–40018.
- [209] H. Rodríguez, *Ionic liquids in the context of separation processes in:* H. Rodríguez (Ed.), *Ionic liquids for better separation processes*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 2016, pp. 1–10.
- [210] P. Hapiot, C. Lagrost, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2238–2264.
- [211] C. Maton, N. De Vos, C.V. Stevens, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 5963–5977.
- [212] W.H. Awad, J.W. Gilman, M. Nyden, R.H. Harris Jr., T.E. Sutto, J. Callahan, P.C. Trulove, H.C. DeLong, D.M. Fox, *Thermochim. Acta* 409 (2004) 3–11.
- [213] M.G. Freire, P.J. Carvalho, A.M. Fernandes, I.M. Marrucho, A.J. Queimada, J.A.P. Coutinho, *J. Colloid Interface Sci.* 314 (2007) 621–630.
- [214] G. Yu, D. Zhao, L. Wen, S. Yang, X. Chen, *AIChE J.* 58 (2012) 2885–2899.
- [215] R.P. Swatloski, J.D. Holbrey, R.D. Rogers, *Green Chem.* 5 (2003) 361–363.
- [216] Idaira Pacheco-Fernández, V. Pino, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *J. Chromatogr. A* (2017) in press, DOI: 10.1016/j.chroma.2017.04.061.
- [217] W. Qian, J. Texter, F. Yan, *Chem. Soc. Rev.* 46 (2017) 1124–1159.
- [218] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. González-Hernández, V. Pino, *Analytical applications of ionic liquid-based surfactant in separation science in:* B.K. Paul, S.P. Moulik (Eds.), *Ionic liquid-based surfactant science*, John Wiley & Sons, Inc, NJ, USA, 2015, pp. 475–502.
- [219] G. Chatel, J.F.B. Pereira, V. Debbeti, H. Wang, R.D. Rogers, *Green. Chem.* 16 (2014) 2051–2083.
- [220] D. Mecerreyes, *Prog. Polym. Sci.* 36 (2011) 1629–1648.
- [221] P. Cardiano, P.G. Mineo, F. Neri, S. Lo Schiavo, P. Piraino, *J. Mater. Chem.* 18 (2008) 1253–1260.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [222] K. Vijayakrishna, S.K. Jewrajka, A. Ruiz, R. Marcilla, J.A. Pomposo, D. Mecerreyes, D. Taton, Y. Gnanou, *Macromolecules* 41 (2008) 6299–6308.
- [223] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, *Sep. Sci. Technol.* 47 (2012) 264–276.
- [224] W.D. Harkins, R.W. Matton, M.L. Corrin, *J. Am. Chem. Soc.* 68 (1946) 220–228.
- [225] G.S. Hartley, *Nature* 163 (1949) 767–768.
- [226] C.-L. Liu, Y. J. Nikas, D. Blankschtein, *Biotechnol. Bioeng.* 52 (1996) 185–192.
- [227] I. Pacheco-Fernández, P. González-Hernández, V. Pino, J.H. Ayala, A.M. Afonso, Ionic liquid-based surfactants: a step forward in: A. Eftekhari (Ed.) *Smart ionic liquids*, Royal Society of Chemistry (2018) under review.
- [228] T. Ito, K. Mikurube, K. Hasegawa, T. Matsumoto, K. Kosaka, H. Naruke, S. Koguchi, *Crystals* 4 (2014), 42–52.
- [229] C.P. Frizzo, I.M. Gindri, C.R. Bender, A.Z. Tier, M.A. Villetti, D.C. Rodrigues, G. Machado, M.A.P. Martins, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 468 (2015) 285–294.
- [230] P. Brown, C.P. Butts, J. Eastoe, D. Fermin, I. Grillo, H.C. Lee, D. Parker, D. Plana, R.M. Richardson, *Langmuir* 28 (2012) 2502–2509.
- [231] K.S. Rao, T.J. Trivedi, A. Kumar, *J. Phys. Chem. B* 116 (2012) 14363–14374.
- [232] X. Wang, J. Liu, L. Yua, J. Jiao, R. Wang, L. Sun, *J. Colloid Interf. Sci.* 391 (2013) 103–110.
- [233] X.F. Liu, L.L. Dong, Y. Fang, *J. Surfact. Deterg.* 14 (2011) 497–504.
- [234] M. Amde, J.F. Liu, L. Pang, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 12611–12627.
- [235] N.I. Malek, Z.S. Vaid, U.U. More, O.A. El Seoud, *Colloid Polym. Sci.* 293 (2015) 3213–3224.
- [236] F. Heidarizadeh, A. Majdi-nasab, *Tetrahedron Lett.* 56 (2015) 6360–6363.
- [237] T. Singh, A. Kumar, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 318 (2008) 263–268.
- [238] Z. Miskolczy, K. Sebök-Nagy, L. Biczók, S. Göktürk, *Chem. Phys. Lett.* 400 (2004) 296–300.
- [239] A. Modaressi, H. Sifaoui, M. Mielcarz, U. Domanska, M. Rogalski, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 302 (2007) 181–185.
- [240] I. Goodchild, L. Collier, S.L. Millar, I. Prokes, J.C.D. Lord, C.P. Butts, J. Bowers, J.R.P. Webster, R.K.J. Heenan, *Colloid Interface Sci.* 307 (2007) 455–468.
- [241] Y. Zhao, S. Gao, J. Wang, J. Tang, *J. Phys. Chem. B* 112 (2008) 2031–2039.
- [242] F.M. Maia, O. Rodríguez, E.A. Macedo, *J. Chem. Thermodyn.* 48 (2012) 221–228.
- [243] C. Jungnickel, J. Łuczak, J. Ranke, J.F. Fernández, A. Müller, J. Thöming, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 316 (2008) 278–284.
- [244] N.M. Vaghela, N.V. Sastry, V.K. Aswal, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 373 (2011) 101–109.
- [245] J. Liu, M. Zhao, Q. Zhang, D. Sun, X. Wei, L. Zheng, *Colloid Polym. Sci.* 289 (2011) 1711–1718.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [246] Q.Q. Baltazar, J. Chandawalla, K. Sawyer, J.L. Anderson, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 302 (2007) 150–156.
- [247] T. Hou, X. Zhu, *J. Mol. Liq.* 166 (2012) 17–21.
- [248] M. Blesic, M.H. Marques, N.V. Plechkova, K.R. Seddon, L.P.N. Rebelo, A. Lopes, *Green Chem.* 9 (2007) 481–490.
- [249] N.V. Sastry, N.M. Vaghela, V.K. Aswal, *Fluid Phase Equilib.* 327 (2012) 22–29.
- [250] O.A. El Seoud, P.A.R. Pires, T. Abdel-Moghny, E.L. Bastos, *J. Colloid Interface Sci.* 313 (2007) 296–304.
- [251] Y. Gu, L. Shi, X. Cheng, F. Lu, L. Zheng, *Langmuir* 29 (2013) 6213–6220.
- [252] B. Dong, X. Zhao, L. Zheng, J. Zhang, N. Li, T. Inoue, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 317 (2008) 666–672.
- [253] A. Cornellas, L. Perez, F. Comelles, I. Ribosa, A. Manresa, M.T. Garcia, *J. Colloid Interface Sci.* 355 (2011) 164–171.
- [254] T. Inoue, H. Ebina, B. Dong, L. Zheng, *J. Colloid Interface Sci.* 314 (2007) 236–241.
- [255] S. Mahajan, R. Sharma, R.K. Mahajan, *Langmuir* 28 (2012) 17238–17246.
- [256] V.P. Schnee, G.A. Baker, E. Rauk, C.P. Palmer, *Electrophoresis* 27 (2006) 4141–4148.
- [257] Y. Zhao, X. Yue, X. Wang, D. Huang and X. Chen, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 412 (2012) 90–95.
- [258] S.K. Wiedmera, A.W.T. King, M.-L. Riekkola, *J. Chromatogr. A* 1253 (2012) 171–176.
- [259] J. Flieger, A. Siwek, M. Pizon and A. Czajkowska-Zelazko, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 1530–1536.
- [260] J.N. Philips, *Trans. Faraday Soc.* 51 (1955) 561–569.
- [261] K.D. Clark, O. Nacham, J.A. Purslow, S.A. Pierson, J.L. Anderson, *Anal. Chim. Acta* 934 (2016) 9–21.
- [262] P. Scovazzo, C.A.M. Portugal, A.A. Rosatella, C.A.M. Afonso, J.G. Crespo, *J. Colloid Interface Sci.* 428 (2014) 16–23.
- [263] S. Hayashi, S. Saha, H. Hamaguchi, *IEEE Trans. Magn.* 42 (2006) 12–14.
- [264] H. Yu, J. Merib, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1463 (2016) 11–19.
- [265] C.H. Gammons, T.M. Seward, *Geochim. Cosmochim. Acta* 60 (1996) 4295–4311.
- [266] S.A. Pierson, O. Nacham, K.D. Clark, H. Nan, Y. Mudryk, J.L. Anderson, *New J. Chem.* (2017) under review.
- [267] J. Wang, H. Yao, Y. Nie, L. Bai, X. Zhang, J. Li, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51 (2012) 3776–3782.
- [268] W. Jiang, W. Zhu, H. Li, J. Xue, J. Xiong, Y. Chang, H. Liu, Z. Zhao, *Chem. Eng. Technol.* 37 (2014) 36–42.
- [269] K.D. Clark, O. Nacham, H. Yu, T. Li, M.M. Yamsek, D.R. Ronning, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 87 (2015) 1552–1559.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [270] T. Chatzimitakos, C. Binellas, K. Maidatsi, C. Stalikas, *Anal. Chim. Acta* 910 (2016) 53–59.
- [271] D.K. Bwambok, M.M. Thuo, M.B.J. Atkinson, K.A. Mirica, N.D. Shapiro, G.M. Whitesides, *Anal. Chem.* 85 (2013) 8442–8447.
- [272] O. Nacham, K.D. Clark, H. Yu, J.L. Anderson. *Chem. Mater.* 27 (2015) 923–931.
- [273] D.K. Bwambok, M.M. Thuo, M.B. Atkinson, K.A. Mirica, N.D. Shapiro, G.M. Whitesides, *Anal. Chem.* 85 (2013) 8442–8447.
- [274] B. Fan, J. Wei, X. Ma, X. Bu, N. Xing, Y. Pan, L. Zheng, W. Guan, *Ind. Eng. Chem. Res.* 55 (2016) 2267–2271.
- [275] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A.M. Afonso, A. Irabien, J. Chem. Technol. Biotechnol. 89 (2014) 866–871.
- [276] M.M. Waichigo, N.D. Danielson, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 599–606.
- [277] W. Zhang, L. He, Y. Gu, X. Liu, S. Jiang, *Anal. Lett.* 36 (2003) 827–838.
- [278] V. Pino, A.M. Afonso, *Anal. Chim. Acta* 714 (2012) 20–37.
- [279] M.J. Ruiz-Angel, V. Pino, S. Carda-Broch, A. Berthod, *J. Chromatogr. A* 1151 (2007) 65–73.
- [280] C.F. Poole, N. Lenca, *J. Chromatogr. A* 1357 (2014) 87–109.
- [281] Sigma-Aldrich, Ionic liquid capillary GC columns. <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical-products.html?TablePage=101691909>. Accedido 22 Abril 2017.
- [282] S.M. Mwongela, N. Siminialayi, K.A. Fletcher, I.M. Warner, *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 1334–1342.
- [283] D.A. El-Hady, H.M. Albishri, R. Rengarajan, H- Wätzig, *Electrophoresis* 35 (2014) 1956–1964.
- [284] C. Liang, C.-Y. Yuan, R.J. Warmack, C.E. Barnes, S. Dai, *Anal. Chem.* 74 (2002) 2172–2176.
- [285] R. Wang, T. Okajima, F. Kitamura, T. Ohsaka, *Electroanalysis* 16 (2004) 66–72.
- [286] M.A.G. Zevenbergen, D. Wouters, V.-A.T. Dam, S.H. Brongersma, M. Crego-Calama, *Anal. Chem.* 83 (2011) 6300–6307.
- [287] M. Opallo, A. Lesniewski, *J. Electroanal. Chem.* 656 (2011) 2–16.
- [288] J.-F. Liu, J.A. Jönsson, G.-B. Jiang, *Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 20–27.
- [289] D.W. Armstrong, L.-K. Zhang, L. He, M.L. Gross, *Anal. Chem.* 73 (2001) 3679–3686.
- [290] B.L. Walton, U. Joshi, S.V. Dzyuba, W.J. Youngblood, G.F. Verbeck, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 27 (2013) 1954–1960.
- [291] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. Rocío-Bautista, V. Pino, A.M. Afonso, *Trends Anal. Chem.* 51 (2013) 87–106.
- [292] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, J.H. Ayala, Extraction of alcohols, phenols and other aromatic compounds with ionic liquid-based aqueous biphasic systems in: M.G. Freire (Ed.), *Ionic liquids-based aqueous biphasic systems: Fundamentals and applications*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 2016, pp. 135–160.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abreviaturas

μ -dSPE	Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva
μ -SPE	Extracción en fase sólida miniaturizada
A μ E	Extracción miniaturizada adsortiva
AAS	Espectroscopía de absorción atómica
ABS	Sistema bifásico acuoso
Au-NP	Nanopartícula de oro
BA μ E	Extracción miniaturizada adsortiva en fibras huecas
BAIL	Surfactante bianfílico basado en líquidos iónicos o surfactante catiónico
C ₁₈	Octadecil-sílice
C ₈	Octil-sílice
CA-HS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza asistida por frío
CAR-PDMS	Carboxen-polidimetilsiloxano
CCC	Cromatografía en contracorriente
CE	Electroforesis capilar
CF-SDME	Microextracción en gota suspendida con flujo continuo
CMC	Concentración micelar crítica
CME	Microextracción capilar o microextracción en fase sólida <i>in tube</i>
CNT	Nanotubo de carbono
CW/DVB	Carbowax/divinilbenceno
CW/PEG	Carbowax/polietilenglicol
CW/TPR	Carbowax/resinas moldeadoras
CZE	Electroforesis capilar en zona
DDME	Microextracción gota-a-gota
DES	Disolvente de punto eutéctico ultrabajo
DI-SDME	Microextracción en gota suspendida en inmersión directa
DI-SPME	Microextracción en fase sólida en inmersión directa
DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva
DSDME	Microextracción con gota directamente suspendida
DSIL	Sal doble de líquido iónico
DVB/CAR-PDMS	Divinilbenceno/carboxen-polidimetilsiloxano
ESI-MS	Espectrometría de masas con ionización por electroespray
FFA	Ácido graso libre
FIA	Análisis por inyección en flujo
GAC	Química Analítica Verde
GC	Cromatografía de gases
HBA	Aceptor de enlaces de hidrógeno

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

HBD	Dador de enlaces de hidrógeno
HF-LPME	Microextracción en fase líquida con fibras huecas
HF-SPME	Microextracción en fase sólida protegida con fibras huecas
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HS-SDME	Microextracción en gota suspendida en espacio en cabeza
HS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza
ICP	Plasma acoplado inductivamente
IgG	Inmunoglobulina G
IIP	Polímero de impronta iónica
IL	Líquido iónico
K_H	Constante de Henry
K_{ow}	Coefficiente de reparto octanol-agua
LC	Cromatografía líquida
LLE	Extracción líquido-líquido
LLLME	Microextracción líquido-líquido-líquido
LPME	Microextracción en fase líquida
m- μ -dSPE	Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva magnéticamente asistida
MALDI-MS	Espectrometría de masas con desorción/ionización láser asistida por matriz
MEKC	Cromatografía electrocinética micelar
MHS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza múltiple
MIL	Líquido iónico magnético
MIP	Polímero de impronta molecular
MLC	Cromatografía líquida micelar
MNP	Nanopartícula magnética
MOF	Red metal-orgánica
MS	Espectrometría de masas
MSFIA	Análisis por inyección en flujo con multi-jeringas
N_{agg}	Número de agregación micelar
NP	Nanopartícula
PA	Poliacrilato
PAH	Hidrocarburo aromático policíclico
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB	Polidimetilsiloxano/divinilbenceno
PIL	Polímero de líquido iónico
RMN	Resonancia magnética nuclear
SBSE	Extracción asistida por barritas agitadoras magnéticas
SCSE	Extracción asistida por <i>stir-cake</i>

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

SDME	Microextracción en gota suspendida
SIA	Análisis por inyección secuencial
S _{N1}	Reacción de sustitución nucleofílica de tipo 1
S _{N2}	Reacción de sustitución nucleofílica de tipo 2
SPE	Extracción en fase sólida
SPME	Microextracción en fase sólida
SUPRAS	Disolvente supramolecular
UHPLC	Cromatografía de ultra alta resolución
Vacuum HS-SDME	Microextracción en gota suspendida en espacio en cabeza asistida por vacío o en condiciones de presión reducida
Vacuum HS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza en vacío
VOC	Compuesto orgánico volátil
δ	Grosor de la capa límite en microextracción en fase sólida

*La abreviatura de los ILs, PILs, surfactantes basados en ILs y MILs se señala en la Figura 18, **Capítulo I: Introducción** de la presente Tesis Doctoral

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Capítulo II

Experimental

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

II.1. Analitos, reactivos, materiales y muestras

1.1. Analitos

Los analitos objeto de estudio en la presente Tesis Doctoral incluyen contaminantes orgánicos y metálicos, así como otros compuestos de interés agroalimentario.

Los contaminantes orgánicos incluyen: fenoles con reconocida actividad endocrina e hidrocarburos aromáticos policíclicos. Los *fenoles* estudiados fueron: 2-clorofenol (2-CP, 99.5%) y 2,4-dimetilfenol (2,4-DMP, 99.5%), suministrados por Dr. Ehrenstorfer GmbH (Ausburg, Alemania); 4-*tert*-butilfenol (4-t-BP, 99%), 4-octilfenol (4-OP, 99%), 4-cumilfenol (4-CuP, 99%), bisfenol A (BPA, 99%), *o*-cresol (*o*-Cr, 99%) y *p*-cresol (*p*-Cr, 99%), suministrados por Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania); 4-nonilfenol (4-NP, 98%), que fue adquirido en Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemania), y fenol (Ph, 99.5%) suministrado por Merck (Darmstadt, Alemania). Los fenoles fueron disueltos individualmente en acetonitrilo a una concentración de 1000 mg·L⁻¹.

Los *PAHs* estudiados fueron: acenafteno (Ace, 99%), fluoreno (Fl, 98%), benzo(a)antraceno (BaA, ≥99.0%), criseno (Chy, ≥99.0%) y benzo(a)pireno (BaPy, ≥99.0%), suministrados por Sigma-Aldrich; benzo(b)fluoranteno (BbF, ≥99.0%), suministrado por Supelco (Bellefonte, PA, USA); y benzo(k)fluoranteno (BkF, ≥99.0%), adquirido en Fluka (St Louis, MO, USA). Estos analitos fueron disueltos individualmente en acetonitrilo, con una concentración de 1000 mg·L⁻¹.

En el caso de las aplicaciones en las que se determinaron *metales*, fue necesaria la utilización de disoluciones estándares certificadas individuales de Cu²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Pb²⁺ y Zn²⁺ (1000 mg·L⁻¹ disueltos en HNO₃ 0.5N), adquiridas en Panreac (Barcelona, España); Ca²⁺ (1000 mg·L⁻¹ disueltos en HNO₃ 2N), suministrada por VWR International® (Bélgica); y Cd²⁺ (1000 mg·L⁻¹ disueltos en HNO₃ 0.5N) suministrada por Fluka.

En relación con el análisis de muestras de interés agroalimentario, los analitos estudiados fueron ácidos grasos libres de cadena corta (FFAs), compuestos fenólicos y compuestos carbonílicos (aldehídos y cetonas). El grupo de *FFAs* determinado incluyó ácido propiónico (C₃), ácido *iso*-butírico (*i*-C₄), ácido *n*-butírico (*n*-C₄), ácido *iso*-valérico (*i*-C₅), ácido *n*-valérico (*n*-C₅), ácido *iso*-hexanoico (*i*-C₆), ácido *n*-hexanoico (o ácido

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

caproico, *n*-C₆) y ácido *n*-heptanoico (*n*-C₇). Se utilizó una disolución multicomponente de Supelco (material de referencia certificado CRM46975) que contenía todos los analitos a una concentración de 10 mmol·L⁻¹ y disueltos en agua ultrapura. Por otro lado, en determinadas aplicaciones se utilizó *n*-C₆ (99%) suministrado por Fluka y *n*-C₇ (99%) de Sigma-Aldrich y se prepararon disoluciones individuales en acetonitrilo a una concentración de ~2000 mg·L⁻¹.

Finalmente, el grupo de *compuestos fenólicos de interés agroalimentario* incluyó guaiacol (2-metoxifenol, 2-MOP, 98%), eugenol (4-alil-2-metoxifenol, 4-Al-2-MOP, 99%), siringol (2,6-dimetoxifenol, ≥97%) y 3-metoxifenol (3-MOP, ≥97%), obtenidos en Fluka; fenol (Ph, 99.0%) adquirido en Merk; y 2-etilfenol (2-EP, 99.5%), 3-etilfenol (3-EP, 97.5%) y octanal (Oct, 99.5%), suministrados por Dr. Ehrenstorfer GmbH; y, *o*-cresol (*o*-Cr, 99%), *m*-cresol (*m*-Cr, 99%), *p*-cresol (*p*-Cr, 99%), adquiridos en Sigma-Aldrich. También fueron determinados un grupo de *compuestos carbonílicos*, incluyendo 2-heptanona (2-HN, 99%), 2-nonanona (2-NN, 99.5%), obtenidos de Dr. Ehrenstorfer GmbH; y *p*-tolualdehído (*p*-TA, 97%), de Sigma-Aldrich. De todos estos analitos, se prepararon disoluciones individuales en acetonitrilo a una concentración de ~2000 mg·L⁻¹.

1.2. Reactivos y disolventes

Se empleó agua ultrapura (18.2 MΩ·cm⁻¹) obtenida de un sistema de purificación de agua Milli-Q (Millipore, Watford, UK). Los disolventes empleados fueron acetonitrilo (grado HPLC, de Sigma-Aldrich; o grado LC-MS, de VWR International®), y metanol (grado HPLC), acetona (>99.8%), ciclohexano (grado GC), *n*-hexano (>97%), cloroformo (≥99.5%) y diclorometano (99.8%), suministrados por Sigma-Aldrich; y etanol (grado HPLC, Merk). Otros disolventes y reactivos empleados fueron cloruro sódico (>99.5%), tiosulfato sódico (99%) hidróxido sódico (≥98%) y ácido nítrico (≥65%), adquiridos en Sigma-Aldrich; ácido clorhídrico (0.1 mol·L⁻¹, Panreac) y ácido acético (Merk).

El agente complejante utilizado para la determinación de metales fue el dietil-ditiocarbamato de sodio (Na-DDTC, >98%, Panreac).

En los procedimientos *in situ* DLLME se utilizó bis[(trifluorometano)sulfonyl]imida de litio (Li-NTf₂, 99.95%), suministrado por

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Sigma-Aldrich, como reactivo de intercambio aniónico. Se preparó una disolución acuosa de Li-NTf₂ a una concentración de 0.5 g·mL⁻¹.

Para la síntesis de los líquidos iónicos (ILs), se requiere del empleo de los siguientes reactivos: imidazol, N-metilimidazol, N-butylimidazol, N-vinylimidazol, N-vinilbenzilimidazol, acrilonitrilo, bromuro de butilo, bromuro de octilo, bromuro de decilo, bromuro de hexadecilo, bromuro de dodecano, dibromuro de octilo, dibromuro de dodecilo, tris(bromoetil)benceno, cloruro de N,N,N-tris(cloroetil)amonio y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs, >98%, E.D.×L.: 6–13 nm × 2.5–20 μm). Se trata de reactivos de una pureza del 99% o superior suministrados por Sigma-Aldrich. También se emplea Li-NTf₂, que para estas síntesis fue suministrado por la casa comercial SynQuet Labs (Alachua, FL, USA).

Los procesos de polimerización para generar polímeros de líquidos iónicos (PILs) implican el uso de un iniciador radicalario: 2,2'-azo-bis(isobutyronitrilo) (AIBN) o 2-hidroxi-2-metilpropiofenona (DAROCUR 1173), adquiridos en Sigma-Aldrich. Como soporte sólido se emplean capilares de sílice fundida (de 0.1 o 0.05 mm de diámetro interno) suministrados por Supelco o fibras de nitinol (aleación elástica de Ni/Ti de 127 μm de diámetro externo) obtenidas en Nitinol Devices & Components (Fremont, CA, USA). La derivatización de las fibras de nitinol requiere del empleo de peróxido de hidrógeno y de viniltrimetoxisiloxano (VTMS), adquiridos en Sigma-Aldrich.

La síntesis de los líquidos iónicos magnéticos (MILs) requiere del uso de FeCl₂·4H₂O (97%), DyCl₃·6H₂O (99.9%), 1-bromobencilo y 1-bromometoxibencilo, adquiridos en Sigma-Aldrich; benzimidazol (98%), 1,12-dibromododecano (98%), 1,1,1,5,5,5-hexafluoroacetilacetona (99%) y Aliquat@336 (peso molecular medio: 442.00), obtenidos en Acros Organic (Morris Plains, NJ, USA); MnCl₂·4H₂O (98.0%), que fue obtenido en Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA); y cloruro de trihexil(tetradecil)fosfonio (>93%), que fue suministrado por Strem Chemical (Newburyport, MA, USA).

La síntesis de las nanopartículas magnéticas (MNPs) de magnetita (α-Fe₃O₄) requiere del empleo de FeCl₂·4H₂O (≥99.0%) y FeCl₃·6H₂O (≥99%), suministrados por Sigma-Aldrich.

Para las medidas de fluorescencia, se empleó pireno (98%) y benzofenona-3 (>97.0%), obtenidos en Sigma-Aldrich.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.3. Materiales de extracción basados en líquidos iónicos, derivados de líquidos iónicos y materiales híbridos

Durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral, se emplearon materiales basados en líquidos iónicos (ILs) y sus derivados, incluyendo polímeros de líquidos iónicos (PILs), surfactantes basados en ILs, líquidos iónicos magnéticos (MILs) y materiales híbridos.

Los *PILs* diseñados incluyen: homopolímeros (formados por un único IL actuando como monómero), PILs entrecruzados (formados por la co-polimerización de un IL monocatiónico actuando como monómero y un IL dicatiónico actuando como *crosslinker*) y materiales híbridos formados por la combinación de PILs entrecruzados con MWCNTs. En la Tabla 1 se incluyen los monómeros y *crosslinkers* (en su caso) empleados para el desarrollo de los PILs, tipo de polimerización, iniciador radicalario y algunas de las características de las fibras de SPME diseñadas a partir de estos materiales. Las fibras basadas en PILs desarrolladas se utilizaron en las aplicaciones analíticas del **Capítulo IV** de la presente Memoria.

Por otra parte, los *surfactantes basados en ILs* desarrollados incluyen: surfactantes monocatiónicos basados en imidazolio de naturaleza simétrica (sustituidos por cadenas alquílicas de igual número de átomos de carbono) o asimétrica (sustituidos por cadenas alquílicas de diferente tamaño), surfactantes dicatiónicos y surfactantes tricatiónicos. La Tabla 2 muestra los surfactantes basados en ILs empleados en diferentes secciones del **Capítulo V** de la presente Tesis Doctoral, junto a sus valores de concentración micelar crítica (CMC).

Paralelamente, se han utilizado *surfactantes basados en sales dobles de líquidos iónicos (DSILs)* formadas por la combinación de dos tipos diferentes de surfactantes basados en ILs y en ratios diferentes. La Tabla 3 muestra un resumen del total de 9 tipos diferentes de DSIL empleados. Los surfactantes basados en DSILs y algunos de los surfactantes basados en ILs se combinaron con MNPs de Fe₃O₄ para su uso en aplicaciones analíticas (Sección V.2). También, se emplearon en *in situ* DLLME para la determinación de Cu(II) (Sección V.3) y como disolventes de dispersión en MIL-DLLME (Sección VI.1).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Tabla 1. PILs desarrollados en la presente Tesis Doctoral (en las diferentes secciones del Capítulo IV) para su uso como fases extractantes en SPME.

Recubrimiento	Monómero de IL	Crosslinker de IL ^a	Tipo de polimerización	Iniciador radicalario	Fibra de SPME desarrollada	Soporte sólido	Grosor (µm) × L (cm) ^b
<i>Sección IV.1</i>							
Fibra A	ViC ₁₆ Im-NTf ₂	–	Térmica	AIBN ^c	Sílice		~20 × 1
Fibra B	ViBzC ₁₆ Im-NTf ₂	–	Térmica	AIBN ^c	Sílice		~12 × 1
Fibra C	ViC ₆ Im-Cl	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2Br	UV (360 nm)	DAROCUR 1173 ^d	Sílice		~7 × 1
Fibra D	ViC ₆ Im-Cl	(ViIm) ₂ C ₈ -2Br	UV (360 nm)	DAROCUR 1173 ^d	Sílice		~7 × 1
<i>Sección IV.2</i>							
PIL-0-1	ViC ₁₆ Im-NTf ₂	(ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm)	DAROCUR 1173 ^d	Nitinol		~5 × 1
PIL-0-0	ViC ₁₆ Im-NTf ₂	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm)	DAROCUR 1173 ^d	Nitinol		~5 × 1
PIL-1-1	ViBzC ₁₆ Im-NTf ₂	(ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm)	DAROCUR 1173 ^d	Nitinol		~2 × 1
PIL-MWCNTs ^e	ViC ₄ Im-NTf ₂	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	Térmica	AIBN ^c	Nitinol		~25 × 1
<i>Sección IV.3</i>							
PIL-1	C ₁₆ ViIm-NTf ₂	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm), <i>spin-coating</i>	DAROCUR 1173 ^d	Nitinol		~40 × 1.3
PIL-2	C ₁₆ ViBzIm-NTf ₂	(ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm), <i>spin-coating</i>	DAROCUR 1173 ^d	Nitinol		~35 × 1.3

*nomenclatura ILs: –C_n (n = 2, 4, 8, 12, 16) cadena alquílica; –ViBz grupo vinilbencil, Im⁺ catión imidazolio; Br⁻ anión bromuro; Cl⁻ anión cloruro, NTf₂⁻ anión bis(trifluorometanosulfonil)amida

^a 50% (w/w) del crosslinker respecto de la cantidad de monómero

^b dimensiones de la fibra de SPME diseñada: grosor (en µm) × longitud (L, en cm) del recubrimiento PIL

^c 2,2'-azo-bis(isobutironitrilo)

^d 2-hidroxi-2-metilpropilfenona

^e el material de extracción desarrollado contiene 5% (w/w) de MWCNTs respecto del monómero de IL

Experimental

135

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Tabla 2. Surfactantes basados en ILs empleados durante el desarrollo de la Tesis Doctoral (en las diferentes secciones del Capítulo V).

Tipo de surfactante	Surfactante basado en IL	CMC (mmol·L ⁻¹)	Sección de la Tesis Doctoral
Monocatiónico simétrico	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	0.1	V.2, VI.1
Monocatiónico no simétrico	C ₁₆ MIm-Br	0.7	V.2, VI.1
Monocatiónico no simétrico	C ₁₆ C ₄ Im-Br	0.1	V.2, V.3
Dicatiónico	(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	59	V.1
Dicatiónico	(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.7	V.1
Dicatiónico	(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.2	V.1, V.2
Tricatiónico	(C ₈ Im) ₃ Am-3Br ^a	4	V.1
Tricatiónico	(C ₈ Im) ₃ Bn-3Br ^b	2	V.1

*nomenclatura ILs: -M grupo metilo, -C_n (n = 4, 8, 10, 12, 16) cadena alquílica; -Am grupo 2-etilnamino; -Bn grupo 1,3,5-trimetilenobenceno, Im⁺ catión imidazolio; Br⁻ anión bromuro

^a bromuro de 3,3',3''-octil-1,1',1''-(2-etilamino)imidazolio

^b bromuro de 3,3',3''-octil-1,1',1''-(1,3,5-trimetilenobenceno)imidazolio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Tabla 3. Composición y concentración crítica micelar estimada (CMC*) de los surfactantes basados en DSILs empleados en la presente Tesis Doctoral (Sección V.2).

Abreviatura del surfactante basado en DSIL	Composición del surfactante basado en DSIL	Surfactante basado en IL 1	Surfactante basado en IL 2	CMC*(mmol·L ⁻¹) ^a		
				$x_I^b = 0.2$	$x_I^b = 0.5$	$x_I^b = 0.8$
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ & C ₁₆ MIm ⁺	C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ , C ₁₆ MIm ⁺ and Br ⁻	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	C ₁₆ MIm-Br	0.3	0.2	0.1
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ & C ₁₆ C ₄ Im ⁺	C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ , C ₁₆ C ₄ Im ⁺ and Br ⁻	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	C ₁₆ C ₄ Im-Br	0.1	0.1	0.1
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ & (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺	C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ , (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺ and Br ⁻	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.2	0.1	0.1

*nomenclatura ILs: -C_n (n = 4, 12, 16) cadena alquílica; Im⁺ catión imidazolio; Br⁻ anión bromuro

^a concentración micelar crítica del surfactante basado en DSIL, calculado como $\frac{1}{CMC^*} = \frac{x_1}{CMC_1} + \frac{(1-x_1)}{CMC_2}$, siendo CMC₁ y CMC₂ las CMC de los surfactantes basados en ILs 1 y 2, respectivamente

^b fracción molar del surfactante basado en IL 1

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Del mismo modo, se ha empleado el *IL hidrofóbico* C₄MIm-PF₆ (>97%, Sigma-Aldrich) para la determinación de Cu(II) vía DLLME (Sección V.3).

En relación a los *MILs*, se han utilizado MILs basados en aniones de FeCl₃Br, MnCl₄²⁻ y o en Dy(III) y Mn(II) coordinados con el ligando hexafluoroacetilacetato (hfacac⁻). En cuanto a la naturaleza del catión puede ser amonio, benzimidazolio y fosfonio. También, se ha empleado un MIL dicatiónico en el que la solubilidad se modula mediante la combinación de dos tipos de aniones (NTf₂⁻ y FeCl₃Br⁻). En la Tabla 4 se muestra la estructura de cada uno los MILs desarrollados y empleados en el **Capítulo VI** de esta Tesis Doctoral.

Tabla 4. MILs empleados durante el desarrollo de la Tesis Doctoral (Capítulo VI).

Estructura del MIL	Abreviatura	Sección de la Tesis Doctoral	
Tipo catión	Tipo de anión		
Amonio (monocatiónico)	FeCl ₃ Br ⁻	N _{8,8,8,Bz} -FeCl ₃ Br	VI.1
Amonio (monocatiónico)	FeCl ₃ Br ⁻	N _{8,8,8,MOBz} -FeCl ₃ Br	VI.1
Benzimidazolio (dicatiónico)	FeCl ₃ Br ⁻ , NTF ₂ ⁻	(BzBnIm) ₂ C ₁₂ -NTf ₂ , FeCl ₃ Br	VI.1
Amonio (monocatiónico)	MnCl ₄ ²⁻	(aliquat) ₂ -MnCl ₄	VI.2
Fosfonio (monocatiónico)	MnCl ₄ ²⁻	(P _{6,6,6,14}) ₂ -MnCl ₄	VI.2
Fosfonio (monocatiónico)	Mn(hfacac) ₃ ⁻	P _{6,6,6,14} -Mn(hfacac) ₃	VI.2
Fosfonio (monocatiónico)	Dy(hfacac) ₄ ⁻	P _{6,6,6,14} -Dy(hfacac) ₄	VI.2

*nomenclatura *ILs*: -Bz grupo bencilo, -MOBz grupo metoxibencilo, -hfacac grupo hexafluoroacetilacetato, BzIm⁺ catión benzimidazolio, P⁺ catión fosfonio, N⁺ catión amonio

1.4. Muestras

Se analizaron muestras de interés medioambiental (agua de consumo y agua residual) y agroalimentario (queso, leche, yogurt y té). En la Tabla 5 se recogen los tipos de muestras analizadas en en el desarrollo de la presente Tesis Doctoral. La tabla también recoge el tipo de analitos estudiados, el tipo de material extractante empleado, la metodología microextractiva y la técnica analítica utilizada en cada una de las aplicaciones descritas, de modo que constituye una visión general de los análisis y estudios llevados a cabo.

Tabla 5. Características generales de las aplicaciones analíticas y los estudios desarrollados en la presente Tesis Doctoral.

Sección	Analitos	Muestras	Tipo de material extractante	Técnica microextractiva	Técnica analítica
<i>Capítulo IV: Aplicaciones basadas en el uso de polímeros de líquidos iónicos</i>					
Sección IV.1	FFAs Fenoles	Queso	PILs PILs entrecruzados	HS-SPME	GC-FID
Sección IV.2	Compuestos carbonílicos Fenoles (disruptores) PAHs	Agua de consumo	PILs entrecruzados Material híbrido (PIL entrecruzado + MWCNTs)	DI-SPME (totalmente automatizada)	GC-FID
Sección IV.3	FFAs Fenoles	Leche Yogurt	PILs	Vacuum HS-SPME	GC-FID
<i>Capítulo V: Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos</i>					
Sección V.1 ^a	-	-	Surfactantes basados en ILs dicatiónicos y tricatiónicos	-	-
Sección V.2	Fenoles (disruptores)	Agua de consumo Agua residual	Material híbrido (surfactantes basados en ILs + Fe ₃ O ₄ MNPs) Material híbrido (surfactantes basados en DSILs + Fe ₃ O ₄ MNPs)	m-μ-dSPE	HPLC-DAD
Sección V.3	Cu ²⁺	Agua de consumo Agua residual Material de referencia	ILs Surfactantes basados en ILs	DLLME <i>in situ</i> DLLME	FAAS
<i>Capítulo VI: Aplicaciones basadas en el uso de líquidos iónicos magnéticos</i>					
Sección VI.1	PAHs	Agua de consumo Agua residual	MILs	DLLME con separación magnética	HPLC-FD
Sección VI.2	FFAs	Té Leche	MILs	Vacuum HS-SDME	GC-MS

^a sección dedicada a la síntesis y caracterización de nuevos materiales de extracción

Experimental

139

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Las muestras de *agua de consumo* fueron tomadas directamente del laboratorio (Tenerife, España). El análisis vía HS-SPME (Sección IV.2) se realizó directamente, sin aplicar ningún tipo de pretratamiento de la muestra. Para el análisis vía m- μ -dSPE (Sección V.2), el agua de consumo fue filtrada a través de filtros de membrana de difluoruro de polivinilo (PVDF) de 0.45 μm (Merk). A continuación, se añadió tiosulfato sódico para alcanzar una concentración de 0.003% (w/v) en la muestra y asegurar de este modo la eliminación del cloro residual presente en la muestra.

Las muestras de *agua residual* fueron obtenidas de un sistema primario de una planta de tratamiento de aguas residuales (WWTP) localizado en Tenerife (España). Para el análisis vía m- μ -dSPE (Sección V.2), el agua residual fue filtrada (PVDF, 0.45 μm) y se trató con tiosulfato sódico para eliminar el cloruro residual, añadiendo este reactivo de forma que su concentración en la muestra fuera de 0.008% (w/v). En el análisis vía MIL-DLLME (Sección VI.1), las muestras fueron filtradas (PVDF, 0.45 μm) y el tratamiento con tiosulfato sódico no fue necesario. Por otro lado, el tipo de muestra analizada vía IL-DLLME e *in situ* DLLME (Sección V.3) fue agua de mar muestreada en una zona cercana a la salida de un emisario de un efluente líquido de agua residual urbana.

También se determinó cobre en un *material de referencia*: una muestra de agua residual urbana obtenida en un ejercicio de control inter-laboratorio. El agua fue obtenida de un tanque de decantación de una planta de tratamiento de aguas residuales. La muestra fue almacenada en HNO_3 a $\text{pH} < 2$ y a 4 °C hasta el momento de análisis. La concentración de Cu(II) estimada fue $(0.760 \pm 0.007) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (valor estimado a partir del resultado de análisis de 93 laboratorios).

El *té* (una infusión de frutas del bosque) fue adquirido en supermercados locales (Tenerife, España). La infusión fue preparada imitando el modo común de preparación del té en Canarias: una bolsita de té se sumergió en 200 mL de agua mineral (previamente llevada a ebullición) durante 10 min.

Las muestras de *queso* fueron adquiridas en supermercados locales (Tenerife, España). El tipo de queso analizado fue semicurado, preparado con mezcla de leche de cabra y vaca pasteurizada. La capa superficial se desechó y se tomó una pieza de 2 cm de profundidad y 5 cm^2 de superficie. La pieza de queso fue triturada y almacenada en el congelador hasta el momento de análisis.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Por otra parte, se analizaron tres tipos de *leche*: leche de cabra recién ordeñada obtenida de un agricultor local (Tenerife, España), analizada vía *vacuum* HS-SPME (Sección IV.3), y dos muestras de leche adquiridas en supermercados (Iowa, USA): leche semi-desnatada (con contenido total de grasas inferior a $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) y leche orgánica con contenido total de grasas inferior a $19 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, ambas analizadas vía *vacuum* HS-SDME (Sección VI.2). En todos los casos, el contenido en cloruro sódico y el porcentaje de componente orgánico fue ajustado a un valor determinado antes del análisis.

Finalmente, se analizó un *yogurt líquido* (sabor frutas) obtenido en un supermercado local (Tenerife, España). Como en el caso anterior, se ajustó el contenido en cloruro sódico y el porcentaje de componente orgánico antes del análisis.

De forma general, todas las muestras analizadas fueron almacenadas en botes de topacio a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta el momento de análisis por un período que nunca superó los 15 días antes del análisis.

II.2. Instrumentación

2.1. Cromatografía de gases con detección por ionización en llama

Se utilizó un cromatógrafo de gases con detección por ionización en llama (GC-FID) Varian 450 (Palo Alto, CA, USA) modelo CP-3800. El cromatógrafo está equipado con un automuestreador Combi-Pal (CTC Analytics). La adquisición de datos se realizó en el software MS Workstation versión 6.9.3 (Varian).

2.2. Cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas

Se empleó un GC modelo 7890B de Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA) equipado con un detector de espectrometría de masas (MS) modelo 5977A. El MS está formado por un ionizador por impacto electrónico (EI) y un analizador másico cuadrupolar simple. El GC-MS contaba con un automuestreador de espacio en cabeza (HS) modelo 7697A de Agilent Technologies. La adquisición de datos se realizó en el software MassHunter Workstation (Agilent Technologies).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.3. Cromatografía líquida de alta resolución con detección de diodos en línea

Algunas de las aplicaciones analíticas de la presente Tesis Doctoral fueron desarrolladas en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) equipado con una bomba binaria Varian ProStar 230 SDM, una válvula de inyección Rheodyne 7725i (Supelco) con un loop de 20 μ L, y detección de diodos en línea (DAD) Varian ProStar 330. La adquisición de datos se realizó en el software LC Workstation versión 6.41 (Varian).

2.4. Cromatografía líquida de alta resolución con detección fluorescente

Se utilizó un sistema de HPLC equipado por una bomba binaria Varian ProStar 230 SDM, una válvula de inyección Rheodyne 7725i (Supelco) con un loop de 5 μ L y un detector de fluorescencia (FD) Waters modelo 474 (Milford, MA, USA) conectado a través de una interface Varian Star 800 al HPLC. Además, el sistema disponía de control de temperatura de la columna en el termostato de un automuestreador Varian ProStar 410. La adquisición de datos se realizó en el software LC Workstation versión 6.41 (Varian).

2.5. Espectroscopía de absorción atómica en llama

Se empleó un espectrofotómetro de absorción atómica en llama (FAAS) modelo SpectrAA 50B de Varian. El equipo estaba equipado con un mechero para llama aire/acetileno MK7 y una lámpara de cátodo hueco de cobre. Se empleó el software Oriented AA versión 5.1 (Varian) para la adquisición de los datos.

2.6. Otra instrumentación

El resto de instrumentación necesaria para el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se enumera a continuación:

- Rotavapor digital IKA RV 10, equipado con un baño con control de temperatura IKA HB 10, suministrado por Werke GmbH & Co (Staufen, Alemania).
- Bomba de vacío con control de velocidad VP-2, obtenida en Vacuubrand GmbH & Co (Wertheim, Alemania).
- Bomba de vacío Büchi Labortechnik AG modelo V-500 (Flawil, Suiza).

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- Analizador elemental Perkin Elmer modelo 2100 Series II CHN/S (Waltham, MA, USA).
- Placas calefactoras con agitación magnética modelo RCT basic IKA-Werke y modelo Corning PC-420D (Corning, NY, USA).
- Termostato de bloque metálico de la casa Termobloc (Barcelona, España).
- Centrífuga Eppendorf modelo 5702 (Hamburg, Alemania).
- Reactor RPR-100 UV equipado con un carrusel giratorio, suministrado por Southern New England Ultraviolet Company (Bradford, Connecticut, USA). El reactor posee 16 lámparas intercambiables para trabajar con luz de 250 o 360 nm, y se utilizó en la preparación de fibras de SPME basadas en PILs.
- Cromatógrafo líquido con detección por espectrometría de masas con tiempo de vuelo (LC-TOF/MS) modelo 6230 Agilent Technologies, y se utilizó para adquisición de espectros de masas durante la síntesis de MILs.
- Conductímetro Crison modelo CM35 (precisión de $\pm 0.02 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) equipado con sensor de temperatura de Crison Instruments (Barcelona, España).
- Espectrofluorímetro modelo Cary Eclipse Varian (Mulgrave, Victoria, Australia), equipado con una celda de cuarzo.
- Tensiómetro Fisher Scientific modelo 20 Du Nouv, equipado con un anillo de platino-iridio de diámetro 6.00 cm.
- Espectrómetro Raman modelo Renishaw equipado con un láser de argón.
- Microscopio de transmisión electrónica (TEM) modelo JEM-2100, suministrado por JEOL (Tokyo, Japón).
- Microscopio de fuerzas atómicas (AFM), equipado con microscopio multimodo 8 y una unidad de control Nanoscope V, de Digital Instruments-Bruker (Santa Bárbara, CA, USA).
- Espectrómetro de resonancia magnética nuclear (RMN) Varian 400 MHz.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

II.3. Procedimientos

3.1. Síntesis de nuevos materiales

3.1.1. Síntesis de líquidos iónicos y surfactantes basados en líquidos iónicos

La mayoría de los ILs y surfactantes basados en ILs utilizados están basados en cationes de tipo imidazolio. Estos materiales fueron sintetizados de acuerdo al método descrito por Baltazar *et al.* [1], en el que se distingue entre la síntesis de ILs monocatiónicos asimétricos o simétricos e ILs dicatiónicos. Por otra parte, en la Sección V.1 [2] se propone la síntesis de dos nuevos tipos de ILs tricatiónicos. La Figura 1 esquematiza los procedimientos de síntesis de estos materiales.

En el caso de los ILs empleados como monómeros o *crosslinkers* en la síntesis de las fibras basadas en PILs, se emplea N-vinilimidazol o N-vinilbenzilimidazol como material de partida en lugar de imidazol. Además, en algunos casos es necesario realizar una etapa extra de síntesis en la que se realiza una reacción de intercambio aniónico con Li-NTf₂, para generar un IL insoluble.

Una vez finalizada la síntesis, es necesario realizar una o varias etapas de purificación del producto. Tras esto, el material es caracterizado mediante H¹-RMN, C¹³-RMN y MS.

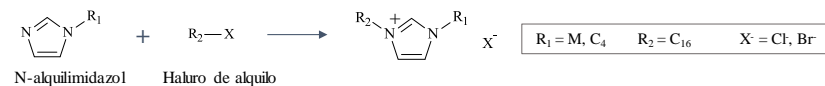
3.1.2. Síntesis y montaje de fibras basadas en polímeros de líquidos iónicos

Se han desarrollado un total de 10 fibras basadas en diferentes PILs, tal y como se recoge en la Tabla 1. Entre ellas, se distinguen:

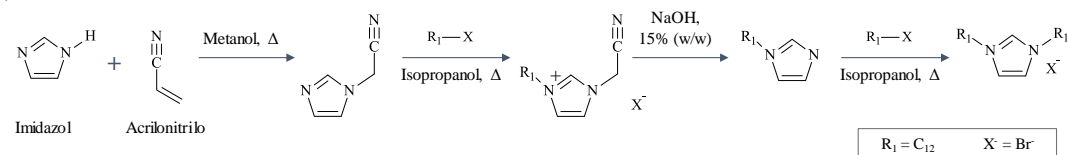
- *Recubrimientos basados en PILs homopoliméricos* (Fibra A y Fibra B), inmovilizados en el soporte sólido por procesos físicos.
- *Recubrimientos PIL entrecruzados* (Fibra C, Fibra D, PIL-0-1, PIL-0-0, PIL-1-1), enlazados químicamente al soporte sólido (sílice o nitinol derivatizado). En el caso de las fibras basadas en nitinol, la derivatización del material se realiza activando los grupos hidroxilo de la superficie del nitinol (grupos Ti-OH) con peróxido de hidrógeno, seguido de reacción con VTMS. Además, las fibras PIL-0-1, PIL-0-0 y PIL-1-1 se montan en un

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(A) ILs monocatiónicos asimétricos



(B) ILs monocatiónicos simétricos



(C) ILs dicatiónicos

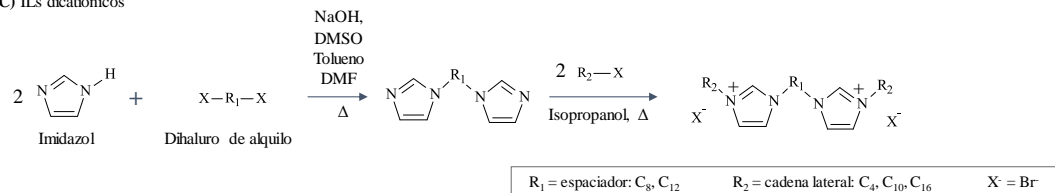


Figura 1. Esquemas generales de los procedimientos de síntesis de los ILs y surfactantes basados en ILs utilizados en la presente Tesis Doctoral.

Experimental

145

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

(D) ILs tricatiónicos

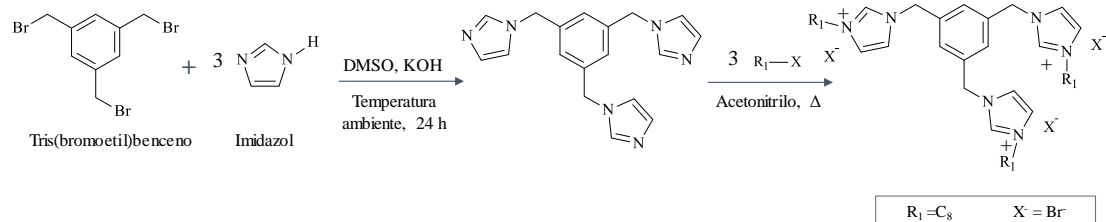
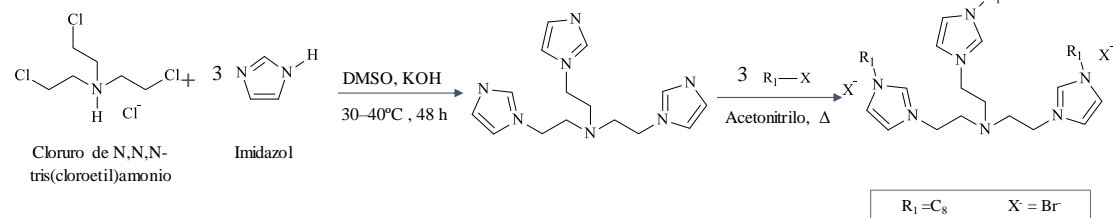
Síntesis de $(C_8Im)_3Bn-3Br$ Síntesis de $(C_8Im)_3Am-3Br$ 

Figura 1. (continuación) Esquemas generales de los procedimientos de síntesis de los ILs y surfactantes basados en ILs utilizados en la presente Tesis Doctoral.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

soporte de SPME comercial (Supelco), pudiéndose utilizar de forma automatizada con el CombiPal.

- *Recubrimiento PIL entrecruzado con MWCNTs* (material híbrido, PIL-MWCNTs), enlazado químicamente al soporte.
- *Recubrimientos PIL entrecruzados* generadas mediante el método de *spin-coating* (PIL-1 y PIL-2). Con este tipo de procedimiento, se consiguen fibras de grosor de recubrimiento relativamente mayor que con los métodos de polimerización *on fiber*.

La Figura 2 muestra un esquema del procedimiento de síntesis y montaje de las fibras de SPME. Los recubrimientos de las fibras son caracterizadas mediante microscopía de barrido electrónico (SEM).

3.1.3. Síntesis de líquidos iónicos magnéticos

Se han sintetizado diversos MILs de acuerdo a procedimientos ya descritos [3-6]. Dichos procedimientos están esquematizados en la Figura 3. Tras la síntesis, es necesario la purificación del producto y su caracterización, que se llevó a cabo principalmente mediante H^1 -RMN, C^{13} -RMN, MS y espectrometría Raman.

3.2. Preparación de disoluciones de trabajo

Durante la optimización y validación de las metodologías analíticas desarrolladas en la presente Tesis Doctoral fue necesario el uso de disoluciones estándar de los analitos objeto de estudio. La forma habitual de trabajo implica la preparación de disoluciones madre, disoluciones intermedias y disoluciones de trabajo. Las *disoluciones madre* son disoluciones individuales de cada analito obtenidas por la solubilización del analito puro en un disolvente orgánico (acetonitrilo o ciclohexano, dependiendo del experimento), y con concentraciones de $\sim 1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ o superior. Las *disoluciones intermedias* son disoluciones que contienen todos o varios de los analitos a determinar en cada aplicación, y se preparan por dilución de las disoluciones madre en un disolvente orgánico (acetonitrilo, ciclohexano o diclorometano), con concentraciones relativamente altas ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ o superior). Por otra parte, las *disoluciones de trabajo* se preparan por dilución de las disoluciones intermedias en agua ultrapura en la mayoría de las aplicaciones de la presente Tesis Doctoral. Estas disoluciones de trabajo son sometidas a

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

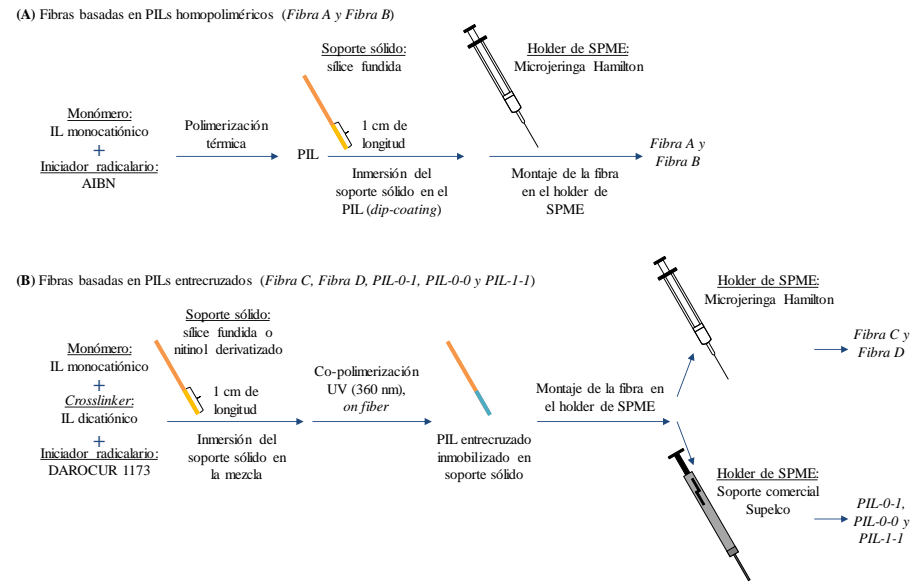


Figura 2. Esquemas generales de los procedimientos de polimerización y montaje de las fibras de SPME basadas en PILs utilizados en la presente Tesis Doctoral.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

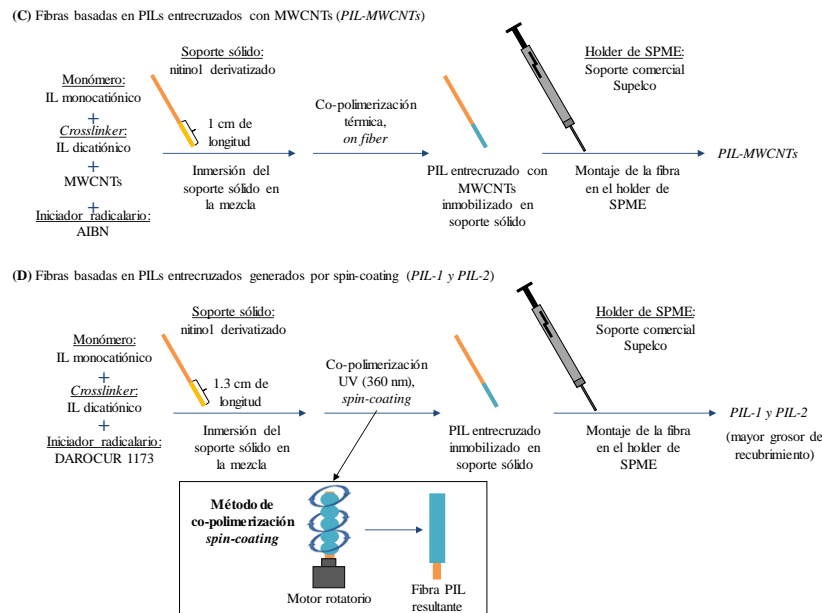
18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09



Experimental

Figura 2. (continuación) Esquemas generales de los procedimientos de polimerización y montaje de las fibras de SPME basadas en PILs utilizados en la presente Tesis Doctoral.

149

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

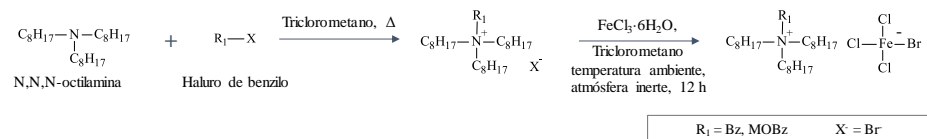
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

(A) MILs basados en aniones de FeCl_3Br y cationes de amonio



(B) MILs basados en aniones de FeCl_3Br y cationes de benzimidazolio

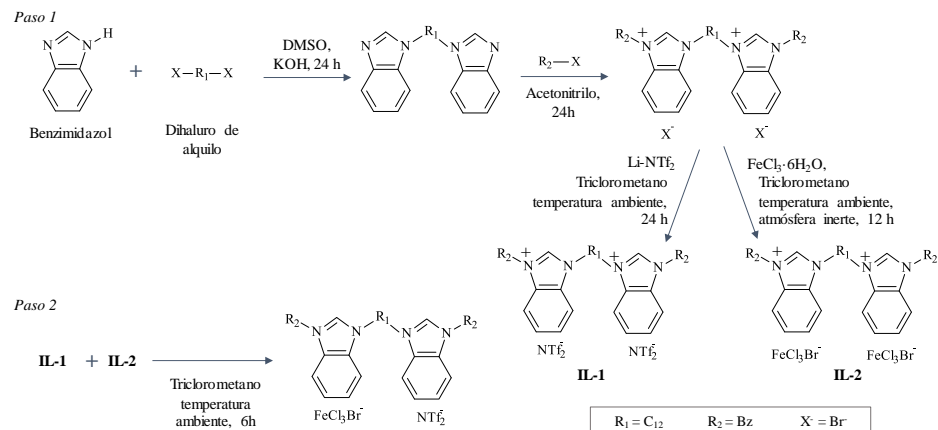


Figura 3. Esquemas generales de los procedimientos de síntesis de los MILs utilizados en la presente Tesis Doctoral.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

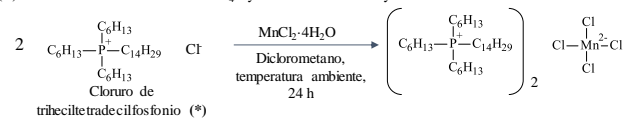
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

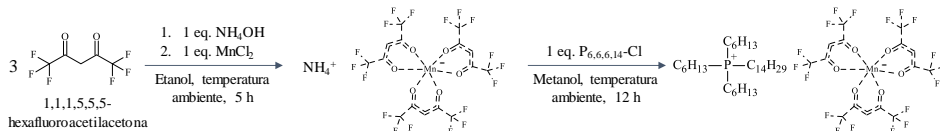
23/05/2017 14:48:09

(C) MILs basados en aniones de $MnCl_4^{2-}$ y cationes de fosonio y amonio



(*) Como reactivo de partida también puede usarse Alquat® 336

(D) MILs basados en aniones con metales de transición y cationes de fosonio



(E) MILs basados en aniones de lantanoides y cationes de fosonio

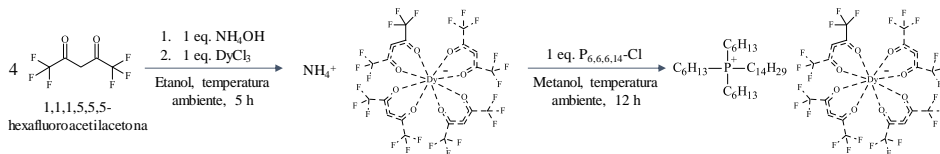


Figura 3. (continuación) Esquemas generales de los procedimientos de síntesis de los MILs utilizados en la presente Tesis Doctoral.

Experimental

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

los distintos procedimientos microextractivos, por lo que los analitos se encuentran a concentraciones relativamente bajas (en el orden de unos pocos miligramos/litro, microgramos/ o incluso nanogramos/ por litro).

Las disoluciones individuales e intermedias se almacenan en viales de topacio a 4 °C por un tiempo inferior a 2 años y 2 meses, respectivamente. Las disoluciones de trabajo se preparan en el momento del análisis, o se almacenan por un tiempo inferior a una semana en viales de topacio, a 4 °C.

3.3. Metodologías analíticas

En relación a las metodologías analíticas desarrolladas, la Tabla 5 muestra a modo de resumen las características principales de los procedimientos desarrollados en la Tesis Doctoral. Las metodologías analíticas que se resumen a continuación se refieren al método analítico ya optimizado. La optimización específica de cada metodología se describe en la correspondiente Sección de la Tesis en la que se incluye.

3.3.1. Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza en combinación con cromatografía de gases con detección por ionización en llama (HS-SPME-GC-FID), Sección IV.1

Esta metodología se desarrolló para la determinación de FFAs, fenoles y compuestos carbonílicos en muestras de queso utilizando fibras de SPME basadas en PILs y fibras comerciales (Tablas 1 y 5).

En la etapa de extracción por HS-SPME, se coloca 1 mL de disolución de trabajo (analitos en disolución saturada de NaCl, 1.0%, v/v, componente orgánico) – o 0.5 g de queso junto a 1 mL de disolución saturada de NaCl – en un vial de topacio de 7 mL de capacidad equipado con septum de politetrafluoroetileno (PTFE)/ butilo, suministrados por CTC Analytics. El vial se dispone en un termobloque metálico y la fibra de SPME se expone al espacio en cabeza del vial a 45 °C durante 40 min (condiciones óptimas para la fibra comercial de SPME CAR/PDMS). La desorción de la fibra se realiza en el inyector del GC durante 6 min a diferentes temperaturas, dependiendo de la fibra de SPME: 280 °C para CAR/PDMS (280 °C para PA y PDMS, 270 °C para PDMS/DVB, 250 °C para Fibra A y Fibra B, y 165 °C para Fibra C y Fibra D). No se observa efecto memoria

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(*carry-over*) utilizando estas condiciones de desorción. En cualquier caso, se realizó una desorción extra en el inyector del GC durante 10 min a modo de limpieza de la fibra después de cada día de trabajo.

En el GC, la inyección se realiza en modo *splitless*, utilizando un *liner* ultra-inerte de vidrio para SPME (modelo MD-24-12-1, Varian). El gas portador es nitrógeno a un flujo de 2 mL·min⁻¹. La separación tiene lugar en una columna capilar FFAP CB (25 m L × 0.35 mm I.D. × 0.30 μm de grosor de recubrimiento) de Agilent Technologies. El programa de temperaturas empleado para la separación fue el siguiente: 40 °C, 2 min isotérmico; 25 °C·min⁻¹ hasta 130 °C; 20 °C·min⁻¹ hasta 240 °C. La temperatura seleccionada en el detector es 280 °C, usando un flujo de aire de 300 mL·min⁻¹, un flujo de hidrógeno de 30 mL·min⁻¹ y un flujo de nitrógeno (*make-up*) de 30 mL·min⁻¹.

3.3.2. Microextracción en fase sólida en inmersión directa totalmente automatizada en combinación con cromatografía de gases con detección por ionización en llama (DI-SPME-GC-FID), Sección IV.2

Esta metodología fue empleada en la determinación de fenoles y PAHs en agua de consumo utilizando fibras de SPME basadas en PILs y fibras comerciales (Tablas 1 y 5).

En la extracción vía DI-SPME, a un vial de topacio de 20 mL de capacidad con septum de PTFE/butilo (CTC Analytics) se añade una barrita de agitación magnética de PTFE (15 mm L × 4.5 mm diámetro, VWR International Eurolab S.L.) y 18 mL de disolución de trabajo (disolución acuosa de los analitos conteniendo un 3.5%, v/v, de componente orgánico) – o 18 mL de agua de consumo –. La fibra se expone directamente a la disolución y la extracción transcurre a 35 °C durante 60 min, usando agitación magnética a 700 rpm (condiciones óptimas seleccionadas para todas las fibras). La desorción se realiza exponiendo la fibra en el inyector del GC durante 2 min y a diferentes temperaturas dependiendo de la fibra de SPME: 300 °C para CAR/PDMS (300 °C para PA, 280 °C para PDMS y 250 °C para las fibras basadas en PILs). Todo el procedimiento de extracción y desorción se realiza de forma automatizada gracias al uso del automuestreador Combi-Pal. No se observa efecto memoria en estas condiciones de desorción. En cualquier caso, se realizó una desorción extra en el inyector del GC durante 10 min a modo de limpieza de la fibra al inicio de cada día de trabajo.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

En el GC, la inyección se realiza en modo *splitless*, utilizando un *liner* ultra-inerte de vidrio para SPME (modelo MD-24-12-1, Varian). El gas portador es nitrógeno a un flujo de 1 mL·min⁻¹. La separación tiene lugar en una columna capilar Factor Four VF-5ms (30 m × 0.25 mm I.D. × 0.25 μm de grosor de recubrimiento) de Agilent Technologies. El programa de temperaturas empleado para la separación fue el siguiente: 40 °C, 2 min isotérmico; 14 °C·min⁻¹ hasta 190 °C; 190°C, 9 min isotérmico, 20 °C·min⁻¹ hasta 280 °C. La temperatura seleccionada en el detector fue de 280 °C, usando un flujo de aire de 300 mL·min⁻¹, un flujo de hidrógeno de 30 mL·min⁻¹ y un flujo de nitrógeno (*make-up*) de 30 mL·min⁻¹.

3.3.3. Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza con vacío en combinación con cromatografía de gases con detección por ionización en llama (*vacuum* HS-SPME-GC-FID), Sección IV.3

Esta metodología se empleó para la determinación de FFAs y fenoles en muestras de leche y yogurt utilizando fibras de SPME basadas en PILs y fibras comerciales (Tablas 1 y 5).

Se desarrollaron dos metodologías de SPME diferentes: *vacuum* HS-SPME y HS-SPME convencional:

- *Vacuum HS-SPME*

La metodología de *vacuum* HS-SPME requiere del desarrollo de un sistema de extracción modificado que permita el empleo de condiciones de presión reducida en el vial. Para ello, se ha diseñado una tapa modificada a partir de una válvula Mininert® (Sigma-Aldrich): la parte superior de la válvula se elimina y se perfora, de forma que pueda acomodar un septum cilíndrico Thermogreen® LB-1, que posee un orificio (9 mm L. × 6 mm diámetro, Supelco). Para asegurar que no hay pérdidas de vacío, se ajusta un O-ring (10 mm I.D.) en la parte inferior de la tapa modificada. La tapa modificada se acopla a un vial de vidrio de 10 mL de capacidad. Por otro lado, durante la extracción se utiliza una bomba de vacío VP-2 Autovac conectada a un tubo y una jeringa de plástico de 5 mL, equipada a su vez con una aguja de metal desmontable (22 gauge). También, se requiere del empleo de una jeringa Hamilton tipo gastight de 25 mL de capacidad que posee una aguja de metal desmontable (22 gauge).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Para la extracción vía *vacuum* HS-SPME, se dispone de un vial con una barrita agitadora magnética de PTFE (15 mm × 4.5 mm, Sigma-Aldrich) y la tapa modificada. En primer lugar, se evacua el aire que se encuentra dentro del vial de extracción utilizando la bomba de vacío: la aguja de la jeringa conectada a la bomba es insertada a través del septum Thermogreen® del sistema y el aire es evacuado durante 1.5 min, ajustando el vacío a 7 mbares. Tras esto, se cargan 5 mL de disolución de trabajo (analitos en disolución de NaCl al 25%, w/v, 0.33%, v/v componente orgánico) – o 5 mL de muestra en las mismas condiciones de NaCl y componente orgánico – en la jeringa gastight y se inyectan al sistema de extracción insertando la aguja de la jeringa a través del septum Thermogreen®. El vial se coloca en un baño de agua y la fibra de SPME es insertada a través del septum Thermogreen® del sistema. La fibra se expone al espacio en cabeza del vial, y la extracción transcurre a 35 °C y 400 rpm durante 20 min (condiciones óptimas utilizando la fibra CAR/PDMS). Transcurrido este tiempo, la fibra se retrae y se extrae del sistema. La desorción se realiza exponiendo la fibra en el inyector del GC durante 2 min y a diferentes temperaturas dependiendo de la fibra de SPME: 280 °C para CAR/PDMS (PDMS y PA, 270 °C para DVB/CAR/PDMS y 250 °C para las fibras basadas en PILs). No se observó efecto memoria en estas condiciones de desorción. En cualquier caso, se realizó una desorción extra en el inyector del GC durante 10 min a modo de limpieza de la fibra al inicio de cada día de trabajo.

En el GC, la inyección se realiza en modo *splitless*, utilizando un *liner* ultra-inerte de vidrio de 0.75 mm (Agilent Technologies). El gas portador es nitrógeno a un flujo de 1 mL·min⁻¹. La separación tiene lugar en una columna capilar FFAP CB (25 m L × 0.32 mm I.D. × 0.30 µm de grosor de recubrimiento) de Agilent Technologies. El programa de temperaturas empleado para la separación es el siguiente: 40 °C, 2 min isotérmico; 20 °C·min⁻¹ hasta 100 °C; 100 °C, 20 min isotérmico, 5 °C·min⁻¹ hasta 165 °C, 25 °C·min⁻¹ hasta 240 °C, 240 °C, 2 min isotérmico. La temperatura seleccionada en el detector fue 280 °C, usando un flujo de aire de 300 mL·min⁻¹, un flujo de hidrógeno de 30 mL·min⁻¹ y un flujo de nitrógeno (*make-up*) de 30 mL·min⁻¹.

- *HS-SPME convencional*

La extracción se realizó en viales de vidrio de 10 mL de capacidad equipados con septum de PTFE/butilo (Supelco). El procedimiento es similar al utilizado para *vacuum* HS-SPME, con la diferencia de que la etapa de evacuación del aire no es necesaria. La

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

fibra se expone al espacio en cabeza a 45 °C y 400 rpm durante 40 min (condiciones óptimas para la fibra CAR/PDMS). La desorción y la determinación analítica es análoga a la empleada en *vacuum* HS-SPME.

3.3.4. Determinación de parámetros micelares e interfaciales de surfactantes basados en ILs dicatiónicos y tricatiónicos, Sección V.1

Esta sección se dedica a la síntesis y caracterización de nuevos surfactantes basados en el ILs. La síntesis de los nuevos ILs se detalla en la Figura 1 (D) y en la Sección 3.1.1. La caracterización del comportamiento micelar requirió de medidas de tensión superficial, medidas de conductividad y medidas de fluorescencia.

- *Medidas de tensión superficial*

Las medidas de tensión superficial se emplean habitualmente para determinar la CMC de los surfactantes. Se sumerge el anillo de platino-iridio del tensiómetro en la disolución de surfactante y se mantiene la temperatura a (20 ± 1) °C. Se ajusta progresivamente la tensión del tensiómetro, hasta que se separa el anillo de la disolución micelar que inicialmente era capaz de retenerlo, y se anota en ese momento la fuerza requerida, que constituye la medida de la tensión superficial.

- *Medidas de conductividad*

Las medidas de conductividad se emplean también con frecuencia para la determinación de la CMC de los surfactantes. Para ello, se en la disolución termostatzada (25 ± 1) °C se sumerge la celda de conductividad, previamente calibrada de surfactante. Las medidas se llevan a cabo con concentraciones crecientes de surfactante para evaluar el punto de cambio de la pendiente en la variación de la conductividad de la disolución con la concentración de surefactante, que señala el valor de la CMC.

- *Medidas de fluorescencia*

Las medidas de fluorescencia se emplean también para determinar la CMC y el N_{agg} de los surfactantes. Para establecer la CMC de los distintos surfactantes basados en ILs, se utilizó pireno $8 \cdot 10^{-7}$ mol·L⁻¹ como marcador fluorescente. Se registra el espectro

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

de emisión del pireno en presencia del surfactante en el rango de 350 a 450 nm, utilizando una longitud de onda de excitación de 335 nm y rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm. Se selecciona la razón de intensidades de las intensidades de fluorescencia de las bandas del pireno obtenidas a 375 nm y 385 nm como señal analítica de medida. Las medidas se efectúan a diferentes concentraciones (crecientes) de surfactante.

Para la determinación del N_{agg} de los surfactantes, se empleó benzofenona-3 como reactivo quencheante para inhibir la fluorescencia del pireno. En condiciones óptimas, se emplean disoluciones de surfactante con una concentración que sea 2 veces su CMC y se mezclan con pireno ($1.6 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) y diferentes cantidades de benzofenona-3. Se registra el espectro de emisión del pireno en el rango de 350 a 450 nm, con 335 nm como longitud de onda de excitación y rendijas de 2.5 nm. Se selecciona en este caso la longitud de onda de emisión de 375 nm como señal analítica.

3.3.5. Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva con separación magnética en combinación con cromatografía líquida de alta resolución con detección de diodos en línea (m- μ -dSPE-HPLC-DAD), Sección V.2

Esta metodología se empleó para la determinación de fenoles con actividad de disruptor endocrino en muestras de agua. Como material de extracción, se emplearon hemimicelas mixtas de surfactantes basados en ILs (o de surfactantes basados en DSILs) anclados a MNPs de Fe_3O_4 (Tablas 2, 3 y 5).

Las disoluciones de surfactantes basados en DSILs se prepararon mediante la mezcla de disoluciones acuosas de $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ con disoluciones acuosas de $\text{C}_{16}\text{MIm-Br}$, $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$ o $(\text{C}_{16}\text{Im})_2\text{C}_{12}\text{-2Br}$. Además, cada tipo de DSIL se prepara utilizando tres diferentes fracciones molares de $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ (x_I), generando un total de 9 diferentes DSILs (Tabla 3).

Para la extracción, 100 mL de disolución de trabajo (analitos en agua ultrapura) – o muestra de agua – se añaden a un matraz de 250 mL de capacidad. Tras esto, se añaden 10 mg de MNPs de Fe_3O_4 y la cantidad de surfactante basado en IL (o basado en DSIL) para obtener una concentración final que sea la mitad de su CMC (o CMC*, en el caso de las DSILs): 2.6 mg de $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ o, cuando se emplea la DSIL óptima (denominada $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$, Tabla 3), 5.0 mg de $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ y 3.9 mg de $\text{C}_{16}\text{MIm-Br}$. El pH de la disolución se ajusta a 11 añadiendo una disolución de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

NaOH 0.5 mol·L⁻¹ y la muestra es sometida a ultrasonidos durante 2.5 min. Tras esto, un imán cilíndrico de Nd-Fe-B (7 cm L × 2 cm grosor, de ENES Magnesy Pawel Zientek, Warsawa, Polonia) se coloca en la base del matraz durante un tiempo de equilibración de 5 min. El material de extracción se aísla fácilmente vertiendo el sobrenadante. Para ello, se coloca un segundo imán de Nd-Fe-B (prisma, 5 cm × 2 cm × 2 cm) en el cuello del matraz y se vierte el sobrenadante. A continuación, se realiza la elución de los analitos retenidos en el material magnético, añadiendo porciones de 2 mL de acetonitrilo conteniendo 1% (v/v) de ácido acético, seguido de 30 s de ultrasonidos, 90 s de equilibración con el imán cilíndrico y separación magnética del eluato. Esta etapa de elución se repite dos veces. El volumen total de eluato es sometido a evaporación a 40 °C y 150 mbar durante 5 min. El residuo final diluido con acetonitrilo para obtener un volumen final de 500 µL, y filtrado utilizando filtros de jeringa CHROMAFIL® Xtra de tereftalato de polietileno (PET) de 0.45 µm (Macherey-Nagel GmbH & Co., Düren, Alemania) es inyectado en el HPLC (20 µL).

La separación en el HPLC se realiza utilizando una columna Vydac 201TP54 C₁₈ (250 mm L × 4.6 mm I.D. × 5 µm de tamaño de partícula), adquirida en W.R. Grace & Co. (Hesperoa, CA, USA) y protegida por una pre-columna Pelliguard LC-18 (Supelco). Se emplea un gradiente de elución lineal utilizando una fase móvil compuesta por acetonitrilo/agua a un flujo constante de 1 mL·min⁻¹. El gradiente de elución es el siguiente: inicialmente 30% (v/v) de acetonitrilo, que se incrementa hasta 45% (v/v) en 10 min, y hasta 100% (v/v) de acetonitrilo en 13 min, manteniéndolo durante 2 min. En el DAD, se cuantifica con dos longitudes de onda distintas: 270 y 280 nm.

3.3.6. Microextracción líquido-líquido dispersiva y microextracción líquido-líquido dispersiva *in situ* en combinación con espectroscopía de absorción atómica en llama (DLLME-FAAS e *in situ* DLLME-FAAS), Sección V.3

Estas metodologías fueron empleadas para la determinación de Cu(II) en muestras de agua. Como material de extracción, se utilizó un IL hidrofóbico en DLLME, y un surfactante basado en ILs en *in situ* DLLME (Tablas 2 y 5).

- DLLME-FAAS

En la DLLME, a un tubo de centrífuga de 30 mL de capacidad se añaden: 10 mL de disolución de trabajo (Cu(II) en agua ultrapura) – o de muestra de agua – y NaCl para

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

obtener una concentración de $23 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el tubo de extracción (en el caso del agua residual, no es necesario añadir NaCl). Tras esto, se añaden $38.2 \mu\text{L}$ de disolución de Na-DDTC de $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (agente complejante), $100 \mu\text{L}$ de $\text{C}_4\text{Mim-PF}_6$ (IL como disolvente extractante) y $900 \mu\text{L}$ de acetonitrilo (disolvente dispersor). El tubo se centrifuga a 3500 rpm durante 5 min y luego se enfría en un congelador a $-8 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 min . La microgota de IL, que se encuentra en el fondo del tubo de centrifuga, se aísla aspirándola con una microjeringa Hamilton de $50 \mu\text{L}$ (Hamilton, Reno, Nevada USA) y se transfiere a un vial de propileno, donde se diluye con acetonitrilo hasta $70 \mu\text{L}$. $50 \mu\text{L}$ de esta mezcla se transfieren a otro vial de propileno y son directamente aspirados en el espectrofotómetro FAAS.

En el FAAS, se emplea una llama acetileno:aire con flujos de $1.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y $3.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, respectivamente. La llama se genera en un mechero de 10 cm de longitud. La corriente de la lámpara de cátodo hueco de Cu(II) se fija a 4.0 mA y se emplea una rendija de 0.5 nm en el monocromador. Se optimiza la señal de la lámpara para obtener una ganancia entre 25 y 30% . La absorbancia de cobre se mide a 324.8 nm durante 8 s .

- *In situ DLLME*

En un tubo de centrifuga de 30 mL de capacidad se añaden: 10 mL de disolución de trabajo (Cu(II) en agua ultrapura) – o de muestra de agua – y NaCl para obtener una concentración de $23 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el tubo de extracción (en el caso del agua residual, no es necesario añadir NaCl). Tras esto, se añade $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$ para obtener una concentración de $25.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (surfactante basado en IL como disolvente extractante), 1 mL de disolución de Na-DDTC de $113 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (agente complejante), $800 \mu\text{L}$ de acetonitrilo (disolvente dispersor) y $126 \mu\text{L}$ de disolución de Li-NTf₂ de $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (reactivo de intercambio aniónico para la reacción de metátesis). Se aplica vortex durante 2.5 min , seguido de centrifugación a 3400 rpm durante 4 min , y enfriamiento en un congelador a $-8 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 min . El sobrenadante se elimina y la microgota congelada se diluye con $200 \mu\text{L}$ de acetonitrilo. $50 \mu\text{L}$ de esta mezcla se transfieren a otro vial de propileno y son directamente aspirados en el espectrofotómetro de FAAS usando las mismas condiciones experimentales que las descritas en DLLME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3.7. Microextracción líquido-líquido dispersiva con separación magnética en combinación con cromatografía líquida de alta resolución con detección fluorescente (DLLME-HPLC-FD), Sección VI.1

Esta metodología se utilizó para la determinación de PAHs en muestras de agua y té. Como extractantes, se emplearon diferentes materiales basados en MILs (Tablas 4 y 5).

A un tubo de extracción, se añaden 10 mL de disolución de trabajo (analitos en agua ultrapura) o muestra de agua o té. El contenido en NaCl se ajusta a un 25% (w/v) y se añade 0.5 mL de NaOH 0.5 mol·L⁻¹. Tras esto, se añade 20 µL de MIL (disolvente extractante) y 500 µL de acetona (disolvente dispersor), seguido de 5 min de vortex (condiciones óptimas para N_{8,8,8}Bz-FeCl₃Br). Para aislar el material de extracción, se coloca un imán de Nd-Fe-B en un lateral de vial de extracción. El MIL queda retenido en las paredes del tubo de extracción y el sobrenadante se elimina con ayuda de una pipeta. A continuación, se realiza la re-extracción de los analitos con 500 µL de *n*-hexano, 1 min de vortex y separación magnética. Este procedimiento se repite dos veces. El volumen total de eluato se evapora hasta sequedad utilizando una corriente de aire. El residuo es diluido con acetonitrilo hasta 300 µL y filtrado a través de filtros de jeringa de fluoruro de polivinilideno (PVDF) de 0.2 µm (Whatman, Freiburg, Alemania) e inyectado en el HPLC (5 µL).

La separación cromatográfica se realiza utilizando una columna SUPELCOSIL™ LC-PAH (250 mm L × 2.1 mm I.D. × 5 µm de tamaño de partícula), adquirida en Supelco y protegida por una pre-columna Pelliguard LC-18 (Supelco). La columna se mantiene a una temperatura de 30 °C. Se emplea un gradiente de elución lineal utilizando una fase móvil compuesta por acetonitrilo/agua a un flujo constante de 0.5 mL·min⁻¹. El gradiente de elución es el siguiente: inicialmente 3 min a un 75% (v/v) de acetonitrilo, luego el porcentaje de acetonitrilo se incrementa hasta 100% (v/v) de acetonitrilo en 17 min, manteniendo este porcentaje durante 5 min. El detector de fluorescencia (Waters 474) utiliza rendijas de excitación y emisión de 18 nm y el programa de longitudes de onda siguiente: inicialmente 248/370 (nm) (longitud de onda de excitación/longitud de onda de emisión,) con una ganancia de 10, seguido de un cambio a 273/384 (nm) y ganancia 100 a los 6.5 min, luego a 254/451 (nm) a los 9.9 min, posteriormente a 288/406 (nm) a los 12.3 min y, finalmente, a 248/370 (nm) y ganancia 10 a los 16.3 min.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3.8. Microextracción en gota suspendida en espacio en cabeza con vacío en combinación con cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas (*vacuum* HS-SDME-GC-MS), Sección VI.2

Esta metodología se utilizó para la determinación de FFAs en muestras de leche utilizando MILs como disolventes de extracción (Tablas 4 y 5).

La metodología de *vacuum* HS-SDME requiere del diseño de un sistema de extracción con una tapa modificada. Para ello, se perfora un septum de PTFE/silicona (Sigma-Aldrich) para introducir un imán cilíndrico de Nd-Fe-B (5 cm L × 0.5 cm diámetro, B = 0.66 T), adquirido en K&J Magnetics, Inc. (Pipersville, PA, USA). Se conecta una goma de plástico a una tapa de acero inoxidable con un orificio de 8 mm de diámetro (Sigma-Aldrich). Tras esto, se acoplan las dos partes del sistema (la goma con la tapa y el imán con el septum). Finalmente, la tapa modificada se acopla a un vial de vidrio de 20 mL (Sigma-Aldrich).

Por otro lado, durante la extracción se utiliza una bomba de vacío Buchi conectada a una jeringa de plástico de 5 mL, equipada a su vez con una aguja de metal desmontable (22 gauge). También, se requiere del uso de una jeringa Hamilton tipo gastight de 10 mL de capacidad (Sigma-Aldrich).

Cuando el proceso de extracción termina, es necesario realizar una etapa de desorción de los analitos extraídos en el MIL en una unidad de desorción por espacio en cabeza (HSD) que se encuentra conectada al GC-MS. Para la HSD, se requiere un vial modificado de desorción. Para ello, se utiliza un vial de vidrio de 10 mL (Agilent Technologies). El vial se llena con 12.5 g de esferas de vidrio (3 mm diámetro), se acopla un inserto de vidrio y se coloca una tapa de aluminio con un septum de PTFE/silicona, de forma que el volumen de espacio en cabeza es de 4.2 mL. El objetivo de esta modificación es la minimización del volumen de espacio en cabeza.

Para llevar a cabo la extracción en condiciones óptimas, se colocan 20 µL de MIL (P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃) en la parte inferior del imán y se acopla a un vial vacío que contiene una barrita de agitación magnética de PTFE (15 mm × 4.5 mm, Sigma-Aldrich). La aguja de la jeringa conectada a la bomba de vacío se inserta a través de la goma y el septum de la tapa modificada, y el aire se evacúa durante 2 min. A continuación, se inyectan 10 mL de disolución de trabajo (analitos en disolución de NaCl al 30%, w/v o muestra conteniendo NaCl) a través del mismo puerto, utilizando la jeringa gastight. El vial se

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

coloca inmediatamente en una placa calefactora con agitación magnética. La extracción se lleva a cabo mediante la exposición del MIL al espacio en cabeza de la disolución durante 60 min, fijando 45 °C y 600 rpm. Tras esto, el MIL se transfiera a un vial modificado de HSD.

La HSD se realiza trabajando en modo *flow to pressure* (50 psi), utilizando 150 °C, 165 °C y 175 °C como temperaturas del horno, loop y de la línea de transferencia de la unidad de HSD, respectivamente. Se seleccionó un tiempo de equilibración de 10 min y una agitación de 100 ciclos·min⁻¹. La separación en el GC se realizó utilizando una columna capilar MEGA-FFAP EXT (50 m L × 0.20 mm I.D. × 0.20 μL de grosor de recubrimiento) adquirida en Mega s.n.c. (Legnano, MI, Italy). Se empleó helio como gas portador a un flujo de 1 mL·min⁻¹ manteniendo el *inlet* a 290 °C con un split ratio de 5:1. El programa de temperaturas de la columna fue el siguiente: inicialmente 100 °C, isoterma durante 2 min, 5 °C·min⁻¹ hasta 240 °C, 240 °C, isoterma durante 3 min. La línea de transferencia del GC al MS se mantiene a 250 °C. El MS opera en modo de ionización EI a 70 eV, empleando 230 °C y 150 °C como temperaturas de la fuente y del cuadrupolo, respectivamente. El cromatograma se registra en modo de monitorización de iones simples (SIM) con el siguiente programa de segmentos: segmento 1 (se inicia a 17.5 min), monitorizando las m/z 43, 45, 73 y 74; segmento 2 (a 18.5 min), m/z 41,43,73 y 73; segmento 3 (a 19.4 min), m/z 41, 43, 60 y 73; segmento 4 (a 23.5 min), m/z 57, 73 y 74; y segmento 5 (a 24.5 min), m/z 41, 60 y 73.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Bibliografía

- [1] Q.Q. Baltazar, J. Chandawalla, K. Sawyer, J.L. Anderson, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 302 (2007) 150–156.
- [2] O. Nacham, A. Martín-Pérez, D.J. Steyer, M.J. Trujillo-Rodríguez, J.L. Anderson, V. Pino, A.M. Afonso, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 469 (2015) 224–234.
- [3] O. Nacham, K.D. Clark, H. Yu, J.L. Anderson, *Chem. Mater.* 27 (2015) 923–931.
- [4] R.E. Del Sesto, T.M. McCleskey, A.K. Burrel, G.A. Baker, J.D. Thompson, B.L. Scott, J.S. Wilkes, P. Williams, *Chem. Commun* (2008) 447–449.
- [5] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A.M. Afonso, A. Irabien, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 89 (2014) 866–871.
- [6] S.A. Pierson, O. Nacham, K.D. Clark, H. Nan, Y. Mudryk, J.L. Anderson, *New J. Chem.* Under review.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA		Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA		18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA		18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA		23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Capítulo III

Aspectos teóricos del empleo
de líquidos iónicos en
microextracción

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los líquidos iónicos (ILs) y sus derivados han demostrado ser materiales versátiles para ser empleados en gran variedad de técnicas de microextracción. En concreto, los ILs se caracterizan por poseer propiedades físico-químicas únicas como una baja o despreciable presión de vapor a temperatura ambiente y una elevada estabilidad térmica, química y electroquímica. Además, cabe resaltar que aunque se efectúen pequeñas modificaciones en la estructura del IL, estas estarán acompañadas por modificaciones dramáticas de algunas de sus propiedades, incluyendo solubilidad y viscosidad. Al mismo tiempo, la incorporación de grupos funcionales polares y no polares a la estructura del IL puede promover interacciones diferentes con gran variedad de analitos, razón por la cual los ILs experimentan una gran capacidad de solvatación con analitos de naturaleza variada. A todo ello se une la ventaja de que pueden ser fácilmente diseñados para aplicaciones específicas.

Estas aplicaciones son extensibles a sus derivados, entre los que destacan los surfactantes basados en ILs y los polímeros de líquidos iónicos (PILs). En el caso de estas sustancias hay que sumar, además, las ventajas derivadas de su carácter inherente de surfactante y polímero, respectivamente. Del mismo modo, ILs y derivados pueden combinarse con materiales de diferente naturaleza para general materiales híbridos.

En este capítulo se pretende dar una visión global del empleo de todos estos materiales en microextracción. Las aplicaciones que se describen incluyen tanto las modalidades de microextracción en fase líquida (LPME) como algunas de las modalidades de microextracción basada en sorbentes sólidos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section III.1

Ionic liquids in the microextraction context

in: Miguel Valcárcel, Marisol Cárdenas, Rafael Lucena (Eds.), Analytical Microextraction Techniques, Bentham Science Publishers, 2017, pp. 70–134

María J. Trujillo-Rodríguez, Verónica Pino*, Juan H. Ayala, Ana M. Afonso

Departamento de Química, Unidad Departamental de Química Analítica, Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206, Spain

Abstract

The structural versatility of ionic liquids (ILs), the wide range of interest properties that can present, their synthetic tuneability, together with their impressive solvation abilities for analytes of quite different nature, make their use in microextraction techniques an obvious approach of great interest. Thus, ILs and a group of interesting derivatives, such as polymeric ionic liquids (PILs) and IL-based surfactants, pure, mixed, or combined with other materials forming hybrid sorbents, have been used in all variants of liquid-phase and solid-based microextraction strategies.

This chapter will give an exhaustive overview of existing approaches that combine ILs and derivatives in liquid-phase microextraction (LPME) modes such as single-drop microextraction (SDME), hollow fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME) and dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), including all their variants; and also in solid-based microextraction methods, such as micro-solid-phase extraction (μ -SPE), solid-phase microextraction (SPME), stir-bar sorptive extraction (SBSE), and stir-cake sorptive extraction (SCSE).

Keywords

dispersive liquid-liquid microextraction, environmental applications, food applications, hollow-fiber liquid phase-microextraction, ionic liquids, ionic liquid-based surfactants, liquid-phase microextraction, micro-solid-phase extraction, polymeric ionic liquids, single-drop microextraction, solid-phase extraction, solid-phase microextraction, stir bar sorptive extraction, stir cake sorptive extraction.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

1.1. Ionic liquids

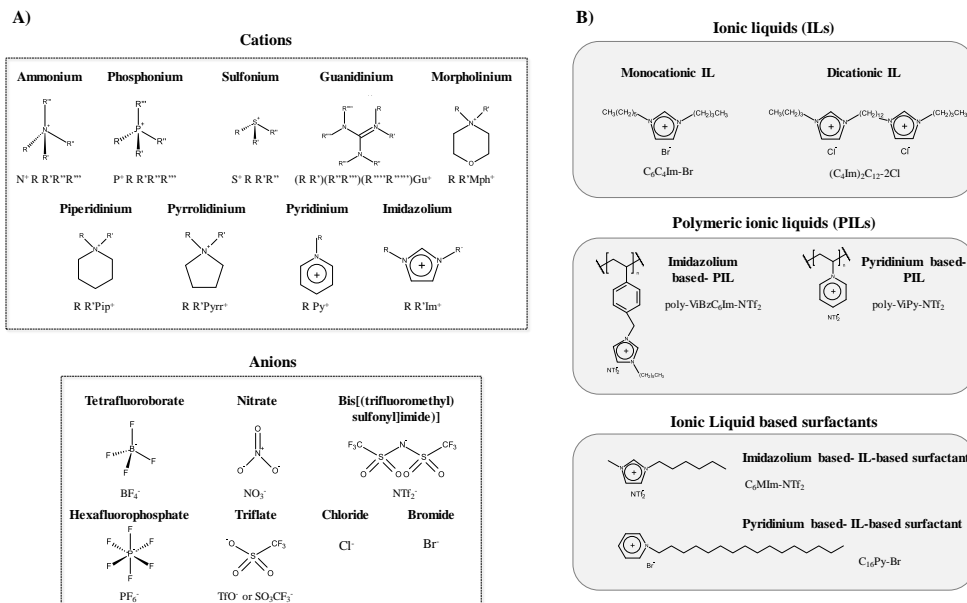
Ionic liquids (ILs) constitute a group of non-molecular solvents characterized for presenting melting points below 100 °C [1,2,3] and a number of outstanding properties [4], such as negligible vapor pressure at room temperature, high chemical and electrochemical stabilities, and capability to interact with a variety of analytes through different solvation mechanisms, among others. They are mainly formed by large and asymmetric organic cations, which contain a nitrogen or phosphorus atom, associated with an inorganic or organic anion. Figure 1 shows a scheme of common structures of ILs and derivatives. Those ILs which retain their liquid nature at room temperature are designated as room temperature ILs (RTILs).

Relatively simple modifications of the IL structure (change in the nature of the IL anion, incorporation of a certain functional group in the IL cation...) are accompanied by dramatic modifications of their properties: from water soluble to water insoluble, from medium viscosity to high viscosity, and so on [4]. This can be clearly observed from Table 1 [5-7], in which the modifications of IL properties with a simple change of the anion nature are shown. As a result, ILs can be tailored for specific applications in a quite simple manner. The incorporation of a polar functional group can promote dipolar interactions between the IL and polar analytes. In the same manner, the incorporation of long aliphatic alkyl chains to an IL can enhance its extraction ability with nonpolar analytes [8].

It is also important to mention the impressive solvation ability of ILs, useful for polar to non-polar compounds. This is due to the electrostatic interactions associated with the cation and anion moieties comprised within the ILs, as well as their ability to undergo unique intermolecular interactions [8]. Their solvation ability has been explored with different models, being particularly successful the Abraham solvation parameter model [9].

ILs have also been subject of topic in Green Analytical Chemistry, given that they do not generate volatile organic compounds (VOCs), therefore being excellent candidates for substituting toxic chlorinated organic solvents [10]. Nevertheless, recent studies have pointed out the toxicity of certain ILs [11]. For this reason, the environmental implications

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Aspectos teóricos en el empleo de líquidos iónicos en microextracción

Figure 1. (A) Main cations and anions constituting the structures of ionic liquids and derivatives, and (B) Examples of structures for ionic liquids, polymeric ionic liquids, and ionic liquids based surfactants.

171

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

of ILs have been reviewed [12-14]. As an important trend to decrease the possible toxicity of ILs, it has been pointed out that the structural manipulation of the pyridinium or morpholinium skeleton is the key to obtain biodegradable ILs [12].

Table 1. Physicochemical properties of a group of ILs containing the 1-butyl-3-methylimidazolium (C₄MIm⁺) cation at 25 °C (or at the specified temperature) [5-7].

IL anion	Abbreviation	Melting point (°C)	Density (g·mL ⁻¹)	Viscosity (cP)
hexafluorophosphate	C ₄ MIm-PF ₆	10	1.373	450
tetrafluoroborate	C ₄ MIm-BF ₄	-81	1.208	219
chloride	C ₄ MIm-Cl	53	-	1.7 (30 °C)
bromide	C ₄ MIm-Br	79	-	0.8 (30 °C)

This group of properties mentioned early and the high number of available ILs justify the enormous interest that surrounds them and, particularly, the multiple applications described for these “designer solvents” in Analytical Chemistry [8,15-18].

The abbreviations used for the ILs in this chapter will follow the common trend. Thus, alkyl substituents of the IL cation will be first written showing their length i.e.: C₈ for octyl, C₂ for ethyl, or M for methyl; followed by the terms Im for imidazolium, Pyrr for pyrrolidinium, and Py for pyridinium; and finalizing by the anion: -PF₆ for hexafluorophosphate, -Br for bromide, -NTf₂ for bis[(trifluoromethane)sulfonyl]imide, and so on. In the case of imidazolium-based ILs, the substituent located in position 1 will be first written, followed by the substituent in position 3.

Apart from neat ILs, several ILs derivatives need to be highlighted in Analytical Chemistry, and their uses will be also described in this chapter. Polymeric ionic liquids (PILs) are defined as polymers synthesized from IL monomers as opposed to polyelectrolytes, which are synthesized from solid salt monomers [19]. IL-based surfactants are defined as surfactants derived from ILs [20], and not necessarily keep the liquid nature at temperatures below 100 °C.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1.2. Microextraction methods in Analytical Chemistry

The utilization of microextraction strategies for sample preparation in Analytical Chemistry has been one of the hottest topics in the last twenty-twenty five years [21-30]. The idea is simple: the utilization of low quantities of extraction solvents and/or sorbents (micro-amounts) in the analytical extraction stage, while keeping adequate analytical performances (in terms of efficiency and reproducibility) than those achieved with conventional extraction methods (which usually require macro-amounts of solvents and/or sorbents). This trend of minimization of reagents and wastes in the analytical laboratory, or the utilization of less harmful solvents and reagents, follows the green analytical chemistry rules with the aim of developing environmental-friendly methods [31-35].

From a simplistic point of view, those strategies that utilize liquid extracting solvents in microextraction procedures are included in the group of liquid-phase microextraction techniques, while those involving a solid sorbent are grouped as solid-based microextraction techniques.

Considering the liquid nature of ILs at mild temperatures, it results obvious their link to all liquid-phase microextraction techniques [36-39]. However, ILs have also found an important application area in solid-based microextraction strategies. Thus, ILs can be used as solids if working at temperatures lower than their melting points. However, it is important to highlight that IL derivatives, rather than neat ILs, are the preferred solid sorbents used in solid-based microextraction methods. Among IL derivatives, PILs altogether with ILs constituting hybrid materials (i.e. ILs linked to silica) need to be highlighted [40,41]. This chapter intends to give an overview of the main applications of ILs and derivatives in microextraction methods, as it is summarized in Figure 2.

2. Ionic liquids in liquid-phase microextraction

Liquid-phase microextraction methods go beyond a simple miniaturization of the classical liquid-liquid extraction (LLE) procedure. In LLE, large amounts of both the aqueous sample (~0.5–2 L) and the extractant solvent (~200–500 mL, which is water-immiscible) are required to ensure an efficient partition of analytes, which are initially present into the aqueous sample, to the extractant solvent (normally an organic solvent).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

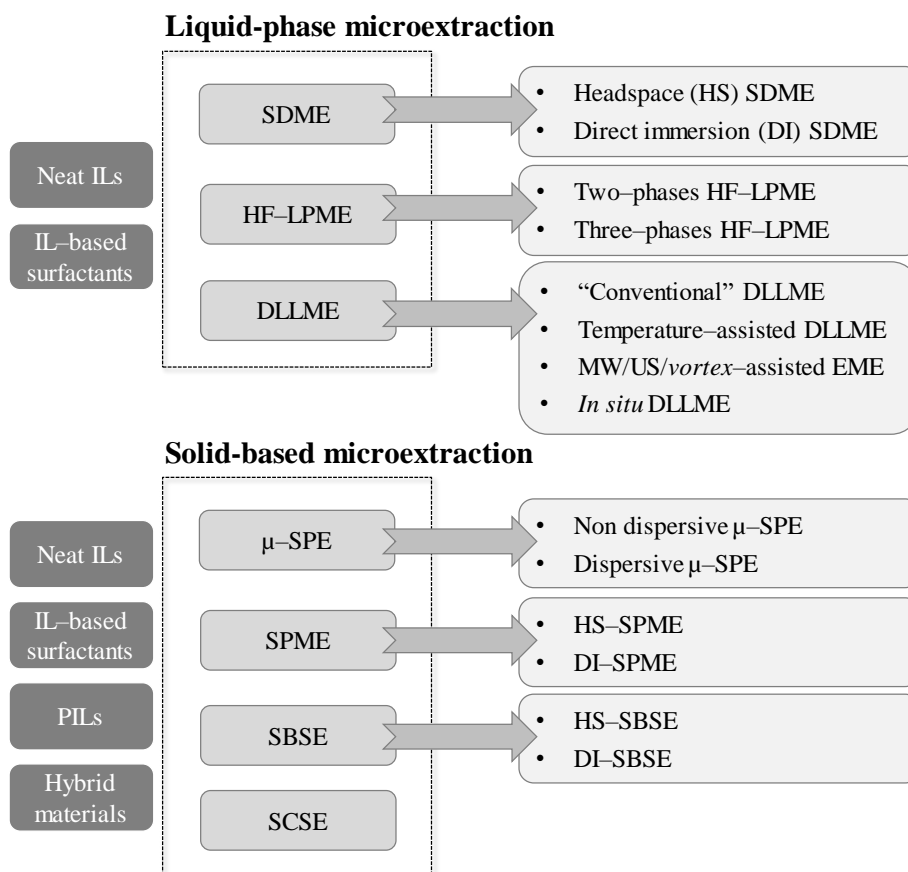


Figure 2. Applications of ionic liquids and derivatives in different microextraction procedures: single-drop microextraction (SDME), hollow-fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME), dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), micro solid-phase extraction (μ -SPE), solid-phase microextraction (SPME), stir-bar sorptive extraction (SBSE), and stir-cake sorptive extraction (SCSE). The following abbreviations have also been used in the figure: ILs for ionic liquids, IL-based surfactants for ionic liquid-based surfactants, PILs for polymeric ionic liquids, MW for microwaves, and US for ultrasounds.

LLE also requires strong mixing between both solvents, and a timing to ensure adequate phase separation after mixing. Furthermore, cautions must be undertaken to avoid the formation of emulsions. Once the organic solvent contains the extracted analytes, it can be further subjected to stages of clean-up and/or solvent-exchange. *A priori*, it might look like that the utilization of lower amounts of both, aqueous sample and extractant solvent,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

following the same extraction procedure as LLE, is the basis of LPME. In fact, only one of the liquid-phase microextraction (LPME) modes, the so-called liquid-liquid microextraction (LLME), is really a micro-LLE. All remaining modes of LPME, namely single-drop microextraction (SDME), hollow-fiber liquid phase microextraction (HF-LPME), and dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), as main variants, do not exactly match the concept of a simple micro-LLE. As a matter of fact, all extraction methods which require micro-liters of liquid extracting solvents to accomplish the extraction strategy are included under the umbrella of LPME [23,42,43].

ILs have been used in all LPME modes, as it will be summarized in these sections, as a function of the microextraction mode.

As a general rule when using ILs in LPME, it is important to take into account that the wavelength must be carefully selected to ensure a high absorptivity for the analytes while minimizing the absorptivity of the IL, if UV-Vis detection is utilized in combination with high-performance liquid chromatography (HPLC) or capillary electrophoresis (CE). If such selection is not possible, adequate chromatographic or electrophoretic resolution between the IL and the analytes is required. This requirement needs to be satisfied in all LPME modes involving ILs and UV detection.

2.1. Ionic liquids in single drop microextraction

Single-drop microextraction is a LPME mode in which a single drop of extractant solvent (few microliters, ~1–15 µL) is required to accomplish the microextraction step. The technique was mainly developed by Dasgupta [44-47]. The simplest SDME mode utilizes the needle of a syringe to support the droplet, which is exposed to the sample solution containing analytes for a certain period of time. It can be performed in the headspace (HS-SDME) or directly in the bulk solution (DI-SDME). Once analytes suffer partition into the droplet, it is retracted in the syringe and further subjected to analytical determination. If there is not adequate compatibility between the microdroplet solvent and the analytical instrumentation, it is possible to incorporate a solvent-exchange as clean-up step. Figure 3(A) includes a summarizing scheme of SDME. The main advantages of this microextraction method are: simplicity, inexistence of memory effect (a new droplet is used in every extraction), and the possibility of automation [48,49]. Among the disadvantages are relatively long extraction times (~20-90 min), difficulties

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

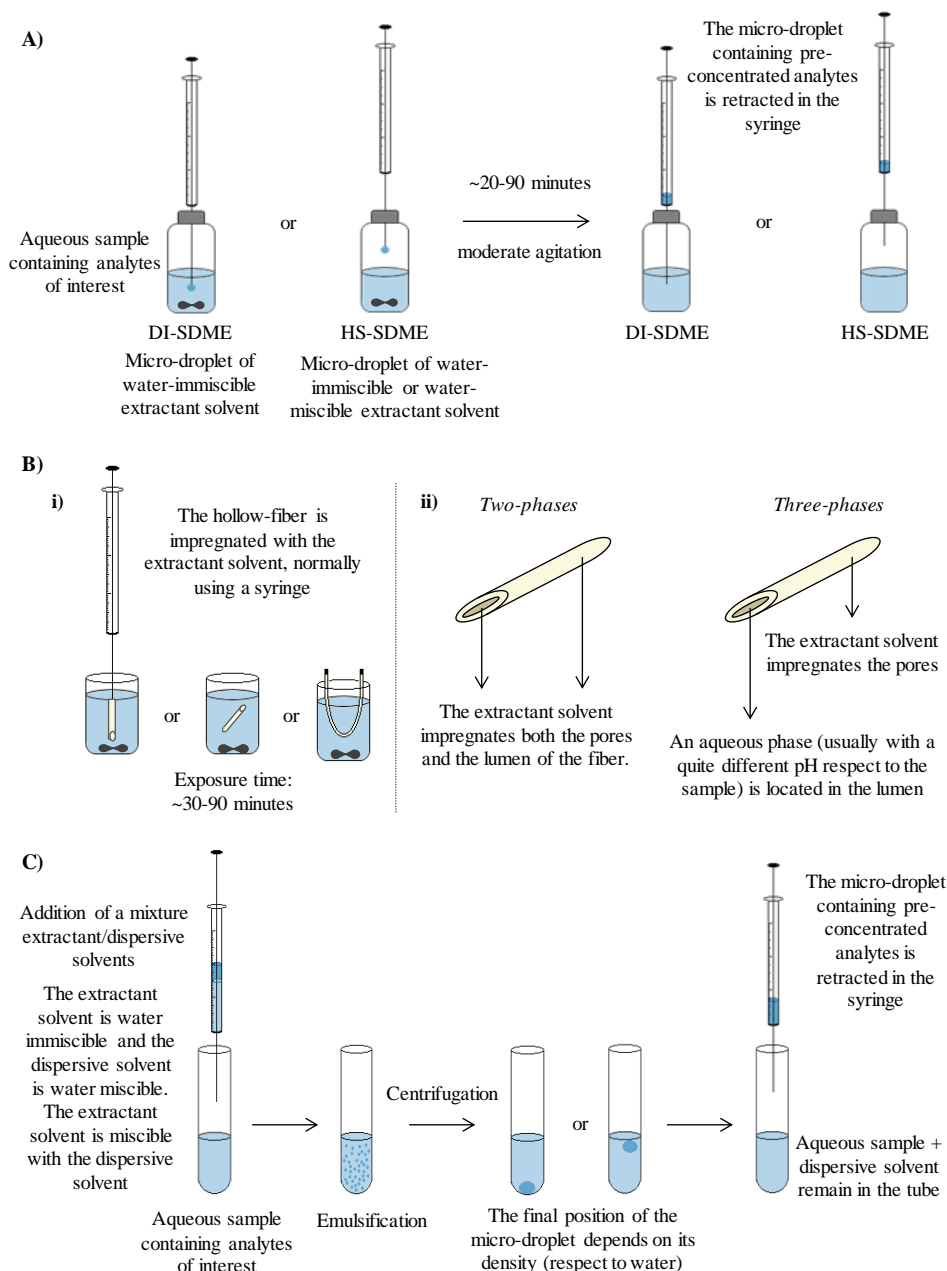


Figure 3. Main liquid-phase microextraction modes: **A)** single-drop microextraction (SDME); **B)** hollow-fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME) showing i) different configurations for the extraction with the HF, and ii) the fundamentals of the two-phases and three-phases HF-LPME; and **C)** conventional dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME).

in keeping the droplet attached to the syringe during long extraction times, necessity of low stirring rates to avoid the falling of the droplet, really low droplet volumes (and thus limited extraction efficiency), and impossibility of using volatile solvents (because they can evaporate before the extraction is completed). Modifications of this conventional SDME mode imply the use of the droplet directly suspended in the sample solution, in the so-called directly suspended droplet microextraction (DSDME) [50,51], followed in several cases by further freezing of the droplet to facilitate its sampling, the so-called solidification of the floating organic (SFO) [52].

ILs have been used in practically all SDME variants, with approximately the same number of works in DI mode than in HS.

In DI-SDME, all reported applications evidently utilize water-immiscible ILs, mainly C₄MIm-PF₆ [53-64], but also C₆MIm-PF₆ [65-68] and C₈MIm-PF₆ [69,70]. In some cases, specific highly hydrophobic ILs have been synthesized, as those containing the tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate (FAP) anion [71]. Recent applications describe the use of mixtures of C₄MIm-PF₆ with Pt nanoparticles (NPs) [56] or even mixtures of C₄MIm-PF₆ with nanocellulose and carboxylated multiwalled carbon nanotubes (c-MWCNTs) [53]. Microdroplet IL volumes usually range from 2 µL [56] to 20 µL [57]. Larger volumes in DI- (from 6 to 20 µL) are normally facilitated with the use of a PTFE tube as support, and using low stirring rates to avoid the falling of the droplet. Common variables used to increase the extraction efficiency in DI-SDME with ILs are the extraction time, varying from 2 min [55] to 120 min [71]; the pH if ionizable analytes are studied, and the ionic strength of the donor solution. The temperature is rarely controlled in DI-SDME with ILs [58].

The reported DI-SDME methods with ILs have been used in combination with spectrophotometry [57], atomic absorption spectrometry (AAS) [54,61,62,72,73], inductively-coupled plasma (ICP) [63], matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI) [56], HPLC [58,64-71], and CE [53,59,74]. Recently, a microfluidic device has also been proposed to favor the extraction efficiency using sonicated waves [55]. Interestingly, automation of the DI-SDME with ILs has been possible without any alteration on the CE instrument, utilizing IL droplet volumes of 2.40 nL [59,60]. In this case, it is important to ensure the total solubility of the IL in the buffer solution within a short time [59,60]. Generally, the compatibility of the final IL microdroplet containing the preconcentrated analytes with the further analytical instrument is important to be

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

ensured. Proper dissolution of the IL droplet with certain solvents is accomplished prior to the analytical determination when such compatibility is not possible [53,54,57,73].

Applications of IL-DI-SDME include the determination of organic compounds (aromatic amines, sulfonamides, anilines, phenols, carbonyl compounds, hydrocarbons...) [53,55,58-60,64-66,68,71,75] and metals (Cd, Cu, Co, Pb, Hg, and Mn) utilizing proper chelating agents [54,57,61,62,65,67,72,73]; in a variety of aqueous samples [53,54,58-67,69-73], with sample volumes varying from 1 to 20 mL.

In HS-SDME, the utilization of ILs as alternatives to organic solvents is clearly interesting not only for their low toxicity and outstanding solvation abilities, but mainly because it is minimized (if not totally avoided) the losses of extractant solvent due to evaporation. This is totally linked to IL properties, particularly their low to negligible vapor pressures and their thermal stability. Some applications can utilize water-immiscible ILs, mainly C₄MIm-PF₆ [76-82], C₆MIm-PF₆ [83-85], C₆MIm-NTf₂ [86,87], or C₈MIm-PF₆ [74,88-95]; as well as water-miscible ILs such as C₆MIm-BF₄ [75] or C₄MIm-Cl [96]. The mixture of C₆MIm-PF₆ with CdSe/ZnS quantum dots has also been shown [83]. Micelles of conventional surfactants such as sodium dodecyl sulfate (SDS) or IL-based surfactants such as C₁₀MIm-Br have also been used as micellar components (~pseudo-stationary phase) in a microdroplet of C₄MIm-Cl, showing improved extraction behavior in HS-SDME [96]. Microdroplet IL volumes usually range from 1 μL [89,90,92,94,97] to 20 μL [83]. Common variables used to increase the extraction efficiency in HS-SDME with ILs are: the extraction time, varying from 2 min [83] to 45 min [89,94], and being an average of ~30 min; the pH in case that ionizable analytes are studied, the ionic strength of the donor solution, which is particularly helpful to decrease the solubility of analytes in the water solution forcing them to the HS; and also the temperature, varying from room temperature [84,96] to 85 °C [79], and being an average of ~50 °C. The generation of volatile analytes, or the increase of their content in the headspace is sometimes favored by the dynamic nebulization extraction [74], ultrasonic nebulization [75], hydrodistillation [88], or microwaves [85].

The reported HS-SDME methods with ILs are combined with a variety of analytical techniques, such as HPLC [77,78,80,81,85,96], AAS [79,98], ion mobility spectrometry (IMS) [86,87], but mainly GC [74-76,82,84,88-95,97]. Automation of the overall method has been described in several GC works [89,90]. In any case, it is really important to ensure that the IL does not fall into the GC system, and thus several interfaces

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

have been developed with this purpose [74,76,82,84,86-95]. In this way, it has been described an interface that contains a removable unit, in which a stainless steel (SS) tube packed with cotton can trap the IL while allowing desorption of the analytes. In other cases, long liners containing cotton or glass wool are utilized, altogether with a guard column. The IL droplet is retracted back in the syringe after desorption of analytes. In any case, replacement of these systems is needed after every 5 to 15 injections.

The majority of applications of IL-HS-SDME cover the extraction of organic compounds: essential oils, personal care products, flavors, musk, drugs, amines, esters, phenols and derivatives, aromatic hydrocarbons, carbonyl compounds, chlorobenzenes, trihalomethanes... The variety of samples is much higher than that of DI-SDME applications, and covers aqueous samples [76,80-82,84,85,91-95,98] and more complex samples such as wastewaters, fruits, fruit juices, seeds, sewage sludge, fish, wine, gasoline... The HS-SDME can be directly conducted in the samples, and in some cases in the resulting extract of very complex samples, for example after application of pressurized liquid extraction (PLE) [89].

2.2. Ionic liquids in hollow-fiber liquid-phase microextraction

This LPME mode was mainly developed by Pedersen-Bjergaard and Rasmussen in 1999 [99], but the original idea was published by Audunsson in 1986 [100] and later improved by Thordarson in 1996 [101]. In HF-LPME, a hollow porous membrane is used as inert material to support the extractant solvent onto the sample. The hollow-fiber, normally made of polypropylene, is commonly attached to a syringe but not necessarily. Figure 3(B) includes a summarizing scheme of HF-LPME. It can be carried out in the HS- or in DI- mode, and also in static- or dynamic-mode.

Some important advantages of this microextraction procedure can be mentioned: the amount of extractant solvent is much higher than in SDME because the membrane is able to retain efficiently higher volumes of solvent, and thus higher extraction efficiencies can be obtained. In addition to this, HF-LPME is quite adequate for the extraction of complex samples because the membrane can act as a protective barrier *versus* deleterious sample components. Automation in HF-LPME is also possible, as it was described by Pawliszyn *et al.* in 2007 [102]. As in SDME, the main disadvantage of this method is the long extraction time required (~30–60 min).

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Interestingly, HF-LPME can also be classified as two-phases HF-LPME or three-phases HF-LPME [103]. The simpler working mode is the so-called two-phases HF-LPME, in which the extractant solvent (acceptor phase) impregnates both the walls and the lumen of the HF. However, in the three-phases HF-LPME mode (also called HF-liquid-liquid-liquid microextraction), the extractant solvent is placed in the walls, and an aqueous phase is placed in the lumen. Such aqueous phase is forced to have a pH value totally different to that of the aqueous sample, to generate a gradient of pH across the supported liquid membrane. Thus, an aqueous acidic solution in the lumen would be beneficial for basic analytes from the sample, and *vice versa*, because the gradient of pH is the driving force of the transference. Evidently, the three-phase HF-LPME mode is limited to compounds presenting ionizable groups. There is also a further variant, the electromembrane extraction (EME) [104], which incorporates two electrodes, one in the sample and one in the lumen, and an external current source. This variant decreases incredibly the extraction time, because the external potential generates an electrokinetic migration.

The number of reported applications of ILs in HF-LPME is significantly lower than in SDME, despite the *a priori* advantages of HF-LPME *versus* SDME. All reported applications of ILs in HF-LPME are performed in DI-mode, and therefore the ILs impregnating the HF pores are water immiscible. Among the most utilized ILs, C₄MIm-PF₆ [105-110], C₆MIm-PF₆ [111-113] and C₈MIm-PF₆ [114-117] need to be highlighted. The IL C₄MIm-Cl has also been described in HF-LPME [105], but as additive of the acceptor phase (located in the lumen of the HF), being in this case 1-octylalcohol the solvent impregnating the pores of the HF.

Several applications use ILs in the two-phases HF-LPME mode [106,108,111,113,117,118]. In these cases, HF sizes varied between ~3 cm [111,118] and 15 cm [108], with IL acceptor phase volumes of 8 µL on average [106,108,111,118], and donor (sample) volumes between 3 mL [111] to 100 mL [108]. As it happened with SDME, extraction times are long, varying from ~15 to 55 min, and even up to 8 h [117].

The applications involving ILs are HF-LPME based on the three-phases approach [105,107,109,110,112,114,115,119] have utilized HF sizes varying from ~1 cm [107] to 12 cm [115,119], internal acceptor phases volumes varying from 2.5 µL [117] to 25 µL [115], and sample volumes between 4 mL [115] and 50 mL [109]. Extraction times range between 15 min [105] and 80 min [110], and up to 8 h [115]. The pH of the acceptor

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

phase solution in these applications has always been basic, between 10 and 13, because the organic analytes studied were of acidic nature.

The automation of the method has recently been described by Nitiyanontakit *et al.* [119] using a specific device. Authors employ the IL MC₈C₈C₈N-Cl in the three-phases mode, a HF of ~12 cm (~34 μL of acceptor phase), and 1,5-diphenylcarbazine as chromogenic probe for the determination of Cr (VI). Their system clearly decreases the extraction time to only 5 min.

Basheer *et al.* have also described the use of a HF to support the IL C₄MIm-PF₆ but the resulting method resembles more a liquid-liquid-liquid microextraction approach than a conventional HF-LPME method in the three-phases mode. Authors require toluene (8 μL) for the back extraction, which is a disadvantage, given the toxicity [107].

The electromembrane extraction using ILs have also been reported [116], specifically for the determination of one dye followed by off-line elution assisted by ultrasounds, and spectrophotometric determination.

The reported HF-LPME methods with ILs have been utilized in combination with AAS [108,109,111,112] and ICP for the determination of metals [113], with GC for the determination of BTEX [106] and hydrocarbons [107], and mainly with HPLC for the determination of UV filters [118], chlorophenols [114], sulfonamides [115], hydrocarbons [105], bisphenol-A and other endocrine disrupting chemicals [117], and dyes [110]. It should be taken into account that the determination of metals always requires the use of chelating reagents [108,109,111-113], and in some cases EDTA in the acceptor phase when working in the three-phases mode [109,112]. Proper elution with solvents of the final acceptor phase (IL or not) should be ensured before carrying out the analytical determination.

2.3. Ionic liquids in dispersive liquid-liquid microextraction

Rezaee *et al.* [120] were the first to develop the DLLME method. This distinct LPME mode performs with relatively higher amounts of extractant solvent (20–250 μL) if compared to SDME and HF-LPME. It is based on the dispersion of the extractant solvent into the aqueous solution (~4–20 mL) containing analytes. In the most conventional mode, such dispersion is possible with the aid of a dispersive solvent (~0.1–2 mL). Thus, the ternary mixing of components: water (containing analytes), water

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

miscible dispersive solvent, and water immiscible extractant solvent (but soluble in the dispersive solvent) is accompanied by an emulsion, in which multitude of microdroplets of extractant solvent are formed in the bulk aqueous solution. The procedure is then accompanied by centrifugation to separate properly the microdroplet of extractant solvent containing the preconcentrated analytes from the aqueous solution. The high surface area between the donor phase (the aqueous sample) and the acceptor phase (the extractant solvent) ensure a high extraction efficiency of analytes. Figure 3(C) summarizes the fundamentals of DLLME.

The method is quite fast (~5 min for the overall procedure), particularly if compared to SDME or HF-LPME. Recent works also support the possibility of automation [121]. As a disadvantage of conventional DLLME, the dispersive solvent can partially solubilize the extractant solvent into the aqueous sample, and also can increase the solubility of the analytes in water, which in turn can decrease the overall extraction efficiency. Recent modifications of the DLLME method include the substitution of the dispersive solvent by other approaches to ensure the dispersion of the extractant solvent, such as the utilization of vortex, in the so-called vortex-assisted emulsification microextraction (VAEME) [122].

DLLME is undoubtedly the LPME mode with higher number of applications and variations when incorporating ILs as extractant solvents, with an overall number of literature works of ~150. The main uses of ILs and derivatives in combination with DLLME have been quite reviewed recently by Trujillo-Rodríguez *et al.* [39]. Following the classification established in such review, it is possible to distinguish four main categories: 1) Conventional IL-DLLME; 2) Temperature-assisted IL-DLLME; 3) Ultrasound-assisted, Microwave-assisted, or Vortex-assisted IL emulsification microextraction; and 4) *In-situ* IL-DLLME.

2.3.1. Conventional IL-DLLME

This variant is the one that more closely resembles the conventional DLLME using organic solvents. It does not need any energy requirements other than the simple ternary mixture of components: aqueous sample containing analytes, water immiscible IL as extractant, and a dispersive solvent. Centrifugation is applied afterwards to separate the IL microdroplet containing the extracted and preconcentrated analytes.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Since the original work of Liu *et al.* [122], a high number of works have followed this approach for the determination of organic compounds [39,124-128] and metals [39,129-131].

Interestingly, the centrifugation step, which is *a priori* necessary in this mode, has been even eliminated with an in-syringe setup [132].

2.3.2. Temperature-assisted IL-DLLME

This variant takes advantage of the dramatic influence that the temperature exerts on the solubility and viscosity of ILs. Thus, heating (~50-90 °C) is used to favor the dispersion of the water immiscible IL on the sample solution (aiding or not such dispersion with a dispersive solvent), followed by cooling to ensure an increase of the viscosity and insolubility of the IL, and therefore facilitating its further separation and handling. The main disadvantage of this extraction mode is that it requires long extraction times to ensure adequate dispersion of the IL when heating, sometimes even up to 30 min. This is some way against the most interesting feature of DLLME: its rapidity compared with other LPME modes.

The first report of the technique was by Zhou *et al.* [133] for the determination of organic compounds, and by Baghdadi and Shemirani [134] for the determination of metals. Since that, a variety of works have appeared in the literature regarding its use for organic compounds [39,135-137] and metals [39,138-140].

2.3.3. Ultrasound-assisted, microwave-assisted, or vortex-assisted IL emulsification microextraction

This particular mode utilizes ultrasounds, microwaves, or vortex as an auxiliary energy for ensuring the dispersion of the water immiscible IL through the sample solution (aiding or not such dispersion with a dispersive solvent, but normally requiring lower amounts of them if compared with conventional IL-DLLME). If the application of such auxiliary energy is accompanied by an increase of the solution temperature, the IL not only suffers dispersion but also certain solubilization. Afterwards, the solution can be subjected to centrifugation or cooling to separate the IL droplet containing the preconcentrated analytes.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

The utilization of ultrasounds in combination with IL-DLLME was first described by Zhou *et al.* [141] for the determination of aromatic amines in water, and by Li *et al.* [142] for the determination of Cd in water, in 2009. The ultrasound-assisted IL-DLLME has been widely utilized for determination of both organic compounds [39,143-147] and metals [39,148-150]. In any case, cautions must be taken because the utilization of ultrasounds can cause certain degradation of the analytes due to the influence of the ultrasonic energy [21].

The utilization of microwaves was first reported by Xu *et al.* [151] and further applied in a relatively low number of reports [152,153], probably due to the inherent complication of the instrument while only the dispersion of the IL is intended.

The utilization of vortex-assisted IL-DLLME is more recent, being reported almost at the same time by Asensio-Ramos *et al.* [154] and Ye *et al.* [155], and since that detailed in a high number of applications [39,156,157,158,159]. Among the advantages of the application of vortex it must be highlighted the simplicity of the technique while avoiding the reaching of high temperatures, as it can easily happen with ultrasounds or microwaves.

Ku *et al.* have also reported the use of an up-and down-shaker as a stirring device [160], as a simpler alternative to microwaves, ultrasound, or even vortex. Wu *et al.* have reported the use of manual shaking (30 times in 20 s) to avoid other agitation methods [161].

2.3.4. In situ IL-DLLME

This mode requires a hydrophilic IL or IL-based surfactants as extractant solvent, which is obviously soluble in the aqueous sample. Once analytes have interacted with the IL, an anion-exchange reagent is added to promote a metathesis reaction, and the hydrophilic IL (or IL-based surfactant) is transformed into a hydrophobic IL (or IL-based surfactant), which settles due to insolubilization (as a microdroplet containing the analytes). The method generally requires the utilization of vortex, microwaves, ultrasound, or shaking to improve the kinetics of the metathesis reaction. It also requires further centrifugation or even cooling to separate the droplet containing the preconcentrated analytes.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

The first description of the method was by Baghdadi and Shemirani for metals in [162] and by Yao and Anderson for organics [163] in 2009. Applications of this variant in the literature have increased since that for a variety of analytes and samples [39,164-168].

2.3.5. Trends and interest of IL-DLLME methods

As some interesting features of ILs in all DLLME modes, it is important to mention that hydrophilic ILs have also been used as dispersive solvents, and thus organic solvents are completely eliminated in the overall procedure [144,169,170,171,172]. In other cases, surfactants have been employed with those purposes [153,173].

As it has been mentioned early for all LPME modes, proper compatibility of the IL containing analytes and the analytical technique need to be also ensured when using ILs (or IL-based surfactants) in DLLME.

An important characteristic of the IL-DLLME method is the fact that it can be applied directly to aqueous liquid samples, but also to solid samples if they have been previously extracted and then reconstituted with water (water which can contain minor amounts of alcohols or acetonitrile). This evidently highly increases the applicability of the technique to a wide variety of samples, because solid samples can be treated with other methods, and the solid extract can afterwards experience a preconcentration with IL-DLLME [174]. Furthermore, complex solid samples can be also extracted with aqueous solutions of IL-based surfactants, with the aid of microwaves or ultrasounds, followed by the *in situ* IL-DLLME mode in the IL-based surfactant extract. The overall method can therefore perform in complete absence of organic solvents [20,175,176], and at the same time being able to deal with solid samples.

Another interesting advantage is the fact that the IL-DLLME method can be performed with derivatization reactions (even simultaneously) [127,151-153,177,178].

Main features of the majority of reported IL-DLME methods have been covered in detail by Trujillo-Rodríguez *et al.* [39]. Consequently, the compatibility of these methods with further analytical techniques, the analytical performance of the reported applications (in terms of efficiency, reproducibility and sensitivity), the nature of the specific applications, the nature and amount of IL required in any IL-DLLME sub-mode, the extraction time and so on, will not be described in this chapter.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3. Ionic liquids in solid-based microextraction

Solid-based microextraction methods also go beyond a simple miniaturization of the solid-phase extraction (SPE) procedure, which would be the μ -SPE mode [179]. Other interesting solid-based microextraction approaches include solid-phase microextraction (SPME) [180,181], stir bar sorptive extraction (SBSE) [27], and stir cake sorptive extraction (SCSE) [182]. The performance of each solid based microextraction mode is summarized in Figure 4.

All these techniques are assisted by the aid of a solid stationary phase: the sorbent material. The following sections will describe the applications of ILs as solid sorbent materials (working at temperatures below their respective melting points), and also ILs derivatives like PILs, in all solid-based microextraction modes: μ -SPE, SPME, SBSE and SCSE.

3.1. Ionic liquids in micro-solid-phase extraction

Micro-solid-phase extraction (μ -SPE) is a method that utilizes exactly the same principles of SPE: the partitioning of the analytes between the sample and a stationary phase which is a solid sorbent. The main difference respect to the classical SPE is that μ -SPE minimizes both the solid sorbent and sample amount requirements during the extraction. Thus, common SPE procedures are carried out using 3 mL cartridges, which allow ~500 mg of stationary phase and ~100 mg of matrix sample [183]. μ -SPE uses lower amounts than those mentioned before. In this sense, it is a simpler technique, less costly and less time-consuming than conventional SPE [180]. Besides, as only a relative small amount of sorbent is used, less volume of solvent will also be needed to desorb the analytes.

Two main modes can be distinguished in μ -SPE: dispersive (μ -dSPE) and non-dispersive, as it is shown in Figure 4(A). In the non-dispersive μ -SPE mode, the sorbent material remains static during the procedure whereas in μ -dSPE, the solid sorbent is dispersed into the matrix sample. Such dispersion can occur with the aid of ultrasounds, vortex or any stirring method.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

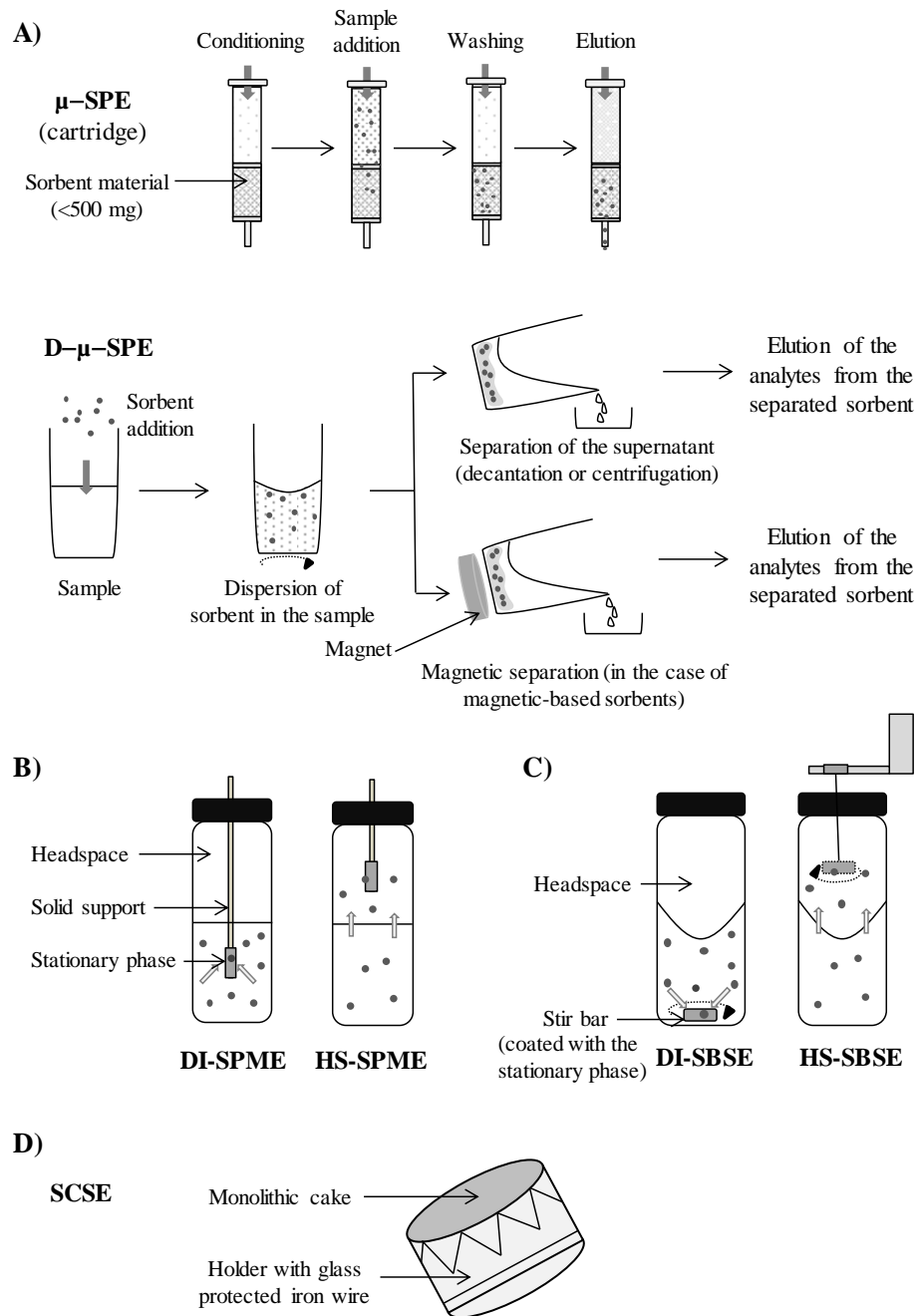


Figure 4. Main solid-based microextraction modes: **A)** micro-solid-phase extraction (μ -SPE), **B)** solid-phase microextraction (SPME), **C)** stir-bar sorptive extraction (SBSE), and **D)** stir-cake sorptive extraction (SCSE).

In order to extend the use of μ -SPE, new materials have been developed recently to increase the selectivity and affinity for different types of analytes [184]. ILs and its derivatives have also been studied extensively as new sorbent materials in μ -SPE, alone or in combination with other materials.

It is important to emphasize that not all the authors utilize the term μ -SPE. However, in this chapter this term will be used for all SPE applications with ILs (or derivatives) and ILs forming hybrid materials that require lower amounts than those of conventional SPE.

3.1.1. Ionic liquids in non-dispersive μ -SPE

This μ -SPE procedure is exactly a miniaturized version of the conventional SPE method, using a static solid sorbent as extractant material. Classical materials employed as solid sorbents are silica or polymers [184]. ILs and its derivatives have been utilized to modify these classical materials with the purpose of increasing both the selectivity and the efficiency of the overall method. Thus, two types of IL-based sorbent materials are described in the literature: (1) IL-modified silica sorbents, and (2) IL-modified polymers. Many works on this topic have been summarized in a review of Vidal *et al.* in 2012 [184].

Tian *et al.* were the first to utilize IL-modified silica sorbents in μ -SPE for the extraction of tanshinones from a medicinal plant in 2009 [185]. The preparation of the sorbent needed the prior activation of the commercial silica to enhance the content of silanol groups on its surface, followed by the functionalization with a trimethoxysilane IL derivate. The new sorbent provided higher recovery values than traditional silica-based SPE cartridges.

Many works have utilized IL-modified silica sorbents since this first application [184,186-192]. The applications generally utilized imidazolium-based ILs [184-191], but quaternary ammonium-based ILs have also been tested [192].

Nevertheless, the utilization of silica has some disadvantages such as limited pH stability. Polymers can be adequate substitutes of silica to solve these problems. Fontanals *et al.* were the first to report the modification of polymers with ILs in μ -SPE, in 2009 [193]. Authors integrated the IL MIm-CF₃COO inside the structure of the polymer divinylbenzene (DVB), and evaluated the performance of the novel sorbent in diverse

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

modes. The IL-modified polymer was suitable to be utilized in strong anion exchange SPE mode.

Since then, a number of works has developed new IL-modified polymers for μ -SPE [184,194-199]. The majority of the ILs employed for the preparation of the sorbent contains imidazolium cations with different substituents [184,193-197,199], or they belong to the pyridinium family [198,200]. The main interest of including ILs in the polymers is the fact that they are capable to modify and enhance the interactions established between the analytes and the final sorbent phase.

The majority of IL-modified polymers are synthesized by the free radical polymerization of the monomer (or monomers) and the IL [184,193,196-198,200]. In many cases, other modifiers such as porogen agents or cross-linkers are also required.

IL-based molecular imprinted polymers (IL-MIPs) have also been utilized as sorbents in μ -SPE [184,194,195,199,201]. The preparation of a MIP requires a template, which is the organic molecule that generates recognition sites in the final polymer for capturing the analytes of interest task-specifically [202]. The most common procedure to prepare an IL-MIP follows this strategy: a blank polymer is first prepared by the copolymerization of functional monomers and cross-linkers. Then, the blank polymer reacts with the template and the IL, and, finally, the template is removed of the IL-MIP by elution. It has been observed that the presence of ILs in the MIP enhances the recognition capabilities and the selectivity of the final polymer.

Other μ -SPE works with IL-modified polymer sorbents include sol-gel materials doped with C_6Py-PF_6 [198] and IL-composite mesoporous polymers [197].

The working procedure for μ -SPE with IL-based sorbents starts by placing the sorbent in an empty SPE cartridge of polypropylene, connected in some cases to a SPE manifold with an entry to a vacuum pump. The amounts of IL-modified sorbent required in the described methods are between 40 and 500 mg. Other steps in the μ -SPE method such as drying, elution... do not differ significantly from those of conventional SPE.

The μ -SPE technique has been used in combination with HPLC-UV in the majority of the reported applications [184,186,188-191,200]. Applications range from the determination of organics [184-186,188,189,191,193,195,196,197,200] to inorganics [187,190,198] in a variety of samples of quite different nature: medicinal plants, waters, foods and biological fluids.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.1.2. Ionic liquids in dispersive μ -SPE

Dispersive μ -SPE requires the dispersion of the sorbent into the matrix sample, instead of using a sorbent packed in a static SPE cartridge in which the sample goes through. It improves the contact area between the sorbent and the sample, accelerating the mass transferring of analytes between the two phases, while providing higher extraction efficiencies and lower extraction times than non-dispersive μ -SPE. The efficient dispersion of the sorbent material can be conducted with the aid of vortex, ultrasounds, or any strong stirring method.

IL-modified silica, PILs-modified silica, as well as a number of hybrid materials containing ILs have been utilized in the μ -dSPE mode. The utilization of magnetic nanoparticles (MNPs) in combination with μ -dSPE has shown to be particularly helpful.

Among IL-modified silica sorbents [203-206], it is interesting to mention the use of IL-based periodic mesoporous organosilica (PMOs) sorbents. PMOs are synthesized from bridge organosilica precursors $((R'O)_3-Si-R-Si-(OR')_3)$ [207]. The organic group R can be an IL, being an integral part of the mesoporous walls.

Microspheres of IL-MIPs have also been prepared for μ -dSPE using phenylephrine as the template and AlC_2Im-Br as co-functional monomer [208].

PILs-modified silica has also been employed in μ -dSPE, in the form of neat microspheres of cross-linked PILs [209].

The use of μ -dSPE assisted by MNPs is lately a hot topic in analytical chemistry [210]. The nano-size of the MNPs leads to a higher superficial surface area for the SPE extraction favoring the partitioning of the analytes. Besides, their magnetic properties simplify the procedure due to the possibility of applying an external magnetic field (a strong magnet) for the separation of the sorbent material, avoiding in this way tedious centrifugation and separation steps, and minimizing the overall sample preparation time. Furthermore, MNPs can be chemically modified in a simple manner with other materials.

IL-MNPs have been used successfully in μ -dSPE approaches, specifically with magnetite (Fe_3O_4) MNPs modified with ILs ($Fe_3O_4@ILs$) [204,211-213], or Fe_3O_4 MNPs covered with a layer of silica before being modified with ILs ($Fe_3O_4@SiO_2@IL$) [214,215]. The layer of silica improves the stability, even in acidic media, of the MNPs, avoiding their tendency to form aggregates. Furthermore, it has been described the use of the IL $C_7MIm-PF_6$ coated onto a Fe_3O_4 -grafted graphene nanocomposite, and utilized as

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

sorbent in the extraction of nitrobenzenes [216]. MWCNTs magnetic nanocomposites have also been used in μ -dSPE [217,218].

PILs-MNPs have also been utilized for μ -dSPE applications. The PILs form *core-shell* structures in which the PIL is the *shell*, acting as the stationary phase of the sorbent. The magnetic *core* can be Fe_3O_4 MNPs coated with oleic acid (Fe_3O_4 @oleic acid) [219] or Fe_3O_4 MNPs coated with silica (Fe_3O_4 @ SiO_2) [220,221].

In addition, IL-based surfactants have been utilized in combination with MNPs. The electrostatic interactions between the head group of the IL-based surfactant and the oppositely charged group of the MNP surface leads the formation of mixed hemimicelles or admicelles (depending on the IL-based surfactant concentration). IL-based surfactant-based mixed hemimicelles have been utilized as sorbents in μ -dSPE, using as solid supports: Fe_3O_4 MNPs [222-225], TiO_2 MNPs [226], or magnetic MWCNTs@ SiO_2 [227].

IL-based surfactants can also be employed in μ -dSPE using a non-magnetic support such as silica gel [228].

The amount of IL-based sorbent needed in these methods ranges between 4 and 500 mg. HPLC-UV is the selected separation technique in the majority of applications of organic compounds [186,189,192,197,201,208,212,216,219-221,229-231], whereas FAAS [187,198,213,226] is the most employed technique when inorganic species are extracted.

3.2. Ionic liquids in solid-phase microextraction

Solid-phase microextraction (SPME) is a non-exhaustive extraction and preconcentration technique introduced by Pawliszyn *et al.* in 1989 [48]. This method is based on the utilization of a stationary phase (a sorbent) linked to a solid substrate in the form of a fiber, typically of ~1 cm long and being the sorbent coating thickness between ~1 and 100 μm . The extraction and preconcentration of the analytes is generally achieved when the sorbent coating is exposed to the sample, either by direct immersion (DI-SPME) [232] or headspace (HS-SPME) [233]. Then, analytes which partitioned to the coating fiber can be easily desorbed in an analytical instrument by exposing the fiber at high temperatures if GC is used, or by dipping the fiber in low amounts of an organic solvent if HPLC or CE is used. Figure 4(B) shows a scheme of the overall procedure.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

SPME offers many advantages over other sample preparation procedures such as simplicity, easiness of automation, portable, ability to reach high preconcentration factors and, more important, it is solvent-free [234], which is quite advisable from an environmental point of view. As disadvantages, fibers are in some way somehow fragile, they can present carry-over, and only seven types of sorbents are commercially available. Efforts in last years have therefore been shifted to the development of new sorbent materials as adequate SPME coatings [28].

ILs can be used effectively to prepare SPME fibers due to their unique physicochemical properties: high thermal stability, negligible vapor pressure and variable viscosity. In addition, the tuneability of the ILs, which refers to the ability to incorporate easily different substituents into the IL structure, could enhance specific interactions between the coating and the analytes [235]. PILs have also been explored as sorbent materials in SPME. Thereby, several types of IL- and PIL- based sorbent coatings have been described in the SPME literature.

This chapter will distinguish them according to the mode in which they are attached to the solid substrate, as: (1) sorbent coatings prepared by physical dip-coating, in which the IL (or the PIL) is retained onto the solid support due to physical interactions like adsorption, absorption, electrostatic forces..., and (2) sorbent coatings chemically bonded to the fiber support. Besides, other SPME works describe the combined use of ILs or PILs with other materials, such as polymers or carbon nanotubes, to form hybrid sorbent coatings. Table 2 [236-248] includes representative examples of each type of IL/PIL-based sorbent coating utilized in SPME according to this classification.

3.2.1. IL-based sorbent coatings

– *IL-based sorbent coatings physically attached to the fiber support*

The first application involving the utilization of an IL in SPME was carried out by Liu *et al.* in 2005 [236]. They utilized the IL C₈MIm-PF₆ in HS mode to extract several VOCs in paints, in combination with GC. The IL was retained in the fiber support during the extraction due to its high viscosity. However, after every run, the sorbent coating was lost and so it was not reusable.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Representative examples for applications of ILs and ILs derivatives in solid-phase microextraction (SPME).

Sorbent coating type	Stationary phase material/s	Solid support	Supporting method & polymerization comments if applicable	Analytical application	Ref.
IL physically attached to the support	C ₈ MIm-PF ₆	fused silica fiber	dip-coating	VOCs in paints by HS-SPME-GC-FID	[236]
	C ₄ MIm-CF ₃ CO C ₄ MIm-CF ₃ CO PhC ₃ MIm-CF ₃ CO	derivatized fused silica fiber	coating with Nafion and dip-coating of the IL	PAHs in water by HS-SPME-GC-MS	[237]
	C ₄ MIm-PF ₆ C ₈ MIm-PF ₆	derivatized fused silica fiber	etching with ammoniumhydrogen difluoride and dip-coating of the IL	PAHs in mosquito coil smoke by HS-SPME-GC-FID	[238]
IL chemically bonded to the support	TPMIm-NTf ₂	fused silica fiber	refluxing reaction	MTBE ^a in gasoline by HS-SPME-GC-MS	[239]
	AlMIm-PF ₆ -OH-TSO AlMIm-NTf ₂ -OH-TSO	–	sol-gel technique	phenolic estrogens and aromatic amines in water by DI-SPME-GC-FID	[240]
PIL physically attached to the support	poly-ViC ₁₆ Im-NTf ₂	fused silica fiber	thermal free-radical polymerization with AIBN of the IL monomer, metathesis anion exchange reaction and dip-coating	PAHs and phenols in water by DI-SPME-GC-MS	[241]
	binary mixtures of poly-ViC ₆ Im-NTf ₂ , poly-ViC ₁₆ Im-NTf ₂ , poly-ViC ₆ Im-Cl, or poly-ViC ₁₆ Im-Cl	fused silica fiber	thermal free-radical polymerization with AIBN of the IL monomer, metathesis anion exchange reaction and dip-coating	organic compounds in aqueous solutions by HS-SPME-GC-FID	[242]
PIL chemically bonded to the support	poly-ViC ₈ Im-PF ₆	derivatized SS wire	coating with a single microstructured Ag layer by the Ag mirror reaction and free radical polymerization of the IL monomer with AIBN	organic compounds in aqueous solutions by HS or DI-SPME-GC-FID	[243]

Aspectos teóricos en el empleo de líquidos iónicos en microextracción

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 2. (continued) Representative examples for applications of ILs and ILs derivatives in solid-phase microextraction (SPME).

Sorbent coating type	Stationary phase material/s	Solid support	Supporting method & polymerization comments if applicable	Analytical application	Ref.
Cross-linked PIL chemically bonded to the support	(* <u>IL monomer</u> : ViC ₁₄ Im-NTf ₂ <u>IL cross-linker</u> : -(ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	fused silica fiber	thermal free-radical co-polymerization with AIBN and dip-coating of the PIL	coffee aroma by HS-SPME-GC-MS	[244]
	(* <u>IL monomer</u> : ViBzC ₁₆ Im-NTf ₂ <u>IL cross-linker</u> : (ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	fused silica fiber	UV <i>in situ</i> free radical co-polymerization with DAROCUR 1173	PCBs ^b from ocean water & bovine milk by HS-SPME-GC-ECD /MS	[245]
	<u>IL monomer</u> : ViC ₉ OHIm-Br ^c <u>IL cross-linker</u> : (ViIm) ₂ C ₄ -2Br	derivatized and anodized Ti wire	anodization of Ti wire in two steps in ethylene glycol electrolyte, functionalization with a coupling agent and free-radical co-polymerization with AIBN	alcohols and volatile fatty acids in aqueous solutions by HS-SPME-GC-FID	[246]
Hybrid sorbent coating	<u>MOF</u> : IRMOF-3 <u>IL</u> : C ₄ MIm-PF ₆ <u>Polymer</u> : PDMS MWCNTs	SS wire	<i>in situ</i> growth of the MOF on SS wire and protection with a IL and PDMS layer	PAHs in water by HS-SPME-GC-MS	[247]
	Cross-linked PIL: <u>-IL monomer</u> : ViC ₄ Im-NTf ₂ <u>-IL cross-linker</u> : (ViIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	fused silica fiber	thermal free-radical co-polymerization with AIBN in the presence of MWCNTs and dip-coating of the PIL	PAHs in water by HS-SPME-GC-FID	[248]

(* selected as the best sorbent coating among others

^a methyl-*tert*-butyl-ether

^b polychlorinated biphenyls

^c being -C₉OH the nonanol group

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Since this application, other works focused on the modification of the fiber support previous to the dip-coating of the IL. These modifications involve sequences of pretreatment steps of the support, looking for an improvement in the stability and reusability of the IL SPME fiber. Thus, Hsieh *et al.* bonded a bare silica fiber with Nafion prior to the deposition of three different ILs: C₈MIm-CF₃CO, C₄MIm-CF₃CO and PhC₃MIm-CF₃CO (being –PhC₃ the phenylpropyl group) [237]. The Nafion support enhanced the surface interactions between the ILs and the silica support. This stabilization provided reusable fibers (up to ~50 extractions). In a recent work, a mixture of Nafion and methyltrioctylammonium thiosalicylate was dipped onto a PTFE tube or a fused silica fiber, and it was employed for the determination of Hg by DI-SPME [249].

Huang *et al.* developed IL-based SPME fibers in which fused-silica capillaries were etched with ammoniumhydrogen difluoride prior to the coating with C₄MIm-PF₆ or C₈MIm-PF₆ [238]. The obtained fibers showed better extraction efficiencies for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) when compared with Nafion precoated capillary fibers. In another application, for the determination of acetone in human plasma, the fused silica capillary was subjected to a sodium chloride pretreatment, followed by the dip-coating with selected ILs [250]. It has also been described the use of a fused silica fiber impregnated with a polymer, which was formed by a silicone elastomer cross-linked to the IL EeMIm-NTf₂ (being –Ee the ethoxyethyl group) [251]. This SPME fiber was utilized in the determination of amphetamines from human urine samples.

– **IL-based sorbent coatings chemically bonded to the fiber support**

The obtaining of reusable IL-based SPME fibers with a higher lifetime can be accomplished by chemically bonding the IL to the fiber support. Thereby, Amini *et al.* have developed a SPME fiber in which the IL TPMIm-NTf₂ (being –TP the trimethoxysilyl propyl group) was chemically bonded to a fused silica fiber [239]. In this approach, the bonding between the IL and the silica was acquired by a refluxing reaction under nitrogen atmosphere. The obtained fiber was used up to 16 times while the analogous physically-coated TPMIm-NTf₂ fiber was not reusable.

IL-based coatings derived from sol-gel techniques have also been developed to obtain more thermal stable and resistant SPME coatings [41]. Malik *et al.* were pioneers in developing the sol-gel technology, based on the incorporation of organic components

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

into inorganic polymers structures [252]. Thus, AIMIm-PF₆ and AIMIm-NTf₂ (being –Al the allyl group) have been chemically bonded to a derivatized fused silica fiber via a sol-gel free-radical cross-linking reaction, with the aid of γ -methacryloxypropyltrimethoxysilane as coupling agent [240]. In this case, the IL acts as the stationary phase of the sorbent coating, being the final stationary phase a sol-gel IL-hydroxy terminated silicone oil coating. Similar sol-gel coatings have been developed since this original work [253,254,255,256]. It is important to note that this kind of material prepared by sol-gel, in which the IL got finally bonded to silica, involves other inorganic components for its preparation, and so it could also be categorized as hybrid material.

3.2.2. PIL-based sorbent coatings

PILs are synthesized from IL monomers. Two different reactions are normally involved during their synthesis: (1) a free radical polymerization of the IL monomer precursor; and (2) an anion exchange reaction which involves anion interchange. Depending on the order of these two reactions, two different synthetic routes can be distinguished [19].

Recently, a new type of PIL based on the co-polymerization of two different ILs has been described [40]. The resultant polymer, termed cross-linked PIL, is normally formed by a monocationic IL monomer cross-linked with a dicationic IL [40], entailing a higher active surface in the final PIL.

In comparison with ILs, PILs possess higher viscosity, thermal stability and mechanical strength [257]. Thus, PILs offer many advantages for their utilization as sorbent coatings in SPME, especially in GC applications when high temperatures are required to desorb the analytes from the fiber. In addition, the integrity of the fiber is ensured when working in DI-SPME mode.

– *PIL-based sorbent coatings physically attached to the fiber support*

Zhao *et al.*, from Anderson’s group, were the first to explore the utility of PILs as SPME sorbent coatings in 2008 [258]. Authors studied three imidazolium-based PILs, poly-ViC₆Im-NTf₂, poly-ViC₁₂Im-NTf₂, and poly-ViC₁₆Im-NTf₂, for the extraction of

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

esters and fatty acid methyl esters from water and wines using HS-SPME-GC-FID. Since then, several works have reported the utilization of other PILs in HS-SPME, normally employing monocationic imidazolium IL monomers [242,259-266]. López-Darias *et al.* also demonstrated the utility of PILs fibers in DI-SPME [241], and since then, other works have appeared in the literature [267,268]. PILs based on dicationic imidazolium IL monomers have also been studied as SPME sorbent coatings, specifically poly-(ViIm)₂C₄-2NTf₂ and poly-(ViIm)₂C₁₂-2NTf₂ [269]. Better stabilities have also been described for PILs if the fused silica fiber is previously etched with ammonium hydrogen difluoride [270].

The most common synthesis of PILs involves a free radical polymerization of the corresponding IL monomer using 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile) (AIBN) as radical initiator [241,242,258-269]. After the polymerization reaction, the next step is the dip-coating of the PIL onto the fiber support. Generally, the fiber supported is dipped into a solution of the PIL. Fused silica fiber is the most common support employed for this purpose, but its surface must be previously free of the polyimide polymer [241,242,258-269].

It is worthy of mentioning that Graham *et al.* (also from Anderson's group) have explored the utilization of mixtures of PILs as SPME sorbent coatings [242]. These PILs, based on imidazolium cations with NTf₂⁻ or Cl⁻ as anions, were combined in different ratios previous to the dip-coating of the silica fiber. Authors demonstrated the utility of the PIL-based sorbent coatings to extract selectively *n*-alcohols through the modification of the amount of the counter anions present in the fiber, thus pointing out the influence of anions in the performance of the final PIL for SPME [262].

– **PIL-based sorbent coatings chemically bonded to the fiber support**

With regards to PIL-based sorbent coatings chemically bonded to the fiber support, it is important to distinguish between neat PILs and cross-linked PILs.

Neat PILs have been chemically immobilized onto derivatized stainless steel (SS) wire [243,271-273]. The derivatization of the SS can be accomplished with different procedures: coating with a Si interlayer followed by hydroxylation and mercaptopropyl-functionalization [271]; coating with Au as interlayer, followed by a mercaptopropyl-functionalization and re-coating with a silica layer [272]; coating with a single

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

microstructured Ag layer by the silver mirror reaction [243], or coating with the same microstructured Ag layer followed by 1,8-octanedithiol-functionalization [244]. In the latter application, a new type of PIL-based sorbent coating, termed as double-confined PIL coatings, was prepared by the co-polymerization of the cation and anion of the IL ViC₈Im-*p*StS (being *p*StS the anion *p*-styrenesulfonate) on the derivatized SS.

The majority of works in the last years have been shifted to the preparation of cross-linked PIL-based sorbent coatings chemically bonded to fused silica [244,245,259,261,274]. The co-polymerization of the monocationic IL monomer and the dicationic IL cross-linker is normally conducted via a thermal free radical reaction assisted by AIBN [244,246,261,275]. More recently, a UV free radical co-polymerization initiated with 2-hydroxy-2-methylpropiophenone (DAROCOUR 1173) have been utilized [245,259,261,274]. In the latter applications involving DAROCOUR 117, all reactions needed to prepare the SPME fiber: the derivatization of the silica support, the co-polymerization, and the chemical bonding between the cross-linked PIL and the fiber, are conducted in a single step and onto the fiber support. Thus, the procedure is termed as UV *in situ* co-polymerization. In addition to fused silica fibers, other metallic fiber supports have been tested to prepare cross-linked PIL-based sorbent coatings. Thus, microstructured Ag coated on SS wire [275] and anodized Ti wire [246] have been described as proper metallic supports for chemically bonded cross-linked PILs in SPME.

3.2.3. Hybrid ILs/PILs sorbent coatings

IL/PILs-based hybrid sorbent coatings refer to SPME fibers in which the stationary phase is formed by an IL (or PIL) and another material. The combination of the unique properties of the ILs (or PILs) and the advantages derived from the utilization of other materials such as polymers of quite different nature, carbon nanotubes (CNTs), or even silica, among others, create stable and resistant SPME fibers with unique performance.

Section 3.2.1.2 described the utilization of sol-gel based sorbent coatings, in which the own IL was the main extractant component of the stationary phase. However, ILs can also serve as co-solvents (or porogenic agents) of the stationary phase during the sol-gel reaction. Thus, their presence enhances the porous surface of the coating and improves the final stability of the material. Shearrow *et al.* utilized this methodology to

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

prepare sorbent coatings for *in-tube* SPME applications [276]. During the synthesis, two different ILs based on phosphonium and pyridinium cations ($C_6C_6C_6C_{14}P-BF_4$ and $C_4(4-MPy)-BF_4$, respectively) were combined with four different polymers to generate the hybrid material, and finally immobilized onto a fused silica fiber. Similar works based on this sol-gel procedure are able to generate IL-based hybrid organic-inorganic co-polymer coatings [277].

Recent works have described the combination of ILs with metal-organic frameworks (MOFs) for the preparation of SPME fibers [247,278]. In the reported applications, the IL ($C_6MIm-BF_4$) acted in one case as the porogenic solvent to generate a hybrid MOF-polymeric monolithic SPME fiber [278]. In another application, the IL (together with polydimethylsiloxane) formed a protection layer of the MOF, which was grown on a SS wire [247].

Hybrid sorbents composed by dicationic ILs and PILs bonded onto silica and derivatized silica particles have also been reported [279]. The materials had layers of 50 μm and were glued onto flexible supports of wire.

In addition, IL-polyaniline (PANI) composites have been tested as sorbent materials in SPME [280,281]. These composites were coated onto a Pt fiber by electrochemical deposition. Under these conditions, authors were able to obtain highly controllable film thicknesses.

Cross-linked PILs have also been combined with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and supported onto a fused silica fiber [248] or onto a SS wire modified with a Ag layer [282]. The MWCNTs could be dispersed in the PIL phase, resulting in a significant increase in the contact surface area analyte-resulting stationary phase.

A cross-linked PIL has also been prepared using an IL monomer co-polymerized with methylacryloyl-substituted polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS) as cross-linker [248]. The developed PIL-POSS phase was chemically bonded onto a Ti wire as solid support.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.2.4. Analytical applications

There are a large number of current works involving the utilization of IL and PILs in SPME for analytical determinations, as it has been covered by recent reviews [28,40,41,235].

Thus, it has been covered the determination of a number of organic compounds including PAHs [238,241-243,245,267,268,271,278], phenols [241-243,259,268,271], *n*-alcohols [242,246,247,262,274,275], VOCs [236,260], BTEX [242,243], aliphatic hydrocarbons [264], fatty acid methyl esters [258,164], among many others. These analytes can be extracted from food, environmental, pharmaceutical or biological samples [40] in HS- mode [236,237,238,242-248,251,258,260,262-266,269,270,273,274,275] but also in DI- mode [241,243,248,249,254,267,268,271-274,282]. Multiple headspace SPME mode has also been described for PILs [283]. These applications combine the SPME technique mainly with GC [236-238,241-248,251,254,258-275,283,284] and HPLC [282,285].

Although the majority of the applications utilizes *in fiber*-SPME, there are some works which report the utilization of ILs in *in tube*-SPME [276,277,286]. Recently, a SPME in membrane method has been developed [285]. The membrane was synthesized via a surface chain transfer reaction using ViC₄Im-Br and methylmethacrylate. Bianchi *et al.* recently utilized PILs-based sorbent coatings contained in homemade devices (necklaces and pins) for the *in situ* monitoring of ketamine in recreational places [269].

Many of the reported applications of ILs/PILs SPME works compare the extraction performance of the sorbent coatings with commercially available SPME fibers such as polyacrylate (PA) [241,244,261,268,266,270], polydimethylsyloxane (PDMS) [241,245,248,258,260,267-270,272], divinylbencil-polydimethylsyloxane (DVB-PDMS) [260,261,269] or carboxen-polydimethylsyloxane (CAR-PDMS) [259,260,265], to prove the superior performance of the novel materials despite low coating thicknesses achieved in the in-lab synthetic approaches.

Finally, it is also worthy to mention that applications of ILs in SPME not only cover their use as sorbent material, but also as desorption solvents [287], with superior ability to that of common organic solvents used in the off-line desorption step of SPME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3. Ionic liquids in stir bar sorptive extraction

Stir bar sorptive extraction (SBSE) is another non-exhaustive technique introduced by Baltussen *et al.* in 1999 [288]. SBSE is based on the same principles that SPME: the partitioning of the analytes between the sample matrix and a stationary phase. The difference between the two techniques lies in the solid support in which the stationary phase is retained. Thus, SBSE employs stir bars of ~10 – 20 mm covered with the sorbent phase, while SPME uses fibers. Besides, the stir bars are coated with a higher amount of stationary phase, generally 20 to 125 μL of PDMS (in SPME, the maximum volume of commercially PDMS coated onto the fiber is ~0.5 μL) [289]. This increased amount of sorbent allows better extraction performance and enrichment factors ~100 times higher than that of SPME [290]. It takes longer times for analytes to reach the equilibrium state in SBSE if compared to SPME. Nevertheless, it is also possible to work under non-equilibrium conditions if the extraction time is accurately controlled. The stir bars commercially available are formed by a magnetic rod encapsulated in a glass jacket on which the PDMS phase is placed [289]. However, a drawback of SBSE is that only PDMS, ethylene glycol (EG)-silicone, and PA, are currently the commercially available coatings, thus limiting their extraction efficiency toward polar and less polar compounds. Furthermore, complete automation is not possible with SBSE. Another disadvantage is the presence of carry-over (or memory effect) during the desorption step. Figure 4(C) includes a scheme of the SBSE procedure. As SPME, SBSE can be used in a DI- mode, introducing the stir bar in the sample solution, but also in HS-. In the last extraction mode, special devices to hold the stir bar are available [291]. Desorption of analytes retained on the stir bars can also be accomplished at high temperatures (in a GC injector) or with proper solvents using off-line desorption (for HPLC or CE) [289].

To the best of our knowledge, there is not any work which uses ILs, PILs, or hybrid materials as sorbent for SBSE. There is one SBSE application which employs the IL $\text{C}_8\text{MIm-BF}_4$ as modifier of the desorption solvent, methanol [290]. The proposed SBSE method was effectively applied to the determination of carvedilol from human serum samples, coupled with HPLC-UV using PDMS and poly-methyl-methacrylate/ethylenglycol-dimethacrylate as sorbents. Authors affirm that the utilization of the IL during the desorption step favors the elimination of the carry-over effect of the stir bar.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.4. Ionic liquids in stir cake sorptive extraction

Stir cake sorptive extraction (SCSE) is a recent technique introduced by Huang *et al.* in 2011 [182]. The method is based on the utilization of a monolithic cake of sorbent as stationary phase. The monolithic cake is placed in a homemade glass holder with an iron wire which provides the possibility of the application of magnetic stirring during the extraction (see Figure 4(D)), in a procedure that resembles SBSE.

SCSE presents advantages over the SBSE because the stationary phase does not touch the bottom of the sample vessel [182]. It eliminates the friction between the vessel and the sorbent coating. Besides, the protection of the extraction phase commonly permits the utilization of higher stirring rates. As a result, the monolithic cake can be used up to ~100–300 extractions (~1000 h) whereas the stir bars can be damaged with the vessels and they can only be used for ~20–60 extractions (~200 h) [182,292,293]. In addition, monoliths are microporous polymer materials with a high specific surface area. They are formed by the co-polymerization of a monomer mixture with a porogen solvent. Their utilization to form the sorbent cake provides a simple operational procedure and high extractive capacity, while being low cost [182].

Poly-vinylimidazole-divinylbenzene has been used as main monolithic cake in SCSE determinations. In order to obtain new polymeric materials, PILs have also been utilized [294,295]. Thereby, the IL ViBzMIm-Cl (being -ViBz the vinylbenzyl group) has been co-polymerized with divinylbenzene in the presence of dimethylsulfoxide as porogenic agent to obtain a monolithic cake [294]. The resulting sorbent material was able to extract polar aromatic amines and apolar parabens. Furthermore, the obtained sorbent is able to participate in anionic-exchange processes. Another PIL-based monolithic cake has been prepared by the co-polymerization of ethylene dimethacrylate and the IL AlMIm-Cl, in the presence of dimethylformamide as porogenic solvent [295]. The sorbent material was successfully utilized in the determination of inorganic anions present in water samples.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

4. Conclusions and trends

Microextraction techniques have benefited enormously from the utilization of ILs and derivatives as novel extractant solvents or sorbents. The impressive solvation abilities of ILs, their tuneability making even simple to obtain task-specific ILs, together with their negligible vapor pressures at room temperature, among many other interesting physicochemical properties, are the main reasons contributing to this success. There are a number of IL derivatives, such as IL-based surfactants and PILs, also presenting high outstanding properties. These IL derivatives have extended the applicability of neat ILs in microextraction procedures. In this sense, ILs, IL-based surfactants and PILs, as well as hybrid materials incorporating them, are expected to continue expanding their applications in both liquid-phase microextraction and solid-based microextraction techniques in Analytical Chemistry. Particularly, the employment of hybrid materials, including silica, carbon nanotubes, molecular imprinted-polymers, and magnetic-based materials, is a field that which we believe will continue to flourish in combination with microextraction methods.

Acknowledgements

V.P. thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for the Ramón y Cajal contract with the University of La Laguna (ULL). M.J.T.-R. acknowledges Fundación CajaCanarias for her PhD fellowship. J.H.A. and V.P. thank funding from Fundación CajaCanarias ref. project SPDs-AGUA05. A V. Pino also would like to acknowledge project ref. MAT2013-43101-R from MINECO.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] T. Welton, Chem. Rev. 99 (1999) 2071–2083.
- [2] R.D. Rogers, K.R. Seddon, Science 302 (2003) 792–793.
- [3] J.P. Hallett, T. Welton, Chem. Rev. 111 (2011) 3508–3576.
- [4] J.G. Huddleston, A.E. Visser, W.M. Reichert, H.D. Willauer, G.A. Broker, R.D. Rogers, Green Chem. 3 (2001) 156–164.
- [5] J.F. Liu, J.A. Jonsson, G.B. Jiang, Trends Anal. Chem. 24 (2005) 20–27.
- [6] C.F. Poole, S.K. Poole, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2268–2286.
- [7] M.J. Ruiz-Ángel, A. Berthod, J. Chromatogr. A, 1113 (2006) 101–108.
- [8] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, Anal. Chem. 86 (2014) 262–285.
- [9] J.L. Anderson, J. Ding, T. Welton, D.W. Armstrong, J. Am. Chem. Soc. 124 (2002) 14247–14254.
- [10] J.H. Davis, Chem. Lett. 33 (2004) 1072–1077.
- [11] R.P. Swatloski, J.D. Holbrey, R.D. Rogers, Green Chem. 5 (2003) 361–363.
- [12] T.P.T. Pham, C.W. Cho, Y.S. Yun, Water Res. 44 (2010) 352–372.
- [13] G. Cevasco, C. Chiappe, Green Chem. 16 (2014) 2375–2385.
- [14] T. Welton, Green Chem. 13 (2011) 225.
- [15] Z. Tan, J. Liu, L. Pang, Trends Anal. Chem. 39 (2013) 218–227.
- [16] M.D. Joshi, J.L. Anderson, Advances 2 (2012) 5470–5484.
- [17] P. Sun, D.W. Armstrong, Anal. Chim. Acta 661 (2010) 1–16.
- [18] A. Berthod, M.J. Ruiz-Ángel, S. Carda-Broch, J. Chromatogr. A 1184 (2008) 6–18.
- [19] D. Mecerreyes, Prog. Polym. Sci. 36 (2011) 1629–1648.
- [20] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, Sep. Sci. Technol. 47 (2012) 264–276.
- [21] M.L. Leong, M.R. Fuh, S.D. Huang, J. Chromatogr. A 1335 (2014) 2–14.
- [22] A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. Guardia, J. Namieśnik, Talanta 119 (2014) 34–45.
- [23] H. Prosen, Molecules 19 (2014) 6776–6808.
- [24] L. Kocúrová, J.S. Balogh, V. Andruch, Microchem J. 110 (2013) 599–607.
- [25] Z. Huang, H.K. Lee, Trends Anal. Chem. 39 (2012) 228–244.
- [26] J. Deng, Y. Yang, X. Wang, T. Luan, Trends Anal. Chem. 55 (2014) 55–67.
- [27] M. He, B. Chen, B. Hu, Anal. Bioanal. Chem. 406 (2014) 2001–2026.
- [28] J. Xu, J. Zheng, J. Tian, F. Zhu, F. Zeng, C. Su, G. Ouyang, Trends Anal. Chem. 47 (2013) 68–83.
- [29] D. Vuckovic, Trends Anal. Chem. 45 (2013) 136–153.
- [30] E.A.S. Silva, S. Risticovic, J. Pawliszyn, Trends Anal. Chem. 43 (2013) 24–36.
- [31] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 50 (2013) 78–84.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [32] J. Płotka, M. Tobiszewski, A.M. Sulej, M. Kupska, T. Górecki, J. Namiński, J. Chromatogr. A 1307 (2013) 1–20.
- [33] Y. Li, A.S. Fabiano-Tixier, M.A. Vian, F. Chemat, Trends Anal. Chem. 47 (2013) 1–11.
- [34] M. Farré, S. Pérez, C. Gonçalves, M.F. Alpendurada, D. Barcelo, Trends Anal. Chem. 29 (2010) 1347–1362.
- [35] M. Tobiszewski, A. Mechlińska, J. Namiński, Chem. Soc. Rev. 39 (2010) 2869–2878.
- [36] P. Zhang, L. Hu, R. Lu, W. Zhou, H. Gao, Anal. Methods 5 (2013) 5376–5385.
- [37] L. Ruiz-Aceituno, M.L. Sanz, L. Ramos, Trends Anal. Chem. 43 (2013) 121–145.
- [38] D. Han, B. Tang, Y.R. Lee, K.H. Row, J. Sep. Sci. 35 (2012) 2949–2961.
- [39] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. Rocío-Bautista, V. Pino, A.M. Afonso, Trends Anal. Chem. 51 (2013) 87–106.
- [40] H. Yu, T.D. Ho, J.L. Anderson, Trends Anal. Chem. 45 (2013) 219–232.
- [41] T.D. Ho, A.J. Canestraro, J.L. Anderson, Anal. Chim. Acta 695 (2011) 18–43.
- [42] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, C. Bendicho, Trends Anal. Chem. 29 (2010) 617–628.
- [43] A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, Trends Anal. Chem. 29 (2010) 1–14.
- [44] M.A. Jeannot, F.F. Cantwell, Anal. Chem. 68 (1996) 2236–2240.
- [45] H. Liu, P.K. Dasgupta, Anal. Chem. 68 (1996) 1817–1821.
- [46] S. Liu, P.K. Dasgupta, Anal. Chem. 67 (1995) 2042–2049.
- [47] A.A. Cardoso, P.K. Dasgupta, Anal. Chem. 67 (1995) 2562–2566.
- [48] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62 (1990) 2145–2148.
- [49] J. Wu, B. Xiang, J. Xia, Microchim. Acta 166 (2009) 157–162.
- [50] A. Jain, K.K. Verma, Anal. Chim. Acta 706 (2011) 37–65.
- [51] L. Cuadros-Rodríguez, A.M. García-Campaña, C. Jiménez-Linares, M. Roman-Ceba, Anal. Letters 26 (1993) 1243–1258.
- [52] M.R.K. Zanjani, Y. Yamini, S. Shariati, J.A. Jönsson, Anal. Chim. Acta 585 (2007) 286–293.
- [53] C. Ruiz-Palomero, M.L. Soriano, M. Valcárcel, Talanta 125 (2014) 72–77.
- [54] X. Wen, Q. Deng, J. Wang, S. Yang, X. Zhao, Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr. 105 (2013) 320–325.
- [55] A. Zhang, Y. Zha, J. Sep. Sci. 36 (2013) 1085–1089.
- [56] F. Ahmad, H.F. Wu, Analyst 136 (2011) 4020–4027.
- [57] X. Wen, Q. Deng, J. Guo, Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr. 79 (2011) 1941–1945.
- [58] C. Wu, D. Chen, H. Deng, Y. Liu, A. Zhou, Presented in 2011 5th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE), Wuhan, China. 10-12 May 2011. doi: 10.1109/icbbe.2011.5780773.
- [59] Q. Wang, H. Qiu, J. Li, H. Han, X. Liu, S. Jiang, J. Sep. Sci. 34 (2011) 594–600.
- [60] Q. Wang, H. Qiu, J. Li, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 5434–5439.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [61] J.L. Manzoori, M. Amjadi, J. Abulhassani, *Anal. Chim. Acta* 644 (2009) 48–52.
- [62] J.L. Manzoori, M. Amjadi, J. Abulhassani, *Talanta* 77 (2009) 1539–1544.
- [63] L. Xia, X. Li, Y. Wu, B. Hu, R. Chen, *Spectroc. Acta Pt. B-Atom. Spectr.* 63 (2008) 1290–1296.
- [64] Q.X. Zhou, J.P. Xiao, C.L. Ye, X.M. Wang, *Chin. Chem. Lett.* 17 (2006) 1073–1076.
- [65] A. Sarafraz-Yazdi, F. Mofazzeli, *Chromatographia* 72 (2010) 867–873.
- [66] L. Vidal, A. Chisvert, A. Canals, A. Salvador, *Talanta* 81 (2010) 549–555.
- [67] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, C. Bendicho, L. Vidal, A. Canals, *Talanta* 78 (2009) 537–554.
- [68] L. Vidal, A. Chisvert, A. Canals, A. Salvador, *J. Chromatogr. A* 1174 (2007) 95–103.
- [69] X. Guo, D. Yin, J. Peng, X. Hu, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 452–458.
- [70] Q. Liu, Y. Liu, S. Chen, Q. Liu, *J. Sep. Sci.* 33 (2010) 2376–2382.
- [71] C. Yao, W.R. Pitner, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 81 (2009) 5054–5063.
- [72] M. Amjadi, J.L. Manzoori, J. Abulhassani, *J. AOAC Int.* 93 (2010) 985–991.
- [73] E.M. Martinis, P. Bertón, J.C. Altamirano, U. Hakala, R.G. Wuilloud, *Talanta* 80 (2010) 2034–2040.
- [74] J. Yang, H. Wei, X. Teng, H. Zhang, Y. Shi, *Phytochem. Anal.* 25 (2014) 178–184.
- [75] C. Jiang, S. Wei, X. Li, Y. Zhao, M. Shao, H. Zhang, A. Yu, *Talanta* 106 (2013) 237–242.
- [76] S.-W. He, C.-Y. Shen, X.-Q. Wei, M.-C. Jin, M.-Q. Cai, *Advanced Materials Research* 726–731 (2013) 74–80.
- [77] X. He, F. Zhang, Y. Jiang, *J. Chromatogr. Sci.* 50 (2012) 457–463.
- [78] D. Cha, N. Qiang, *Filtr. Sep.* 49 (2012) 38–41.
- [79] M. Rahmani, M. Kaykhahi, *Microchim. Acta* 174 (2011) 413–419.
- [80] H. Sheikhoie, M. Saber-Tehrani, P. Abrumand-Azar, S. Waqif-Husain, *Acta Chromatogr.* 21 (2009) 577–589.
- [81] Q. Zhou, C. Ye, *Microchim. Acta* 162 (2008) 153–159.
- [82] E. Aguilera-Herrador, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Anal. Chem.* 80 (2008) 793–800.
- [83] C. Carrillo-Carrión, B.M. Simonet, M. Valcárcel, *Analyst* 137 (2012) 1152–1159.
- [84] A. Chisvert, I.P. Román, L. Vidal, A. Canals, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 1290–1295.
- [85] L. Vidal, C.E. Domini, N. Grané, E. Psillakis, A. Canals, *Anal. Chim. Acta* 592 (2007) 9–15.
- [86] I. Márquez-Sillero, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 7574–7580.
- [87] I. Márquez-Sillero, E. Aguilera-Herrador, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Anal. Chim. Acta* 702 (2011) 199–204.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [88] J. Yang, H. Wei, C. Yu, Y. Shi, H. Zhang, *Chromatographia* 75 (2012) 1435–1443.
- [89] L. Vallecillos, F. Borull, E. Pocurull, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 2735–2742.
- [90] L. Vallecillos, E. Pocurull, F. Borull, *Talanta* 99 (2012) 824–832.
- [91] E. Aguilera-Herrador, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 5580–5587.
- [92] H. Zhao, S. Lu, W. Du, B. Zeng, *Microchim. Acta* 165 (2009) 29–33.
- [93] E. Aguilera-Herrador, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1209 (2008) 76–82.
- [94] F.Q. Zhao, J. Li, B.Z. Zeng, *J. Sep. Sci.* 31 (2008) 3045–3049.
- [95] E. Aguilera-Herrador, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1201 (2008) 106–111.
- [96] C. Yao, P. Twu, J.L. Anderson, *Chromatographia* 72 (2010) 393–402.
- [97] M. Li, Z. Li, G. Li, L. Chen, L. Wang, C. Jiang, L. Li, Z. Zhang, *Acta Chim. Sin.* 70 (2012) 1625–1630.
- [98] E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 1432–1439.
- [99] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650–2656.
- [100] G. Audunsson, *Anal. Chem.* 58 (1986) 2714–2723.
- [101] E. Thordarson, S. Pálmarsdóttir, L. Mathiasson, J.Á. Jönsson, *Anal. Chem.* 68 (1996) 2559–2563.
- [102] G. Ouyang, W. Zhao, J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. A* 1138 (2007) 47–54.
- [103] M. Ghambarian, Y. Yamini, A. Esrafil, *Microchim. Acta* 177 (2012) 271–294.
- [104] I.J.Ø. Kjelsen, A. Gjelstad, K.E. Rasmussen, S. Pedersen-Bjergaard, *J. Chromatogr. A* 1180 (2008) 1–9.
- [105] W. Liu, Z. Wei, Q. Zhang, F. Wu, Z. Lin, Q. Lu, F. Lin, G. Chen, L. Zhang, *Talanta* 88 (2012) 43–49.
- [106] X. Ma, M. Huang, Z. Li, J. Wu, *J. Hazard. Mater.* 194 (2011) 24–29.
- [107] C. Basheer, A.A. Alnedhary, B.S.M. Rao, R. Balasubramanian, H.L. Lee, *J. Chromatogr. A* 1210 (2008) 19–24.
- [108] C. Zeng, Y. Hu, J. Luo, *Microchim. Acta* 177 (2012) 53–58.
- [109] H. Chen, J. Han, Y. Wang, Y. Hu, L. Ni, Y. Liu, W. Kang, Y. Liu, *Microchim. Acta* 181 (2014) 1455–1461.
- [110] Y. Zou, Z. Zhang, X. Shao, Y. Chen, X. Wu, L. Yang, J. Zhu, D. Zhang, *Bull. Korean Chem. Soc.* 35 (2014) 371–376.
- [111] J. Abulhassani, J.L. Manzoori, M. Amjadi, *J. Hazard. Mater.* 176 (2010) 481–486.
- [112] Y. Liu, Y. Wang, Y. Hu, L. Ni, J. Han, T. Chen, H. Chen, Y. Liu, *J. Iran Chem. Soc.* 12 (2015) 371–377.
- [113] P.N. Nomngongo, J.C. Ngila, T.A.M. Msagati, B. Moodley, *Microchim. Acta* 114 (2014) 141–147.
- [114] J.-F. Peng, J.-F. Liu, X.-L. Hu, G.-B. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1139 (2007) 165–170.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [115] Y. Tao, J.-F. Liu, X.-L. Hu, H.-C. Li, T. Wang, G.-B. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 6259–6266.
- [116] S.-R. Wang, S. Wang, *J. Food Drug Anal.* 22 (2014) 418–424.
- [117] Y. Zou, Z. Zhang, X. Shao, Y. Chen, X. Wu, L. Yang, J. Zhu, D. Zhang, *Water Sci. Technol.* 69 (2014) 1028–1035.
- [118] D. Ge, H. Kee Lee, *J. Chromatogr. A* 1229 (2012) 1–5.
- [119] S. Nitiyanontakit, P. Varanusupakul, M. Miró, *Anal. Bioanal. Chem.* 405 (2013) 3279–3288.
- [120] M. Rezaee, Y. Assadi, M.R. Millani, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, *J. Chromatogr. A* 1116 (2006)1–9.
- [121] F. Maya, B. Horstkotte, J.M. Estela, V. Cerdà, *Trends Anal. Chem.* 59 (2014) 1–8.
- [122] N.B. Abu-Bakar, A. Makahleh, B. Saad, *Talanta* 120 (2014) 47–54.
- [123] Y. Liu, E. Zhao, W. Zhu, H. Gao, Z. Zhou, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 885–891.
- [124] R. Khani, J.B. Ghasemi, F. Shemirani, *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* 122 (2014) 295–303.
- [125] Y. Fan, S. Liu, Q. Xie, *Talanta* 119 (2014) 291–298.
- [126] L. Xin, F. Rao, L. Min, G. Li-Ping, Y. Li, *Chin. J. Anal. Chem.* 41 (2013) 1919–1922.
- [127] T. Hayama, Y. Yabuuchi, T. Iwamatsu, E. Tamashima, Y. Kawami, M. Itoyama, H. Yoshida, M. Yamaguchi, H. Nohta, *Talanta* 117 (2013) 27–31.
- [128] L.B. Escudero, E.M. Martinis, R.A. Olsina, R.G. Wuilloud, *Food Chem.* 138 (2013) 484–490.
- [129] A. Asghari, M. Ghazaghi, M. Rajabi, M. Behzad, M. Ghaedi, *J. Serb. Chem. Soc.* 79 (2014) 63–76.
- [130] M. Rajabi, M. Kamalabadi, M.R. Jamali, J. Zolgharnein, N. Asanjarani, *Hum. Exp. Toxicol.* 32 (2013) 620–631.
- [131] M.D.M. Abadi, M. Chamsaz, M.H. Arbab-Zavar, *Asian J. Chem.* 25 (2013) 3984–3988.
- [132] M. Cruz-Vera, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 6459–6465.
- [133] Q. Zhou, H. Bai, G. Xie, J. Xiao, *J. Chromatogr. A* 1188 (2008) 148–153.
- [134] M. Baghdadi, F. Shemirani, *Anal. Chim. Acta* 613 (2008) 56–63.
- [135] M.M. Parrilla-Vázquez, M. Martínez-Galera, P. Parrilla-Vázquez, A. Uclés-Moreno, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 1511–1520.
- [136] J. Zhang, Z. Liang, H. Guo, P. Gao, R. Lu, W. Zhou, S. Zhang, H. Gao, *Talanta* 115 (2013) 556–562.
- [137] M. Zeeb, P.T. Jamil, A. Berenjjan, M.R. Ganjali, M.R.T.B. Reza, *Daru* 21 (2013) 1–8.
- [138] M. Mirzaei, N. Amirtaimoury, *J. Anal. Chem.* 69 (2014) 503–508.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [139] F. Bamdad, M. Ardalani, M.R. Sangi, J. Braz. Chem. Soc. 25 (2014) 246–252.
- [140] M. Zeeb, M.R. Ganjali, P. Norouzi, Food Anal. Methods 6 (2013) 1398–1406.
- [141] Q. Zhou, X. Zhang, J. Xiao, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 4361–4365.
- [142] S. Li, S. Cai, W. Hu, H. Chen, H. Liu, Spectrosc. Acta Pt. B-Atom. Spectr. 64 (2009) 666–671.
- [143] M.M. Parrilla Vázquez, P. Parrilla-Vázquez, M. Martínez-Galera, A. Uclés Moreno, J. Chromatogr. A 1356 (2014) 1–9.
- [144] J.N. Sun, J. Chen, Y.P. Shi, Talanta 125 (2014) 329–335.
- [145] M. Hatami, E. Karimnia, K. Farhadi, J. Pharm. Biomed. Anal. 85 (2013) 283–287.
- [146] S. Dong, Q. Hu, Z. Yang, R. Liu, G. Huang, T. Huang, Microchem J. 110 (2013) 221–226.
- [147] M.M. Parrilla Vázquez, P. Parrilla Vázquez, M. Martínez Galera, M.D. Gil García, A. Uclés, J. Chromatogr. A 1291 (2013) 19–26.
- [148] M. Rajabi, S. Asemipour, B. Barfi, M.R. Jamali, M. Behzad, J. Mol. Liq. 194 (2014) 166–171.
- [149] E. Stanisz, J. Werner, H. Matusiewicz, Microchem. J. 110 (2013) 28–35.
- [150] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, J. Agric. Food Chem. 61 (2013) 9356–9361.
- [151] X. Xu, R. Su, X. Zhao, Z. Liu, D. Li, X. Li, H. Zhang, Z. Wang, Talanta 85 (2011) 2632–2638.
- [152] X. Xu, R. Su, X. Zhao, Z. Liu, Y. Zhang, D. Li, X. Li, H. Zhang, Z. Wang, Anal. Chim. Acta 707 (2011) 92–99.
- [153] X. Xu, Z. Liu, X. Zhao, R. Su, Y. Zhang, J. Shi, Y. Zhao, L. Wu, Q. Ma, X. Zhou, H. Zhang, Z. Wang, J. Sep. Sci. 36 (2013) 585–592.
- [154] M. Asensio-Ramos, J. Hernández-Borges, T.M. Borges-Miquel, M.A Rodríguez-Delgado, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 4808–4816.
- [155] L. Ye, J. Liu, X. Yang, Y. Peng, L. Xu, J. Sep. Sci. 34 (2011) 700–706.
- [156] C. Xiao, M. Tang, J. Li, C.-R. Yin, G. Xiang, L. Xu, J. Chromatogr. B. 931 (2013) 111–116.
- [157] S. Khan, M. Soylak, T.G. Kazi, Biol. Trace Elem. Res. 156 (2013) 49–55.
- [158] X. Lai, C. Ruan, R. Liu, C. Liu, Food Chem. 161 (2014) 317–322.
- [159] R. Nageswara Rao, S. Satyanarayana Raju, R. Mastan Vali, J. Chromatogr. B. 931 (2013) 174–180.
- [160] Y.K. Ku, M.I. Leong, W.T. Wang, S.D. Huang, J. Sep. Sci. 36 (2013) 1470–1477.
- [161] H. Wu, J.-B. Guo, L.-M. Du, H. Tian, C.-X. Hao, Z.-F. Wang, J.-Y. Wang, Food Chem. 141 (2013) 182–186.
- [162] M. Baghadi, F. Shemirani, Anal. Chim. Acta 634 (2009) 186–191.
- [163] C. Yao, J.L. Anderson, Anal. Bioanal. Chem. 395 (2009) 1491–1502.
- [164] E. Fernández, L. Vidal, J. Iniesta, J.P. Metters, C.E. Banks, A. Canals, Anal. Bioanal. Chem. 406 (2014) 2197–2204.
- [165] L.B. Agudelo Mesa, J.M. Padró, M. Reta, Food Chem. 141 (2013) 1694–1701.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [166] E. Stanisz, A. Zgoła-Grześkowiak, *Talanta* 115 (2013) 178–183.
- [167] C. Yu, S. Zhang, J. Zhang, S. Li, W. Zhou, H. Gao, R. Lu, *J. Braz. Chem. Soc.* 246 (2013) 1034–1040.
- [168] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, *Talanta* 110 (2013) 46–52.
- [169] R.S. Zhao, X. Wang, J. Sun, C. Hu, X.K. Wang, *Microchim. Acta* 174 (2011) 145–151.
- [170] R.S. Zhao, X. Wang, W.F. Li, S.S. Wang, L.L. Zhang, C.G. Cheng, *J. Sep. Sci.* 34 (2011) 830–836.
- [171] R.S. Zhao, X. Wang, L.L. Zhang, S.S. Wang, J.P. Yuan, *Anal. Methods* 3 (2011) 831–836.
- [172] S. Gao, X. Yang, W. Yu, Z. Liu, H. Zhang, *Talanta* 99 (2012) 875–882.
- [173] H. Qin, B. Li, M.S. Liu, Y.L. Yang, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 1463–1469.
- [174] L.M. Ravelo-Pérez, J. Hernández-Borges, M. Asensio-Ramos, M.A. Rodríguez-Delgado, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 7336–7345.
- [175] M. Germán-Hernández, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, *J. Chromatogr. A* 1227 (2012) 29–37.
- [176] B. Delgado, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, V. González, *Talanta* 99 (2012) 972–983.
- [177] M. Arvand, E. Bozorgzadeh, S. Shariati, M.A. Zanjanchi, *Environ. Monit. Assess.* 184 (2012) 7597–7605.
- [178] B. Peng, J. Zhang, C. Wu, S. Li, Y. Li, H. Gao, R. Lu, W. Zhou, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 37 (2014) 815–828.
- [179] A. Páleníková, S. Hrouzková, *Monatsh. Chem.* 145 (2014) 537–549.
- [180] A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namiéńnik, *J. Chromatogr. A* 1321 (2013) 1–13.
- [181] S. Risticovic, V.H. Niri, D. Vuckovic, J. Pawliszyn, *Anal. Bioanal. Chem.* 393 (2009) 781–795.
- [182] X. Huang, L. Chen, F. Lin, D. Yuan, *J. Sep. Sci.* 34 (2011) 2145–2151.
- [183] Sigma-Aldrich, SPE Cartridge (Tube) Configuration Guide, <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spe/tube-configuration-guide.htm>, Accedido 26 Marzo 2017.
- [184] L. Vidal, M.-J. Riekkola, A. Canals, *Anal. Chim. Acta* 715 (2012) 19–41.
- [185] M. Tian, H. Yan, K.H. Row, *J. Chromatogr. B* 877 (2009) 738–742.
- [186] H. Zhao, B. Dai, L. Xu, X. Wang, X. Qiao, Z. Xu, *J. Sci. Food Agric.* 94 (2014) 1787–1793.
- [187] J.F. Cheng, X. Ma, Y. Wu, *Food Anal. Methods* 7 (2014) 1083–1089.
- [188] H. Zhang, K.H. Row, *J. Carbohydr. Chem.* 33 (2014) 225–237.
- [189] W. Bi, K.H. Row, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 2621–2628.
- [190] S. Sadeghi, A.Z. Moghaddam, *Anal. Methods* 6 (2014) 4867–4877.
- [191] P. Su, R.Y. Wang, Y. Yu, Y. Yang, *Anal. Methods* 6 (2014) 704–709.

Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

- [192] L. Vidal, O. Robin, J. Parshintsev, P.-J. Mikkola, M.-L. Riekkola, J. Chromatogr. A 1285 (2013) 7–14.
- [193] N. Fontanals, S. Ronka, F. Borrull, A.W. Trochimczuk, R.M. Marcé, Talanta 80 (2009) 250–256.
- [194] X. Gao, J. Fan, X.L. Wang, Y.S. Zhang, Acta Chim. Sin. 71 (2013) 1411–1420.
- [195] H. Yan, N. Sun, Y. Han, C. Yang, M. Wang, R. Wu, J. Chromatogr. A 1307 (2013) 21–26.
- [196] D.D. Han, B.K. Tang, K.H. Row, Anal. Lett. 46 (2013) 2359–2371.
- [197] M.L. Tian, J. Qiao, K.H. Row, Anal. Lett. 46 (2013) 1331–1341.
- [198] H. Abdolmohammad-Zadeh, A. Naseri, M. Galeh-Assadi, S. Shabkhizan, Int. J. Environ. Anal. Chem. 93 (2013) 279–297.
- [199] X.Y. Gao, M.F. Pan, G.Z. Fang, W. Jing, S.Y. He, S. Wang, Anal. Methods 5 (2013) 6128–6134.
- [200] W. Bi, M. Tian, K.H. Row, Phytochem. Anal. 21 (2010) 496–501.
- [201] W. Bi, M. Tian, K.H. Row, J. Chromatogr. B 913–914 (2013) 61–68.
- [202] M. Lombardo-Agüí, A.M. García-Campaña, L. Gámiz-Gracia, C. Cruces Blanco, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2237–2242.
- [203] F. Galán-Cano, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Microchem J. 106 (2013) 311–317.
- [204] M. Ghaedi, D. Elhamifar, M. Roosta, R. Moshkelgosh, J. Ind. Eng. Chem. 20 (2014) 1703–1712.
- [205] M. Li, P.J. Pham, T. Wang, C.U. Pittman Jr., T. Li, Bioresour. Technol. 100 (2009) 6385–6390.
- [206] M. Li, P.J. Pham, T. Wang, C.U. Pittman Jr., T. Li, Sep. Purif. Technol. 66 (2009) 1–8.
- [207] S. Inagaki, S. Guan, Y. Fukushima, T. Ohsuna, O. Terasaki, J. Am. Chem. Soc. 121 (1999) 9611–9614.
- [208] H. Yan, S. Liu, M. Gao, N. Sun, J. Chromatogr. A 1294 (2013) 10–16.
- [209] X. Wang, L. Xing, Y. Shu, X. Chen, J. Wang, Anal. Chim. Acta 837 (2014) 64–69.
- [210] A. Ríos, M. Zougagh, M. Bouri, Anal. Methods 5 (2013) 4558–4573.
- [211] C. Cui, B. Hu, B.B. Chen, M. He, J. Anal. At. Spectrom. 28 (2013) 1110–1117.
- [212] H. Parham, S. Saeed, J. Chromatogr. A 1336 (2014) 34–42.
- [213] S. Khan, T.G. Kazi, M. Soylak, Spectrosc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr. 123 (2014) 194–199.
- [214] F. Galán-Cano, M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, J. Chromatogr. A 1300 (2013) 134–140.
- [215] M. Deng, C. Jiang, L. Jia, Anal. Chim. Acta 771 (2013) 31–36.
- [216] X.J. Cao, L.X. Shen, X.M. Ye, F.F. Zhang, J.Y. Chen, W.M. Mo, Analyst 139 (2014) 1938–1944.
- [217] M.L. Polo-Luque, B.M. Simonet, M. Valcárcel, Talanta 104 (2013) 169–172.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [218] A. Saljooqi, T. Shamspur, M. Mohamadi, A. Mostafavi, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 1856–1861.
- [219] H. Yan, M. Gao, C. Yang, M. Qiu, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 2669–2677.
- [220] W. Bi, M. Wang, X. Yang, K.H. Row, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 1632–1639.
- [221] R. Zhang, P. Su, L. Yang, Y. Yang, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 1503–1510.
- [222] H. He, D. Yuan, Z. Gao, D. Xiao, H. He, H. Dai, J. Peng, N. Li, *J. Chromatogr. A* 1324 (2014) 78–85.
- [223] X. Liu, X. Lu, Y. Huang, C. Liu, S. Zhao, *Talanta* 119 (2014) 341–347.
- [224] Q. Zhang, F. Yang, F. Tang, K. Zeng, K. Wu, Q. Cai, S. Yao, *Analyst* 135 (2010) 2426–2433.
- [225] X. Zhao, Y. Shi, T. Wang, Y. Cai, G. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1188 (2008) 140–147.
- [226] M. Amjadi, A. Samadi, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 434 (2013) 171–177.
- [227] D. Xiao, D. Yuan, H. He, C. Pham-Huy, H. Dai, C. Wang, C. Zhang, *Carbon* 72 (2014) 274–286.
- [228] T. Saitoh, T. Kondo, M. Hiraide, *J. Chromatogr. A* 1164 (2007) 40–47.
- [229] T. Zhu, C.H. Yoon, K.H. Row, *Asian J. Chem.* 25 (2013) 3731–3734.
- [230] Z. He, D. Liu, Z. Zhou, P. Wang, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 3226–3233.
- [231] L. Zhang, R. Yu, Z. Wang, N. Li, H. Zhang, A. Yu, *J. Chromatogr. B* 953–954 (2014) 132–137.
- [232] D. Louch, S. Motlagh, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 64 (1992) 1187–1199.
- [233] Z. Zhang, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 65 (1993) 1843–1852.
- [234] F. Endres, S. Zein El Abedin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8 (2006) 2101–2116.
- [235] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 86 (2014) 262–285.
- [236] J.F. Liu, N. Li, G.B. Jiang, J.-M. Liu, J. Å. Jönsson, M.J. Wen, *J. Chromatogr. A* 1066 (2005) 27–32.
- [237] Y.N. Hsieh, P.C. Huang, I.-W. Sun, T.-J. Whang, C.-Y. Hsu, H.-H. Huang, C.-H. Kuei, *Anal. Chim. Acta* 557 (2006) 321–328.
- [238] K.P. Huang, G.R. Wang, B.Y. Huang, C.Y. Liu, *Anal. Chim. Acta* 645 (2009) 42–47.
- [239] R. Amini, A. Rouhollahi, M. Adibi, A. Mehdinia, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 130–136.
- [240] M. Liu, X. Zhou, Y. Chen, H. Liu, X. Feng, G. Qiu, F. Liu, Z. Zeng, *Anal. Chim. Acta* 683 (2010) 96–106.
- [241] J. López-Darias, V. Pino, J.L. Anderson, C.M. Graham, A.M. Afonso, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 1236–1243.
- [242] C.M. Graham, Y. Meng, T. Ho, J.L. Anderson, *J. Sep. Sci.* 34 (2011) 340–346.
- [243] J. Feng, M. Sun, L. Xu, J. Li, X. Liu, S. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 7758–7764.

Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

- [244] B.R. Toledo, L.W. Hantao, T.D. Ho, F. Augusto, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1346 (2014) 1–7.
- [245] M.D. Joshi, T.D. Ho, W.T.S. Cole, J.L. Anderson, *Talanta* 118 (2014) 172–179.
- [246] J. Jia, X. Liang, L. Wang, Y. Guo, X. Liu, S. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1320 (2013) 1–9.
- [247] J. Zheng, S. Li, Y. Wang, L. Li, C. Su, H. Liu, F. Zhu, R. Jiang, G. Ouyang, *Anal. Chim. Acta* 829 (2014) 22–27.
- [248] C. Zhang, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1344 (2014) 15–22.
- [249] E. Stanisz, J. Werner, H. Matusiewicz, *Microchem. J.* 114 (2014) 229–237.
- [250] P. Yang, C. Lau, X. Liu, J. Lu, *Anal. Chem.* 79 (2007) 8476–8485.
- [251] Y. He, J. Pohl, R. Engel, L. Rothman, M. Thomas, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 4824–4830.
- [252] A. Kumar, Gaurav, A. Kumar Malik, D. Kumar Tewary, B. Singh, *Anal. Chim. Acta* 610 (2008) 1–14.
- [253] X. Zhou, J. Shang, M. Liu, H. Liu, R. Hao, X. Feng, F. Liu, *Acta Chim. Sin.* 68 (2010) 1749–1757.
- [254] M. Tian, R. Cheng, J. Ye, X. Liu, Q. Jia, *Food Chem.* 145 (2014) 28–33.
- [255] X. Zhou, X. Shao, J.J. Shu, M.M. Liu, H.L. Liu, X.H. Feng, F. Liu, *Talanta* 89 (2012) 129–135.
- [256] Z. Gao, Y. Deng, X. Hu, S. Yang, C. Sun, H. He, *J. Chromatogr. A* 1300 (2013) 141–150.
- [257] J. Yuan, D. Mecerreyes, M. Antonietti, *Prog. Polym. Sci.* 38 (2013) 1009–1036.
- [258] F. Zhao, Y. Meng, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1208 (2008) 1–9.
- [259] F. Augusto, E. Carasek, R. Gomes-Costa-Silva, S.R. Rivellino, A. Domingues-Batista, E. Martendal, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2533–2542.
- [260] J. González-Álvarez, D. Blanco-Gomis, P. Arias-Abrodo, J. Pello-Palma, N. Ríos-Lombardía, E. Busto, V. Gotor-Fernández, M.D. Gutiérrez-Álvarez, *J. Chromatogr. A* 1305 (2013) 35–40.
- [261] T.D. Ho, W.T.S. Cole, F. Augusto, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1298 (2013) 146–151.
- [262] Y. Meng, V. Pino, J.L. Anderson, *Anal. Chim. Acta* 687 (2011) 141–149.
- [263] M. Wasielewska, B. Zygmunt, J.L. Anderson, *Chromatographia* 77 (2014) 151–158.
- [264] Y. Meng, V. Pino, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 81 (2009) 7107–7112.
- [265] Q. Zhao, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 4517–4522.
- [266] J. López-Darias, J.L. Anderson, V. Pino, A.M. Afonso, *Anal. Bioanal. Chem.* 401 (2011) 2965–2976.
- [267] Y. Meng, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 6143–6152.
- [268] J. López-Darias, Y. Meng, J.L. Anderson, V. Pino, A.M. Afonso, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7189–7197.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [269] F. Bianchi, F. Bisceglie, S. Dugheri, G. Arcangeli, V. Cupelli, E. del Borrello, L. Sidisky, M. Careri, J. Chromatogr. A 1331 (2014) 1–9.
- [270] T.D. Ho, M.D. Joshi, M.A. Silver, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A 1240 (2012) 29–44.
- [271] L. Xu, J. Jia, J. Feng, J. Liu, S. Jiang, J. Sep. Sci. 36 (2013) 369–375.
- [272] L. Pang, J.-F. Liu, J. Chromatogr. A 1230 (2012) 8–14.
- [273] J. Feng, M. Sun, L. Xua, S. Wang, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A 1268 (2012) 16–21.
- [274] T.D. Ho, H. Yu, W.T.S. Cole, J.L. Anderson, Anal. Chem. 84 (2012) 9520–9528.
- [275] J. Feng, M. Sun, S. Wang, X. Liu, S. Jiang, J. Chromatogr. A 1245 (2012) 32–38.
- [276] A.M. Shearrow, G.A. Harris, L. Fang, P.K. Sekhar, L.T. Nguyen, E.B. Turner, S. Bhansali, A. Malik, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 5449–5458.
- [277] A.M. Shearrow, S. Bhansali, A. Malik, J. Chromatogr. A 1216 (2009) 6349–6355.
- [278] C.-L. Lin, S. Lirio, Y.-T. Chen, C.-H. Lin, H.-Y. Huang, Chem. Eur. J. 20 (2014) 3317–3321.
- [279] E. Wanigasekara, S. Perera, J.A. Crank, L. Sidisky, R. Shirey, A. Berthod, D.W. Armstrong, Anal. Bioanal. Chem. 396 (2010) 511–524.
- [280] F. Zhao, M. Wang, Y. Ma, B. Zeng, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 387–391.
- [281] Z. Gao, W. Li, B. Liu, F. Liang, H. He, S. Yang, C. Sun, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 6285–6291.
- [282] C. Chen, X. Liang, J. Wang, Y. Zou, H. Hu, Q. Cai, S. Yao, J. Chromatogr. A 1348 (2014) 80–86.
- [283] J. Feng, M. Sun, L. Li, X. Wang, H. Duan, C. Luo, Talanta 123 (2014) 18–24.
- [284] Q. Zhao, P. Twu, J.L. Anderson, Chirality 24 (2012) 201–208.
- [285] M.-Q. Cai, W.-Q. Wei, C.-H. Du, X.-M. Ma, M.-C. Jin, J. Chromatogr. A 1349 (2014) 24–29.
- [286] T.-T. Wang, Y.-H. Chen, J.-F. Ma, M.-J. Hu, Y. Li, J.-H. Fang, H.-Q. Gao, Anal. Bioanal. Chem. 406 (2014) 4955–4963.
- [287] A.M. Calero, J.H. Ayala, V. González, A.M. Afonso, Anal. Bioanal. Chem. 394 (2009) 937–946.
- [288] E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C. Cramers, J. Microcolumn Separations 1110 (1999) 737–747.
- [289] F.M. Lancas, M.E. Queiroz, P. Grossi, I.R.B. Olivares, J. Sep. Sci. 32 (2009) 813–824.
- [290] Z. Talebpour, M. Taraji, N. Adib, J. Chromatogr. A 1236 (2012) 1–6.
- [291] A. Zarghi, S.M. Foroutan, A. Shafaati, A. Khoddam, J. Pharm. Biomed. Anal. 44 (2007) 250–253.
- [292] X.J. Huang, D.X. Yuan, J. Chromatogr. A 1154 (2007) 152–157.
- [293] X.J. Huang, N.N. Qiu, D.X. Yuan, Q.M. Lin, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 2667–2673.
- [294] X. Huang, Y. Wang, Q. Hong, Y. Liu, D. Yuan, J. Chromatogr. A 1314 (2013) 7–14.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

[295] H. Huang, L. Chen, D. Yuan, S. Bi, J. Chromatogr. A 1248 (2012) 67–73.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abbreviations

AAS	atomic absorption spectrometry
AIBN	2,2'-azobis(2-methylpropionitrile)
CAR-PDMS	carboxen-polydimethylsyloxane
CE	capillary electrophoresis
c-MWCNT	carboxylated multiwalled carbon nanotube
CNT	carbon nanotube
μ-dSPE	dispersive micro-solid-phase extraction
DAROCOUR 1173	2-hydroxy-2-methylpropiophenone
DI-SDME	direct immersion single-drop microextraction
DI-SPME	direct immersion solid-phase microextraction
DLLME	dispersive liquid-liquid microextraction
DSDME	directly suspended droplet microextraction
DVB	divinylbenzene
DVB-PDMS	divinylbencil-polydimethylsyloxane
ECD	electron capture detection
EG	ethylene glycol
FID	flame-ionization detector
GC	gas chromatography
HF-LPME	hollow fiber liquid-phase microextraction
HS-SDME	headspace single-drop microextraction
HS-SPME	headspace solid-phase microextraction
ICP	inductively coupled plasma
IL-MIP	ionic liquid-based molecular imprinted polymer
IL	ionic liquid
IMS	ion mobility spectrometry
LLE	liquid-liquid extraction
LLME	liquid-liquid microextraction
LPME	liquid-phase microextraction
MALDI	matrix-assisted laser desorption ionization
MNP	magnetic nanoparticle
MOF	metal-organic framework
MS	mass spectrometry
MWCNT	multi-walled carbon nanotube
PA	polyacrylate
PAH	polycyclic aromatic hydrocarbon
PANI	polyaniline
PCB	polychlorinated biphenyl
PDMS	polydimethylsyloxane
PIL	polymeric ionic liquid
PLE	pressurized liquid extraction
PMO	periodic mesoporous organosilica
POSS	polyhedral oligomeric silsesquioxane
RTIL	room temperature ionic liquid
SBSE	stir bar sorptive extraction
SCSE	stir cake sorptive extraction
SDME	single-drop microextraction
SFO	solidification of the floating organic
SPE	solid-phase extraction

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

μ -SPE	micro-solid-phase extraction
SPME	solid-phase microextraction
SS	stainless steel
UV	ultraviolet
VAEME	vortex-assisted emulsification microextraction
VOC	volatile organic compound

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Capítulo IV

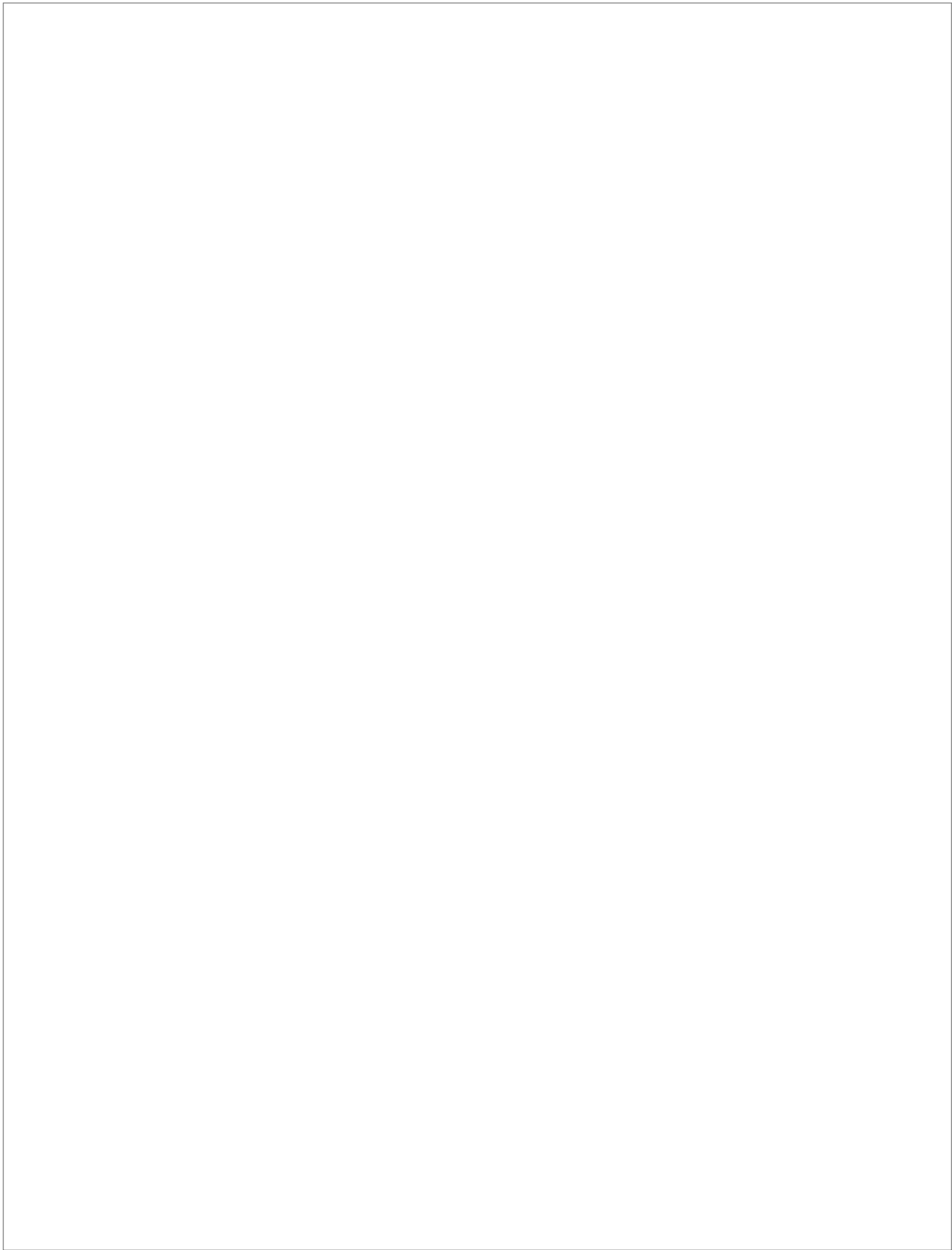
Aplicaciones basadas en el uso de polímeros de líquidos iónicos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los polímeros de líquidos iónicos (PILs) son materiales que indudablemente expanden las propiedades y aplicaciones de ILs y polielectrolitos. Estas sustancias surgen inicialmente como materiales complementarios a los ILs en el sentido de que son capaces de mejorar o amplificar algunas de sus propiedades debido a su naturaleza polimérica. Entre estas propiedades, es destacable la estabilidad térmica, química y mecánica, que en la mayoría de los casos supera la de los ILs. Además, la viscosidad de los PILs es relativamente superior a la de los ILs pero no se ve significativamente alterada con la temperatura. Por otra parte, en comparación al resto de polímeros, los PILs poseen una temperatura de transición vítrea relativamente baja. Este conjunto de características hace que el interés por el desarrollo y estudio de los PILs abarque campos tales como la Química de Polímeros, Física, Ciencia de los Materiales, Catálisis, Electroquímica y Química Analítica, entre otros.

En general, es destacable el empleo de PILs como sensores multirespuesta a estímulos químicos, físicos o bioquímicos, en materiales sólidos en disolución o en gel; como especies precursoras de materiales basados en carbono; como soporte de catalizadores, estabilizando y modificando NPs de metales y óxidos metálicos; directamente como catalizadores (sin la presencia de un metal), o como precatalizadores; como membranas electrolíticas en celdas de combustible, celdas solares con pigmento fotosensible, baterías, súpercapacitores, sistemas electrocrómicos y transistores; como materiales fotoresistentes o inhibidores de corrosión; como componentes de materiales con actividad antimicrobiana; en síntesis orgánica, y en general como dispersantes o estabilizantes.

En el área de Química Analítica, los PILs se han utilizado en técnicas de separación, absorción, extracción y en microextracción. En todos los casos, se aprovecha la versatilidad estructural de los PILs y la capacidad de estos materiales para interactuar con analitos a través de diferentes mecanismos: interacciones hidrofóbicas o hidrofílicas, interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones π - π o incluso intercambio iónico.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

En lo que respecta a las técnicas de separación, es destacable el empleo de los PILs como fases estacionarias en cromatografía de gases (GC) y cromatografía de gases multidimensional (MDGC). En estos casos, el uso de PILs asegura obtener un film homogéneo dentro del capilar de sílice de la fase estacionaria a altas temperaturas y, al mismo tiempo, una mejora de la estabilidad térmica de la columna respecto de fases estacionarias basadas en ILs monocatiónicos. En los últimos años, se han desarrollado fases estacionarias basadas en PILs “puros” (de tipo homopolimérico o entrecruzado) y fases de materiales híbridos formados por la combinación de un PIL con polisiloxano o incluso materiales basados en carbono.

Del mismo modo, es destacable el uso de PILs como materiales absorbentes de CO₂. En concreto, se han desarrollado aplicaciones para la separación de CO₂ de combustibles fósiles y gas natural.

Además, los PILs han resultado ser excelentes materiales extractantes en extracción en fase sólida (SPE) y en microextracción basada en sorbentes sólidos. Es destacable el empleo de PILs con diferentes morfologías en extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva (μ -dSPE) y en extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva magnética (m- μ -dSPE). En concreto, ha resultado especialmente útil el empleo de nanopartículas magnéticas (MNPs) funcionalizadas con PILs, o MNPs a la que se adhiere una capa de PIL como recubrimiento protector. Por otra parte, los PILs también se han empleado como materiales de extracción en microextracción en fase sólida (SPME). Se han desarrollado fibras basadas en PILs (homopoliméricos o entrecruzados) para todas las modalidades de SPME, y aplicadas a la determinación tanto de moléculas orgánicas pequeñas como biomoléculas. Conviene destacar también el empleo de materiales híbridos de PILs con materiales basados en carbono para generar fibras de SPME.

En este capítulo se describen aplicaciones analíticas en las que los PILs han resultado ser efectivos materiales de extracción en SPME. En todos los casos, se ha procedido a la síntesis y montaje de nuevas fibras basadas en PILs (o materiales híbridos conteniendo PILs). Tras comprobar que la eficacia extractiva de las fibras desarrolladas es superior o comparable a la de las fibras de SPME disponibles comercialmente, se han desarrollado metodologías para la monitorización de analitos en muestras de interés medioambiental y agroalimentario. El capítulo se divide en tres secciones distintas en base a la modalidad de SPME empleada (espacio en cabeza, Sección IV.1, inmersión directa, Sección IV.2 o espacio en cabeza en condiciones de vacío, Sección IV.3).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section IV.1

Polymeric ionic liquid coatings versus commercial solid-phase microextraction coatings for the determination of volatile compounds in cheeses

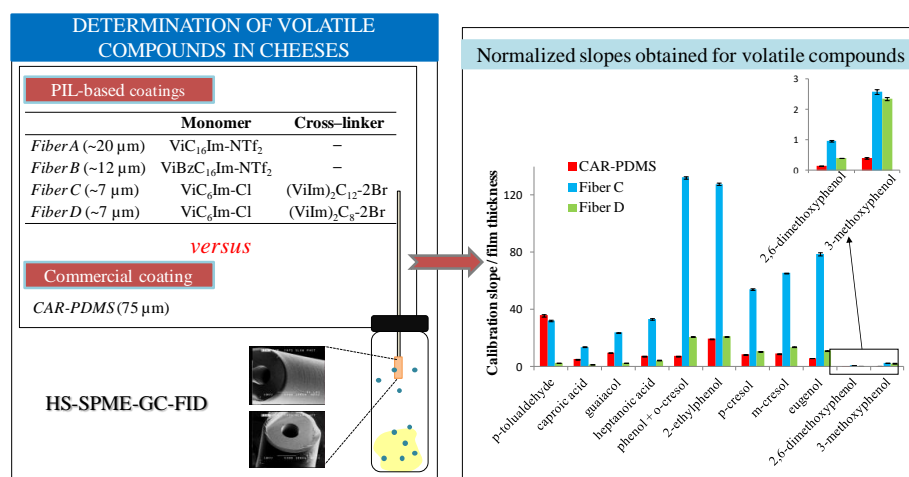
Talanta 121 (2014) 153–162

María J. Trujillo-Rodríguez¹, Honglian Yu², William T.S. Cole², Tien D. Ho², Verónica Pino^{*1}, Jared L. Anderson^{**2}, Ana M. Afonso¹

¹Departamento de Química Analítica, Unidad Departamental de Química Analítica, Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

²Department of Chemistry, School of Green Chemistry and Engineering, The University of Toledo (OH), Toledo, OH 43606, USA

Graphical abstract



223

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Abstract

The extraction performance of four polymeric ionic liquid (PIL)-based solid-phase microextraction (SPME) coatings has been studied and compared to that of commercial SPME coatings for the extraction of 16 volatile compounds in cheeses. The analytes include 2 free fatty acids, 2 aldehydes, 2 ketones and 10 phenols and were determined by headspace (HS)-SPME coupled to gas chromatography (GC) with flame-ionization detection (FID). The PIL-based coatings produced by UV co-polymerization were more efficient than PIL-based coatings produced by thermal AIBN polymerization. Partition coefficients of analytes between the sample and the coating (K_{fs}) were estimated for all PIL-based coatings and the commercial SPME fiber showing the best performance among the commercial fibers tested: carboxen-polydimethylsilyloxane (CAR-PDMS). For the PIL-based fibers, the highest K_{fs} value (1.96 ± 0.03) was obtained for eugenol. The normalized calibration slope, which takes into account the SPME coating thickness, was also used as a simpler approximate tool to compare the nature of the coating within the determinations, with results entirely comparable to those obtained with estimated K_{fs} values. The PIL-based materials obtained by UV co-polymerization containing the 1-vinyl-3-hexylimidazolium chloride IL monomer and 1,8-di(3-vinylimidazolium)octane dibromide IL crosslinker exhibited the best performance in the extraction of the select analytes from cheeses. Despite a coating thickness of only 7 μm , this copolymeric sorbent coating was capable of quantitating analytes in HS-SPME in a 30 to 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration range, with correlation coefficient (R) values higher than 0.9938, inter-day precision values (as relative standard deviation in %) varying from 6.1 to 20%, and detection limits down to 1.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Keywords

ionic liquids, polymeric ionic liquids, solid-phase microextraction, volatile compounds, gas-chromatography

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

The determination of volatile compounds in cheeses [1,2] constitutes an interesting tool for obtaining profiles related to aroma composition, which can be linked with further studies regarding cheese quality, cheese origin or even cheese sensorial attributes [3].

Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) [4] is currently the analytical technique of choice in the analysis of food aroma [5,6]. The technique possesses a number of advantages such as eliminating the consumption of organic solvent during the extraction step; combining extraction and preconcentration into one step, ease of automation, and high enrichment factors, among others. The study of complex mixtures of volatile compounds (around a thousand of compounds) in foods is successfully carried out when HS-SPME is used in combination with two-dimensional gas chromatography (GC×GC) [7].

The primary commercial SPME coatings employed in the monitoring of volatile compounds in cheeses include carboxen-polydimethylsiloxane (CAR-PDMS) [6,8-10] and divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB-CAR-PDMS) [11,12]. In general, the DVB-CAR-PDMS coating exhibits better extraction performance for medium and high molecular-weight compounds, while the CAR-PDMS coating has shown better results for low molecular-weight compounds [5].

It must be highlighted that a limitation of the SPME technique arises from the relatively small number of coatings commercially available (roughly six). In this sense, there is significant interest to develop specific SPME coatings when highly complex extractions are required such as in the case of food aroma, particularly devoted to the extraction of polar analytes (which are in general poorly extracted by commercial coatings). Indeed, the search for novel materials that are good candidates for SPME has recently been a hot topic in the literature [13], and they include ionic liquids (ILs) [14], nanotubes (NTs) [15], and conductive polymers (CPs) [16], among others.

Polymeric ionic liquids (PILs) can be cited as an important group of materials with good abilities as SPME coatings [17]. As defined by Mecerreyes [18]: PILs are polymers synthesized from IL monomers as opposed to polyelectrolytes which are synthesized from solid salt monomers. PILs are quite attractive polymers because they are able to retain several IL properties such as ionic conductivity, thermal stability, and tuneable

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

solvent properties. First described PIL was used as a stationary phase in gas-chromatography [19].

Up to now, the majority of PIL-based SPME coatings have been prepared by coating a linear polymer of the PIL sorbent on the bare silica support. They have been used in both HS-SPME applications [20-25] or in direct immersion (DI-) measurements [26-28]. Very recently, Ho *et al.* utilized “on-fiber” ultraviolet (UV)-initiated polymerization consisting entirely of monocationic IL monomers and dicationic IL crosslinkers to form crosslinked copolymeric PIL-based SPME coatings [29]. These crosslinked sorbent coatings are chemically bonded to the silica support and have been used in both HS- and DI-SPME for the determination of polar analytes, including alcohols, aldehydes, and esters in waters [29]. Using a different synthetic approach, Wanigasekara *et al.* have also described the use of silica-bonded ionic liquid derivatives in SPME [30]. Altogether with the development of analytical applications of PILs in SPME, efforts have also been shifted to give insight into the sorption mechanism that takes place when PIL coatings are employed in SPME [31,32].

Due to the unique and tuneable solvent properties of PIL-based coatings, there is enormous interest in exploiting these materials in the determination of volatiles in food samples by HS-SPME. Monocationic linear PIL-based coatings prepared by AIBN polymerization have been used in the determination of volatiles in wines [20] and coffee beans [23]; however, the comparison in these studies was exclusively limited to the commercial polyacrylate (PA) and polydimethylsyloxane (PDMS) coatings. Two recent reports described PIL-based coatings for the determination of volatiles in beers, and compared the results with other commercial SPME coatings [25,30].

The main aim of this work is to deeply compare the extraction performance of four PILs coatings, two of them being prepared by thermal AIBN polymerization and the other two being crosslinked co-polymeric coatings formed by UV polymerization, with that of a variety of commercial SPME coatings including CAR-PDMS. The comparison is carried out for a group of volatile compounds in cheeses using HS-SPME-GC. Selected analytes include volatile free fatty acids, aldehydes, ketones, and phenols. Partition coefficients of these analytes to the SPME coatings have also been obtained to quantitate the selectivity of the examined coatings.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2. Experimental

2.1. Reagents and materials

The studied volatile compounds were free fatty acids (FFAs), carbonyl compounds (aldehydes and ketones) and phenols. Caproic acid, eugenol (> 99.0%), guaiacol ($\geq 98.0\%$), 2,6-dimethoxyphenol or syringol ($\geq 97\%$) and 3-methoxyphenol ($\geq 97.0\%$) were supplied by Fluka (Buchs, Switzerland). 2-heptanone (99.0%), 2-nonanone (99.5%), octanal (99.5%), 2-ethylphenol (99.5%) and 3-ethylphenol (97.5%) were purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Ausburg, Germany). *p*-tolualdehyde (97%), *o*-cresol ($\geq 99\%$), *m*-cresol (99%), *p*-cresol (99%) and heptanoic acid were supplied by Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Phenol was supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Sodium chloride (> 99.5%) was supplied by Sigma-Aldrich. Ultrapure water was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Watford, UK).

All analytes were dissolved in acetonitrile (Merck) to obtain individual standards, with concentrations of $1900 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, being of $973 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for octanal.

These individual solutions were used to prepare a working solution containing $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of 2-heptanone and 2-nonanone; $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of heptanoic acid, *p*-tolualdehyde, phenol, *o*-cresol and eugenol; $7.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of caproic acid, octanal, *p*-cresol, 2-ethylphenol, 3-ethylphenol and guaiacol; $10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of *m*-cresol and 3-methoxyphenol; and $12.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of 2,6-dimethoxyphenol, in ultrapure water. The acetonitrile content of the working aqueous solution was 5.4% (v/v). All solutions were stored at 4 °C before use. This working solution was used in the optimization study.

Individual standards were used to prepare two intermediate solutions containing all analytes, with concentrations of $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $380 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in acetonitrile. HS-SPME calibration working solutions (between 30 and $3000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) were prepared by dissolving adequate aliquots of these intermediate solutions in a saturated sodium chloride solution, adjusting the acetonitrile content to 1.0% (v/v).

The estimation of the partition coefficients also required the preparation of individual standard solutions in cyclohexane (Sigma-Aldrich), with the following concentrations: $3240 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for caproic acid, $2888 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for heptanoic acid, $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2-heptanone, 2-nonanone, *p*-tolualdehyde, phenol, *o*-cresol, *m*-cresol,

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

p-cresol, eugenol, guaiacol, 2,6-dimethoxyphenol and 3-methoxyphenol, 1500 mg·L⁻¹ for 2-ethylphenol and 3-ethylphenol, and 973 mg·L⁻¹ for octanal. Aliquots of these solutions were used to prepare calibration working solutions, also in cyclohexane, with concentrations of analytes ranging between 1 and 30 mg·L⁻¹.

Cheese samples were purchased in local supermarkets. They were smoked and semi-ripened cheeses made with a mixture of goat and ewe pasteurized milks. For SPME experiments, the outer surface was discarded and a piece of 2 cm in depth × 5 cm² of surface was selected. The piece was adequately blended and stored in the freezer until analysis.

Amber glass vials (7 mL) with PTFE/Butyl septa screwcaps supplied by CTC Analytics (Zwingen, Switzerland) and a metallic block thermostat (Termobloc, Barcelona, Spain) including a support for SPME fibers were used in all SPME experiments. 10 mL amber glass vials with PTFE/Butyl septa screwcaps and a Combi-Pal autosampler (CTC Analytics) were used in liquid injection experiments.

The reagents used for the synthesis of the PILs were: 1-vinylimidazole, hexadecyl chloride, 2,2'-azo-bis(isobutyronitrile) (AIBN), imidazole, acrylonitrile (> 99%), ammonium hydrogen difluoride, 4-vinylbenzyl chloride (97%), 1-chlorohexane, 2-hydroxy-2-methylpropiophenone (DAROCUR 1173), 1-bromohexadecane, 1,8-dibromooctane, 1,12-dibromooctane, and vinyltrimethoxysilane (VTMS), which were supplied by Sigma-Aldrich. Lithium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide (Li-NTf₂) was acquired to SynQuest Labs (Alachua, FL, USA). Isopropanol, n-hexane, acetone, dichloromethane, methanol, chloroform, ethyl acetate and sodium hydroxide were purchased at Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA).

Four PIL-based SPME fibers were used. The characteristics of these SPME coatings are shown in Table 1. Homemade SPME fiber devices was constituted by a fused silica capillary tubing of 0.1 mm internal diameter (I.D.) for Fiber A and Fiber B, supplied by Supelco (Bellefonte, PA, USA), and of 0.05 mm I.D. for Fiber C and Fiber D, supplied by Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA). The capillaries were inserted in a 5 µL Hamilton syringe (Reno, NV, USA) and attached with epoxy glue to the plunger.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 1. Characteristics of the PIL-based SPME sorbent coatings used in this study.

Coating abbreviation	Polymerization type	IL monomer	Cross-linker (dicationic IL)	Radical initiator	Film thickness (μm)	Coating volume (μL)
<i>Fiber A</i>	Thermal	ViC ₁₆ Im-NTf ₂ ^a	–	AIBN ^f	~20	0.161
<i>Fiber B</i>	Thermal	ViBzC ₁₆ Im-NTf ₂ ^b	–	AIBN ^f	~12	0.094
<i>Fiber C</i>	UV	ViC ₆ Im-Cl ^c	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2Br ^d	DAROCUR 1173 ^g	~7	0.035
<i>Fiber D</i>	UV	ViC ₆ Im-Cl ^c	(ViIm) ₂ C ₈ -2Br ^e	DAROCUR 1173 ^g	~7	0.035

^a 1-vinyl-3-hexadecylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide

^b 1-(4-vinylbenzyl)-3-hexadecylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide

^c 1-vinyl-3-hexylimidazolium chloride

^d 1,12-di(3-vinylimidazolium)dodecane dibromide

^e 1,8-di(3-vinylimidazolium)octane dibromide

^f 2,2'-azobis(2-methylpropanitrile)

^g 2-hydroxy-2-methylpropiophenone

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Commercial SPME fibers of polyacrylate (PA, 85 μm of film thickness), polydimethylsiloxane (PDMS, 30 μm of film thickness), divinylbenzene/carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR-PDMS, 50/30 μm of film thickness), and carboxen-polydimethylsiloxane (CAR-PDMS, 75 μm of film thickness), were obtained from Supelco.

2.2. Instrumentation

The preparation of crosslinked co-polymeric PIL-based sorbent coatings required a RPR-100 UV reactor with spinning carousel supplied by Southern New England Ultraviolet Company (Bradford, Connecticut, USA). The UV reactor utilized 16 lamps that produced 254 nm radiation.

The separation and quantification of volatile analytes were performed using a Varian 450 model CP-3800 gas chromatograph (GC) equipped with a flame ionization detector (FID), and a FFAP CB column (25 m x 0.32 mm I.D., 0.30 μm film thickness) supplied by Agilent Technologies (Amstelveen, Holland). The carrier gas was nitrogen, with a flow-rate of 2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The temperature of the injector depended on the SPME fiber used (to avoid decomposition): 280 $^{\circ}\text{C}$ for PA, PDMS and CAR-PDMS, 270 $^{\circ}\text{C}$ for DVB-PDMS, 250 $^{\circ}\text{C}$ for Fiber A and Fiber B, and 165 $^{\circ}\text{C}$ for Fiber C and Fiber D. The desorption time for the fibers in the GC was 6 min in all cases, to avoid carry over.

GC injection was performed under *splitless* mode in both SPME and liquid injection analysis. In both cases, an inlet sleeve, glass, single gooseneck liner (MD-24-12-1), from Varian, was used. The following GC oven temperature program was employed: 40 $^{\circ}\text{C}$, 2 min isothermal, then 25 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ up to 130 $^{\circ}\text{C}$, and then 20 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ up to 240 $^{\circ}\text{C}$. The FID detector was kept at 280 $^{\circ}\text{C}$, using an air flow of 300 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a make-up flow of nitrogen of 30 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, and a hydrogen flow of 30 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. MS workstation 6.9.3 Software (Varian) was used for data acquisition.

2.3. SPME procedure

PIL-based SPME coatings used in this study were synthesized and characterized as described in previous publications [20,22,27]. PIL-based fibers can be separated in two groups according to the polymerization method used to generate the coatings. The

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

sorbents coatings used for Fiber A and Fiber B were synthesized by thermal AIBN polymerization to form linear polymers using different IL monomers (ViC₁₆Im-Cl for Fiber A and ViBzC₁₆Im-Cl for Fiber B). To increase the thermal stability of the PIL coatings, the halide anions were exchanged by the bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide (NTf₂⁻) anion using lithium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide as the anion exchange reagent. The PIL-based sorbent coatings were then coated on the fused silica support. Fiber C and Fiber D were produced using “on fiber” photoinitiated copolymerization [29]. The ViC₆Im-Cl IL monomer was combined with different IL cross-linkers ((ViIm)₂C₁₂-2Br for Fiber C and (ViIm)₂C₈-2Br for Fiber D) to generate the crosslinked PIL-based coating. In both cases, DAROCUR 1173 UV photoinitiator was used to generate the coatings. This second group of SPME fibers can be described as crosslinked co-polymeric PIL-based sorbent coating chemically bonded to the silica support.

All SPME extractions (with PIL-based or commercial coatings) were conducted in headspace mode. When working with standards, experiments utilized 1 mL of working solution or calibration working solutions. When working with real samples, 0.5 g of cheese were placed in the vial with 1 mL of saturated NaCl solution. Optimum extraction conditions were conducted by exposure of the SPME coating fiber in the HS of the vial at 45 °C during 40 min. After each working day, an extra-cleaning step was carried out by exposing SPME fibers to the GC injector for 10 min at the corresponding desorption temperature.

The glassware used in this study were first washed with detergent and tap water and then, with a mix of Derquim-Oxy supplied by Panreac (Barcelona, Spain) and sulfuric acid purchased from Sigma-Aldrich. The non-graduated glassware and the vials were dried in an oven at 550 °C during 2.5 h.

2.4. Estimation of partition coefficients in HS-SPME

Two partition equilibria take place during the extraction in HS-SPME: (1) between the sample and the headspace (represented by the partition coefficient K_{gs}); and (2) between the coating and the headspace (represented by the partition coefficient K_{fg}). The amount of analyte on the fiber after the extraction (n_f) can be obtained by Equation 1 [33] if considering equilibrium conditions and an ideal gas behavior for the group of analytes studied:

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

$$n_f = \frac{K_{fs}c_0V_fV_s}{K_{fs}V_f + K_{gs}V_g + V_s} \quad (1)$$

where K_{fs} is the partition coefficient of the analyte between the coating and the sample ($K_{fs} = K_{gs} \times K_{fg}$); c_0 is the initial concentration of the analyte in the sample vial, extracted via HS-SPME (in $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); and V_f , V_s and V_g are the volumes of the coating, the sample and the headspace, respectively.

In general, K_{gs} is relatively small for most of the volatile analytes studied. For example (assuming equilibrium conditions that we are not achieving) K_{gs} values according to the Henry's Law [33] are estimated as 0.003 for phenol, 0.09 for octanal and 0.65 for 2-pentanone, as representative examples. Besides, if it is considered that the sample volume is much higher than the volume of the fiber ($V_f \ll V_s$), and that reported K_{fs} values for volatiles are normally below 1000 [33], Equation 1 can be expressed as:

$$n_f = K_{fs}c_0V_f \quad (2)$$

Thus, Equation 2 can be used as a simple way to estimate K_{fs} for the group of analytes studied. It must be highlighted that it is proposed here a simple estimation of partition coefficient values, and not an absolute determination (out of the purpose of the work).

3. Results and discussion

3.1. Optimization of the HS-SPME-GC-FID method

The selected group of sixteen volatile compounds monitored in cheese samples by HS-SPME-GC-FID using commercial and PIL-based sorbent coatings, included: 2 free fatty acids, 2 aldehydes, 2 ketones and 10 phenols. GC separation was successfully accomplished using the experimental conditions described in section 2.2, with phenol and *o*-cresol being the only analytes that could not be resolved; therefore, their quantification was accomplished as a mixture (phenol + *o*-cresol). Under optimized conditions, the reproducibility of the retention times for the studied analytes ranged between 0.3 and 1.5% (Table S1 of the Annex Material).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

The main factors influencing the extraction efficiency in HS-SPME, for a given coating, are the extraction temperature and the extraction time if considering that salting-out is an obvious adequate factor for HS analysis, and that the ratio sample volume/headspace volume is commonly fixed for a certain application. The extraction profiles were studied using the commercial CAR-PDMS fiber and the PIL-based coating Fiber C. They were selected because it was possible to work at the highest injection temperature (280 °C) with the CAR-PDMS fiber, whereas the lowest injection temperature is required for Fiber C (165 °C). Lower desorption temperatures can be accompanied by lower sensitivity for certain peaks and even inadequate peak shape. By selecting these two fibers, working at the minimum and maximum injector temperatures, conclusions can be extrapolated for the remaining coatings.

HS-SPME extraction profiles were obtained utilizing 1 mL of aqueous working standard solution in the vial (with saturated NaCl solution to favor the salting-out effect), and analytes content varying from 2.5 to 12.0 mg·L⁻¹ as described in section 2.1. Relatively large contents were used in this optimization section because it was simply intended a screening to find best working conditions. Extraction times were studied between 15 and 60 min at a constant extraction temperature of 45 °C, and extraction temperatures were studied between 40 and 60 °C at a constant extraction time of 45 min, using the chromatographic peak area as an estimate of the extraction efficiency. These profiles have been included as Annex Material in Figures S1 and S2, for representative analytes of each family of volatile compounds. For the CAR-PDMS coating, increases in the temperature were clearly accompanied by higher extraction efficiencies, whereas for the PIL Fiber C there was a decrease in the extraction efficiencies at high temperatures, especially at 60 °C. Therefore, an intermediate extraction temperature of 45 °C was selected to compare extraction efficiencies for a variety of analytes among the coatings of different nature. With regards to the extraction time, the ideal situation in SPME is to work under equilibration conditions to obtain the maximum extraction efficiencies. Nevertheless, with the purpose of reducing analysis times in SPME, lower extraction times than those required to achieve equilibration can be selected if they provide the necessary analytical sensitivity. Thus, the majority of analytes did not reach equilibration at the highest extraction time considered (60 min) for CAR-PDMS. On contrary, the majority of the analytes achieved equilibration in ~20 min with PIL Fiber C. which can be attributed not only to the different coating nature but mainly to its lower film thickness.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Therefore, an intermediate extraction time of 40 minutes was selected to compare extraction efficiencies for a variety of analytes among coatings of different nature.

3.2. Screening of commercial SPME coatings for the determination of volatiles in cheese

The extraction performance of commercial SPME coatings for the determination of the selected group of volatiles was carried out with cheese samples using the above optimized HS-SPME-GC-FID method. The extraction was carried with cheese samples to clearly select the best commercial fiber. Figure 1 shows the obtained results for the representative analytes for each group of volatile compounds. It can be observed that the highest extraction efficiencies were obtained with the CAR-PDMS fiber. Therefore, the commercial CAR-PDMS fiber was selected to carry out all comparative studies with the PIL-based SPME coatings.

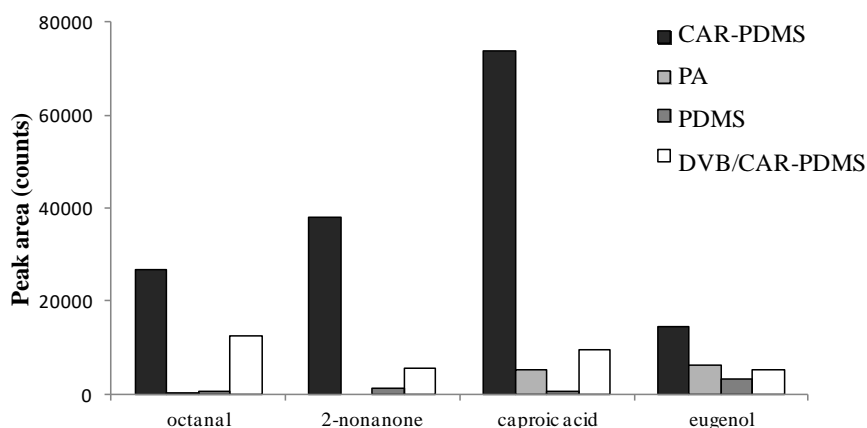


Figure 1. Comparison of the extraction efficiency, expressed as chromatographic peak areas, for different commercial SPME fibers when determining volatile analytes in cheese using the optimized HS-SPME-GC-FID method. The plot includes representative analytes for each group of volatile compounds.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.3. Estimation of partition coefficients

The determination of partition coefficients (K_{fs}) for the group of volatile compounds studied is the best tool for comparing the effect that the different coatings have in the overall extraction efficiency of the volatile analytes. The partition coefficient (K_{fs}) refers to the extent of partitioning that analytes undergo between the initial sample (liquid or solid) and the SPME sorbent coating. They have been calculated according to Equation 1 (section 2.4), assuming equilibrium conditions among other approximations. Therefore, the partition coefficients obtained here are only approximate values (valid for comparison purposes).

The coating volume (V_f) can be calculated for the PIL-based coatings using the total radius of the fiber coating (the radius of the silica capillary minus film thickness) and the coating length (1 cm). Calculated V_f values for PIL-based coatings are shown in Table 1. For the CAR-PDMS fiber, the V_f value of 1.577 μL was supplied by Supelco.

The n_f values, corresponding to the c_0 values selected, were estimated using the liquid injection calibrations included in Tables S2, S3 and S4 of the Annex Material. These liquid injection calibration curves were obtained with working solutions in cyclohexane injected in the GC-FID (2 μL), and employing the same injection temperatures which were used in SPME (280, 250 and 165 $^\circ\text{C}$, depending on the fiber coating) to mimic as much as possible desorption conditions in SPME. Cyclohexane was selected as solvent to minimize as much as possible band broadening in direct injection GC when using splitless mode. These calibrations are utilized to calculate the n_f values, using as peak areas those obtained by HS-SPME-GC-FID when extracting an initial concentration of $c_0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

It can be considered that the $\log K_{fs}$ obtained in this study are only approximate values because we are not working under equilibration conditions. In addition, the n_f values have been estimated by an external calibration method. Besides, the estimated volume of the PIL-based coatings is only an approximation. However, the results are completely valid to evaluate new crosslinked, co-polymeric PILs-based materials as SPME coatings because all partition coefficients (K_{fs}) are calculated using the same conditions.

It must be also considered that the extraction mechanism for these PIL-based SPME fibers should be carefully considered. The above expressions are valid if an

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

absorption mechanism takes place. If these coatings are extracting analytes via an adsorption mechanism, there is a limited number of free sites in the coatings that can be occupied by the analyte molecules [34]. This would require a different set of equations to obtain the partition coefficients related to the Langmuir isotherm, and may not reveal a linear correlation between n_f and c_f . In any case, as long as the initial concentration of analyte in the sample is low, the concentration of analyte in the fiber at equilibrium is lower than the maximum concentration in the fiber (when all the sites are occupied), and so Equation 1 is valid to predict K_{fs} .

The obtained partition coefficients using Equation 1 for PIL-based coatings and the commercial CAR-PDMS fiber are shown in Table 2. The K_{fs} values using HS-SPME are determined for the first time for this group of analytes and SPME coatings. The $\log K_{fs}$ values of 2-heptanone, octanal, 2-nonanone and *p*-tolualdehyde could not be determined for the crosslinked PIL-based sorbents coatings chemically bonded to the silica (Fiber C and Fiber D), mainly due to integration interferences in the liquid injection calibration curves (Table S4), associated to a high band broadening of cyclohexane when injecting in *splitless* mode at low injector temperatures (165 °C). In these two fibers, the halide anions dictate a lower injection temperature to prevent decomposition of the PIL.

The comparison of $\log K_{fs}$ values was therefore carried out for the remaining analytes to which the $\log K_{fs}$ values could be estimated using all SPME fibers (that is, excluding 2-heptanone, octanal, 2-nonanone and *p*-tolualdehyde). Thus, they vary between 0.84 ± 0.05 for 2,6-dimethoxyphenol and 1.92 ± 0.01 for *m*-cresol when using the commercial CAR-PDMS fiber; between 0.42 ± 0.06 for 3-methoxyphenol and 1.66 ± 0.02 for heptanoic acid when employing the PIL-based Fiber A; between 0.86 ± 0.07 for phenol + *o*-cresol and 1.88 ± 0.02 for heptanoic acid when using the PIL-based Fiber B; between 1.25 ± 0.08 for 2,6-dimethoxyphenol and 1.96 ± 0.03 for eugenol when using the PIL-based Fiber C; and between 0.95 ± 0.19 for guaiacol and 1.67 ± 0.06 for heptanoic acid when using the PIL-based Fiber D. For PIL-based fibers, best results were obtained for Fiber C, which exhibited $\log K_{fs}$ values higher or similar to the commercial CAR-PDMS coating for the overall group of analytes, except for guaiacol.

If only the crosslinked co-polymeric PIL-based sorbent (Fibers C and D) are compared with the commercial CAR-PDMS fiber, higher values of $\log K_{fs}$ are obtained for caproic acid, heptanoic acid, 2-ethylphenol, eugenol, 3-ethylphenol, 2,6-dimethoxyphenol and 3-methoxyphenol with Fiber C; and for heptanoic acid,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Estimated partition coefficients (as log K_{fs}) for the group of volatile compounds and SPME fibers studied.

Analyte	log $K_{fs} \pm$ error ^a					log K_{ow} ^c
	CAR-PDMS (75 μ m)	Fiber A (~20 μ m)	Fiber B (~12 μ m)	Fiber C (~7 μ m)	Fiber D (~7 μ m)	
2-heptanone	3.05 \pm 0.01	1.83 \pm 0.01	1.43 \pm 0.02	nd ^b	nd ^b	2.00
octanal	3.12 \pm 0.01	2.29 \pm 0.01	1.87 \pm 0.02	nd ^b	nd ^b	2.95
2-nonanone	2.64 \pm 0.02	2.44 \pm 0.01	1.93 \pm 0.03	nd ^b	nd ^b	3.02
<i>p</i> -tolualdehyde	2.86 \pm 0.01	0.56 \pm 0.18	0.69 \pm 0.22	nd ^b	nd ^b	1.90
caproic acid	1.60 \pm 0.03	1.17 \pm 0.02	1.39 \pm 0.02	1.63 \pm 0.05	1.54 \pm 0.07	1.72
guaiacol	1.87 \pm 0.01	0.66 \pm 0.05	0.90 \pm 0.05	1.32 \pm 0.09	0.95 \pm 0.19	1.34
heptanoic acid	1.27 \pm 0.07	1.66 \pm 0.02	1.88 \pm 0.02	1.93 \pm 0.04	1.67 \pm 0.06	2.23
phenol + <i>o</i> -cresol	1.78 \pm 0.01	0.51 \pm 0.09	0.86 \pm 0.07	1.61 \pm 0.06	1.13 \pm 0.17	1.54
2-ethylphenol	1.55 \pm 0.01	1.02 \pm 0.01	1.31 \pm 0.01	1.75 \pm 0.01	1.22 \pm 0.03	2.47
<i>p</i> -cresol	1.61 \pm 0.01	0.57 \pm 0.06	0.91 \pm 0.05	1.60 \pm 0.04	1.15 \pm 0.12	2.07
<i>m</i> -cresol	1.92 \pm 0.01	0.77 \pm 0.03	1.12 \pm 0.02	1.82 \pm 0.02	1.35 \pm 0.06	2.04
eugenol	1.53 \pm 0.01	1.55 \pm 0.01	1.86 \pm 0.01	1.96 \pm 0.03	1.49 \pm 0.08	2.40
3-ethylphenol	1.25 \pm 0.01	0.98 \pm 0.01	1.31 \pm 0.01	1.82 \pm 0.01	1.39 \pm 0.02	2.55
2,6-dimethoxyphenol	0.84 \pm 0.05	0.79 \pm 0.03	1.14 \pm 0.02	1.25 \pm 0.08	1.21 \pm 0.08	1.22
3-methoxyphenol	0.99 \pm 0.02	0.42 \pm 0.06	0.95 \pm 0.03	1.35 \pm 0.07	1.32 \pm 0.08	1.83

^a error in the determination of log K_{fs} (calculated from the error in the prediction of n_f , with $\alpha = 0.05$ and $m+n-3$ degrees of freedom, being m the number of replicates and n the calibration levels; and considering the mathematical propagation of errors when using logarithms.

^b not determined, with reasons detailed in the text

^c octanol-water partition coefficients, expressed as log K_{ow} (values extracted from SciFinder® database 2013)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

3-ethylphenol, 2,6-dimethoxyphenol and 3-methoxyphenol with Fiber D. Similar log K_{fs} are obtained for the remaining analytes with the three fibers. These results show that extraction efficiency of the crosslinked PIL-based sorbent coatings is similar to or higher than that obtained with the commercial CAR-PDMS.

If the PIL-based sorbent coatings produced by AIBN polymerization (Fiber A and Fiber B) are compared with CAR-PDMS, higher values are obtained with both PIL-based fibers for heptanoic acid. In addition, Fiber B presented better extraction efficiency than the commercial CAR-PDMS fiber for eugenol, 3-ethylphenol and 2,6-dimethoxyphenol, and similar efficiency to CAR-PDMS for 3-methoxyphenol. This is likely due to the incorporation of the benzyl moiety within this PIL-based coating, which enhanced π - π interaction between analytes and the fiber.

If the log K_{fs} values are correlated with their corresponding log octanol-water partition coefficients (log K_{ow}), determination coefficients (r^2) values of 0.74 for Fiber C, of 0.50 for Fiber A, of 0.46 for Fiber B, of 0.22 for Fiber D, and of 0.17 for CAR-PDMS, are obtained. These results could indicate that for PIL-based Fibers C and A (r^2 values higher than 0.5), the extraction is mainly taking place by hydrophobic interactions between the studied analytes and the coatings. The extraction mechanism involved when using Fiber B, CAR-PDMS, or Fiber D, must rely on other interactions. Besides, if FFAs and carbonilic compounds are the only ones considered for the comparison with octanol-water partition coefficients, higher r^2 values are obtained with Fiber A (being of 0.71). On the other hand, if only phenolic compounds are studied, Fiber C presented higher correlation with r^2 values of 0.79.

3.4. Analytical performance of the HS-SPME-GC-FID method

HS-SPME-GC-FID calibration curves for each analyte were obtained under optimized conditions using the best fibers according to the log K_{fs} values obtained, that is, for PIL-based fibers C and D. For comparative purposes, calibration curves were also obtained with the commercial fiber CAR-PDMS. Tables 3, 4 and 5 include analytical figures of merit of such calibrations. Concentration ranges used in these calibrations are valid for real sample monitoring. In all cases, calibration standards were prepared minimizing the acetonitrile content down to 1.0% (v/v).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 3. Analytical performance of calibration curves obtained by HS-SPME-GC-FID and the commercial CAR-PDMS fiber.

Analytes	Calibration range ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	(Intercept \pm SD ^a) $\cdot 10^{-4}$	(S _{y/x}) ^b $\cdot 10^{-4}$	R ^c	LOD ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	n ^e
2-heptanone	30 - 1400	1.78 \pm 0.06	0.76 \pm 4.44	7.8	0.9972	4.8	7
octanal	100 - 2000	0.008 \pm 0.001	-0.03 \pm 0.06	0.07	0.9943	24	5
2-nonanone	30 - 2000	0.97 \pm 0.05	14.4 \pm 5.4	10.1	0.9923	8.5	7
<i>p</i> -tolualdehyde	30 - 1400	2.69 \pm 0.11	9.46 \pm 7.58	14.6	0.9952	1.8	8
caproic acid	30 - 2000	0.39 \pm 0.02	0.19 \pm 1.68	3.1	0.9947	20	7
guaiacol	30 - 2000	0.73 \pm 0.02	-0.29 \pm 1.84	3.8	0.9978	11	8
heptanoic acid	30 - 2000	0.55 \pm 0.03	1.67 \pm 2.57	5.3	0.9914	24	8
phenol + <i>o</i> -cresol	30 - 2000	1.79 \pm 0.04	2.79 \pm 3.40	7.0	0.9988	5.8	8
2-ethylphenol	30 - 2000	1.45 \pm 0.03	7.76 \pm 2.50	5.2	0.9988	7.2	8
<i>p</i> -cresol	30 - 2000	0.63 \pm 0.02	0.17 \pm 1.90	3.9	0.9969	16	8
<i>m</i> -cresol	30 - 2000	0.68 \pm 0.02	0.59 \pm 1.93	4.0	0.9972	15	8
eugenol	30 - 2000	0.45 \pm 0.02	2.83 \pm 1.44	3.0	0.9959	8.7	8
3-ethylphenol	30 - 2000	0.64 \pm 0.01	3.54 \pm 1.09	2.0	0.9992	6.1	7
2,6-dimethoxyphenol	30 - 2000	0.011 \pm 0.001	0.24 \pm 0.04	0.08	0.9950	20	9
3-methoxyphenol	30 - 2000	0.030 \pm 0.001	0.13 \pm 0.11	0.24	0.9948	20	7

^a standard deviation of the slope and the intercept, for the *n* calibration levels^b standard deviation of the determination (or error of the estimate)^c correlation coefficient^d limits of detection, calculated as described in the text^e calibration levels

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 4. Analytical performance of the calibration curves obtained by HS-SPME-GC-FID and the PIL-based coating Fiber C.

Analytes	Calibration range ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-2}$	(Intercept \pm SD ^a) $\cdot 10^{-4}$	(S _{y/x}) ^b $\cdot 10^{-4}$	R ^c	LOD ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	n ^e
<i>p</i> -tolualdehyde	30 - 2000	2.26 \pm 0.09	-1.31 \pm 0.74	1.5	0.9958	20	8
caproic acid	30 - 2000	0.97 \pm 0.04	-0.27 \pm 0.40	0.74	0.9951	16	7
guaiacol	30 - 2000	1.67 \pm 0.03	-0.56 \pm 0.32	0.60	0.9989	9.1	7
heptanoic acid	60 - 2000	2.34 \pm 0.08	-1.00 \pm 0.76	1.4	0.9970	6.5	7
phenol + <i>o</i> -cresol	30 - 2000	9.26 \pm 0.11	-1.08 \pm 1.03	1.9	0.9996	1.6	7
2-ethylphenol	30 - 2000	8.94 \pm 0.13	1.93 \pm 1.19	2.2	0.9995	8.7	7
<i>p</i> -cresol	30 - 2000	3.78 \pm 0.05	-0.43 \pm 0.47	0.87	0.9995	21	7
<i>m</i> -cresol	30 - 2000	4.58 \pm 0.05	-0.20 \pm 0.50	0.93	0.9996	17	7
eugenol	30 - 2000	5.51 \pm 0.14	3.26 \pm 1.31	2.4	0.9986	17	6
3-ethylphenol	30 - 2000	5.59 \pm 0.24	4.45 \pm 2.18	4.1	0.9956	17	7
2,6-dimethoxyphenol	60 - 1400	0.07 \pm 0.01	0.04 \pm 0.03	0.05	0.9961	78	5
3-methoxyphenol	30 - 2000	0.18 \pm 0.01	0.68 \pm 0.11	0.17	0.9938	20	6

^a standard deviation of the slope and the intercept, for the *n* calibration levels

^b standard deviation of the determination (or error of the estimate)

^c correlation coefficient

^d limits of detection, calculated as described in the text

^e calibration levels

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 5. Analytical performance of the calibration curves obtained by HS-SPME-GC-FID and the PIL-based coating Fiber D.

Analytes	Calibration range ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-2}$	(Intercept \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	(S _{y/x} ^b) $\cdot 10^{-3}$	R ^c	LOD ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	n ^e
<i>p</i> -tolualdehyde	60 - 3000	0.18 \pm 0.01	1.34 \pm 0.40	0.78	0.9993	96.0	8
caproic acid	200 - 3000	0.10 \pm 0.01	-1.42 \pm 0.85	1.3	0.9939	134	6
guaiacol	60 - 3000	0.17 \pm 0.01	-0.52 \pm 0.90	1.8	0.9950	81.0	9
heptanoic acid	500 - 3000	0.31 \pm 0.02	-5.79 \pm 3.07	3.7	0.9965	322	5
phenol + <i>o</i> -cresol	30 - 3000	1.46 \pm 0.05	-3.52 \pm 6.01	13	0.9962	15.6	10
2-ethylphenol	30 - 3000	1.48 \pm 0.06	-6.37 \pm 6.91	15	0.9958	15.4	8
<i>p</i> -cresol	60 - 3000	0.75 \pm 0.03	-6.18 \pm 4.42	8.6	0.9951	30.4	7
<i>m</i> -cresol	30 - 3000	0.97 \pm 0.02	-4.25 \pm 2.91	6.6	0.9978	23.6	9
eugenol	500 - 3000	0.79 \pm 0.05	-26.3 \pm 8.7	10	0.9955	276	5
3-ethylphenol	30 - 2000	0.98 \pm 0.02	6.13 \pm 0.02	3.7	0.9989	32.4	8
2,6-dimethoxyphenol	500 - 3000	0.028 \pm 0.001	0.12 \pm 0.07	0.09	0.9997	379	5
3-methoxyphenol	60 - 3000	0.17 \pm 0.01	-1.32 \pm 0.90	1.8	0.9952	64.9	7

^a standard deviation of the slope and the intercept, for the *n* calibration levels^b standard deviation of the determination or error of the estimate^c correlation coefficient^d limits of detection, calculated as described in the text^e calibration levels

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

It must be considered that the extraction efficiency in SPME is highly affected by the coating thickness [35], whereas partition coefficients are only linked to the nature of the sorbent coating. The coating thickness of CAR-PDMS (75 μm) is much higher than those of PIL-based Fibers C and D ($\sim 7 \mu\text{m}$). The calibrations exhibited a linear range with determination coefficients (R) ranging from 0.9914 to 0.9992 for the commercial fiber CAR-PDMS (Table 3), from 0.9938 to 0.9996 for Fiber C (Table 4), and from 0.9939 to 0.9997 for Fiber D (Table 5).

The sensitivity of the HS-SPME method was evaluated by the calibration slope. Higher sensitivities were obtained for phenol + *o*-cresol and 2-ethylphenol, independent of the SPME fiber used. In addition, high sensitivities were also achieved for eugenol and 3-ethylphenol when Fiber C was used, and for 2-heptanone in the case of CAR-PDMS.

The limits of detection (LODs) were calculated as three times the signal to noise ratio. They oscillated between 1.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *p*-tolualdehyde and 24 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for heptanoic acid and for octanal, in the case of CAR-PDMS; between 1.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for phenol + *o*-cresol and 78 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2,6-dimethoxyphenol, when Fiber C was used; and from 15.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2-ethylphenol to 379 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2,6-dimethoxyphenol, in the case of Fiber D. The obtained LODs are satisfactory, especially if considering that FID detection was used in this study. In general, similar LODs values are obtained for Fiber C and CAR-PDMS, and slightly worse for Fiber D. Considering the analyte, lower LOD values were obtained for aldehydes and ketones when using the CAR-PDMS fiber. For free fatty acids, lower LOD values were obtained with Fiber C.

The reproducibility of the method was evaluated by performing intra-day and inter-day experiments. Intra-day ($n = 3$) precision was estimated by measuring working solutions at two concentration levels: all analytes at 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (spiked level 1), and a higher level with a concentration of: 2.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2-heptanone and 2-nonanone, 5.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for *p*-tolualdehyde, heptanoic acid, phenol, *o*-cresol and eugenol, 7.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for octanal, caproic acid, guaiacol, 2-ethylphenol, *p*-cresol and 3-ethylphenol, 10.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for *m*-cresol and 3-methoxyphenol, and 12.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2,6-dimethoxyphenol (spiked level 2). The obtained results are shown in Table 6. For the spiked level 1, relative standard deviations (RSD in %) ranged from 3.4 to 21% for CAR-PDMS, from 3.8 to 19% for Fiber C, and from 1.8 to 22% for Fiber D, and therefore being quite similar for all SPME fibers.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 6. Repetitivy (RSD intra-day) and reproducibility (RSD inter-day) of the CAR-PDMS for CAR-PDMS and PIL-based coatings Fiber C and Fiber D.

Analyte	RSD intra-day ^a (%), spiked level 1 ^b			RSD intra-day ^a (%), spiked level 2 ^c			RSD inter-day ^d (%), spiked level 1 ^b		
	CAR-PDMS	Fiber C	Fiber D	CAR-PDMS	Fiber C	Fiber D	CAR-PDMS	Fiber C	Fiber D
2-heptanone	3.4	nd ^e	nd ^e	13	nd ^e	nd ^e	3.4	nd ^e	nd ^e
octanal	12	nd ^e	nd ^e	21	nd ^e	nd ^e	8.8	nd ^e	nd ^e
2-nonanone	6.4	nd ^e	nd ^e	9.5	8.7	15	20	nd ^e	nd ^e
<i>p</i> -tolualdehyde	4.0	7.5	7.5	17	19	19	6.0	20	23
caproic acid	18	10	10	10	17	24	2.3	8.5	14
guaiacol	15	3.8	1.8	7.3	4.8	19	6.0	11	5.2
heptanoic acid	17	7.6	8.2	13	8.0	13	2.8	6.4	23
phenol + <i>o</i> -cresol	12	5.7	22	4.6	3.3	11	7.7	6.1	23
2-ethylphenol	13	7.5	5.7	9.0	5.1	5.9	4.3	8.5	22
<i>p</i> -cresol	14	7.7	13	4.0	5.8	12	8.2	8.4	12
<i>m</i> -cresol	14	6.4	13	2.6	6.0	8.8	9.0	7.1	13
eugenol	21	5.5	20	10	10	16	14	7.7	17
3-ethylphenol	14	5.4	5.4	1.4	2.4	15	7.1	9.4	15
2,6-dimethoxyphenol	6.0	19	7.7	19	9.2	17	5.5	18	11
3-methoxyphenol	19	10	4.4	16	10	18	22	11	12

^a relative standard deviation (n = 3)^b spiked level of 500 µg·L⁻¹ for each analyte^c spiked level with a concentration of: 2.5 mg·L⁻¹ for 2-heptanone and 2-nonanone, 5.0 mg·L⁻¹ for *p*-tolualdehyde, heptanoic acid, phenol, *o*-cresol and eugenol, 7.0 mg·L⁻¹ for octanal, caproic acid, guaiacol, 2-ethylphenol, *p*-cresol and 3-ethylphenol, 10.0 mg·L⁻¹ for *m*-cresol and 3-methoxyphenol, and 12.0 mg·L⁻¹ for 2,6-dimethoxyphenol^d relative standard deviation, calculated in 2 non-consecutive days (n = 6)^e not determined for reasons detailed in the text

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

With regards to inter-day precision ($n = 6$), it was determined in two non-consecutive days using the spiked level 1. RSD values are also shown in Table 6. They ranged from 2.3 to 22% for CAR-PDMS, from 6.1 to 20% for Fiber C, and from 5.2 to 23% for Fiber D. It must be highlighted that these values are totally acceptable, particularly since the HS-SPME method was performed without an autosampler. Precision data for PIL-based coatings Fiber A and Fiber B have been included in Table S5 of the Annex Material. Again, there are not important differences among SPME fibers. Furthermore, there are not significant differences among the intra-day and inter-day variances for each analyte with each of the PIL-based SPME fibers studied, as confirmed by the analysis of variance (ANOVA) test (Table S6 of Annex Material).

Cheese samples were extracted using PIL-based sorbent coatings obtained by UV polymerization and the proposed HS-SPME-GC-FID method, to evaluate the performance of the fibers with real samples rather than with standards. Representative chromatograms are shown in Figure 2.

Guaiacol, 2-ethylphenol, *p*-cresol and *m*-cresol were not detected in the cheese sample with any SPME fiber. 2-heptanone, octanal and 2-nonanone were only detected with the commercial CAR-PDMS fiber. The remaining studied analytes were detected with all SPME fibers, with identical peak symmetry. From Figure 2, it is clear that higher extraction efficiency was obtained for Fiber C compared to Fiber D.

3.5. Extraction efficiency evaluated as normalized calibration slope

It is well known that the extraction efficiency of SPME fibers mainly depends on three parameters: the nature, the film thickness, and the surface area of the extraction phase of the coating, provided that the experimental variables of the particular experiment remain constant [36-38].

In this study, all SPME fibers (commercial CAR-PDMS and PIL-based sorbent coatings) possess the same length (1 cm). Although their surface area cannot be assumed as equal, we can consider them as similar, simply as a helpful approximation

In any case, the nature and the film thickness are different for each SPME fiber (see Table 1), ranging from 75 μm for CAR-PDMS to $\sim 7 \mu\text{m}$ for Fiber C and Fiber D. On average, CAR-PDMS is ~ 11 times thicker than Fibers C and D. Thus, extraction efficiencies are not only due to the nature of the coating but to the coating thickness.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

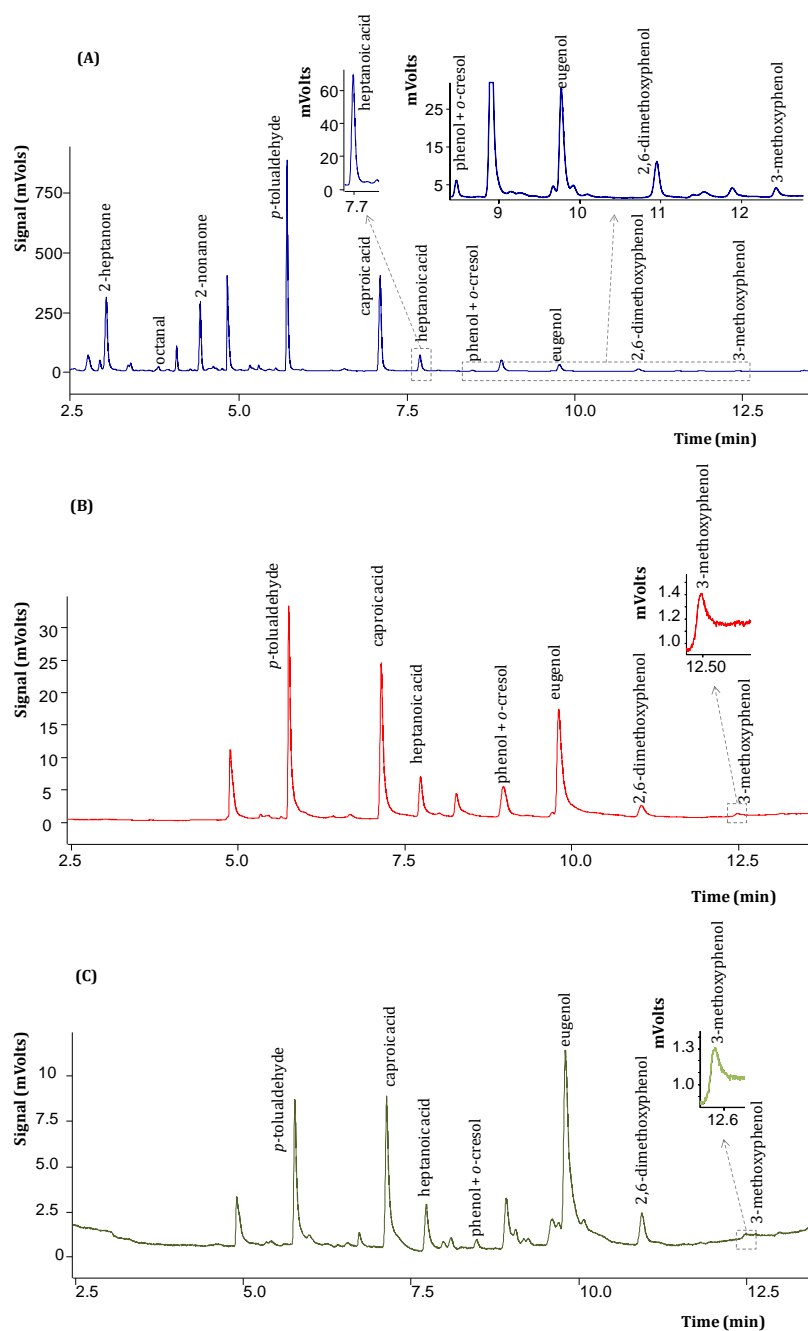


Figure 2. Chromatograms obtained analyzing cheese samples and the HS-SPME-GC-FID method with (A) CAR-PDMS fiber, (B) PIL-based Fiber C, and (C) PIL-based Fiber D.

It has been proposed to compare the extraction efficiency of SPME fibers possessing different coatings and thickness by means of the normalized slope [23,25]. The normalized slope is obtained by dividing the calibration slope of a SPME method (HS-SPME-GC-FID method in this particular case) for a particular analyte by the coating thickness of the SPME fiber used. In this approach, the normalized slope permits comparisons to be established which only focus on the nature of the fiber coating. The normalized slopes obtained for the crosslinked PIL coatings (Fiber C and Fiber D) and the commercial CAR-PDMS fiber have been included in Figure 3. The volatile analytes 2-heptanone, octanal and 2-nonanone were excluded in this comparison because they were only extracted with CAR-PDMS.

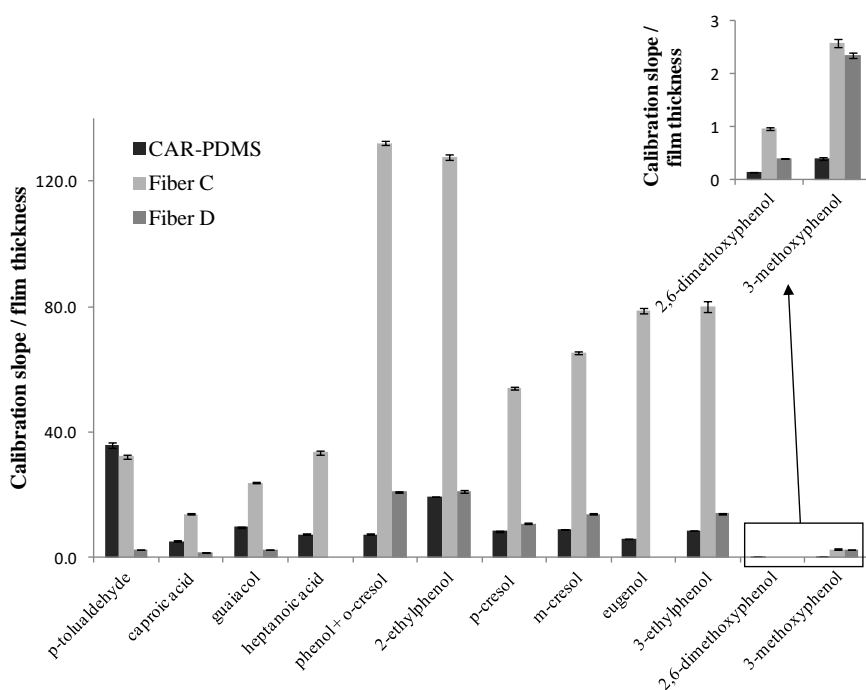


Figure 3. Normalized slopes (calibration slope/film thickness of SPME fiber) obtained for the analytes studied (except for 2-hepanone, octanal and 2-nonanone) with the proposed HS-SPME-GC-FID method.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/		
Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

The obtained values of the normalized slopes oscillate between 0.11 ± 0.01 for octanal and 35.9 ± 1.4 for *p*-tolualdehyde using CAR-PDMS; between 0.96 ± 0.06 for 2,6-dimethoxyphenol and 132 ± 2 for phenol + *o*-cresol using Fiber C; and between 0.40 ± 0.01 for 2,6-dimethoxyphenol and 21.1 ± 0.8 for phenol + *o*-cresol when using Fiber D. These results show that the highest normalized slopes are obtained with Fiber C, except for *p*-tolualdehyde, which presented similar values to that of CAR-PDMS. This is in agreement with the obtained $\log K_{fs}$ values. In addition, Fiber D presents higher normalized slopes than CAR-PDMS for the majority of phenols (except for guaiacol). In general, it can be concluded that the crosslinked PIL-based sorbent coatings are more effective than CAR-PDMS, and evidently more effective than other commercial SPME fibers, in the extraction of the selected group of volatile compounds.

4. Conclusions

PIL-based SPME coatings have shown to be quite efficient materials for the headspace extraction of volatiles from cheeses, especially crosslinked PIL-based coatings obtained by UV-polymerization. The performance of these materials has been compared with commercial SPME coatings, with CAR-PDMS being the most successful commercial fiber for these analytes.

Among the four PIL-based coatings studied, the coatings produced by UV polymerization and containing the IL monomer 1-vinyl-3-hexylimidazolium chloride, and 1,8-di(3-vinylimidazolium)octane dibromide as crosslinker, demonstrated superior performance for the extraction of the selected analytes from cheeses. With regards to the comparison of the partition coefficients from the sample to the fibers (K_{fs}) for those analytes characterized with all fibers, this PIL-based fiber generally presented higher values. The $\log K_{fs}$ values, estimated only as an approximation, oscillated between 1.25 ± 0.08 for 2,6-dimethoxyphenol and 1.96 ± 0.03 for eugenol. The normalized calibration slope (obtained from the ratio calibration slope to coating thickness) is a quite simple tool to compare among coatings nature, and the conclusions derived from it are totally similar to those obtained with K_{fs} values. Thus, highest normalized slopes are obtained with this PIL-based fiber, except for *p*-tolualdehyde, which presented similar values to that of CAR-PDMS.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Ongoing work is aimed to modify the polymerization strategy to obtain thicker PIL-based coatings.

Acknowledgements

V.P. thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for the Ramón y Cajal contract with the University of La Laguna (ULL). A.M.A. acknowledges funding from a Bridge Project and a Consolidated Research Funding Project of ULL. J.L.A. acknowledges funding from the Analytical and Surface Chemistry Program in the Division of Chemistry and the Separation and Purification Process Program in the Chemical, Environmental, Bioengineering, and Transport Systems Division from the National Science Foundation for a CAREER grant (CHE-0748612).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] P.M.G. Curioni, J.O. Bosset. *Int. Dairy J.* 12 (2002) 959–984.
- [2] P.L.H. McSweeney, M.J. Sousa. *Lait* 80 (2000) 293–324.
- [3] L. Marilley, M.G. Casey, *Int. J. Food Microbiol.* 90 (2004) 139–159.
- [4] C.L. Arthur, J. Pawliszyn. *Anal. Chem.* 62 (1990) 2145–2148.
- [5] E.E. Stashenko, J.R. Martínez. *J. Biochem. Biophys. Methods* 70 (2007) 235–242.
- [6] D.C. Frank, C.M. Owen, J. Patterson. *LWT-Food Sci. Technol.* 37 (2004) 139–154.
- [7] L. Mondello, A. Casilli, P.Q. Tranchida, P. Dugo, R. Costa, S. Festa, C. Dugo. *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 442–450.
- [8] J. Januszkiewicz, H. Sabik, S. Azarnia, B. Lee. *J. Chromatogr. A* 1195 (2008) 16–24.
- [9] L. Lecanu, V. Ducruet, C. Jouquand, J.J. Gratadoux, A. Feigenbaum. *J. Agric. Food Chem.* 50 (2002) 3810–3817.
- [10] H.M. Burbank, M.C. Qian. *J. Chromatogr. A* 1066 (2005) 149–157.
- [11] L. Mondello, R. Costa, P.Q. Tranchida, B. Chiofalo, A. Zumbo, P. Dugo, G. Dugo. *Flavour Frag. J.* 20 (2005) 659–665.
- [12] A. Verzera, M. Ziino, C. Concurso, V. Romeo, M. Zappalà. *Anal. Bioanal. Chem.* 380 (2004) 930–936.
- [13] F. Augusto, E. Carasek, R. Gomes-Costa-Silva, S.R. Rivellino, A. Domingues-Batista, E. Martendal. *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2533–2542.
- [14] T.D. Ho, A.J. Canestraro, J.L. Anderson. *Anal. Chim. Acta* 695 (2011) 18–43.
- [15] C.M. Hussain, S. Mitra. *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 75–89.
- [16] H. Bagheri, Z. Ayazi, M. Naderi. *Anal. Chim. Acta* 767 (2013) 1–13.
- [17] H. Yu, T.D. Ho, J.L. Anderson. *Trends Anal. Chem.* 45 (2013) 219–232.
- [18] D. Mecerreyes. *Progress Polym. Sci.* 36 (2011) 1629–1648.
- [19] J.L. Anderson, D.W. Armstrong. *Anal. Chem.* 77 (2005) 6453–6462.
- [20] F. Zhao, Y. Meng, J.L. Anderson. *J. Chromatogr. A* 1208 (2008) 1–9.
- [21] Q. Zhao, J.L. Anderson. *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 4517–4522.
- [22] Y. Meng, V. Pino, J.L. Anderson. *Anal. Chem.* 81 (2009) 7107–7112.
- [23] J. López-Darias, J.L. Anderson, V. Pino, A.M. Afonso. *Anal. Bioanal. Chem.* 401 (2011) 2965–2976.
- [24] T.D. Ho, M.D. Joshi, M.A. Silver, J.L. Anderson. *J. Chromatogr. A* 1240 (2012) 29–44.
- [25] J. González-Álvarez, D. Blanco-Gomis, P. Arias-Abrodo, J. Pello-Palma, N. Ríos-Lombardía, E. Busto, V. Gotor-Fernández, M.D. Gutiérrez-Álvarez. *J. Chromatogr. A* 30 (2013) 35–40.
- [26] J. López-Darias, V. Pino, J.L. Anderson, C.M. Graham, A.M. Afonso. *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 1236–1243.
- [27] Y. Meng, J.L. Anderson. *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 6143–6152.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [28] J. López-Darias, V. Pino, Y. Meng, J.L. Anderson, A.M. Afonso J. Chromatogr. A 1217 (2010) 7189–7197.
- [29] T.D. Ho, H. Yu, W.T.S. Cole, J.L. Anderson. Anal. Chem. 84 (2012) 9520–9528.
- [30] E. Wanigasekara, S. Perera, J.A. Crank, L. Sidisky, R. Shirey, A. Berthod, D.W. Armstrong. Anal. Bioanal. Chem. 396 (2010) 511–524.
- [31] Y. Meng, V. Pino, J.L. Anderson. Anal. Chim. Acta 687 (2011) 141–149.
- [32] T.D. Ho, W.T.S. Cole, F. Augusto, J.L. Anderson. J. Chromatogr. A 1298 (2013) 146–151.
- [33] Z. Zhang, J. Pawliszyn. Anal. Chem. 65 (1993) 1843–1852.
- [34] T. Górecki, X. Yu, J. Pawliszyn. Analyst 124 (1999) 643–649.
- [35] J. Pawliszyn. Solid phase microextraction: Theory and Practice, Willey-VCH Inc, New York, 1997.
- [36] H. Prosen, L. Zupancic-Kralj. Trends Anal. Chem. 18 (1999) 272–282.
- [37] I. Bruheim, X. Liu, J. Pawliszyn. Anal. Chem. 75 (2003) 1002–1010.
- [38] J. Koziel, M. Jia, J. Pawliszyn. Anal. Chem. 72 (2000) 5178–5186.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. Retention times of the analytes using the HS-SPME-GC-FID method proposed.

Analyte	Retention time (min)	RSD ^a (%)
2-heptanone	3.09	1.4
octanal	3.85	1.1
2-nonanone	4.53	1.4
<i>p</i> -tolualdehyde	5.99	1.5
caproic acid	7.12	0.4
guaiacol	7.28	0.6
heptanoic acid	8.02	1.5
phenol + <i>o</i> -cresol	8.44	0.3
2-ethylphenol	9.04	0.3
<i>p</i> -cresol	9.15	0.3
<i>m</i> -cresol	9.21	0.3
eugenol	9.92	0.4
3-ethylphenol	10.1	0.3
2,6-dimethoxyphenol	11.0	0.4
3-methoxyphenol	12.6	0.4

^a relative standard deviation of retention time (n = 30)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S2. Analytical performance of calibration curves obtained by liquid injection and GC-FID using standard solution in cyclohexane, the same GC liner, and the same chromatographic condition than those of CAR-PDMS fiber, including the injector temperature (280°C).

Analyte	Calibration range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a) ·10 ⁻³	(Intercept ± SD ^a) ·10 ⁻³	(S _{y/x}) ^b ·10 ⁻³	R ^c	LOQ ^d (mg·L ⁻¹)	n ^e
2-heptanone	2 - 17	6.88 ± 0.18	-7.25 ± 1.88	2.7	0.9979	0.48	8
octanal	2 - 17	0.20 ± 0.01	0.16 ± 0.08	0.1	0.9950	15	9
2-nonanone	2 - 15	8.50 ± 0.11	-1.93 ± 1.06	1.4	0.9995	0.41	7
<i>p</i> -tolualdehyde	2 - 15	9.65 ± 0.13	-2.73 ± 1.18	1.6	0.9995	0.20	7
caproic acid	2 - 15	2.90 ± 0.17	-7.11 ± 1.50	2.0	0.9910	1.3	7
guaiacol	2 - 18	8.75 ± 0.15	-2.38 ± 1.61	2.3	0.9991	0.43	8
heptanoic acid	2 - 15	2.90 ± 0.19	-7.37 ± 1.75	2.3	0.9895	0.39	7
phenol + <i>o</i> -cresol	2 - 17	18.9 ± 0.4	0.28 ± 3.60	5.2	0.9988	0.22	9
2-ethylphenol	2 - 21	23.3 ± 0.4	-10.6 ± 4.7	7.4	0.9990	0.18	9
<i>p</i> -cresol	2 - 17	9.52 ± 0.17	-0.46 ± 1.76	2.5	0.9989	0.43	9
<i>m</i> -cresol	2 - 17	10.7 ± 0.2	0.84 ± 2.05	3.0	0.9988	0.39	9
eugenol	2 - 17	9.56 ± 0.21	-6.10 ± 2.08	3.0	0.9986	0.43	8
3-ethylphenol	2 - 21	18.5 ± 0.14	-5.48 ± 1.66	2.6	0.9998	0.48	9
2,6-dimethoxyphenol	2 - 18	4.73 ± 0.12	-8.92 ± 1.39	2.0	0.9979	0.87	8
3-methoxyphenol	2 - 17	6.96 ± 0.17	-0.87 ± 1.69	2.4	0.9980	0.59	9

^a standard deviation of the slope and the intercept, for the *n* calibration levels

^b standard deviation of the determination or error of the estimate

^c correlation coefficient

^d limits of quantification, calculated as 10 times the instrumental noise

^e calibration levels

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S3. Analytical performance of calibration curves obtained by liquid injection and GC-FID using standard solutions in cyclohexane, the same GC liner, and the same chromatographic condition than those of Fiber A and Fiber B, including the injector temperature (250°C).

Analyte	Calibration range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a) ·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a) ·10 ⁻³	(S _{y/x}) ^b ·10 ⁻³	R ^c	LOQ ^d (mg·L ⁻¹)	n ^e
2-heptanone	2 - 20	1.45 ± 0.03	-6.78 ± 4.78	8.3	0.9986	0.54	9
octanal	2 - 30	0.022 ± 0.001	0.05 ± 0.11	0.2	0.9956	42	11
2-nonanone	2 - 30	1.74 ± 0.06	-9.11 ± 10.69	19	0.9936	0.71	11
<i>p</i> -tolualdehyde	2 - 30	2.00 ± 0.06	-8.49 ± 10.00	17	0.9963	0.18	10
caproic acid	2 - 15	0.75 ± 0.03	-17.0 ± 3.0	4.1	0.9944	0.53	8
guaiacol	2 - 30	1.86 ± 0.03	-4.77 ± 4.49	7.8	0.9992	0.21	10
heptanoic acid	2 - 13	0.72 ± 0.04	-14.6 ± 3.0	3.8	0.9932	0.33	7
phenol + <i>o</i> -cresol	2 - 30	3.94 ± 0.05	-0.02 ± 8.42	15	0.9993	0.28	10
2-ethylphenol	2 - 21	2.32 ± 0.03	-7.75 ± 3.23	5.1	0.9995	0.48	9
<i>p</i> -cresol	2 - 30	2.02 ± 0.02	-1.79 ± 4.52	7.9	0.9992	0.55	10
<i>m</i> -cresol	2 - 30	2.23 ± 0.03	1.21 ± 5.03	8.8	0.9992	0.50	10
eugenol	2 - 30	2.04 ± 0.03	-13.5 ± 5.1	8.9	0.9990	0.55	10
3-ethylphenol	2 - 21	1.81 ± 0.02	-5.47 ± 2.62	4.1	0.9995	0.62	9
2,6-dimethoxyphenol	2 - 32	1.03 ± 0.02	-17.8 ± 3.5	6.1	0.9984	1.1	10
3-methoxyphenol	2 - 30	1.48 ± 0.02	-4.35 ± 3.39	5.9	0.9992	0.76	10

^a standard deviation of the slope and the intercept, for the *n* calibration levels^b standard deviation of the determination or error of the estimate^c correlation coefficient^d limits of quantification, calculated as 10 times the instrumental noise^e calibration levels

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S4. Analytical performance of calibration curves obtained by liquid injection and GC-FID using standard solutions in cyclohexane, the same GC liner, and the same chromatographic conditions than those of Fiber C and Fiber D, including the injector temperature (165 °C). 2-heptanone, octanal, 2-nonanone, and p-tolualdeyhe were not determined due to interferences associated to the band broadening of the solvent peak (cyclohexane) at the low injection temperature used.

Analyte	Calibration range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a) ·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a) ·10 ⁻³	(S _{y/x}) ^b ·10 ⁻³	R ^c	LOQ ^d (mg·L ⁻¹)	n ^e
caproic acid	3 - 13	0.61 ± 0.05	-21.7 ± 4.7	4.6	0.9847	0.51	6
guaiacol	2 - 31	1.79 ± 0.04	-8.42 ± 7.33	13	0.9977	0.17	10
heptanoic acid	2 - 11	0.45 ± 0.05	-11.1 ± 3.2	3.6	0.9789	0.70	6
phenol + <i>o</i> -cresol	2 - 30	3.80 ± 0.09	-2.00 ± 14.94	26	0.9976	0.16	10
2-ethylphenol	2 - 21	2.29 ± 0.02	-11.4 ± 2.9	4.6	0.9996	0.26	10
<i>p</i> -cresol	2 - 30	1.91 ± 0.05	-5.14 ± 7.70	13	0.9975	0.32	10
<i>m</i> -cresol	2 - 30	2.11 ± 0.05	-1.62 ± 8.81	15	0.9973	0.29	10
eugenol	2 - 25	1.33 ± 0.04	-14.6 ± 5.8	9.5	0.9965	0.45	9
3-ethylphenol	2 - 21	1.86 ± 0.06	-16.3 ± 6.8	11	0.9966	0.54	9
2,6-dimethoxyphenol	2 - 32	0.59 ± 0.02	-13.6 ± 3.4	5.9	0.9957	1.0	10
3-methoxyphenol	2 - 30	0.99 ± 0.03	-5.44 ± 5.23	9.1	0.9958	0.61	10

^a standard deviation of the slope and the intercept, for the *n* calibration levels

^b standard deviation of the determination or error of the estimate

^c correlation coefficient

^d limits of quantification, calculated as 10 times the instrumental noise

^e calibration levels

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S5. Reproducibility data of PIL-based coatings Fiber C and Fiber D.

Analyte	RSD intra-day ^a (%), spiked level 1 ^b		RSD intra-day ^a (%), spiked level 2 ^c		RSD inter-day ^d (%), spiked level 1 ^b	
	Fiber A	Fiber B	Fiber A	Fiber B	Fiber A	Fiber B
2-heptanone	13	nd ^e	15	10	23	nd ^e
octanal	nd ^e	nd ^e	17	21	nd ^e	nd ^e
2-nonanone	4.1	nd ^e	13	11	18	nd ^e
<i>p</i> -tolualdehyde	13	22	14	2.0	17	24
caproic acid	7.2	4.4	2.9	4.3	7.0	12
guaiacol	3.2	5.9	4.5	14	2.8	14
heptanoic acid	1.2	6.8	7.2	8.4	6.5	13
phenol + <i>o</i> -cresol	2.3	13	5.2	11	4.6	10
2-ethylphenol	4.5	15	11	15	9.0	13
<i>p</i> -cresol	0.7	9.4	16	11	2.5	7.9
<i>m</i> -cresol	2.3	8.4	5.7	10	2.5	6.8
eugenol	3.3	11	8.4	11	7.0	11
3-ethylphenol	0.6	12	6.0	11	4.1	8.3
2,6-dimethoxyphenol	7.3	5.2	16	17	14	3.8
3-methoxyphenol	5.0	5.2	10	27	6.2	11

^a relative standard deviation (n = 3)^b spiked level with a concentration of 500 µg·L⁻¹ for each analyte^c higher spiked level, with a concentration of: 2.5 mg·L⁻¹ for 2-heptanone and 2-nonanone, 5.0 mg·L⁻¹ for *p*-tolualdehyde, heptanoic acid, phenol, *o*-cresol and eugenol, 7.0 mg·L⁻¹ of octanal, caproic acid, guaiacol, 2-ethylphenol, *p*-cresol and 3-ethylphenol, 10.0 mg·L⁻¹ for *m*-cresol and 3-methoxyphenol, and 12.0 mg·L⁻¹ for 2,6-dimethoxyphenol^d relative standard deviation, calculated in 2 non-consecutive days (n = 6)^e not determined

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S6. Results obtained from the analysis of variance (ANOVA) for one factor (the type of experiment: intra-day or inter-day precision data).

Analyte	Observed F values ($\alpha = 0.05$)				
	CAR-PDMS	Fiber A	Fiber B	Fiber C	Fiber D
2-heptanone	2.521	0.901	nd ^a	nd ^a	nd ^a
octanal	0.594	nd ^a	nd ^a	nd ^a	nd ^a
2-nonanone	2.056	0.390	nd ^a	nd ^a	nd ^a
<i>p</i> -tolualdehyde	0.479	0.653	0.035	1.102	0.947
caproic acid	0.257	0.016	2.237	0.136	1.739
guaiacol	2.914	0.064	0.002	1.172	0.042
heptanoic acid	2.300	0.667	2.550	0.155	4.199
phenol + <i>o</i> -cresol	0.665	0.913	0.004	0.035	0.445
2-ethylphenol	1.461	0.851	0.010	0.198	0.082
<i>p</i> -cresol	0.336	1.242	0.234	4.59·10 ⁻⁵	0.315
<i>m</i> -cresol	0.002	0.480	0.237	0.032	0.491
eugenol	6.839	0.442	0.001	0.377	0.159
3-ethylphenol	0.702	0.735	0.022	0.445	0.007
2,6-dimethoxyphenol	3.701	2.538	0.042	3.094	0.925
3-methoxyphenol	2.430	1.353	0.195	0.391	1.300

* critical F value = 5.987 ($n_{\text{intra-day}} = 3$, $n_{\text{inter-day}} = 6$, and $\alpha = 0.05$)^a not determined

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

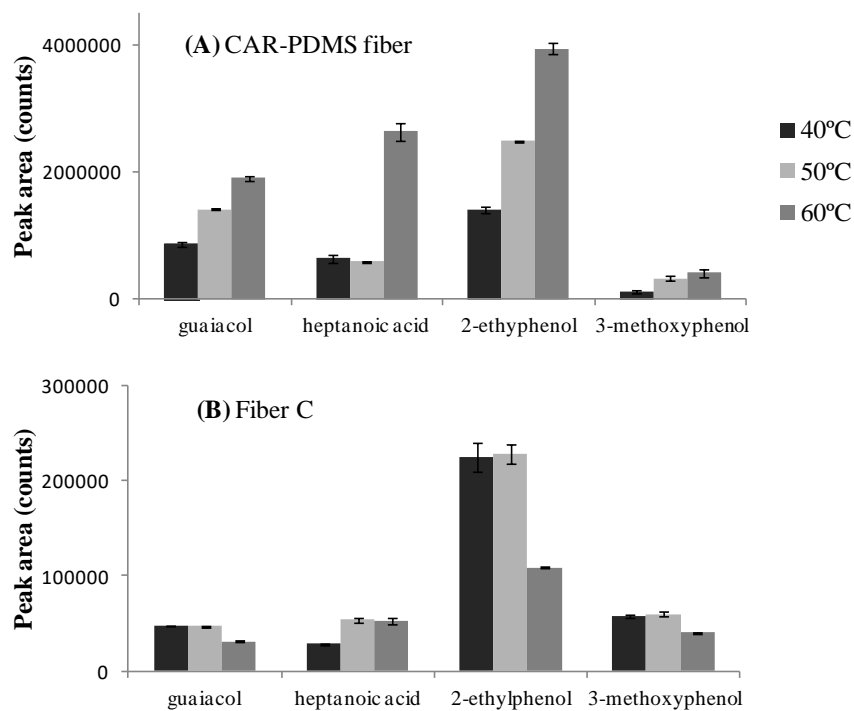
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. Temperature extraction profile for guaiacol (7 mg·L⁻¹), heptanoic acid (10 mg·L⁻¹), 2-ethylphenol (7 mg·L⁻¹) and 3-methoxyphenol (10 mg·L⁻¹), using HS-SPME-GC-FID with (A) the commercial CAR-PDMS fiber and (B) the PIL Fiber C. The extraction time was kept at 45 min.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

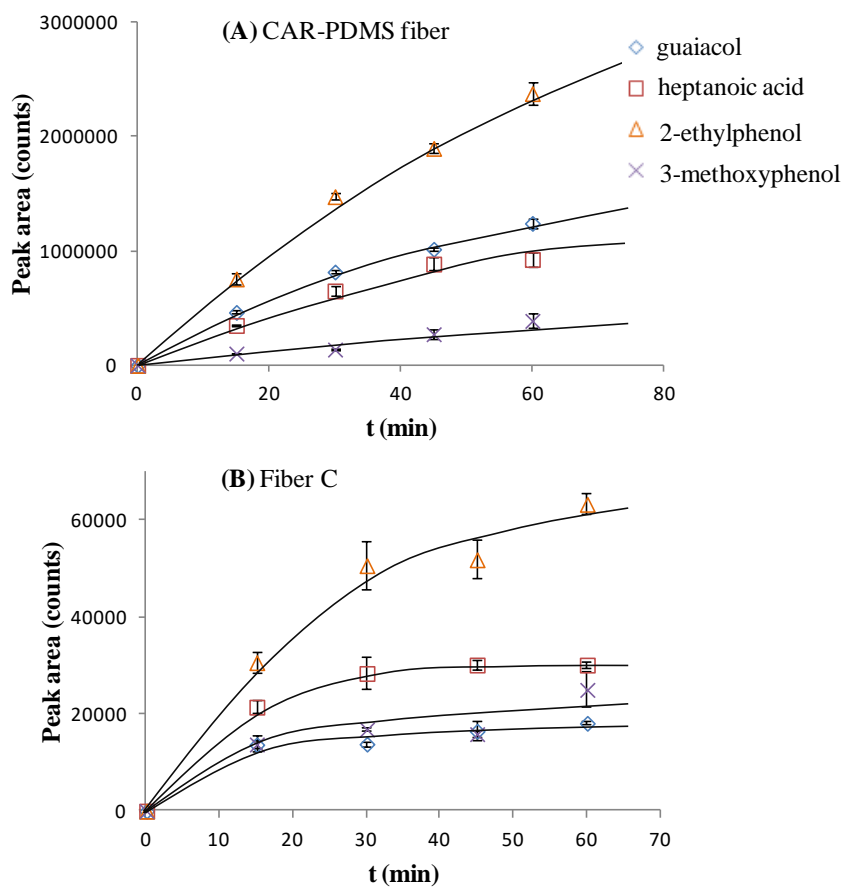
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. Time extraction-profile for guaiacol (7 mg·L⁻¹), heptanoic acid (10 mg·L⁻¹), 2-ethylphenol (7 mg·L⁻¹) and 3-methoxyphenol (10 mg·L⁻¹) by HS-SPME-GC-FID using (A) the commercial CAR-PDMS fiber and (B) the PIL Fiber C. The extraction temperature was kept at 45 °C.



Section IV.2

Automated direct-immersion solid-phase microextraction using crosslinked polymeric ionic liquid sorbent coatings for the determination of water pollutants by gas chromatography

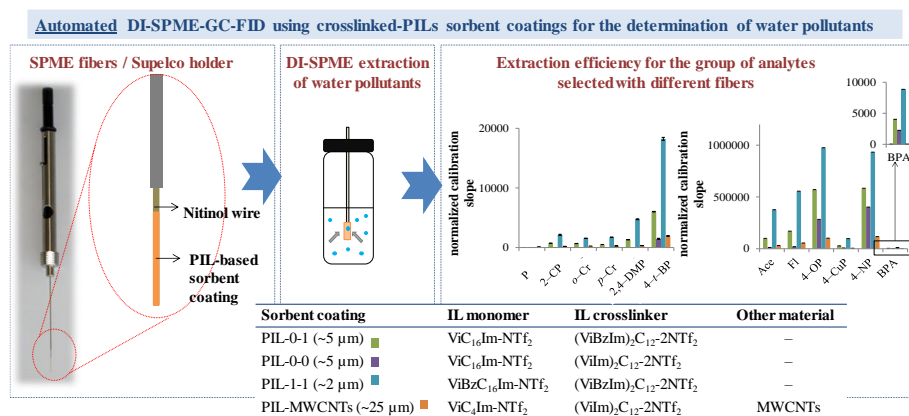
Analytical and Bioanalytical Chemistry 407 (2015) 4615–4627

María Cordero-Vaca¹, María J. Trujillo-Rodríguez¹, Cheng Zhang², Verónica Pino^{*1}, Jared L. Anderson^{*2}, Ana M. Afonso¹

¹Departamento de Química (Área de Química Analítica), Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

²Department of Chemistry and Biochemistry, The University of Toledo, Toledo, OH 43606, USA

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

Four different crosslinked polymeric ionic liquids (PIL)-based sorbent coatings were evaluated in an automated direct immersion solid-phase microextraction method (automated DI-SPME) in combination with gas chromatography (GC). The crosslinked PIL coatings were based on vinyl-alkylimidazolium- (ViC_nIm-) or vinylbenzyl-alkylimidazolium- (ViBzC_nIm-) IL monomers, and di-(vinylimidazolium)dodecane ((ViIm)₂C₁₂-) or di-(vinylbenzylimidazolium)dodecane ((ViBzIm)₂C₁₂-) dicationic IL crosslinkers. In addition, a PIL-based hybrid coating containing multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) was also studied. The studied PIL coatings were covalently attached to derivatized nitinol wires and mounted onto the Supelco assembly to ensure automation when acting as SPME coatings. Their behavior was evaluated in the determination of a group of water pollutants, after proper optimization. A comparison was carried out with three common commercial SPME fibers. It was observed that those PILs containing a benzyl-group in their structures, either in the IL monomer and crosslinker (PIL-1-1) or only in the crosslinker (PIL-0-1) were the most efficient sorbents for the selected analytes. The validation of the overall automated DI-SPME-GC-flame ionization detector (FID) method gave limits of detection down to 135 µg·L⁻¹ for *p*-cresol when using the PIL-1-1, and down to 270 µg·L⁻¹ when using the PIL-0-1; despite their coating thickness: ~2 and ~5 µm, respectively. Average relative recoveries with waters were of 85 ± 14% and 87 ± 15% for PIL-1-1 and PIL-0-1, respectively. Precision values as relative standard deviation were always lower than 4.9% and 7.6% (spiked level between 10 and 750 µg·L⁻¹, as intra-day precision).

Keywords

ionic liquids, polymerized ionic liquids, multi-walled carbon nanotubes, solid-phase microextraction, coatings, gas-chromatography

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

Solid-phase microextraction (SPME) is a well-known non-exhaustive extraction and preconcentration technique based on the partitioning of analytes onto a small volume of sorbent coating commonly immobilized on a solid support [1]. This technique presents many advantages over other sample preparation procedures such as simplicity, high preconcentration capabilities, environmental friendliness for being solvent-free, and easiness of automation [2]. Thus, SPME has been widely utilized in food, biological, pharmaceutical, and environmental analysis [2-4]. However, the number of commercially available SPME fiber coatings is relatively small (around seven). This justifies the current trend focused on the development of new sorbent materials for SPME with higher robustness, better extraction efficiencies, and in some cases more selectivity, than commercial SPME fibers [5]. Among novel materials in SPME it is important to highlight molecular imprinted polymers (MIPs) [6], nanomaterials (NMs) based on nanoporous silica [7], NMs of metals or metal oxides [8], conductive polymers (CPs) [9], graphene [10], carbon nanotubes (CNTs) [11], metal-organic frameworks (MOFs) [12], as well as ionic liquids (ILs) and polymeric ionic liquids (PILs) [13].

Within these materials, ILs and PILs present unique physicochemical properties such as high thermal stability, negligible vapor pressure at room temperature, high chemical and electrochemical stability, and the capability to interact with many analytes through different solvation mechanisms while being easily tailored [14]. Moreover, PILs present the advantage that their polymeric character can enhance inherent properties of ILs [15].

Over the last decade, PIL-based SPME sorbent coatings have been prepared by physical dip-coating onto the solid support [16-18] or chemically bonding the PIL to the support [19-22]. SPME sorbent coatings chemically bonded to the support exhibit higher life time and higher robustness than fibers produced by physical dip-coating. Fused silica, titanium, or stainless steel wires have been commonly utilized as solid supports, with or without previous derivatization [21,23,24]. Apart from the more classical procedure for obtaining a PIL with a starting IL single monomer, it has also been recently described the co-polymerization of two different ILs (a monocationic monomer and a dicationic crosslinker) to prepare crosslinked PILs [13]. The resulting material possesses a high active surface for the extraction, and undoubtedly expands the benefits associated with PILs.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Trends in the literature show an increasing utilization of hybrid materials for SPME coatings, also when including PILs. Thus, it has been described the combination of PILs with MOFs supported onto stainless steel [25], with polyaniline (PANI) supported onto stainless steel [26] or platinum [27], with multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) supported onto stainless steel [28] or onto fused silica [29], or with other polymers prepared via sol-gel processes and supported onto fused silica [30].

It is important to consider that the majority of the SPME fibers presented in the literature were prepared in homemade devices which undoubtedly makes SPME automation difficult. As an alternative, Ho *et al.* developed crosslinked PILs chemically immobilized on derivatized nitinol wires onto the Supelco holder for the extraction of a group of phthalate esters via DI-SPME [31].

The present work intends to expand the applicability of PIL-based coatings in SPME without losing the advantages of automation. Thus, we develop different PILs as SPME coatings in which a crosslinked PIL is covalently attached to derivatized nitinol wires based on vinyl-alkylimidazolium- (ViC_nIm-) or vinylbenzyl-alkylimidazolium- (ViBzC_nIm-) IL monomers, and with di-(vinylimidazolium)dodecane ((ViIm)₂C₁₂-) or di-(vinylbenzylimidazolium)dodecane ((ViBzIm)₂C₁₂-) -dicationic IL crosslinkers. All these fibers are included onto the Supelco assembly to enable automation. In addition, a hybrid PIL/MWCNTs based SPME fiber was also prepared onto derivatized nitinol. To the best of our knowledge, this is the first report in which a hybrid PIL/MWCNT coating along with the PIL fiber containing ViC₁₆Im⁺ (as cation for the IL monomer) and (ViBzIm)₂C₁₂²⁺ (as cation of the dicationic IL crosslinker), are supported on nitinol to act as SPME coatings. Furthermore, all PIL fibers were utilized for the development of a DI-SPME method in combination with gas chromatography (GC) for the determination of a wide group of compounds which different nature, including endocrine disrupting chemicals (EDCs), such as bisphenol A or nonylphenol, and common water pollutants, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The extraction performance of the four PIL-based SPME fibers was thoroughly evaluated and a comparison undertaken with commercial SPME coatings.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2. Experimental

2.1. Reagents and materials

A group of phenols, phenol derivatives, and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), were utilized in this study. 2-Chlorophenol (2-CP, 99.5%) and 2,4-dimethylphenol (2,4-DMP, 99.5%) were supplied by Dr. Ehrenstorfer GmbH (Ausburg, Germany). 4-*tert*-butylphenol (4-*t*-BP, 99%), 4-octylphenol (4-OP, 99%), 4-cumylphenol (4-CuP, 99%), bisphenol A (BPA, 99%), *o*-cresol (*o*-Cr, $\geq 99\%$), *p*-cresol (*p*-Cr, 99%), acenaphthene (Ace, 99%), and fluorene (Fl, 98%), were purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). 4-nonylphenol (4-NP, 98%) was acquired to Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany), and phenol (P, 99.5%) to Merck (Darmstadt, Germany). Ultrapure water ($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$) was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Watford, UK).

All analytes were individually dissolved in acetonitrile (Merck), with concentrations of $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. These individual stock solutions were used to prepare several intermediate solutions in acetonitrile, grouping compounds depending on their further SPME-GC-FID sensitivity. All solutions were stored at $4 \text{ }^\circ\text{C}$ before use.

In the optimization studies, a working solution containing all analytes was prepared by proper dilution of the intermediate solutions in ultrapure water. The aqueous working standard solution contained $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of P, $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of *o*-Cr, *p*-Cr, 2,4-DMP, 2-CP and BPA, $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of 4-*t*-BP, $0.04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of 4-OP, 4-CuP and 4-NP, and $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of Ace and Fl. The total acetonitrile content of this aqueous working standard solution was kept to 0.57% (v/v). DI-SPME-GC-FID aqueous calibration standards were prepared containing all analytes dissolved in ultrapure water (at different concentration levels) by proper dilution of the intermediate solutions, keeping the total content of acetonitrile at 3.5% (v/v).

The estimation of the partition coefficients of the analytes to the different SPME coatings required the preparation of individual standard solutions of the analytes in cyclohexane (Sigma-Aldrich), with concentrations of $1640 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-*t*-BP; $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2-CP, *o*-Cr, *p*-Cr and 2,4-DMP; $2200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-NP; $2300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for P and 4-CuP; and $2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for Ace, Fl and 4-OP. An intermediate standard solution containing all analytes (except BPA) was prepared in cyclohexane at a concentration of

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

100 mg·L⁻¹ by proper dilution of the individual standards in cyclohexane. GC-FID calibration standard solutions in cyclohexane were prepared by proper dilution of the intermediate solution, with concentrations of the analytes ranging from 0.5 to 40 mg·L⁻¹. In the case of BPA, which could not be properly dissolved in cyclohexane, a 100 mg·L⁻¹ stock solution was prepared in dichloromethane (Scharlab, Barcelona, Spain). Aliquots of this stock solution were used to prepare the calibration standard solutions of BPA (also in dichloromethane), with concentrations ranging from 7 to 30 mg·L⁻¹.

Tap water was obtained from the laboratory, located in La Laguna (Tenerife, Spain). The sample was stored in amber glass bottles at 4 °C before use without the application of any pretreatment step.

The reagents used for the synthesis and preparation of the PIL-based SPME coatings were: imidazole, acrylonitrile (>99%), 4-vinylbenzyl chloride (97%), vinyltrimethoxysilane (VTMS), 1-bromobutane, 1-bromohexane (97%), 1,12-dibromododecane, 2,2'-azo-bis(isobutyronitrile) (AIBN), 2-hydroxy-2-methylpropiophenole (DAROCUR 1173), and multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs, >98%, O.D.×L.: 6–13 nm × 2.5–20 μm), which were purchased from Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA). Lithium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide (Li-NTf₂) was supplied from SynQuest Labs (Alachua, FL, USA). Chloroform, methanol (HPLC grade), isopropanol (HPLC grade), sodium hydroxide, ethyl acetate and concentrated hydrogen peroxide (30%, w/w), were acquired to Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA). Elastic nitinol (Ni/Ti) metallic wires with an external diameter of 127 μm were supplied from Nitinol Devices & Components (Fremont, CA, USA) as solid support in the preparation of the PIL-based SPME fibers. SPME fiber assemblies were provided by Supelco (Bellefonte, PA, USA).

Four PIL-based SPME fibers were utilized in this study. The composition and the main characteristics of the fibers are shown in Table 1. The abbreviations utilized for the PILs are PIL-1-1, PIL-0-0, PIL-0-1, and PIL-MWCNTs. “0” refers to the absence of the benzyl group and “1” to its presence either in the IL monomer (first number of the abbreviation) or in the IL crosslinker (second number of the abbreviation). The abbreviation PIL-MWCNTs refers to the PIL hybrid material containing MWCNTs.

Commercial SPME fibers utilized in this study include: polyacrylate (PA, 85 μm of film thickness), polydimethylsiloxane (PDMS, 100 μm of film thickness), and

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 1. Abbreviations, composition and main characteristics of the PIL-based SPME coatings utilized in this study.

Coating	IL monomer	Other material	IL crosslinker ^a	Polymerization type	Radical initiator	Film thickness (μm)
PIL-0-1	ViC ₁₆ Im-NTf ₂	–	(ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm)	DAROCUR 1173	~5
PIL-0-0	ViC ₁₆ Im-NTf ₂	–	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm)	DAROCUR 1173	~5
PIL-1-1	ViBzC ₁₆ Im-NTf ₂	–	(ViBzIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	UV (360 nm)	DAROCUR 1173	~2
PIL-MWCNTs	ViC ₄ Im-NTf ₂	MWCNTs ^b	(ViIm) ₂ C ₁₂ -2NTf ₂	Thermal	AIBN	~25

^a 50% (w/w) of the IL crosslinker in the IL monomer^b 5% (w/w) of MWCNTs in the IL monomer

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

carboxen-polydimethylsiloxane (CAR-PDMS, 75 µm of film thickness), obtained by Supelco.

Amber glass vials (20 mL) with screw caps and polytetrafluoroethylene (PTFE)/butyl septa were supplied by CTC Analytics (Zwingen, Switzerland). PTFE stir bars (15 mm × 4.5 mm) were obtained from VWR International Eurolab S.L. (Barcelona, Spain).

2.2. Instrumentation

The synthesis and preparation of the PIL-based SPME fibers required the utilization of a RPR-100 UV reactor employing a spinning carousel purchased from Southern New England Ultraviolet Company (Bradford, CT, USA).

The DI-SPME and liquid injection experiments were carried out with the aid of a Combi-Pal autosampler, acquired to CTC Analytics. The chromatographic analyses were performed using a Varian 450 model CP-3800 gas chromatography (GC) equipped with a flame ionization detector (FID). A Factor Four capillary column VF-5ms (30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 µm of film thickness) was employed, supplied by Agilent Technologies (Amstelveen, Holland).

The carrier gas was nitrogen at a flow rate of 1 mL·min⁻¹. GC injection was performed under *splitless* mode, and using an inlet sleeve, glass, single gooseneck liner (MD-24-12-1), acquired from Agilent Technologies. The selected desorption temperature in the injector depended on the SPME fiber used: 300 °C for PA and CAR–PDMS, 280 °C for PDMS, and 250 °C for PIL-based SPME fibers. Desorption temperatures were selected according to the thermal stabilities of the SPME fibers. The optimum desorption time selected was 2 min in all cases. *Carry-over* was not observed using this desorption time.

The GC oven temperature employed was the following: initially isothermal for 2 min at 40 °C, then increased at 14 °C·min⁻¹ up to 190 °C, holding this temperature during 9 min, and then increased at 20 °C·min⁻¹ up to 280 °C, holding this temperature during 2 min. The temperature of the detector was kept at 280 °C, using an air flow of 300 mL·min⁻¹, a make-up flow of nitrogen of 30 mL·min⁻¹, and a hydrogen flow of 30 mL·min⁻¹.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.3. Synthesis of the ILs and preparation of the PIL-based SPME fibers

Four different PIL-based sorbent coatings were synthesized for this study, namely PIL-1-1, PIL-0-0, PIL-0-1, and PIL-MWCNTs. They are crosslinked polymers formed by a monocationic IL monomer and a dicationic IL crosslinker. In the case of the PIL-MWCNTs fiber, MWCNTs were utilized in combination with the crosslinked PIL to generate a hybrid sorbent coating.

The IL monomers employed were 1-vinylbenzyl-3-hexadecylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ($\text{ViBzC}_{16}\text{Im-NTf}_2$), 1-vinyl-3-hexadecylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ($\text{ViC}_{16}\text{Im-NTf}_2$), and 1-vinyl-3-butylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ($\text{ViC}_4\text{Im-NTf}_2$). The dicationic IL crosslinker employed were 1,12-di(3-vinylbenzylimidazolium)dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ($\text{ViBzIm}_2\text{C}_{12}\text{-2NTf}_2$), and 1,12-di(3-vinylimidazolium)dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ($\text{ViIm}_2\text{C}_{12}\text{-2NTf}_2$). The synthesis of these ILs was performed according to previously reported procedures [16,17,32,33].

Prior to the co-polymerization of each combination of IL monomer and dicationic IL crosslinker, surface modification of the Ni/Ti wire (utilized as solid support of the fiber) was performed according to previous procedures [31]. These modifications include the activation of the hydroxyl moieties (Ti-OH) of the alloy by treatment with hydrogen peroxide, followed by its reaction with VTMS to chemically bond the organosilane to the surface of the wire.

The co-polymerization was performed *on fiber* by the dip-coating of 1 cm of the derivatized wire in a mixture of the two ILs (the amount of the crosslinker is 50%, w/w, of the monomer weight). The reaction was initiated in all cases with the aid of a free radical initiator (DAROCUR 1173 or AIBN, in a 3%, w/w) and using UV light of 360 nm or high temperatures, depending of the fiber (see Table 1). MWCNTs (in a 5%, w/w, of the monomer weight) were added to the mixture of ILs in the case of the PIL-MWCNTs fiber to obtain the hybrid material.

Following the polymerization, the fibers were treated with epoxy and glued to the SPME fiber assemblies supplied by Supelco. Finally, the fibers were conditioned in the GC injector at 250 °C for 10 minutes.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.4. SPME procedure

All SPME extractions were conducted in direct immersion mode. Each working vial was filled with 18 mL of the aqueous standard solution of all analytes, or with 18 mL of the tap water (spiked or not). Then, the fiber was completely immersed on the solutions with the aid of the CombiPal. At optimum conditions, the extraction is performed at a temperature of 35 °C during 60 min, and using a magnetic stirring of 700 rpm.

For the evaluation of the *carry over* effect, cleaning steps of the SPME fibers were carried out in the GC injector during 10 min after the analysis of each sample and using the optimum desorption temperatures of each SPME fiber.

All glassware, including the vials, were washed with detergent and tap water, followed with washing with a mix of DERQUIM-OXY purchased by Panreac (Barcelona, Spain) and sulfuric acid supplied by Sigma-Aldrich. Finally, non-graduated glassware and vials were dried in the oven (550 °C during 2.5 h).

2.5. Estimation of partition coefficients

When a SPME fiber is directly exposed to an aqueous solution containing analytes, the analytes suffer partition between the initial solution (the sample) and the sorbent coating. Under equilibrium conditions, the partition coefficient of the analyte between the two phases (K_{fs}) can be expressed according to Equation (1):

$$K_{fs} = \frac{V_s}{V_f \left[\frac{n_0}{n_f} - 1 \right]} \quad (1)$$

Equation (1) was utilized to estimate the K_{fs} of the group of studied analytes with PIL-based and commercial SPME fibers. In the equation, V_s is the initial sample volume (18 mL in all cases). V_f is the coating volume, and it can be calculated for PIL-based coatings using the total radius of the fiber coating (the radius of the solid support minus film thickness) and the coating length (1 cm). Calculated V_f values for PIL-based coatings were: 0.122 μL for PIL-MWCNTs, 0.021 μL for PIL-0-1 and PIL-0-0, and 0.008 μL for PIL-1-1. V_f values for commercial SPME fibers were obtained from Supelco, being 0.520 μL for PA and 0.436 μL for CAR-PDMS.

n_0 and n_f indicate the amount of analyte (in mg) present initially in the vial and on the fiber once the equilibrium is achieved, respectively. The n_f values were estimated

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

using the liquid injection calibrations. Such calibrations were obtained by the injection of 2 μL of calibration standard solutions in cyclohexane in the GC-FID, with the concentrations listed in Section 2.1, and using the same condition that those selected for SPME experiments (*splitless* mode, the same desorption temperatures depending of the SPME fiber, and the same GC separation and FID detection conditions, see Section 2.2). n_f values were calculated through the peak area obtained after the corresponding extraction of an initial amount of n_0 mg via DI-SPME-GC-FID, and using the GC-FID liquid injection calibrations for its estimation.

3. Results and discussion

3.1. Optimization of the DI-SPME-GC-FID method

The selected group of ten phenolic compounds and two PAHs were completely separated by GC-FID in 22 min under the conditions described in Section 2.2. Table S1 in the Annex Material shows their retention times altogether with the obtained reproducibility. In all cases, relative standard deviation (RSD) values in % for the retention times were lower than 0.20% ($n = 20$).

Optimization of the conditions for the DI-SPME-GC-FID procedure was carried out for all PIL-based fibers and also for the commercial SPME fibers. In all cases, experiments utilized 18 mL of aqueous working standard solution, described in Section 2.1. The concentration of the analytes ranged from 0.02 to 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ depending on the analyte, keeping the content of acetonitrile at 0.57 % (v/v). In these experiments, the pH and the ionic strength were not adjusted. All extractions were performed by triplicate with a constant stirring rate of 700 rpm in the CombiPal. The obtained chromatographic peak area in each experiment was used to estimate the extraction efficiency achieved.

The parameters studied in the optimization included the extraction time, the desorption time, the extraction temperature, and the desorption temperature.

The criteria to select the optimum desorption temperature in the GC injector was to have the highest possible temperature, obviously avoiding the thermal decomposition of the sorbent coating and/or the GC column. The purpose was to achieve maximum

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

desorption efficiency for the group of analytes studied, while keeping the integrity of both fiber and column. Thus, the following temperatures were selected: 300 °C for PA and CAR-PDMS, 280 °C for PDMS, and 250 °C for all PIL-based SPME fibers.

The extraction time profiles were studied in the range of 15 to 100 min, using a constant extraction temperature of 30 °C, and 10 min as desorption time. Longer extraction times were not tested to avoid a tedious procedure. As a representative example, profiles of the PIL-1-1 fiber are included in Figure 1. Remaining profiles have been included in Figure S1 of the Annex Material. The ideal situation in SPME implies working under equilibration times in order to obtain the maximum extraction efficiencies. However, in some cases this would mean the necessity of really long extraction times, which is against a practical method. In the majority of situations, a compromise solution between adequate extraction efficiency (to reach adequate sensitivity) and extraction time is achieved. In the present work, it must be taken into account the quite different nature of the analytes studied and the SPME fibers tested, as well as their different film thicknesses. Overall, analytes showed different equilibrium times, as a function of their nature and the SPME coating employed. From Figures 1 and S1 of the Annex Material, it becomes clear that the time needed for analytes to reach the equilibrium state is lower for PIL-based SPME fibers than for commercial fibers, which can be linked to their lower sorbent coating thickness. Therefore, an intermediate extraction time of 60 min was chosen as optimum despite not being under equilibrium condition for all analytes. This extraction time will be kept for all fibers to have an adequate comparison.

The effect of the extraction temperature was also studied. Three different temperatures were tested: 30, 35 and 40 °C, using a constant extraction time of 60 min, and a desorption time of 10 min. The obtained results are shown in Figure S2 of the Annex Material. Best extraction efficiencies were achieved at 35 or 40 °C, depending of each combination of analyte/ fiber. Finally, an extraction temperature of 35 °C was selected as optimum.

Finally, desorption temperatures experiments were performed at 2, 5 and 10 min, and using the optimum conditions already obtained for the extraction: 60 min and 35 °C. Results are included in Figure S3 of the Annex Material. In general, 2 min results adequate in terms of sensitivity. Furthermore, the *carry-over* was evaluated at this desorption time and it was considered non-significant.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

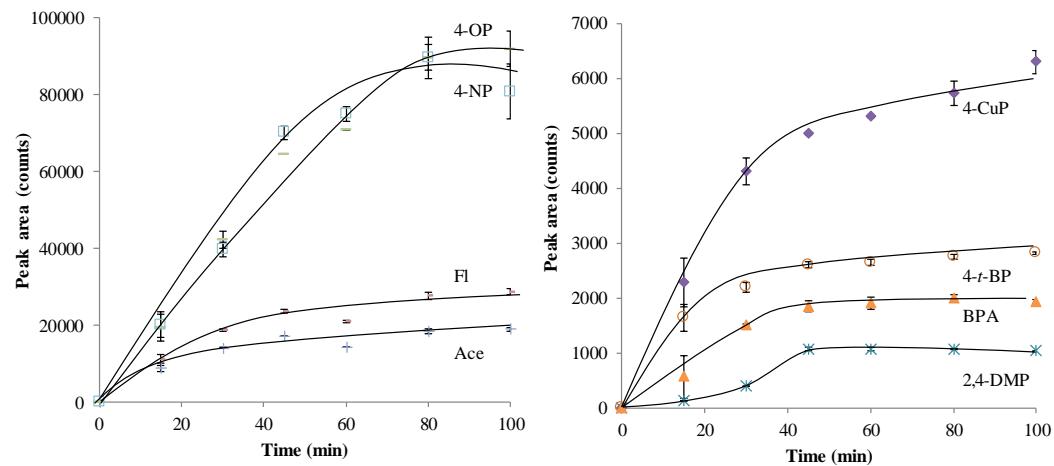


Figure 1. Extraction–time profiles obtained by DI-SPME-GC-FID and the PIL-1-1 fiber. Analytes with the higher sensitivities have been plotted on the left side. Analytes with the lower sensitivities are represented on the right. Analytes non-detected were not represented in the figure. The extraction temperature was kept at 30 °C, and 10 min were used as desorption time.

Aplicaciones basadas en el uso de polímeros de líquidos iónicos

271

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

3.2. Evaluation of the extraction efficiency with commercial SPME fibers

Once the optimization of the DI-SPME-GC-FID method was completed, the extraction efficiency of the commercial PA, PDMS and CAR-PDMS coatings was tested for the group of analytes selected. Figure 2 shows the obtained extraction efficiencies, expressed as chromatographic peak areas. Results indicate that PA and CAR-PDMS are useful to extract the overall group of analytes, although with complementary extraction efficiencies. On contrary, PDMS poorly extracts the most polar compounds. For this reason, PA and CAR-PDMS were selected for the further comparative studies with PIL-based sorbent coatings.

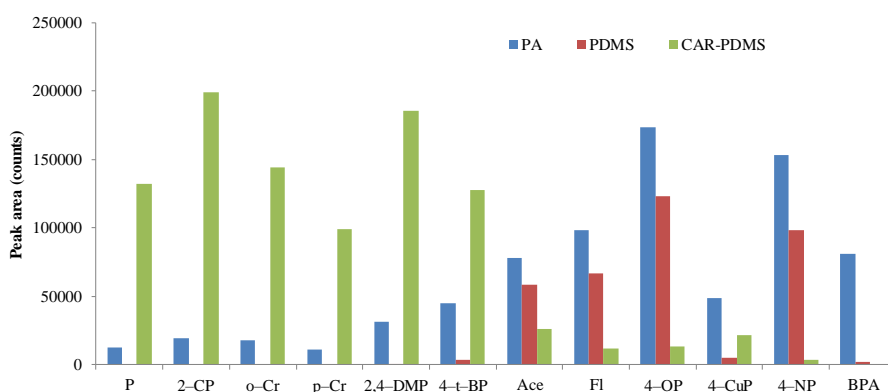


Figure 2. Comparison of extraction efficiencies with the optimized DI-SPME-GC-FID method for commercial fibers: PA, PDMS and CAR-PDMS.

3.3. Estimation of the partition coefficients

The best tool to perform an evaluation among sorbent coatings of different nature is to compare the partition coefficients of analytes to them. Thus, partition coefficients of the overall group of phenols and PAHs were estimated using Eq (1) (Section 2.5) for the developed PIL-based SPME fibers and for the commercial fibers PA and CAR-PDMS.

The quality analytical parameters of the GC-FID liquid injection calibrations (required for the calculation of such partition coefficients) are summarized in Tables S2 and S3 of the Annex Material. Reproducibility was also evaluated for those calibrations at two

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/		
Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

different concentration levels, obtaining relative standard deviation (RSD) lower than 5.4%. Results are shown in Table S4 of the Annex Material.

Table 2 shows all estimated partition coefficients, expressed as logarithms ($\log K_{fs}$). These values are accompanied with the octanol-water partition coefficients ($\log K_{ow}$), reported in the literature for the group of analytes. It is important to emphasize that the obtained partition coefficients are only approximate values because: (1) DI-SPME experiments were carried out under non-equilibrium conditions for many analytes, (2) the amount of analyte extracted in the fiber (n_f) is determined using liquid injection calibrations, and (3) the estimated coating volume for SPME fibers are also approximate values. However, these partition coefficients are valid for comparison purposes because they were calculated under the same conditions.

To the best of our knowledge, there are no prior studies that report $\log K_{fs}$ values for the overall group of phenols and PAHs studied and the PIL-based SPME fibers tested. $\log K_{fs}$ values for P could not be estimated with the fibers PIL-0-1, PIL-0-0 and PIL-1-1 because this analyte could not be efficiently extracted under the selected working conditions. Similarly, 2-CP, *o*-Cr, *p*-Cr and 2,4-DMP could not be extracted with PIL-0-0, and BPA with CAR-PDMS and PIL-MWCNTs. For the remaining analytes (those efficiently extracted with all coatings), $\log K_{fs}$ values ranged between 2.47 ± 0.05 for P and 5.42 ± 0.07 for 4-OP when using PA; between 3.24 ± 0.01 for P and 4.67 ± 0.01 for Ace when employing CAR-PDMS; between 3.0 ± 0.1 for *o*-Cr and 6.16 ± 0.03 for 4-NP when using PIL-0-1; between 3.44 ± 0.09 for 4-*t*-BP and 6.39 ± 0.03 for 4-NP when utilizing PIL-0-0; between 3.55 ± 0.09 for *o*-Cr and 6.39 ± 0.03 for 4-NP when employing PIL-1-1; and between 2.50 ± 0.08 for P and 5.59 ± 0.04 for 4-NP when utilizing PIL-MWCNTs.

As observed from Figure 2, PA is more efficient to extract the most hydrophobic compounds (Fl, 4-OP, 4-CuP, 4-NP and BPA) while CAR-PDMS is more suitable for the extraction of polar analytes (P, 2-CP, *o*-Cr, *p*-Cr and 2,4-DMP), attending to the $\log K_{fs}$ values from Table 2. With respect to the PIL-based fibers, the highest $\log K_{fs}$ values were obtained for 4-NP and, in general, higher $\log K_{fs}$ values were achieved for the most hydrophobic analytes (4-*t*-BP, Ace, Fl, 4-OP, 4-CuP, 4-NP and BPA). In general, the best extraction efficiencies were reached with PIL-1-1 and with PIL-0-1, probably due to the presence of benzyl groups in their structures, which can enhance π - π interactions between aromatic analytes and the coatings.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Estimated partition coefficients, expressed as log K_{fs} , for the studied compounds and fiber coatings.

Analyte	Log $K_{fs} \pm \text{error}^a$						Log K_{ow}^b
	PA	CAR-PDMS	PIL-0-1	PIL-0-0	PIL-1-1	PIL-MWCNTs	
P	2.47 ± 0.05	3.24 ± 0.01	–	–	–	2.50 ± 0.08	1.54
2-CP	2.96 ± 0.02	3.97 ± 0.01	3.06 ± 0.08	–	3.62 ± 0.07	2.56 ± 0.06	2.22
<i>o</i> -Cr	2.66 ± 0.02	3.48 ± 0.01	3.0 ± 0.1	–	3.55 ± 0.09	2.56 ± 0.07	1.96
<i>p</i> -Cr	2.58 ± 0.04	3.33 ± 0.01	3.25 ± 0.09	–	3.60 ± 0.09	2.61 ± 0.07	2.06
2,4-DMP	2.98 ± 0.01	3.69 ± 0.02	3.18 ± 0.08	–	3.71 ± 0.07	2.55 ± 0.06	2.49
4- <i>t</i> -BP	3.38 ± 0.02	3.77 ± 0.01	4.0 ± 0.1	3.44 ± 0.09	4.26 ± 0.06	2.73 ± 0.05	3.39
Ace	4.65 ± 0.01	4.67 ± 0.01	4.80 ± 0.02	4.06 ± 0.05	5.47 ± 0.01	4.34 ± 0.01	3.72
Fl	4.99 ± 0.02	4.21 ± 0.01	5.06 ± 0.05	4.30 ± 0.09	5.66 ± 0.03	4.68 ± 0.02	4.32
4-OP	5.42 ± 0.07	4.15 ± 0.02	6.10 ± 0.03	5.79 ± 0.03	6.36 ± 0.03	4.49 ± 0.01	5.63
4-CuP	4.45 ± 0.03	3.99 ± 0.03	5.01 ± 0.08	4.7 ± 0.1	5.48 ± 0.07	4.26 ± 0.07	4.23
4-NP	5.03 ± 0.04	3.81 ± 0.04	6.16 ± 0.03	6.02 ± 0.03	6.39 ± 0.03	5.59 ± 0.04	6.14
BPA	4.23 ± 0.02	–	5.40 ± 0.06	4.62 ± 0.03	4.93 ± 0.04	–	3.64

^a error in the determination of the log K_{fs} , calculated from the error in the prediction of n_f (with $\alpha = 0.05$ and $m + n - 3$ degrees of freedom, being m the number of replicates and n the calibration levels), and considering the mathematical propagation of errors

^b octanol-water partition coefficients, expressed as log K_{ow} , extracted from SciFinder[®] database 2014

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

When the results for commercial and PIL-based SPME fibers are compared, higher $\log K_{fs}$ values are generally obtained with PIL-based materials. Results show that CAR-PDMS is more adequate for the extraction of P, 2-CP and *o*-Cr. Nevertheless, better extraction efficiencies are obtained with PIL-based sorbent coatings, and especially for PIL-1-1, for the remaining group of analytes. These results clearly show that the nature of PIL-based SPME fibers is more suitable for the extraction of the group of selected phenols and PAHs. Therefore, efforts are currently underway to thicker coatings for these PIL-based fibers.

It is interesting to observe the behavior of the hybrid PIL-MWCNTs, which present similar $\log K_{fs}$ values to CAR-PDMS regarding the extraction of the most polar compounds, and slightly higher values than PA for Fl, 4-OP, 4-CuP and 4-NP. Thus, it seems this material is valid for both polar and hydrophobic analytes, which is not observed for PA either CAR-PDMS. The hybrid PIL-MWCNTs coating does not present higher $\log K_{fs}$ values than the other PIL-based sorbent materials probably due to its lower length of the alkyl chain on the IL monomer: C₄ for PIL-MWCNTS *versus* C₁₆ for the rest of PIL-based sorbent coatings. Clearly, the C₁₆ is imparting more nonpolar character to the coatings. Unfortunately, we were unable to prepare the hybrid PIL-MWCNTs with a C₁₆ chain in the IL monomer, due to solubility problems of the MWCNTs. Further work is being undertaken to address this challenge. It appears that an adequate coating material for SPME is a hybrid material, requiring the presence of MWCNTs, a benzyl group in both the IL monomer and the crosslinker, and a long alkyl chain such as C₁₆ in the IL monomer. If the purpose is to have a coating only devoted to the extraction of hydrophobic/aromatic compounds *versus* other analytes in the sample, then the PIL-1-1 coating is the useful material.

In order to gain insight into the nature of the extraction mechanism of the PIL-based SPME fibers, the obtained partition coefficients have been correlated with their corresponding octanol-water partition coefficients by plotting $\log K_{fs}$ *versus* $\log K_{ow}$. The obtained correlation coefficients (r^2) values from such plots were: 0.94 for PIL-1-1, 0.91 for PIL-0-1, 0.88 for PA, 0.87 for PIL-0-0, 0.86 for PIL-MWCNTs, and 0.33 for CAR-PDMS. The higher correlation values obtained for all the fibers (with the exception of CAR-PDMS) could indicate that hydrophobic interactions are the principal forces involving the partition of the analytes. For CAR-PDMS, other mechanisms need to be considered.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.4. Analytical performance of the overall DI-SPME-GC-FID method with all coatings

The analytical calibration curves were obtained under the overall optimized DI-SPME-GC-FID method for all analytes and all PIL-based SPME fibers, PA and CAR-PDMS, according to Section 2.1. Figure S4 of Annex Material show representative chromatograms obtained with PIL-based fibers under these conditions.

Tables 3–6 include several analytical quality parameters of the overall DI-SPME-GC-FID calibrations such as the linearity ranges, slopes, intercepts, correlation coefficients (R), and limits of detection and quantitation. The analytical performance of commercial PA and CAR-PDMS fibers is detailed in Tables S5 and S6 of the Annex Material. All calibrations exhibit a wide linearity range with correlation coefficients (R) oscillating between 0.9953 and 0.9998 for PA, between 0.9956 and 0.9994 for CAR-PDMS, between 0.9905 and 0.999 for PIL-0-1, between 0.9859 and 0.9988 for PIL-0-0, between 0.9740 and 0.9992 for PIL-1-1, and between 0.9838 and 0.9995 for PIL-MWCNTs.

The limits of detection (LODs) were calculated as three times the signal to noise ratio. In general, satisfactory LODs were obtained with all fibers, particularly considering that FID was employed. If commercial fibers PA and CAR-PDMS are only considered, LODs ranged from 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. On the other hand, for the PIL-based SPME fibers LODs oscillate between 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Ace and Fl and 270 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *p*-Cr when using PIL-0-1, between 3.00 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Ace, Fl, 4-OP and 4-NP and 30.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-*t*-BP when utilizing PIL-0-0, between 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Ace and Fl and 135 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *p*-Cr when employing PIL-1-1, and between 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Fl and 121 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for P when using PIL-MWCNTs. In general, these values are similar but, if the study is only focused on hydrophobic analytes, PIL-0-1 and PIL-MWCNTs present the lowest LODs.

The analytical sensitivity of the method was evaluated by the ratio of the calibration slope and the standard deviation of the regression residuals. Obtained sensitivities are listed in Table S7 of Annex Material. Maximum values were achieved for 4-OP, 4-CuP and 4-NP, independently of the fiber used. With respect to the type of fiber, commercial fibers provide higher sensitivity values than PIL-based coating due to their higher film thicknesses. However, it must be noted that PIL-MWCNTs also provided adequate sensitivities for all analytes, whereas PIL-0-1 and PIL-1-1 gave good sensitivities for the most hydrophobic compounds.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 3. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for PIL-0-1.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
2-CP	0.69 – 1.2	0.36 ± 0.01	-1.1 ± 0.2	0.9974	0.07	105	350
<i>o</i> -Cr	0.7 – 1.3	0.34 ± 0.01	-1.2 ± 0.1	0.9981	0.05	105	350
<i>p</i> -Cr	0.8 – 1.2	0.260 ± 0.004	-1.26 ± 0.04	0.9997	0.01	135	450
2,4-DMP	0.5 – 1.3	0.66 ± 0.03	-2.3 ± 0.3	0.9951	0.20	75.0	250
4- <i>t</i> -BP	0.005 – 0.5	3.01 ± 0.05	-0.3 ± 0.1	0.9991	0.25	12.0	40.0
Ace	0.005 – 0.5	52 ± 1	-0.3 ± 1.9	0.9982	3.63	0.75	2.50
Fl	0.005 – 0.5	83 ± 6	-0.5 ± 1.5	0.9990	2.72	0.75	2.50
4-OP	0.02 – 0.1	285 ± 8	-6 ± 5	0.9989	5.07	3.00	10.0
4-CuP	0.02 – 0.1	14.2 ± 0.8	-1.1 ± 0.5	0.9957	0.55	3.00	10.0
4-NP	0.02 – 0.1	271 ± 17	29 ± 11	0.9905	10.8	3.00	10.0
BPA	0.5 – 1.3	2.02 ± 0.05	-3.7 ± 0.5	0.9989	0.35	75.0	250

^a standard deviation of slope and intercept, n = 7 calibrations levels^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio^e limits of quantitation, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 4. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for PIL-0-0.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
4- <i>t</i> -BP	0.2 – 1.5	0.74 ± 0.09	-0.2 ± 0.3	0.9859	0.20	30.0	100
Ace	0.02 – 0.5	6.2 ± 0.3	0.2 ± 0.8	0.9964	1.07	3.00	10.0
Fl	0.02 – 0.5	10.1 ± 0.2	-0.2 ± 0.7	0.9988	0.99	3.00	10.0
4-OP	0.02 – 0.1	142 ± 7	-11 ± 4	0.9956	4.80	3.00	10.0
4-CuP	0.05 – 0.2	3.7 ± 0.2	-0.6 ± 0.2	0.9966	0.08	7.49	25.0
4-NP	0.02 – 0.1	201 ± 9	-4 ± 6	0.9951	6.42	3.00	10.0

^a standard deviation of slope and intercept, n = 7 calibrations levels^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio^e limits of quantitation, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 5. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for PIL-1-1.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
2-CP	0.49 – 1.3	0.43 ± 0.04	-0.9 ± 0.4	0.9858	0.265	75.0	250
<i>o</i> -Cr	0.5 – 1.3	0.31 ± 0.01	-0.4 ± 0.2	0.9956	0.093	75.0	250
<i>p</i> -Cr	0.89 – 1.3	0.35 ± 0.02	-1.9 ± 0.2	0.9975	0.053	135	450
2,4-DMP	0.69 – 1.3	0.95 ± 0.03	-3.9 ± 0.3	0.9982	0.134	105	350
4- <i>t</i> -BP	0.005 – 0.5	3.65 ± 0.09	-0.6 ± 0.3	0.9979	0.482	12.0	40.0
Ace	0.005 – 0.5	75 ± 2	-2 ± 1	0.9992	0.855	0.75	2.50
Fl	0.005 – 0.5	112 ± 1	-2 ± 1	0.9984	1.86	0.75	2.50
4-OP	0.02 – 0.1	195 ± 9	-7 ± 6	0.9960	5.89	3.00	10.0
4-CuP	0.02 – 0.09	19.5 ± 0.9	-1.9 ± 0.6	0.9959	0.554	3.00	10.0
4-NP	0.02 – 0.1	188 ± 9	-2 ± 6	0.9740	5.76	3.00	10.0
BPA	0.5 – 1.3	1.77 ± 0.09	-2.8 ± 0.9	0.9957	0.590	75.0	250

^a standard deviation of slope and intercept for the 7 calibrations levels^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio^e limits of quantitation, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 6. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for PIL-MWCNTs.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
P	0.8 – 1.3	0.35 ± 0.02	-1.8 ± 0.2	0.9949	0.079	121	402
2-CP	0.2 – 1.2	0.45 ± 0.04	0.005 ± 0.250	0.9925	0.283	30.1	100
<i>o</i> -Cr	0.5 – 1.3	0.64 ± 0.02	-2.0 ± 0.2	0.9976	0.137	75.0	250
<i>p</i> -Cr	0.7 – 1.3	0.70 ± 0.05	-3.1 ± 0.5	0.9915	0.237	105	350
2,4-DMP	0.2 – 1.2	0.81 ± 0.03	-0.6 ± 0.2	0.9972	0.277	30.1	100
4- <i>t</i> -BP	0.08 – 0.4	4.9 ± 0.2	-0.09 ± 0.57	0.9967	0.619	12.0	40.1
Ace	0.005 – 0.5	76 ± 1	0.05 ± 2.54	0.9995	4.890	1.50	5.01
Fl	0.005 – 0.5	139 ± 3	8 ± 8	0.9985	15.73	0.75	2.50
4-OP	0.02 – 0.1	254 ± 19	-13 ± 13	0.9838	14.12	3.00	10.0
4-CuP	0.01 – 0.08	11.8 ± 0.5	-0.02 ± 0.33	0.9949	0.334	3.00	10.0
4-NP	0.02 – 0.1	293 ± 18	-10 ± 10	0.9946	11.025	3.00	10.0

^a standard deviation of slope and intercept, for n = 7 calibrations levels^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio^e limits of quantitation, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

The reproducibility of the method was determined utilizing an intermediate concentration level for each analyte/fiber ($n = 4$), which was subjected to the overall method. The obtained results, expressed as relative standard deviation (RSD), are reported in Table 7. RSD ranged from 0.8% to 11% for PA, from 2.9% to 7.4% for CAR-PDMS, from 1.1% to 7.1% for PIL-0-1, from 1.0% to 6.0% for PIL-0-0, from 1.3% to 5.6% for PIL-1-1, and from 2.2% to 5.9% for PIL-MWCNTs. All RSD values are within the acceptable requirements.

An inter-fiber reproducibility study was also accomplished with the PIL-MWCNTs fiber, using a spiked level ranging from 20 to 950 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (depending on the analyte) and by triplicate in each case. Two different PIL-MWCNTs fibers, obtained in different batches, were tested. Intra-RSD values lower than 13% and 15% were obtained for each fiber at the spiked level, whereas the inter-RSD values ranged from 6.7% for FI to 23% for 2-CP.

In general, adequate reproducibility, sensitivity, and overall analytical performance are obtained for PIL-based SPME fibers despite their lower thickness compared to PA and CAR-PDMS.

3.5. Evaluation of the extraction efficiency of the PIL-based SPME fibers expressed as normalized calibration slope

We have already proposed the utilization of the normalized calibration slopes as a simple comparative tool among SPME sorbent coatings [18], rather than the necessity of a second calibration (liquid injection by GC-FID) when utilizing the comparison via partition coefficients.

It is well-known that the main factors influencing the extraction efficiency in SPME are: the sorbent coating nature, the film thickness (which is proportional to the volume), and the surface area of the sorbent coating, considering that the rest of extraction variables remain constant (sample volume, analyte concentration, temperature, extraction time, desorption time and desorption temperature, among others). In this study, commercial and PIL-based SPME fibers present the same coating length (1 cm), so it can be assumed as an approximation that the surface areas are similar for all fibers. However, the film thicknesses of the fibers are quite different: $\sim 2 \mu\text{m}$ for PIL-1-1, $\sim 5 \mu\text{m}$ for PIL-0-1 and PIL-0-0, $\sim 25 \mu\text{m}$ for hybrid PIL-MWCNTs, $75 \mu\text{m}$ for CAR-PDMS and $85 \mu\text{m}$

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 7. Reproducibility of the DI-SPME-GC-FID method under the optimized conditions with all fibers.

Analyte	RSD ^a (%) (concentration level in mg·L ⁻¹)					
	PA	CAR-PDMS	PIL-0-1	PIL-0-0	PIL-1-1	PIL-MWCNTs
P	3.9 (0.55)	5.6 (0.45)	n.e. ^b	n.e. ^b	n.e. ^b	5.9 (1.15)
2-CP	3.1 (0.5)	2.9 (0.4)	4.5 (1.03)	n.e. ^b	1.3 (0.95)	2.4 (0.90)
<i>o</i> -Cr	1.5 (0.5)	3.7 (0.4)	2.8 (1.03)	n.e. ^b	1.3 (0.95)	3.1 (0.90)
<i>p</i> -Cr	0.8 (0.5)	4.2 (0.4)	3.0 (1.03)	n.e. ^b	1.9 (1.25)	4.7 (1.15)
2,4-DMP	1.9 (0.5)	4.4 (0.09)	3.2 (1.03)	n.e. ^b	2.9 (0.95)	3.2 (1.15)
4- <i>t</i> -BP	4.0 (0.15)	3.9 (0.09)	1.1 (0.15)	2.3 (0.55)	2.6 (0.35)	2.2 (0.90)
Ace	4.7 (0.05)	3.3 (0.07)	7.1 (0.15)	2.1 (0.35)	2.5 (0.15)	4.7 (0.25)
Fl	1.7 (0.05)	7.4 (0.07)	5.9 (0.15)	1.8 (0.35)	4.2 (0.15)	4.2 (0.25)
4-OP	3.1 (0.05)	7.1 (0.07)	4.1 (0.065)	6.0 (0.065)	5.2 (0.065)	4.7 (0.25)
4-CuP	9.5 (0.05)	4.3 (0.09)	2.5 (0.065)	1.0 (0.085)	5.6 (0.065)	2.2 (0.07)
4-NP	11 (0.05)	6.3 (0.09)	5.1 (0.065)	4.0 (0.065)	4.8 (0.065)	5.1 (0.07)
BPA	7.1 (0.5)	n.e. ^b	1.2 (0.15)	2.5 (1.03)	4.8 (0.95)	n.e. ^b

^a relative standard deviation (n = 4)^b not extracted by the DI-SPME method under the selected conditions

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

for PA. Thus, the film thickness of the PIL-1-1 is on average ~40 times thinner than commercial SPME fibers.

Other works in the literature reported the utilization of the normalized calibration slopes as a tool to compare the extraction efficiencies of coatings with different film thicknesses [17,22,29]. This parameter is calculated from the ratio between the calibration slope obtained from the DI-SPME-GC-FID method and the film thickness of the SPME fiber. Thus, when normalized slopes are utilized, the comparison of the extraction efficiency is only focused on the nature of the SPME fibers. Obtained normalized calibration slopes of the PIL-based coatings, PA and CAR-PDMS have been plotted in Figure 3. In general, PIL-1-1 and PIL-0-1 provide the highest normalized slopes for the majority of analytes, and especially for the most hydrophobic compounds, including 4-*t*-BP, Ace, Fl, 4-OP, 4-CuP, 4-NP and BPA. CAR-PDMS is more effective for the extraction of the most polar analytes. These results are in agreement with conclusions derived from the estimation of partition coefficients. In addition, if PIL-based materials are compared with PA, higher extraction affinities are obtained for all analytes, with the exception of P.

3.6. Analysis of real samples with PIL-based SPME fibers

The developed DI-SPME-GC-FID method was applied for the extraction of the group of analytes from tap water and well water, to observe the behavior of the developed fibers with real samples.

Tap water was collected in the lab and directly used without the application of any pretreatment step. This study was performed with PIL-0-1 and PIL-1-1 due to their superior extraction efficiency for the group of compounds. None of the selected analytes were detected in the samples.

Spiked samples were then analyzed and evaluated in terms of precision and extraction efficiency. Table 8 shows the spiked levels used for each analyte/fiber according to their sensitivity, and the obtained values of RSD ($n = 4$) and relative recovery (RR, in %). The relative recovery was calculated as the ratio between the predicted concentration obtained with the overall SPME method and the spiked concentration in the sample, and expressed as percentage. Spiked amounts in the $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ level were utilized

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

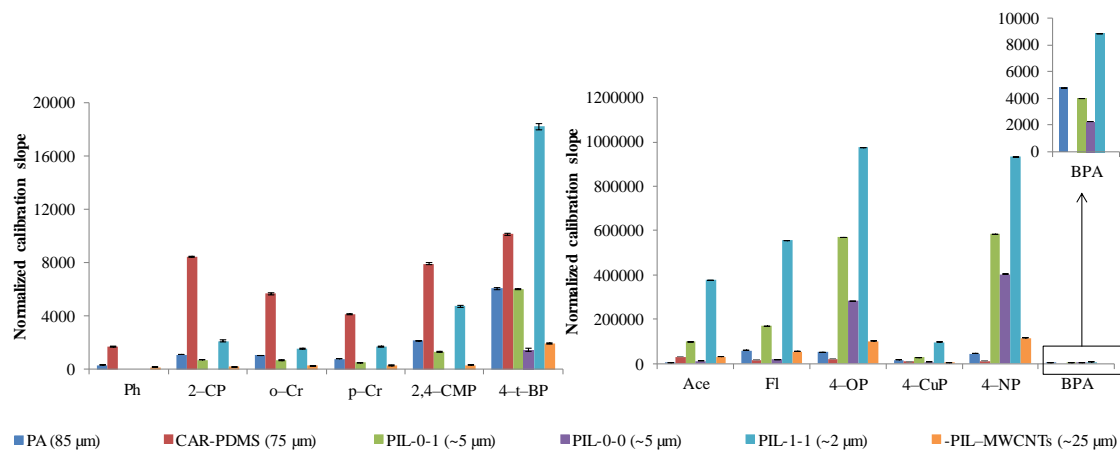


Figure 3. Representation of the normalized calibration slopes obtained for the DI-SPME-GC-FID method for all analytes and fibers. Normalized calibration slopes were calculated as the ratio between the calibration slope and the film thickness of the fiber.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 8. Precision and relative recovery obtained with the developed DI-SPME-GC-FID method and the fibers PIL-0-1 and PIL-1-1, when analyzing spiked tap water samples.

Analyte	PIL-0-1			PIL-1-1		
	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	RR ^b (%)	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	RR ^b (%)
2-CP	0.75	9.3	95.1	0.60	8.4	81.6
<i>o</i> -Cr	0.75	12	95.1	0.60	6.4	99.2
<i>p</i> -Cr	0.75	12	126	0.95	7.2	94.6
2,4-DMP	0.75	7.6	98.0	0.60	4.1	122
4- <i>t</i> -BP	0.09	4.4	105	0.09	1.9	94.5
Ace	0.01 < LOQ	8.2	78.3	0.01	7.1	85.9
Fl	0.01 < LOQ	6.1	90.1	0.01	9.2	73.5
4-OP	0.03	12	69.1	0.03	5.6	91.0
4-CuP	0.03 < LOQ	6.3	103	0.03	1.5	98.8
4-NP	0.03 < LOQ	6.3	15.4	0.03	5.8	69.2
BPA	0.75	6.0	88.6	0.60	6.6	79.7

^a relative standard deviation, in % (n = 4)^b relative recovery, calculated as the ratio between the predicted concentration obtained by the DI-SPME-GC-FID method and the spiked concentration

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

in all cases. Thus, 10 µg·L⁻¹ was the minimum amount spiked, and around 750 µg·L⁻¹ was the maximum amount spiked for several phenols.

The average RRs obtained were 87 ± 15% for PIL-0-1 (with the exception of 4-NP, which presented a lower RR), and 85 ± 14% for PIL-1-1. There were no statistically significant differences ($\alpha = 0.05$) between these values and those obtained with ultrapure water. Studies of recovery can be considered acceptable if the RR values are in the range of 100 ± 4S%, being S the maximum standard deviation obtained in the evaluation of the precision of the overall method. The S value was 5.4% with PIL-0-1, and 4.5% with PIL-1-1. Thus, acceptable RR values are those included in the ranges 100 ± 22% and 100 ± 18% for PIL-0-1 and PIL-1-1, respectively. Following this consideration, the obtained RR values are valid for all analytes, with the exception of *p*-Cr, 4-OP and 4-NP for PIL-0-1, and 2,4-DMP, Fl, 4-NP and BPA for PIL-1-1.

With respect to the precision, RSD values lower than 7.6% and 4.9% for PIL-0-1 and PIL-1-1, respectively, were obtained. The values are in concordance with the reproducibility of the overall method using ultrapure water for the two PIL-based fibers tested.

Well water was kindly provided by a laboratory devoted to environmental monitoring, and it was also used without any prior treatment. This study was also performed with PIL-0-1 and PIL-1-1, and none of the selected analytes were detected in the samples. The behavior of these two coatings with spiked samples, in terms of precision and extraction efficiency, can be observed in Table S8 of the Annex Material. It can be observed adequate precision values, with RSD lower than 8.8%, and average relative recoveries of 96.7% using PIL-0-1, and of 116% using PIL-1-1.

4. Conclusions

Four PIL-based SPME coatings have been prepared and bonded onto derivatized Ni/Ti wires, using a crosslinked PIL or a hybrid crosslinked PIL with MWCNTs as materials. These fibers have been included in the Supelco commercial holder to enable automation, and were successfully utilized in an optimized automatic DI-SPME-GC-FID method for the extraction of a group of phenols and PAHs for first time. In all cases, a comparison with the commercial fibers PA and CAR-PDMS was undertaken.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

The extraction efficiency of the fibers was initially evaluated only considering the nature of the coating by two methods: estimating the partition coefficients of analytes to the coatings, and calculating the normalized calibration slopes. Both methods gave similar results: the nature of PIL-based SPME fibers is more suitable for the extraction of the group of selected phenols and PAHs than the commercial materials. However, efforts need to be shifted to the obtaining of thicker coatings for these PIL-based fibers in order to reach adequate values of sensitivity.

It is important to highlight the adequate affinity of the PIL fibers PIL-1-1 and PIL-0-1 for the studied analytes, particularly for the most hydrophobic compounds. The behavior of the hybrid PIL-MWCNTs was also very interesting, presenting similar partition coefficient values than CAR-PDMS regarding the extraction of the most polar compounds, and slightly higher values than PA for Fl, 4-OP, 4-CuP and 4-NP, being therefore valid for polar and hydrophobic analytes, which is an unusual performance.

The evaluation of the performance was also accomplished by validating the overall DI-SPME-GC-FID method, and the best PIL fibers were also tested in the analysis of real water samples, without observing loss of efficiency or reproducibility. To match the sensitivity of the PIL-based coatings to that of the commercial coatings, on-going efforts are being devoted toward increasing the film thickness of the PIL-based fibers. This involves the development of high velocity spin coating methodologies that permit the production of high PIL phase volumes in a reproducible fashion.

Acknowledgements

V.P. thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for the Ramón y Cajal contract with the University of La Laguna (ULL). V.P. also acknowledges MINECO for the Project Ref. MAT2013-43101-R, and funding from Fundación CajaCanarias project ref. SPDs-AGUA05. M.J.T.-R. thanks Fundación CajaCanarias for her PhD research fellowship with ULL. J.L.A. acknowledges funding from the Chemical Measurement and Imaging Program at the National Science Foundation (Grant number CHE-1413199). Authors declare no conflict of interest.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2145–2148.
- [2] A. Mehdinia, M.O. Aziz–Zanjani, *Trends Anal. Chem.* 51 (2013) 13–22.
- [3] N.S. Chary, A.R. Fernandez–Alba, *Trends Anal. Chem.* 32 (2012) 60–75.
- [4] F.M. Musteata, J. Pawliszyn, *Trends Anal. Chem.* 26 (2007) 36–45.
- [5] J. Xu, J. Zheng, J. Tian, F. Zhu, F. Zeng, C. Su, G. Ouyang, *Trends Anal. Chem.* 47 (2013) 68–83.
- [6] A. Martín–Esteban, *Trends Anal. Chem.* 45 (2013) 169–181.
- [7] M.B. Gholivand, M.M. Abolghasemi, P. Fattahpour, *Chromatographia* 74 (2011) 807–815.
- [8] Y. Yang, Y. Li, H. Lia, X. Wang, X. Du, J. Chromatogr. A 1372 (2014) 25–33.
- [9] A. Mehdinia, F. Bashour, F. Roohi, A. Jabbari, *Microchim. Acta* 177 (2012) 301–308.
- [10] S.-L. Zhang, Z. Du, G.-K. Li, *Anal. Chem.* 83 (2011) 7531–7541.
- [11] Q. Li, X. Ma, D. Yuan, J. Chen, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 2191–2196.
- [12] X.-F. Chen, H. Zang, X. Wang, J.-G. Cheng, R.-S. Zhao, C.-G. Cheng, X.-Q. Lu, *Analyst* 137 (2012) 5411–5419.
- [13] H. Yu, T.D. Ho, J.L. Anderson, *Trends Anal. Chem.* 45 (2013) 219–232.
- [14] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 86 (2012) 262–285.
- [15] J. Yuan, D. Mecerreyes, M. Antonietti, *Prog. Polym. Sci.* 38 (2013) 1009–1036.
- [16] F. Zhao, Y. Meng, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1208 (2008) 1–9.
- [17] Y. Meng, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 6143–6152.
- [18] J. López–Darias, V. Pino, J.L. Anderson, C.M. Graham, A.M. Afonso, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 1236–1243.
- [19] L. Xu, J. Jia, J. Feng, J. Liu, S. Jiang, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 369–375.
- [20] T.D. Ho, H. Yu, W.T.S. Cole, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 84 (2012) 9520–9528.
- [21] J. Jia, X. Liang, L. Wang, Y. Guo, X. Liu, S. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1320 (2013) 1–9.
- [22] M.J. Trujillo–Rodríguez, H. Yu, W.T.S. Cole, T.D. Ho, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, *Talanta* 121 (2014) 153–162.
- [23] T.D. Ho, W.T.S. Cole, F. Augusto, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1298 (2013) 146–151.
- [24] L. Pang, J.-F. Liu, *J. Chromatogr. A* 1230 (2012) 8–14.
- [25] J. Zheng, S. Li, Y. Wang, L. Li, C. Su, H. Liu, F. Zhu, R. Jiang, G. Ouyang, *Anal. Chim. Acta* 829 (2014) 22–27.
- [26] Z. Gao, W. Li, B. Liu, F. Liang, H. He, S. Yang, C. Sun, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 6285–6291.
- [27] F. Zhao, M. Wang, Y. Ma, B. Zeng, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 387–391.
- [28] J. Feng, M. Sun, L. Li, X. Wang, H. Duan, C. Luo, *Talanta* 123 (2014) 18–24.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [29] C. Zhang, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1344 (2014) 15–22.
- [30] A.M. Shearrow, G.A. Harris, L. Fang, P.K. Sekhar, L.T. Nguyen, E.B. Turner, S. Bhansali, A. Malik, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 5449–5458.
- [31] T.D. Ho, B.R. Toledo, L.W. Hantao, J.L. Anderson, *Anal. Chim. Acta* 843 (2014) 18–26.
- [32] M.D. Joshi, T.D. Ho, W.T.S. Cole, J.L. Anderson, *Talanta* 118 (2014) 172–179.
- [33] J.L. Anderson, D.W. Armstrong, *Anal. Chem.* 77 (2005) 6453–6462.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. Retention times of the studied analytes and their reproducibility values under optimum conditions.

Analyte	Retention time (min)	RSD ^a (%)
P	6.46	0.20
2-CP	6.69	0.05
<i>o</i> -Cr	7.34	0.06
<i>p</i> -Cr	7.60	0.08
2,4-DMP	8.42	0.02
4- <i>t</i> -BP	9.94	0.03
Ace	12.1	0.04
Fl	13.3	0.07
4-OP	16.0	0.07
4-CuP	18.1	0.03
4-NP	18.3	0.05
BPA	21.6	0.06

^a relative standard deviation of the retention times (n = 20)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S2. Analytical performance of the liquid injection calibration curves obtained by GC-FID using standard solutions in cyclohexane (except for BPA, which was prepared in dichloromethane), and the same GC liner and chromatographic conditions than those of PIL-based SPME fibers, including the injector temperature (250 °C).

Analyte	Linearity range ^a (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^b)·10 ⁻³	(Intercept ± SD ^b)·10 ⁻⁴	R ^c	(S _{y/x} ^d)·10 ⁻³	LOD ^e (mg·L ⁻¹)	LOQ ^f (mg·L ⁻¹)
P	2 – 30	8.67 ± 0.08	-0.8 ± 0.1	0.9992	3.7	0.47	1.6
2-CP	2 – 30	7.22 ± 0.04	-0.33 ± 0.06	0.9997	1.8	0.56	1.9
<i>o</i> -Cr	4 – 30	14.4 ± 0.1	-0.8 ± 0.1	0.9996	4.3	1.2	3.9
<i>p</i> -Cr	4 – 30	13.9 ± 0.1	-1.4 ± 0.2	0.9992	5.9	1.2	4.1
2,4-DMP	5 – 30	12.59 ± 0.09	-0.8 ± 0.1	0.9995	4.0	1.4	4.5
4- <i>t</i> -BP	2 – 30	13.3 ± 0.1	-0.7 ± 0.2	0.9995	4.6	0.36	1.2
Ace	2 – 30	12.8 ± 0.1	-0.6 ± 0.2	0.9992	5.4	0.38	1.3
Fl	2 – 35	13.4 ± 0.4	-1.7 ± 0.7	0.9910	21	0.36	1.2
4-OP	2 – 30	8.2 ± 0.2	-1.5 ± 0.3	0.9966	6.9	0.59	2.0
4-CuP	3 – 30	5.3 ± 0.1	-1.1 ± 0.2	0.9944	5.7	0.91	3.0
4-NP	2 – 30	8.0 ± 0.2	-1.1 ± 0.3	0.9953	7.8	0.61	2.0
BPA	7 – 30	1.0 ± 0.1	-0.6 ± 0.2	0.9953	1.9	5.0	7.0

^a n = 10 calibration levels (6 for BPA)

^b standard deviation

^c correlation coefficient

^d standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^e limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^f limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S3. Analytical performance of the liquid injection calibration curves obtained by GC-FID using standard solutions in cyclohexane (except for BPA, which was prepared in dichloromethane), and the same GC liner and chromatographic conditions than those of commercial SPME fibers PA and CAR-PDMS, including the injector temperature (300 °C).

Analyte	Linearity range ^a (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^b)·10 ⁻³	(Intercept ± SD ^b)·10 ⁻⁴	R ^c	(S _{y/x} ^d)·10 ⁻³	LOD ^e (mg·L ⁻¹)	LOQ ^f (mg·L ⁻¹)
P	2 – 30	9.13 ± 0.09	-0.7 ± 0.1	0.9992	3.9	0.37	1.2
2-CP	2 – 30	7.89 ± 0.06	-0.5 ± 0.1	0.9994	3.2	0.43	1.4
<i>o</i> -Cr	1 – 30	15.2 ± 0.1	-0.9 ± 0.2	0.9996	4.6	0.21	0.71
<i>p</i> -Cr	1 – 30	15.2 ± 0.2	-1.2 ± 0.2	0.9991	6.9	0.21	0.71
2,4-DMP	2 – 30	13.8 ± 0.1	-1.0 ± 0.2	0.9994	4.8	0.24	0.78
4- <i>t</i> -BP	1 – 30	15.1 ± 0.1	-0.7 ± 0.2	0.9996	4.4	0.35	1.2
Ace	1 – 30	15.3 ± 0.1	-0.6 ± 0.1	0.9997	4.2	0.26	0.87
Fl	2 – 30	15.4 ± 0.1	-1.0 ± 0.2	0.9993	6.1	0.26	0.87
4-OP	2 – 30	10.5 ± 0.2	-1.8 ± 0.3	0.9982	6.4	0.38	1.3
4-CuP	2 – 30	7.9 ± 0.1	-1.1 ± 0.2	0.9972	6.2	0.51	1.7
4-NP	2 – 30	9.8 ± 0.2	-1.3 ± 0.3	0.9971	7.8	0.41	1.4
BPA	7 – 30	2.35 ± 0.08	-1.3 ± 0.2	0.9957	1.9	5.0	7.0

^a n = 10 calibration levels (6 for BPA)

^b standard deviation

^c correlation coefficient

^d standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^e limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^f limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S4. Reproducibility of the liquid injection calibration curves obtained by GC-FID using standard solutions in cyclohexane (except for BPA, which was prepared in dichloromethane), and the same GC liner and chromatographic conditions than those of all SPME experiments.

Analyte	Commercial fibers (PA and CAR-PDMS) (injection temperature: 300 °C)		PIL-based fibers (injection temperature: 250 °C)	
	RSD ^a level 1 ^b (%)	RSD ^a level 2 ^c (%)	RSD ^a level 1 ^b (%)	RSD ^a level 2 ^c (%)
P	0.32	0.87	2.7	0.30
2-CP	0.66	1.2	2.3	0.78
<i>o</i> -Cr	0.30	0.93	1.9	0.45
<i>p</i> -Cr	0.46	1.5	3.6	0.37
2,4-DMP	0.88	1.4	2.8	0.56
4- <i>t</i> -BP	0.35	1.9	2.3	1.1
Ace	1.3	1.2	2.5	0.70
Fl	1.5	1.6	4.4	1.0
4-OP	1.6	2.8	5.4	1.7
4-CuP	1.8	3.2	1.0	1.4
4-NP	2.9	3.4	0.36	1.6
BPA	0.27	3.8	5.4	0.93

^a relative standard deviation (n = 4)

^b concentration level 1: 2 mg·L⁻¹ of each analyte (being of 7 mg·L⁻¹ for BPA)

^c concentration level 2: 17 mg·L⁻¹ of each analyte (being of 25 mg·L⁻¹ for BPA)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S5. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for PA.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
P	0.2 – 1	2.6 ± 0.1	1.1 ± 0.6	0.9953	0.59	30.0	100
2-CP	0.05 – 1	9.4 ± 0.2	-2 ± 1	0.9991	1.66	7.51	25.0
<i>o</i> -Cr	0.05 – 1	8.8 ± 0.2	-2 ± 1	0.9985	1.96	7.55	25.2
<i>p</i> -Cr	0.05 – 1	6.7 ± 0.2	-4 ± 1	0.9978	1.81	7.51	25.0
2,4-DMP	0.05 – 1	18.1 ± 0.5	-5 ± 3	0.9975	5.13	7.51	25.0
4- <i>t</i> -BP	0.01 – 0.5	52 ± 1	-4 ± 3	0.9983	5.88	1.50	5.00
Ace	0.005 – 0.1	415 ± 13	-2 ± 8	0.9971	12.8	0.75	2.50
Fl	0.005 – 0.1	512 ± 14	-6 ± 9	0.9976	14.2	0.75	2.50
4-OP	0.005 – 0.1	448 ± 14	-17 ± 8	0.9975	13.4	0.75	2.50
4-CuP	0.005 – 0.1	144 ± 2	-1.9 ± 0.9	0.9998	1.45	0.75	2.50
4-NP	0.005 – 0.1	383 ± 9	-8 ± 5	0.9989	7.41	0.75	2.50
BPA	0.05 – 1.0	41 ± 2	-16 ± 9	0.9965	14.2	7.51	25.0

^a standard deviation of slope and intercept, for n = 7 calibrations levels

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S6. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for CAR-PDMS.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
P	0.1 – 0.8	12.5 ± 0.5	12 ± 3	0.9956	2.79	29.7	99.1
2-CP	0.01 – 0.9	63.4 ± 0.9	6 ± 4	0.9994	7.87	1.50	5.01
<i>o</i> -Cr	0.01 – 0.9	42.6 ± 0.9	10 ± 5	0.9987	8.24	1.51	5.03
<i>p</i> -Cr	0.01 – 0.9	31.1 ± 0.6	-2 ± 3	0.9988	5.71	1.50	5.00
2,4-DMP	0.005 – 0.4	59 ± 9	1 ± 2	0.9993	3.52	0.75	2.50
4- <i>t</i> -BP	0.005 – 0.4	76 ± 2	6 ± 3	0.9985	6.61	0.75	2.50
Ace	0.005 – 0.3	234 ± 10	11 ± 16	0.9960	27.0	0.75	2.50
Fl	0.005 – 0.3	129 ± 4	-3 ± 6	0.9972	11.4	0.75	2.50
4-OP	0.02 – 0.09	162 ± 4	-29 ± 2	0.9987	2.30	3.00	10.0
4-CuP	0.02 – 0.08	80 ± 4	-4 ± 2	0.9963	1.89	3.00	10.0
4-NP	0.02 – 0.1	95 ± 2	-18 ± 1	0.9989	1.23	3.00	10.0

^a standard deviation of slope and intercept, for n = 7 calibrations levels^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S6. Analytical performance of the calibration curves obtained by the optimized DI-SPME-GC-FID method for CAR-PDMS.

Analyte	Linearity range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
P	0.1 – 0.8	12.5 ± 0.5	12 ± 3	0.9956	2.79	29.7	99.1
2-CP	0.01 – 0.9	63.4 ± 0.9	6 ± 4	0.9994	7.87	1.50	5.01
<i>o</i> -Cr	0.01 – 0.9	42.6 ± 0.9	10 ± 5	0.9987	8.24	1.51	5.03
<i>p</i> -Cr	0.01 – 0.9	31.1 ± 0.6	-2 ± 3	0.9988	5.71	1.50	5.00
2,4-DMP	0.005 – 0.4	59 ± 9	1 ± 2	0.9993	3.52	0.75	2.50
4- <i>t</i> -BP	0.005 – 0.4	76 ± 2	6 ± 3	0.9985	6.61	0.75	2.50
Ace	0.005 – 0.3	234 ± 10	11 ± 16	0.9960	27.0	0.75	2.50
Fl	0.005 – 0.3	129 ± 4	-3 ± 6	0.9972	11.4	0.75	2.50
4-OP	0.02 – 0.09	162 ± 4	-29 ± 2	0.9987	2.30	3.00	10.0
4-CuP	0.02 – 0.08	80 ± 4	-4 ± 2	0.9963	1.89	3.00	10.0
4-NP	0.02 – 0.1	95 ± 2	-18 ± 1	0.9989	1.23	3.00	10.0

^a standard deviation of slope and intercept, for n = 7 calibrations levels

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S7. Analytical sensitivity of the optimum DI-SPME-GC-FID method with all tested fibers.

Analyte	Analytical sensitivity ^a (L·mg ⁻¹)					
	PA	CAR-PDMS	PIL-0-1	PIL-0-0	PIL-1-1	PIL-MWCNTs
P	19.2	44.9	n.e. ^b	n.e. ^b	n.e. ^b	44.6
2-CP	56.4	80.7	53.8	n.e. ^b	16.1	17.4
<i>o</i> -Cr	44.9	51.7	63.2	n.e. ^b	33.5	46.9
<i>p</i> -Cr	37.1	54.4	219	n.e. ^b	65.3	29.4
2,4-DMP	35.4	169	32.3	n.e. ^b	70.6	29.1
4- <i>t</i> -BP	87.6	115	119	36.3	75.6	78.6
Ace	323	86.6	79.8	57.8	122	155
Fl	360	113	108	101	85.8	88.4
4-OP	335	704	563	295	331	180
4-CuP	993	422	294	445	352	353
4-NP	517	773	197	313	128	266
BPA	19.2	n.e. ^b	119	43.4	29.8	n.e. ^b

^a analytical sensitivity, calculated as the ratio between the slope of the calibration curve and $S_{y/x}$

^b non-extracted by the DI-SPME method under the selected conditions

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

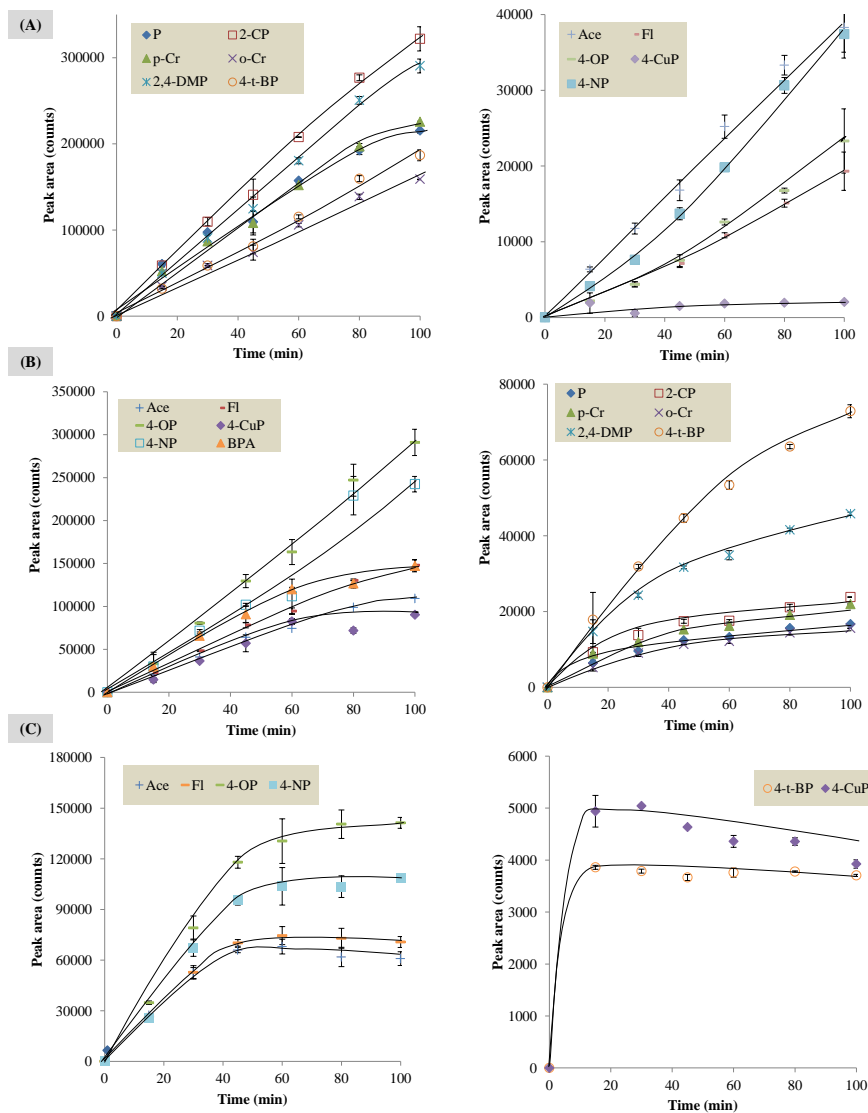
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. Time extraction profiles for all analytes obtained via DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-0-0 (D), PIL-0-1 (E) and PIL-MWCNTs (F). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. Analytes non-detected were not represented in the figure. The extraction temperature was kept at 30 °C, and 10 min as desorption time.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

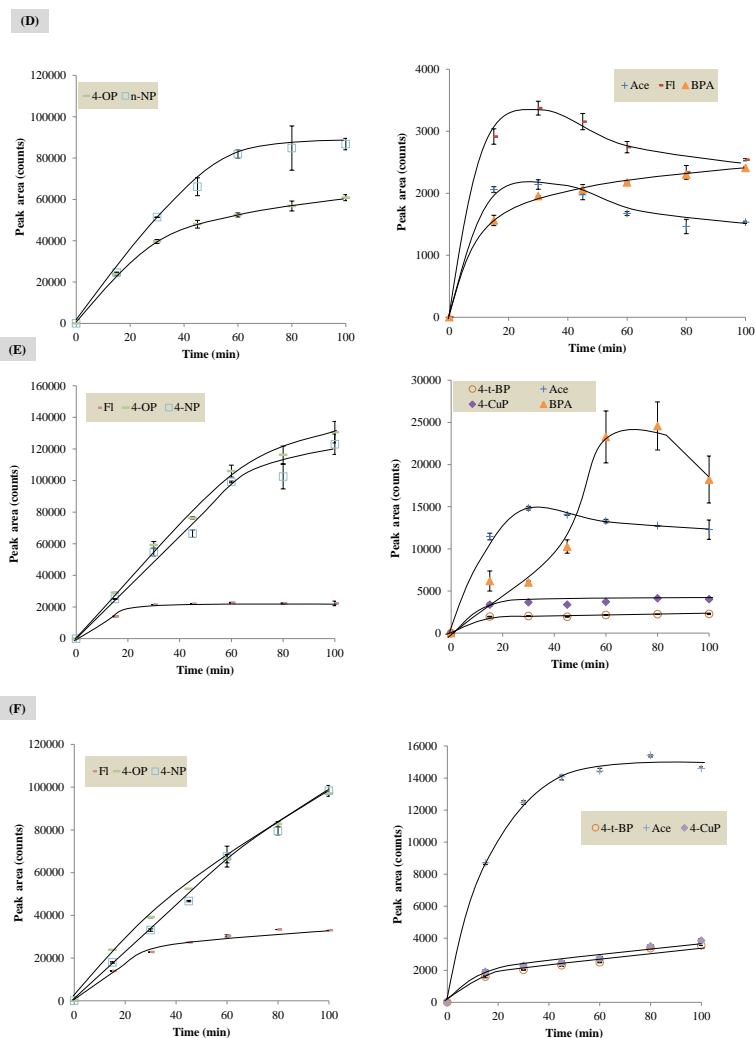
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. (continued) Time extraction profiles for all analytes obtained via DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-0-0 (D), PIL-0-1 (E) and PIL-MWCNTs (F). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. Analytes non-detected were not represented in the figure. The extraction temperature was kept at 30 °C, and 10 min as desorption time.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

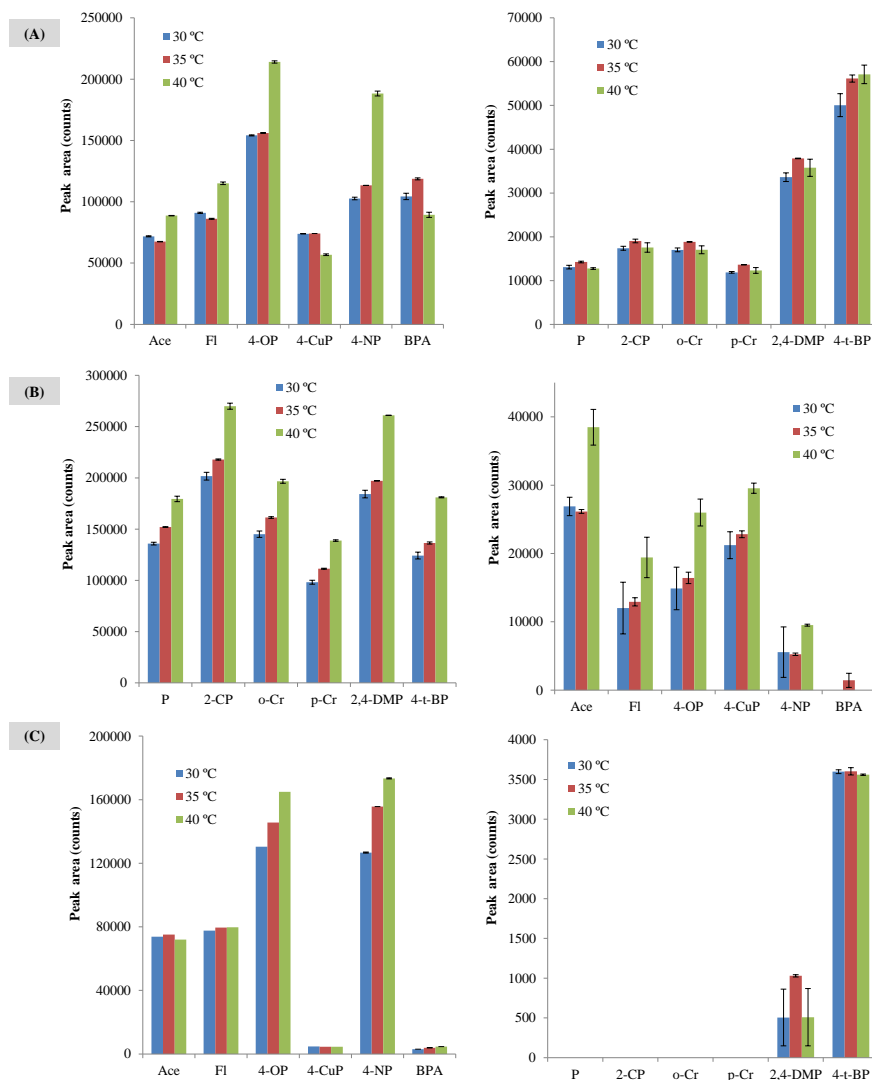
ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. Temperature extraction profiles obtained by DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-1-1 (D), PIL-0-0 (E), PIL-0-1 (F) and PIL-MWCNTs (G). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. The extraction time was kept at 60 min, and 10 min for desorption time.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. (continued) Temperature extraction profiles obtained by DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-1-1 (D), PIL-0-0 (E), PIL-0-1 (F) and PIL-MWCNTs (G). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. The extraction time was kept at 60 min, and 10 min for desorption time.

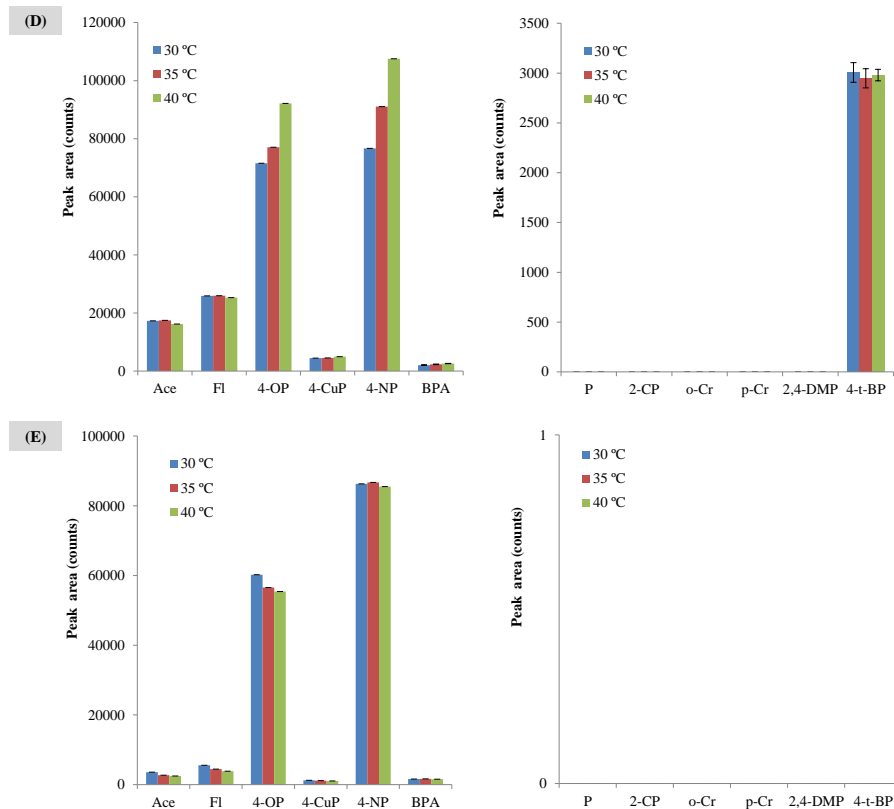


Figure S2. (continued) Temperature extraction profiles obtained by DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-1-1 (D), PIL-0-0 (E), PIL-0-1 (F) and PIL-MWCNTs (G). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. The extraction time was kept at 60 min, and 10 min for desorption time.

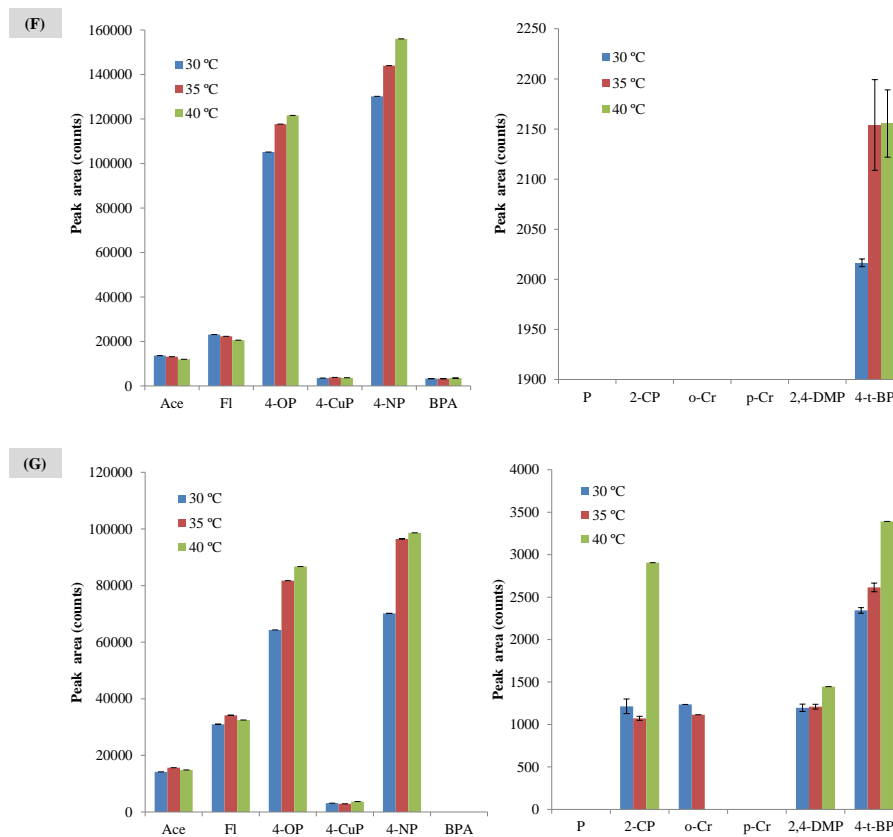
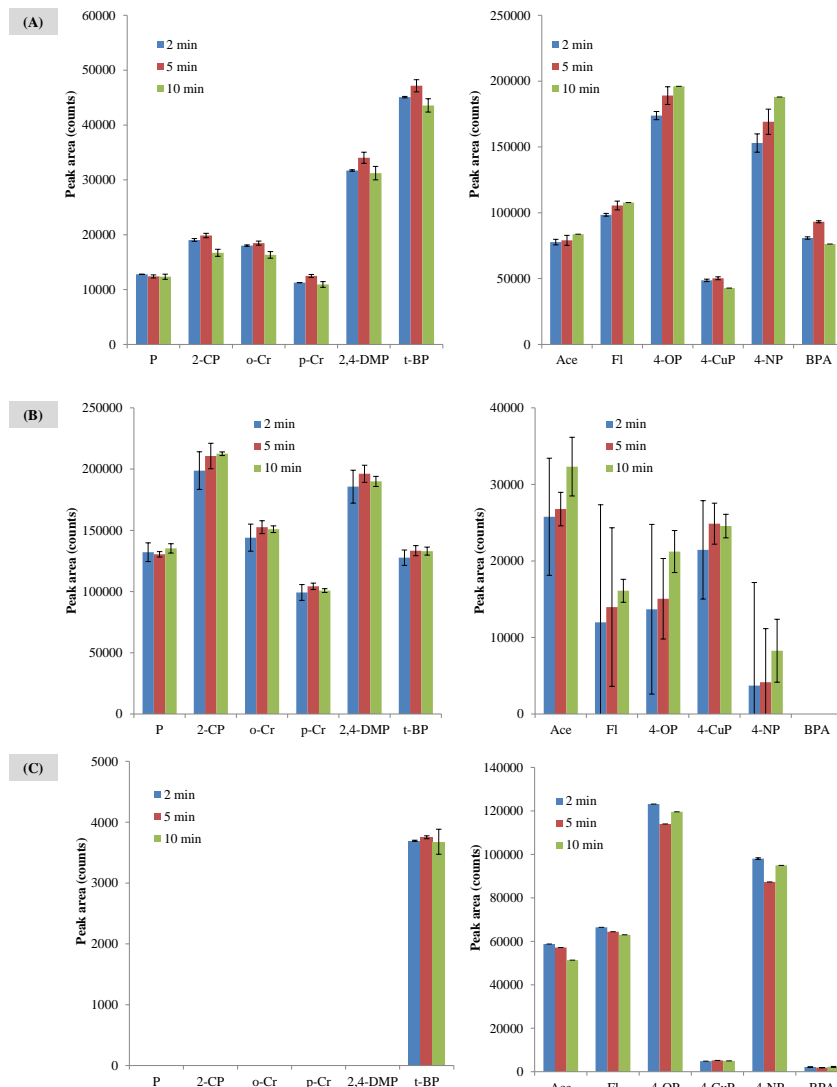


Figure S3. Time desorption profiles obtained by DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-1-1 (D), PIL-0-0 (E), PIL-0-1 (F) and PIL-MWCNTs (G). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. Extraction temperature and extraction time were fixed at 35 °C and 60 min, respectively.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

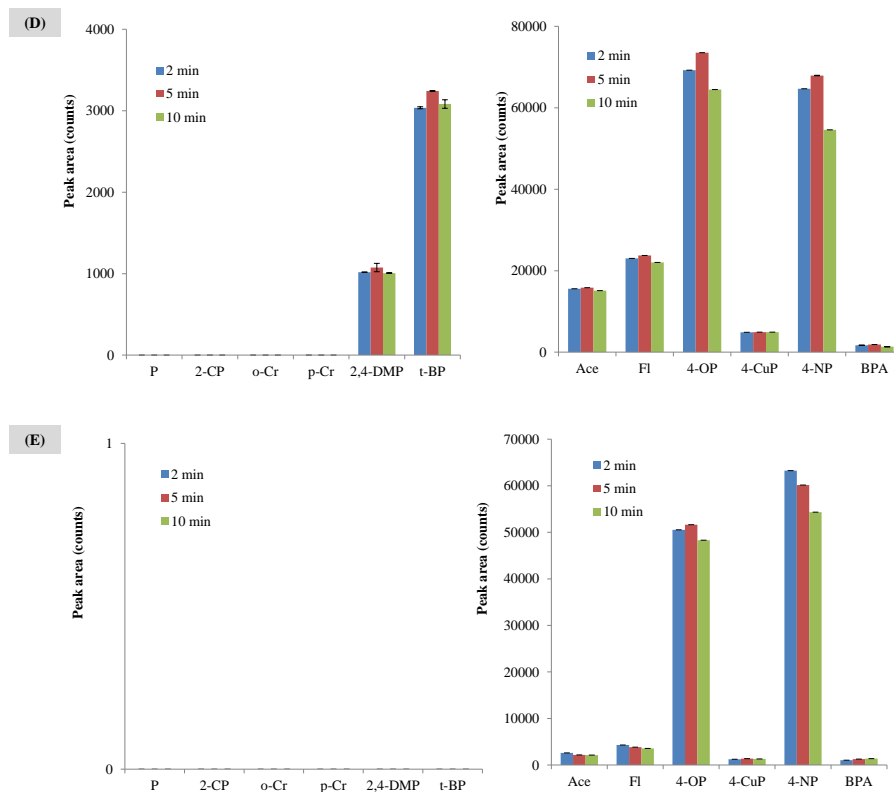
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S3. (continued) Time desorption profiles obtained by DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-1-1 (D), PIL-0-0 (E), PIL-0-1 (F) and PIL-MWCNTs (G). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. Extraction temperature and extraction time were fixed at 35 °C and 60 min, respectively.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

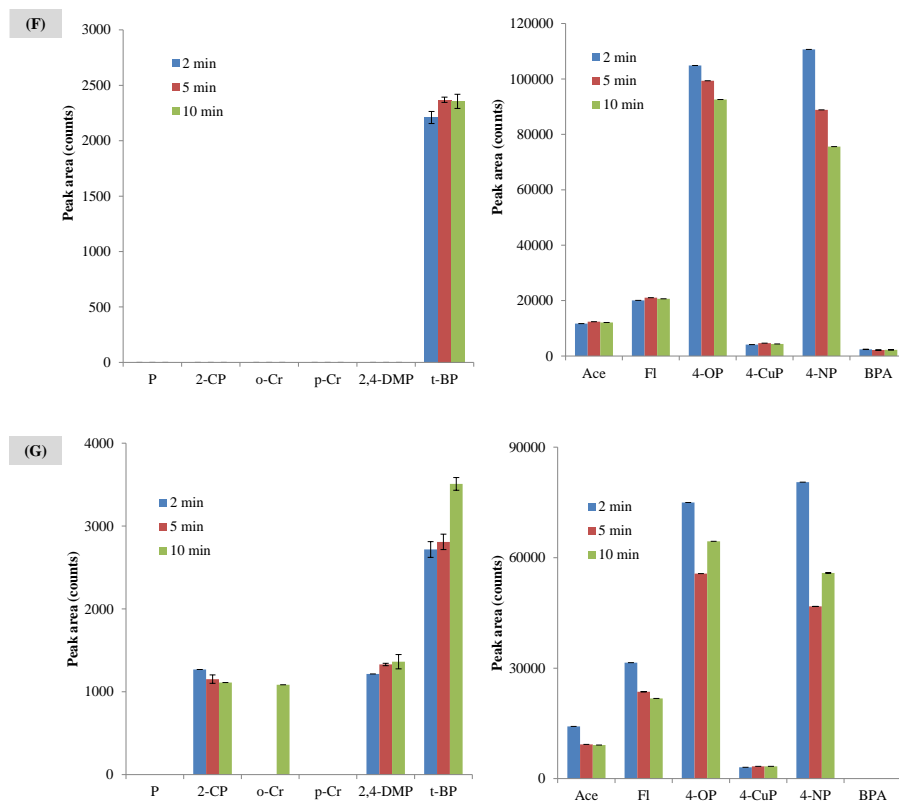
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S3. (continued) Time desorption profiles obtained by DI-SPME-GC-FID with CAR-PDMS (A), PA (B), PDMS (C), PIL-1-1 (D), PIL-0-0 (E), PIL-0-1 (F) and PIL-MWCNTs (G). Analytes with the highest sensitivities are plotted on the left, whereas analytes with the lowest sensitivities are represented on the right. Extraction temperature and extraction time were fixed at 35 °C and 60 min, respectively.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. Representative chromatograms obtained by DI-SPME-GC-FID under optimized conditions for PIL-based SPME fibers PIL-1-1 (A), PIL-0-0 (B), PIL-0-1 (C) and PIL-MWCNTs (D). The concentration of the analytes in the aqueous solution was 1.3 mg·L⁻¹ for P, 2-CP, *o*-Cr, *p*-Cr, 2,4-DMP and BPA, 0.5 mg·L⁻¹ for 4-*t*-BP, Ace and Fl, and 0.1 mg·L⁻¹ for 4-OP, 4-CuP and 4-NP.

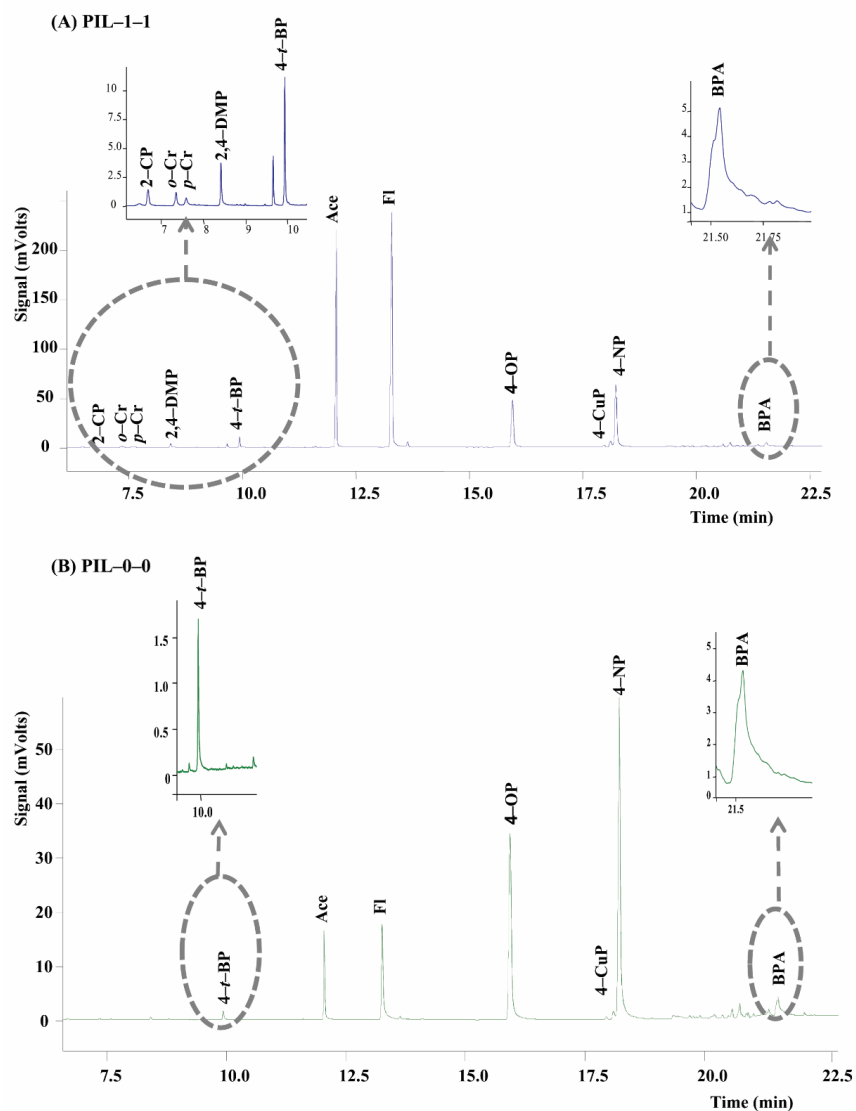
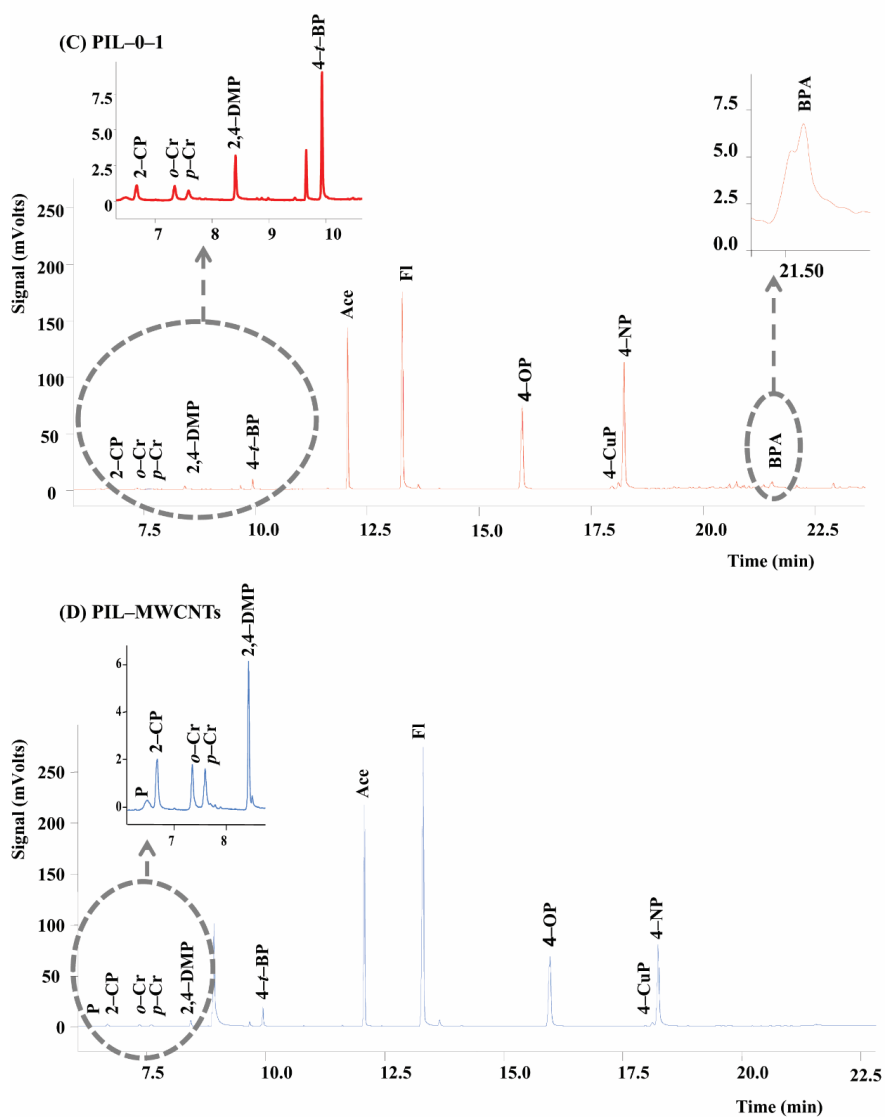


Figure S4. (continued) Representative chromatograms obtained by DI-SPME-GC-FID under optimized conditions for PIL-based SPME fibers PIL-1-1 (A), PIL-0-0 (B), PIL-0-1 (C) and PIL-MWCNTs (D). The concentration of the analytes in the aqueous solution was 1.3 mg·L⁻¹ for P, 2-CP, *o*-Cr, *p*-Cr, 2,4-DMP and BPA, 0.5 mg·L⁻¹ for 4-*t*-BP, Ace and FI, and 0.1 mg·L⁻¹ for 4-OP, 4-CuP and 4-NP.





Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section IV.3

Vacuum-assisted headspace-solid phase microextraction for determining volatile free fatty acids and phenols. Investigations on the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system

Analytica Chimica Acta 962 (2017) 41–51

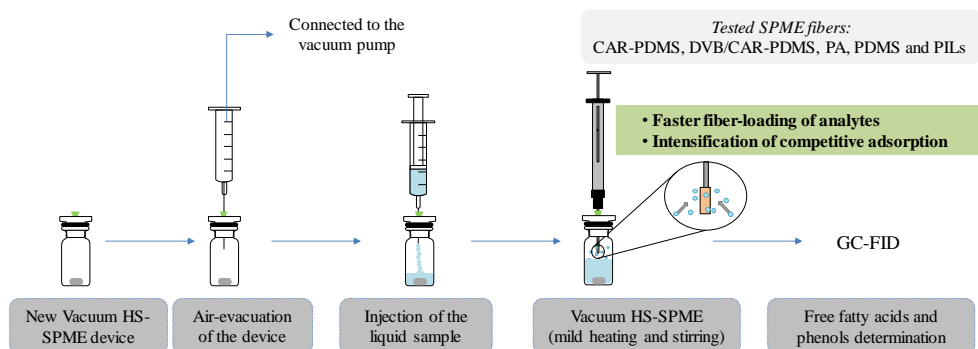
María J. Trujillo-Rodríguez¹, Verónica Pino^{*1}, Eleftheria Psillakis^{*2}, Jared L. Anderson³, Juan H. Ayala¹, Evangelia Yiantzi², Ana M. Afonso¹

¹Departamento de Química (Unidad Departamental de Química Analítica), Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

²Laboratory of Aquatic Chemistry, School of Environmental Engineering, Technical University of Crete (TUC), Polytechniopolis, GR-73100 Chania-Crete, Greece

³Department of Chemistry, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

This work proposes a new vacuum headspace solid-phase microextraction (vacuum HS-SPME) method combined to gas chromatography-flame ionization detection for the determination of free fatty acids (FFAs) and phenols. All target analytes of the multicomponent solution were volatiles but their low Henry's Law constants rendered them amenable to vacuum HS-SPME. The ability of a new and easy to construct vacuum HS-SPME sampler to maintain low-pressure conditions for extended sampling times was concurrently demonstrated. vacuum HS-SPME and regular HS-SPME methods were independently optimized and the results were compared at all times. The performances of four commercial SPME fibers and two polymeric ionic liquid (PIL)-based SPME fibers were evaluated and the best overall results were obtained with the adsorbent-type CAR-PDMS fiber. For the concentrations used here, competitive displacement became more intense for the smaller and more volatile analytes of the multicomponent solution when lowering the sampling pressure. The extraction time profiles showed that vacuum HS-SPME had a dramatic positive effect on extraction kinetics. The local maxima of adsorbed analytes recorded with vacuum HS-SPME occurred faster, but were always lower than that with regular HS-SPME due to the faster analyte-loading from the multicomponent solution. Increasing the sampling temperature during vacuum HS-SPME reduced the extraction efficiency of smaller analytes due to the enhancement in water molecule collisions with the fiber. This effect was not recorded for the larger phenolic compounds. Based on the optimum values selected, vacuum HS-SPME required a shorter extraction time and milder sampling conditions than regular HS-SPME: 20 min and 35 °C for vacuum HS-SPME *versus* 40 min and 45 °C for regular HS-SPME. The performance of the optimized Vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures were assessed and vacuum HS-SPME method proved to be more sensitive, with lower limits of detection (from 0.14 to 13 µg·L⁻¹), and better intra-day precision (relative standard deviations values <10% at the lowest spiked level) than regular HS-SPME for almost all target analytes. The proposed vacuum HS-SPME method was successfully applied to quantify FFAs and phenols in milk and milk derivatives samples.

Keywords

headspace solid-phase microextraction, vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction, gas chromatography, volatile free fatty acids, phenols, milk samples.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

A number of methods exist for the analysis of food aroma, typically involving a preconcentration step prior to gas chromatographic (GC) analysis [1,2]. Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) is currently the method of choice, having the inherent advantages of eliminating organic solvent consumption, combining extraction and preconcentration into one step and high enrichment factors [3-5]. SPME sampling from the headspace above the sample is a multi-stage process with analytes partitioning between the sample, headspace and fiber [6]. Volatile analytes typically possess high Henry's Law constant (K_H) values and are extracted faster than less volatile analytes or compounds with lower K_H values, since transfer of the latter from the sample into the headspace is a rate-limiting step [7,8]. The extraction kinetics for these compounds can be accelerated by applying agitation, ensuring a large sample/headspace interface [8,9], increasing the sampling temperature [10,11], adopting the cold fiber HS-SPME approach [12,13], or lowering the sampling pressure.

The positive effect of low-pressure conditions on HS-SPME extraction kinetics was first reported for the extraction of headspace volatiles from aqueous standards and raw turkey meat homogenates [14]. In 2012, aqueous samples were introduced for the first time into pre-evacuated sample containers followed by HS-SPME sampling and the resulting method was termed vacuum-assisted HS-SPME (vacuum HS-SPME). According to the theory, non-equilibrium vacuum HS-SPME can be particularly beneficial for compounds with a K_H value close or below the reported threshold value for low K_H compounds, since mass transfer resistance for these analytes is concentrated in the gas-phase [7]. At equilibrium, the theory predicts that vacuum HS-SPME will behave similarly to regular HS-SPME, since the final amount of analyte extracted by the fiber is not affected by the sampling pressure conditions [7]. The majority of past vacuum HS-SPME investigations focused on the extraction of semi-volatile compounds with low K_H values where lowering the sampling pressure was typically reported to yield high extraction efficiencies and very good sensitivities within short sampling times and at mild sampling temperatures compared to regular non-equilibrium HS-SPME sampling [7,8,15-20]. Volatile analytes were also studied in the past, though the results were not related to the K_H values of the target analytes [14,21]. In these studies, HS-SPME sampling at low pressure conditions yielded a notable improvement in HS-SPME sensitivity and, depending on the matrix, increased the number of identified matrix components [14,21].

For vacuum HS-SPME, ensuring constant low-pressure conditions throughout sampling is critical. To this end, considerable research efforts have been placed on designing and testing

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

new gas-tight samplers ranging in size and number of available gas-tight ports [8,15-17,21]. Recently, we proposed a new experimental setup consisting of a specially designed O-ring seal screw cap offering gas-tight seal to commercial headspace vials. With this sampler, all operations were performed through a single port (air evacuation of the sampler, sample introduction and HS-SPME sampling) [17]. Here, we report an alternative version of this device that maintains all key-features but is easier to construct since it does not require molding by a manufacturer. The device consists of a commercial crimp-top glass vial and a crimp-top Mininert® valve that was in-house modified to overcome the problems of high leak rates under low pressure conditions we reported in the past for the original valve [17].

A new vacuum HS-SPME method combined to GC-flame ionization detection (GC-FID) is proposed here and used as a tool for milk (and milk derivatives) analysis. The aroma of milk and milk derivatives is the result of the presence of a high number of volatile and semi-volatile compounds. Among them, short- and medium-chain free fatty acids (FFAs) are important compounds of the volatile fraction. They are primarily formed in milk and dairy products by the enzymatic breakdown of glycerides and have strong sensory properties rendering them important compounds in the flavor and aroma [22]. Moreover, short-chain FFAs act as precursors of other important aroma components such as methylketones, alcohols, phenols, aldehydes, and esters [1,22]. Important sources of these compounds are milks with a high fat content, such as goat milk [22]. Phenols are another interesting group of compounds, with recognized antioxidant activity [23]. They consist of thermal degradation or microbial decomposition products of phenolic acids detected in food and contribute to their flavor [2]. The multicomponent mixture considered in this study consisted of seven FFAs and four phenols, most of which were previously monitored by regular HS-SPME in cheese-related studies [11,22]. All target phenols were also monitored in milk and dairy products [11,24].

A comprehensive comparative study between vacuum HS-SPME and regular HS-SPME was carried out. The ability of the new vacuum HS-SPME sampler to maintain low-pressure conditions for extended sampling times was concurrently demonstrated. The performance of four commercial SPME fibers and two polymeric ionic liquid (PIL)-based SPME fibers was evaluated. Different experimental parameters (salt content, GC desorption time, extraction time and temperature) were also controlled and optimized under each pressure condition. The results were compared and discussed on the basis of previous theoretical and experimental findings, thereby advancing existing fundamental knowledge related to SPME. Finally, the performance of the optimized vacuum HS-SPME and regular HS-SPME methods were assessed and real

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

milk and milk derivative samples were analyzed with vacuum HS-SPME to evaluate the applicability of the method.

2. Experimental

2.1. Chemicals, materials, and samples

Guaiacol (2-methoxyphenol, 2-MOP, 98.0%) and eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol, 4-Al-2-MOP, 99.0%) were supplied by Fluka (Buchs, Switzerland). Phenol (Ph, 99.0%) was purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and 2-ethylphenol (2-EP, 99.5%) was obtained from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Ausburg, Germany). Individual solutions of phenols at 2000 mg·L⁻¹ in acetonitrile (≥99.9%) were supplied by VWR International Eurolab S.L. (Barcelona, Spain).

The standard mix ref. 46975-U of volatile FFAs was obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA) and contained 10 mmol·L⁻¹ of *iso*-butyric acid (*i*-C₄), *n*-butyric acid (*n*-C₄), *iso*-valeric acid (*i*-C₅), *n*-valeric acid (*n*-C₅), *iso*-hexanoic acid (*i*-C₆), *n*-hexanoic acid (*n*-C₆), and *n*-heptanoic acid (*n*-C₇) in water. Three intermediate solutions were prepared for extractions: an aqueous solution of FFAs each at a concentration of 1.2 mmol·L⁻¹, obtained by dilution of the standard mix of FFAs; and two intermediate solutions containing each phenol (2-MOP, Ph, 2-EP and 4-Al-2-MOP) at a concentration level of 300 mg·L⁻¹ and 10 mg·L⁻¹ respectively, obtained by dilution of the individual solutions in acetonitrile. All solutions were stored at 4 °C. All aqueous solutions used for extraction were prepared by dilution of the intermediate solutions in ultrapure water, keeping the total content of acetonitrile at 0.33 % (v/v). Ultrapure water (18.2 MΩ·cm) was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Watford, UK). NaCl (≥99.5%) and acetonitrile (≥99%) were obtained from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). During method optimization all experiments were carried out using aqueous solutions at a concentration level of 0.022 mmol·L⁻¹ for each FFA (*i.e.* 0.19 mg·L⁻¹ for *i*-C₄ and *n*-C₄, 0.22 mg·L⁻¹ for *i*-C₅ and *n*-C₅, 0.26 mg·L⁻¹ for *n*-C₆, and 0.29 mg·L⁻¹ for *n*-C₇) and 1 mg·L⁻¹ for each phenol. The calibration curves of HS-SPME-GC-FID and vacuum HS-SPME-GC-FID methods were obtained using aqueous solutions with concentrations ranging between 0.005 to 14 mg·L⁻¹ for the analytes tested.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Four commercial SPME fibers and two PIL-based SPME fibers were used here. The commercial SPME fibers of 1 cm of length were: carboxen-polydimethylsiloxane (CAR-PDMS, 75 μm of film thickness), divinylbenzene/carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR-PDMS, 50/30 μm of film thickness), polydimethylsiloxane (PDMS, 100 μm of film thickness) and polyacrylate (PA, 85 μm of film thickness). They were obtained from Supelco. Two different crosslinked PIL-based SPME fibers of 1.3 cm of length, termed as PIL-1 and PIL-2, were prepared. The crosslinked PILs were covalently attached to derivatized nickel-titanium wires using the spin-coating method proposed by Cagliero *et al.* [25] and included onto the Supelco assembly. PIL-1 (~40 μm of film thickness) was composed by the IL monomer 1-hexadecyl-3-vinylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide (C₁₆Vim-NTf₂) and the dicationic IL crosslinker 1,12-di(3-vinylimidazolium)dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ((ViIm)₂C₁₂-2NTf₂), whereas PIL-2 (~35 μm of film thickness) was developed using the IL monomer 1-hexadecyl-3-vinylbenzylimidazolium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide (C₁₆VBim-NTf₂) and the dicationic IL crosslinker 1,12-di(3-vinylbenzylimidazolium)dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide ((ViBIm)₂C₁₂-2NTf₂). All IL monomers and crosslinkers were synthesized and fully characterized following previous procedures [10,26-29].

The raw goat milk sample was obtained from a local farmer in Tenerife (Spain) and was stored at 4 °C. A liquid yogurt (with fruits flavor) was obtained at a local supermarket (Tenerife) and was also stored at 4 °C until analysis. Prior extraction, the salinity of each sample was measured using a CM Crison conductimeter from Crison Instruments SA (Barcelona, Spain). Assuming that the salt content in the samples was due to the presence of NaCl, the total content of salt on both samples was then adjusted to 25% (w/v) by dissolving the appropriate amount of NaCl. The organic content was also adjusted to 0.33% (v/v) by adding acetonitrile, so as to mimic the conditions utilized with the calibration curves.

2.2. Modification of the crimp-top Mininert® valve

Figure 1 shows in detail the new device consisting of an in-house modified crimp-top Mininert® valve (Sigma-Aldrich) and a 10 mL crimp-top glass vial. The Mininert® valve was modified at the Laboratory of Aquatic Chemistry, School of Environmental Engineering, Technical University of Crete and the top part (push/pull button and septum) of the crimp-top Mininert® valve was removed and a hole was drilled that could tightly accommodate a cylindrical Thermogreen® LB-1 septum with half-hole (6 mm diameter × 9 mm length;

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Supelco). To ensure leak-tight seal to the vial, an O-ring with a 10 mm internal diameter was also fitted in the lower part of the modified valve.

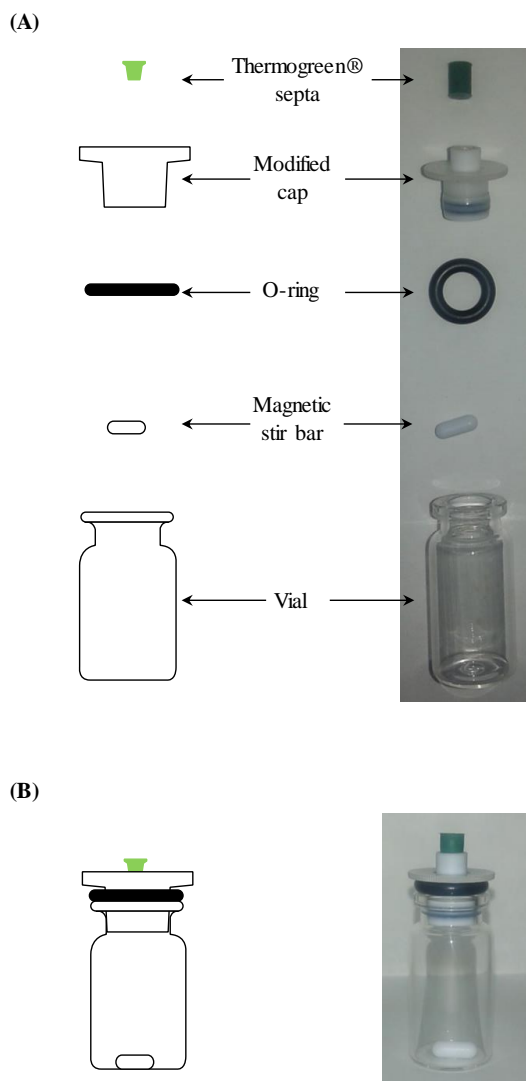


Figure 1. Schematic representation and image of each of the parts of the novel device for vacuum HS-SPME (A), and of the assembled device (B).

2.3. Vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures

For vacuum HS-SPME, the air inside the sampling device containing a magnetic polytetrafluoroethylene (PTFE) stir bar (15 mm × 4.5 mm; Sigma-Aldrich) was evacuated prior introducing the aqueous sample. To achieve this, the barrel of a 5 mL plastic medical syringe equipped with a detachable 22 gauge hypodermic needle was tightly secured to the tubing of a VP 2 Autovac pumping unit with vacuum and speed control (7 mbar ultimate vacuum without gas ballast) manufactured by Vacuubrand (Wertheim, Germany). The needle was then inserted through the septum and the device was air-evacuated for 1.5 min. A 5 mL of aqueous sample containing target analytes and a set amount of NaCl was introduced in the device through the septum using the gastight syringe and the sampler was then placed on a magnetic stir plate (RCT basic IKA-Werke, Staufen, Germany) and a Selecta P heating bath (Barcelona, Spain). The needle of the SPME fiber/holder assembly (Supelco) was introduced into the device by piercing the septum and HS-SPME sampling was performed for a preset period of time and temperature and under a 400 rpm agitation speed. The fiber was then retracted and transferred for thermal desorption to a GC-FID. The sample container was emptied and cleaned after piercing the septum with a disposable syringe needle so as to equilibrate the pressure with atmospheric. The septum was changed after 5 extractions to prevent losses of vacuum inside the vial due to successive piercings. Each experiment was repeated in triplicate (n = 3).

The vacuum HS-SPME procedure under optimum conditions for milk and milk derivatives requires the use of the CAR-PDMS fiber, 25% (w/v) of NaCl, 20 min of extraction at 35 °C, and 2 min GC desorption time at 280 °C.

For regular HS-SPME, sampling was performed using the 10 mL vials and caps and PTFE/butyl septa supplied by Supelco. The procedure was similar to that used for vacuum HS-SPME, the only difference being that the step of air evacuation was omitted. Each experiment was repeated in triplicate (n = 3).

The HS-SPME procedure under optimum conditions requires the use of the CAR-PDMS fiber, 25% (w/v) of NaCl, 40 min of extraction at 45 °C, and 2 min GC desorption time at 280 °C.

2.4. GC-FID analysis

A Varian 450 model CP-3800 GC-FID was used. The separation was achieved using a CP-FFAP CB column (25 m × 0.32 mm I.D., 0.30 µm of film thickness) from Agilent

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Technologies (Amstelveen, Holland). A flow rate of 1 mL·min⁻¹ of nitrogen (carrier gas) was required for the separation of the analytes. The experiments were performed under *splitless* injection mode, using a straight tapered 0.75 mm ultra-inert inlet liner from Agilent Technologies. Different desorption temperatures were tested to prevent decomposition of the SPME fibers in the injector and 280 °C was the selected desorption temperature for CAR-PDMS, PDMS and PA, 270 °C for DVB/CAR-PDMS, and 250 °C for PIL-based SPME fibers (PIL-1 and PIL-2). The GC oven temperature program was the following: initially isothermal for 2 min at 40 °C, then increased at 20 °C·min⁻¹ up to 100 °C, holding this temperature during 20 min, then increased at 5 °C·min⁻¹ up to 165 °C, and finally increased at 25 °C·min⁻¹ up to 240 °C, holding this temperature during 2 min. The temperature of the FID was kept at 280 °C, using an air flow of 300 mL·min⁻¹, a make-up flow of nitrogen of 30 mL·min⁻¹, and a hydrogen flow of 30 mL·min⁻¹.

3. Results and discussion

The main physico-chemical properties of the seven FFAs and four phenols considered here are given in Table S1 of the Annex Material. The high vapor pressures combined with the high water solubility values resulted in K_H values below the threshold for low K_H compounds ($\sim 1.2 \cdot 10^{-5}$ atm m³ mol⁻¹). Accordingly, air evacuating the sample container prior to HS-SPME was expected to improve evaporation rates and accelerate non-equilibrium HS-SPME sampling when compared to regular HS-SPME.

3.1. Optimization of vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures

The first objective of the present study was to optimize HS-SPME under vacuum and regular pressure conditions using a factor-by-factor approach. All optimization studies were performed using aqueous solutions because of the aqueous nature of milk and milk derivatives. The results obtained during optimization studies were also used to discuss and evaluate the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system when sampling with porous SPME fibers.

Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

3.1.1. Vacuum HS-SPME and regular HS-SPME sampling using commercial and PIL-based SPME fibers

Four commercial coatings (CAR-PDMS, DVB/CAR-PDMS, PDMS and PA) and two PIL-based SPME fibers (PIL-1 and PIL-2) were evaluated for vacuum HS-SPME and regular HS-SPME sampling of multicomponent solutions. At this evaluation stage, extraction time was set at 30 min and sampling temperature at 40 °C to ensure that a sufficient amount of analytes would be extracted under each pressure condition. A 25% NaCl (w/v) content was also selected to favor transfer of the analytes from the sample solution to the headspace and a 6 min-long GC desorption time was applied to prevent *carry-over* effects.

Figure S1 of the Annex Material shows the extraction efficiencies of each fiber obtained with Vac- and regular HS-SPME, expressed as chromatographic analyte peak areas. As seen, reducing the sampling pressure generally improved extraction kinetics and the best overall results were obtained with vacuum HS-SPME sampling whilst using the CAR-PDMS fiber.

A more detailed analysis of the results shows that under each pressure condition, CAR-PDMS and DVB/CAR-PDMS yielded the most intense signals compared to the rest of the fibers, confirming the strong adsorbing ability of Carboxen porous material [14,30-32]. A comparison of the vacuum HS-SPME/HS-SPME peak area ratios obtained with CAR-PDMS or DVB/CAR-PDMS (Table 1), showed that for each fiber, reducing the sampling pressure improved the extraction of the less volatile analytes and the best improvement was recorded for 4-AI-2-MOP, the least volatile analyte tested here. For the more volatile *i*-C₄, *n*-C₄ and *i*-C₅, lowering the total pressure in the headspace did not improve extraction when sampling with CAR-PDMS, as vacuum HS-SPME/HS-SPME peak area ratios were close to 1 (Table 1). In the case of the DVB/CAR-PDMS coating, these peak area ratios were below 1 indicating decreased mass loading under vacuum conditions (Table 1). In one of our previous reports [1], *i*-C₄, *n*-C₄ and *i*-C₅ reached an equilibrium level during HS-SPME sampling with CAR-PDMS faster than *n*-C₅ and longer chain FFAs. We also reported that prolonged sampling times resulted in decreased extraction efficiencies for these three analytes [1], pointing towards competitive adsorption and displacement [10]. The design of DVB/CAR-PDMS allows larger analytes to interact with the outer DVB layer and small analytes to diffuse relatively fast through the DVB layer so as to reach the inner Carboxen layer [31,32]. Assuming Carboxen as the predominant adsorptive phase for these three small analytes, saturation and consequent inter-analyte competitive adsorption from the Carboxen coating is likely to occur faster in DVB/CAR-PDMS than in CAR-PDMS due to the smaller Carboxen phase thickness (30 and

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 1. Changes in extraction efficiency expressed as vacuum HS-SPME/HS-SPME peak area ratios for the four commercial and two PIL-based SPME fibers upon reducing the total pressure. Experimental conditions (n = 3): 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol; 30 min extraction time; 40 °C sampling temperature; 400 rpm agitation rate; 6 min GC desorption time at 280 °C. Experiments using vacuum HS-SPME and regular HS-SPME were performed using these conditions.

Analyte	CAR-PDMS	DVB/CAR-PDMS	PA	PDMS	PIL 1	PIL 2
<i>i</i> -C ₄	0.9	0.6	1.7	1.0	0.7	0.6
<i>n</i> -C ₄	1.1	0.8	0.9	1.2	0.7	0.8
<i>i</i> -C ₅	0.9	0.6	1.2	0.8	0.8	0.8
<i>n</i> -C ₅	1.5	1.2	1.2	0.7	0.8	0.8
<i>i</i> -C ₆	1.4	1.2	1.2	0.8	0.9	1.0
<i>n</i> -C ₆	2.2	1.7	1.3	0.8	1.0	1.1
2-MOP	3.1	2.1	1.2	1.0	1.0	1.1
<i>n</i> -C ₇	3.0	2.7	1.6	0.8	1.1	1.2
Ph	3.0	2.0	1.3	0.9	0.9	1.0
2-EP	2.8	2.3	1.6	0.9	1.0	1.1
4-Al-2-MOP	4.1	3.9	1.8	1.1	1.4	1.3

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

75 µm coating thickness respectively) and as such less active sites available for adsorption [32]. Here, reducing the sampling pressure accelerated the extraction kinetics of *i*-C₄, *n*-C₄ and *i*-C₅ and enhanced their headspace concentrations. Therefore, it was assumed that saturation and consequent analyte displacement in the DVB/CAR-PDMS fiber occurred faster under vacuum compared to atmospheric pressure conditions, thus explaining the relative decrease in mass loading upon reducing the sampling pressure. The assumption of competitive displacement and the ability of smaller FFAs to reach fast an equilibrium level on a CAR-PDMS layer under each pressure condition will be further supported and discussed in a latter section dealing with the effect of extraction time on Vac- and regular HS-SPME sampling.

Figure S1 of the Annex Material also shows that the rest of the fibers tested here exhibited low extraction efficiencies under both pressure conditions. The commercially available PA and PDMS fibers are absorbent-type phases where non-competitive partitioning is the extraction mechanism, as opposed to the competitive extraction observed in the proximity of saturation conditions for adsorbent coatings [30,34]. Moreover, a previous report investigating the extraction mechanism of various classes of PIL-based coatings concluded that analytes are extracted via a non-competitive partitioning mechanism regardless of the extent of crosslinking [35]. The beneficial effect of reduced pressure conditions on pre-equilibrium HS-SPME sampling of low K_H compounds using commercial absorbent-type phases has been demonstrated in the past [7,8,15]. In addition, the theoretical prediction that the final amount of analyte extracted at equilibrium by the SPME fiber is not affected by the sampling pressure has been experimentally verified in all cases where the fiber acted as a zero sink for target analytes [15].

A closer investigation of the effect of pressure on the absorbent-type phases (Table 1) showed that for the moderately polar PA, the presence of an air-evacuated headspace yielded enhancements up to 1.8 times compared to atmospheric pressure (for 30 min extractions at 40 °C and 400 rpm). The only exception was *n*-C₄ where the vacuum HS-SPME/HS-SPME peak area ratio was close to 1 presumably because this analyte was close to equilibrium under each pressure condition. As expected [30,36], the PA absorbent coating improved extraction under each pressure condition compared to the non-polar PDMS phase which exhibited the lowest affinity for all target analytes compared to the rest of tested fibers (Figure S1 of the Annex Material). For the latter, there was also no enhancement in extraction efficiencies upon reducing the sampling pressure, possibly indicating that 30 min of sampling at 40 °C and 400 rpm were sufficient to attain equilibrium conditions under each pressure condition (Table 1). The

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

extraction efficiencies obtained with PIL-1 fiber were found higher than those obtained with PIL-2 and PDMS. Under each pressure condition, PIL-1 was also found to improve the extraction of most target FFAs when compared to PA. vacuum HS-SPME sampling using the PIL-based SPME fibers only improved the extraction of 4-Al-2-MOP. For the rest, vacuum HS-SPME/HS-SPME peak area ratios were close to 1 for a 30 min sampling time and in some extreme cases (*i*-C₄, *n*-C₄, *i*-C₅ and *n*-C₅) these ratios were below 1 (Table 1). Increasing the sampling temperature during vacuum HS-SPME analysis of water samples was reported to gradually decrease mass loading of analytes for commercial absorbent-type fibers SPME fibers due to the increased humidity in the headspace. At the same time, higher extraction temperatures were previously reported to decrease extraction efficiencies of PIL-based SPME fibers during regular HS-SPME [11]. Although the present findings point towards an adverse effect of humidity on the characteristics of the PIL-based SPME fibers tested here when sampling under a low sampling pressure, the limited experimental data available did not permit an absolute conclusion to be made. This line of inquiry is out of the scope of the present work; however, it is acknowledged that the observed phenomenon merits more investigations.

Based on the results obtained here, it was decided to use the CAR-PDMS fiber for both Vac- and regular HS-SPME.

3.1.2. Effect of salt and GC desorption time

Adding salt into the aqueous sample was previously reported to increase the amount of target analytes extracted with regular HS-SPME due to the salting out effect [1,37,38]. Here, the effect of salt on Vac- and regular HS-SPME sampling was investigated within the concentration range 0–25% w/v NaCl. The results, depicted in Figure S2 of the Annex Material, showed that adding salt had a positive effect on the extraction of almost all target analytes under each sampling pressure condition. The only exception was *i*-C₄ where an unexpected and important decrease in signal was recorded with vacuum HS-SPME when increasing the ionic strength of the aqueous solution (Figure S2(B) of the Annex Material). It was assumed that this signal decrease was the result of competitive displacement by the increased amount(s) of other analyte(s) present in the multicomponent mixture having a higher affinity for the adsorbent. Such competition effects were expected to be more intense during vacuum HS-SPME, since saturation and competitive displacement for *i*-C₄ was expected to occur faster due to the substantial increase of analytes' headspace concentrations in the presence of an air-evaluated headspace and high salt solutions. This is the first time a negative effect of salt is reported for

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

the HS-SPME sampling of *i*-C₄. In all previous FFA studies, phenols were not included [1,38], highlighting the importance of studying multicomponent solutions when using an adsorbent-type coating phase.

A side point to note is that a signal decrease with increased salt content was not recorded for *n*-C₄, demonstrating that molecular mass alone is insufficient to explain the ability of an adsorbent to retain analytes. It has been suggested that the strength of an adsorbent to retain analytes is irreversibly proportional to analyte size, and branching in *i*-C₄ results into a smaller size as well as hinders interactions with the adsorbent phase when compared to *n*-C₄ [30]. Another report, suggested that next to molecular weight, vapor pressure could also be considered to explain the competitive extraction by the CAR-PDMS fiber [34] and, to this end, *i*-C₄ has a lower vapor pressure than *n*-C₄ (Table S1 of the Annex Material). Overall, based on the results obtained here, the optimum salt content value was set at 25% (w/v) NaCl for both pressure conditions.

Next, the GC desorption time was evaluated within the range 2–6 min and the results are given in Figure S3 of the Annex Material. As seen, 2 min were sufficient for desorbing all target analytes extracted with Vac- or regular HS-SPME sampling. Longer desorption times did not result in significant changes in extraction efficiency. Moreover, *carry over* effects were not recorded with 2 min of desorption. Thus, this value was selected as optimum for both Vac- and regular HS-SPME.

3.1.3. Effect of extraction time

Figure 2 shows three typical extraction time profiles (*n*-C₅, *n*-C₇ and 4-Al-2-MOP) obtained with Vac- and regular HS-SPME. The extraction time profiles of the rest of the target analytes can be found in Figure S4 of the Annex Material. At all times, the sampling temperature was set at 45 °C to enhance mass transfer and investigate in more depth analyte behavior in multicomponent solutions. The results showed that with vacuum HS-SPME the presence of an air-evacuated headspace had a dramatic effect on extraction kinetics compared to regular HS-SPME as all analytes reached an equilibrium level within the sampling times tested. In particular, with vacuum HS-SPME, uptake of most FFAs increased with sampling time before reaching a maximum at 20 min. For *n*-C₇, 40 min were required to attain equilibrium level, which was somewhat expected based on the physico-chemical properties of this analyte. At the same time, almost all phenols reached a maximum within approximately 40 min of

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

sampling. The only exception was the least volatile and more hydrophobic 4-Al-2-MOP where approximately 80 min were needed. For regular HS-SPME, longer sampling times were necessary to attain, whenever possible, an equilibrium level. In particular, *i*-C₄ and *i*-C₅ reached a maximum after sampling the headspace for 40 min. The rest of FFAs reached an equilibrium level at 60 min or even 80 min in the case of *n*-C₆. The only exception was *n*-C₇ where the amount of extracted analyte continued to increase with increasing sampling times. In the case of phenolic compounds, regular HS-SPME sampling times as long as 100 min were not sufficient for reaching an equilibrium level.

In accordance with our previous report [1], a decrease in adsorbed analyte with time was recorded after reaching an adsorption maximum, indicating that competition and displacement of low molecular weight analytes took place. This observation was more obvious with vacuum HS-SPME since all target analytes reached a maximum fast, leaving enough time within the time frame tested to record signal decreases. An important point to note here is that for those analytes that reached an equilibrium level under both pressure conditions within the time frame tested (*i*-C₄, *n*-C₄, *i*-C₅, *n*-C₅, *i*-C₆, and *n*-C₆), the local maximum of adsorbed analyte with vacuum HS-SPME occurred faster but was always lower than that with regular HS-SPME. This indicates that the adsorption process is even more competitive under vacuum conditions and lower amounts of these analytes are adsorbed because loading of the rest becomes also fast. A similar observation was reported in the past whilst investigating the effect of air velocity during air sampling with porous SPME fibers [33]. In this study, the extraction time profiles of toluene at different air velocities showed a local maximum that occurred faster and was lower when increasing air velocity. The authors concluded that at higher air velocities, the thickness of the boundary layer was smaller resulting in an adsorption process that was even more competitive due to the faster loading of other analytes present in the gas mixture. The present findings extend the existing fundamental knowledge related to sampling/sample preparation with SPME and corroborate the use of short sampling times with porous SPME coatings when sampling under reduced pressure conditions so as to minimize the effect of competitive adsorption. Moreover, they provide further evidence that conferring about reaching equilibrium is not appropriate when using Carboxen fibers [39].

Based on the results obtained here, a 20 min sampling was selected as the optimum extraction time for vacuum HS-SPME and 40 min for regular HS-SPME with the purpose to reduce the extraction time.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

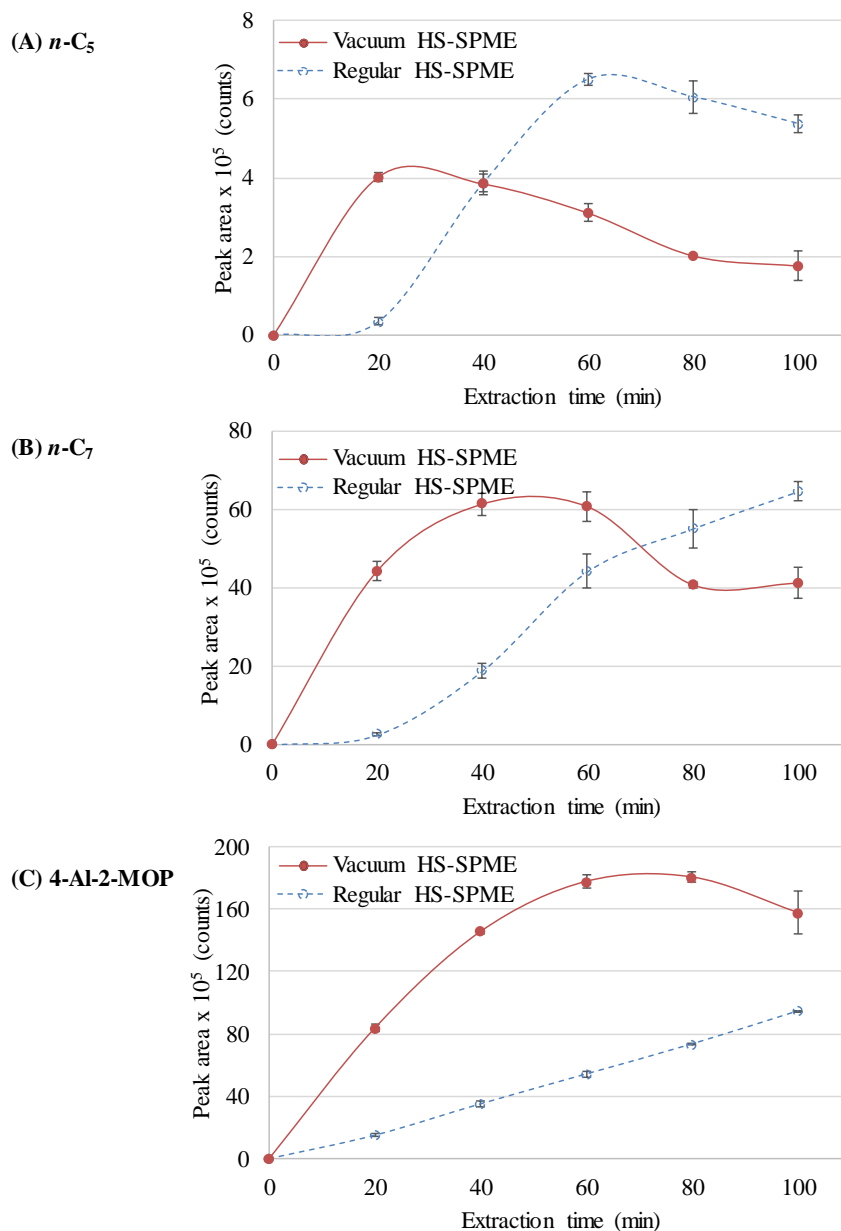


Figure 2. Extraction time profiles for $n\text{-C}_5$, $n\text{-C}_7$ and 4-Al-2-MOP obtained (i) under reduced (Vacuum HS-SPME; filled symbols) and (ii) atmospheric (Regular HS-SPME; open symbols) pressure conditions. Other experimental conditions: CAR-PDMS fiber; 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol; 45 °C sampling temperature; 400 rpm agitation rate; 2 min GC desorption time at 280 °C.

3.1.4. Effect of sampling temperature

Sampling temperature was recognized as one of the most important parameters in regular HS-SPME sampling with liquid or porous solid SPME coatings [33]. Hitherto, the positive effects of pressure and temperature on vacuum HS-SPME could be combined only when sampling dry soil sample *i.e.* in the absence of water [20]. For vacuum HS-SPME, sampling of aqueous samples or solid samples containing water as a modifier at higher extraction temperatures was found to change the fiber's characteristics and decrease extraction efficiencies. The adverse effect of temperature on vacuum HS-SPME was recorded whilst using different liquid and porous SPME coatings (other than CAR-PDMS) for the extraction of semi-volatile analytes [15,17,18,20], though the effect was more pronounced when using adsorbent-rather than adsorbent-type SPME fibers [17].

Here, the effect of sampling temperature on vacuum HS-SPME and regular HS-SPME was investigated using the optimum extraction time found for each pressure condition. The results, given in Figure 3, revealed that with the exception of *i*-C₄, the extraction efficiencies of FFAs increased when heating the sample up to an optimum temperature and then signals decreased for a further increase in temperature. The optimum temperatures recorded were 25 °C for *i*-C₄, *i*-C₅ and ~30 °C for *n*-C₄, 35 °C for *n*-C₅ and *i*-C₆ and 45 °C for *n*-C₆ and ~45 °C for *i*-C₇. For regular HS-SPME (Figure 3) maximum extraction efficiencies for free fatty acids were obtained at a higher sampling temperature, namely 35 °C for *i*-C₄ and 45 °C for the rest.

Increasing the temperature increases the vapor pressure of water and as such the amount of water present in the headspace. To this end, water molecules were previously reported to compete with other volatile molecules and occupy a portion of active sites on the adsorbent coating surface, leaving fewer sites available for volatiles to adsorb [33]. During vacuum HS-SPME sampling at a given temperature, we have postulated that the fiber coating will uptake gas molecules much faster relative to regular HS-SPME, since the portion of molecules in an air-evacuated headspace colliding with the fiber will be much larger than that in the presence of air [15]. This enhancement in water molecule collisions when reducing the sampling pressure may result in fewer binding sites available for FFAs and the effect will be more pronounced when heating the sample (*i.e.* increasing the amount of water molecules in the headspace), thus explaining the lower optimum temperature values recorded for FFAs with vacuum HS-SPME compared to regular HS-SPME sampling.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

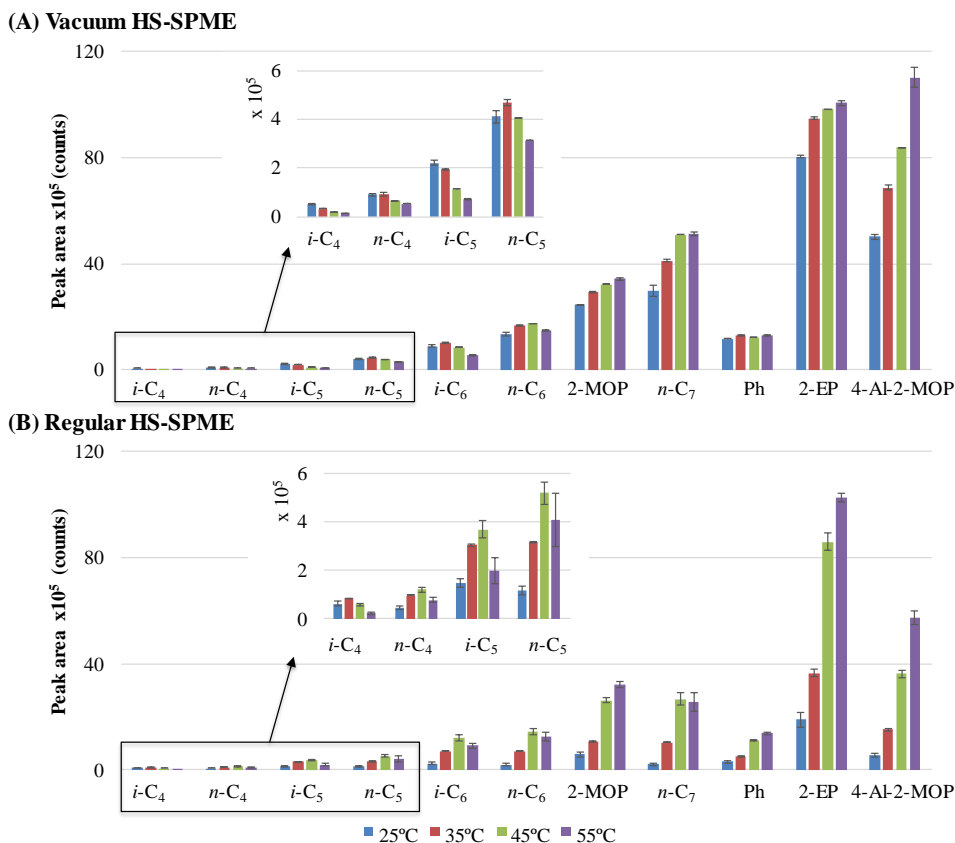


Figure 3. Extraction temperature profiles obtained under (A) reduced (Vacuum HS-SPME) and (B) atmospheric (Regular HS-SPME) pressure conditions. Other experimental conditions (n = 3): CAR-PDMS fiber; 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol; 40 min extraction time; 400 rpm agitation rate; 2 min GC desorption at 280 °C.

Regarding phenols, the majority of peak areas recorded after vacuum HS-SPME or regular HS-SPME sampling increased with increasing temperature. This is the first experimental evidence of the positive combined effect of reduced pressure and temperature on HS-SPME sampling from water samples, and demonstrates the strong adsorbent ability of CAR-PDMS for these analytes. The only exception was Ph where signals obtained with vacuum HS-SPME remained more or less the same when heating the sample. For the 20 min vacuum HS-SPME sampling time used here and for temperatures at least up to 45 °C, Ph is expected to

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

be in a pre-equilibrium stage. Moreover, Ph is the second smallest analyte investigated here and is therefore expected to compete for active sites that can retain small FFAs and water molecules. It was therefore assumed that two opposite effects were taking place and although heating the sample under vacuum conditions increased the pre-equilibrium amount of Ph in the headspace, Ph molecules also had to compete with an increasing amount of water molecules for the same active surface sites.

Based on the above discussion, 35 °C was selected as the optimum sampling temperature for vacuum HS-SPME and 45 °C for regular HS-SPME, representing compromise temperatures for the extraction of both FFAs and phenols.

3.1.5. Analytical implications of the optimum conditions found for vacuum HS-SPME and regular HS-SPME

Table 2 summarizes the optimum values selected for both vacuum HS-SPME and regular HS-SPME whilst using the CAR-PDMS fiber and highlights the advantages of using the vacuum HS-SPME approach. To help better understand the benefits of sampling under reduced pressure conditions, a new series of experiments was carried out representing two different sets of extraction conditions under each pressure condition (denoted as conditions (i) and (ii) in Figure 4), where the “Optimum HS-SPME” and “Optimum vacuum HS-SPME” bars in Figure 4 refer to experiments performed using the optimum conditions found earlier for regular HS-SPME and vacuum HS-SPME. The “Non-optimum HS-SPME” bars in the figure refer to experiments carried out under the optimum conditions found for vacuum HS-SPME, and the *vice versa* applies for the “Non-optimum vacuum HS-SPME” bars. Figure 4 clearly shows that vacuum HS-SPME under optimum conditions yielded the highest extraction efficiencies for all analytes, as peak areas were 1.8 to 28 times higher than those obtained with regular HS-SPME under optimum conditions. Even under non-optimum conditions, vacuum HS-SPME sampling yielded extraction efficiencies that were higher or similar to those obtained with optimum HS-SPME. As expected, regular HS-SPME under the mild optimum conditions found for vacuum HS-SPME (“Non-optimum HS-SPME” bars) yielded the lowest extraction efficiencies found here. This comparison highlights the great benefits of sampling low K_H compounds under low pressure conditions, since adopting the vacuum HS-SPME approach results in faster and more sensitive methods that eliminate the need of heating the sample at higher temperatures.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Summary of the optimum values selected for Regular HS-SPME and Vacuum HS-SPME whilst using CAR-PDMS. The sample agitation speed was 400 rpm and the GC desorption temperature 280 °C.

Factor	Studied range	Optimum value	
		Regular HS-SPME	Vacuum HS-SPME
NaCl content (% w/v)	0–25	25	25
Extraction time (min)	20–100	40	20
Extraction temperature (°C)	25–55	45	35
Desorption time (min)	2–6	2	2

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

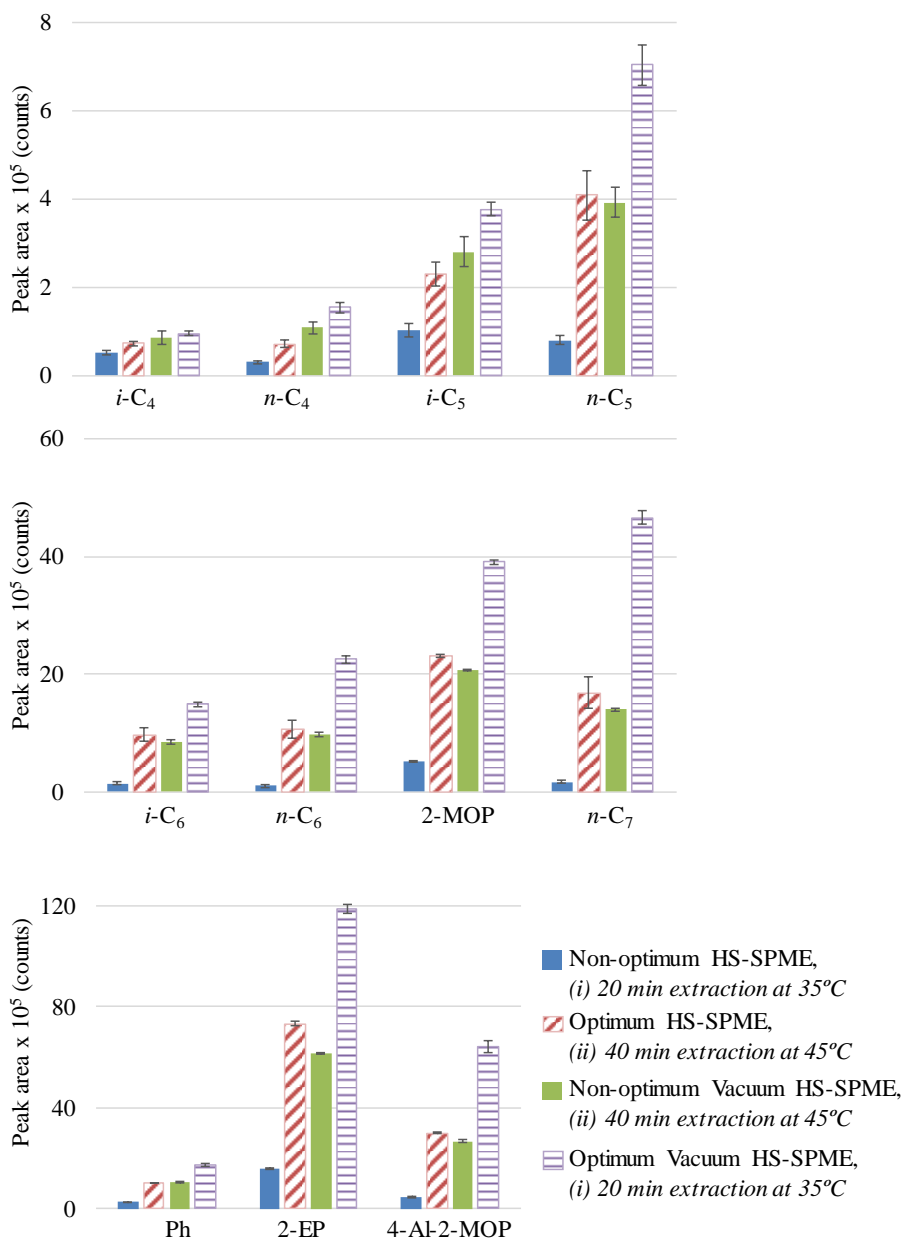


Figure 4. Extraction efficiency, expressed as chromatographic peak area of each analyte, obtained performing experiments at two different conditions (termed as (i) and (ii)) using both HS-SPME and vacuum HS-SPME with CAR-PDMS. Other experimental conditions ($n = 3$): 5 mL ultrapure water containing 25% (w/w) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol, 400 rpm agitation rate, 2 min GC desorption at 280 °C.

3.2. Analytical performance of the optimized vacuum HS-SPME and regular HS-SPME procedures

The analytical performances of the two optimized procedures were evaluated and the main quality analytical parameters are given in Table 3. As seen, the obtained calibrations curves had a wide linearity range, and correlation coefficients (R) ranged from 0.991 to 0.999 with regular HS-SPME-GC-FID, and from 0.990 to 0.999 with vacuum HS-SPME-GC-FID. Furthermore, the sensitivity of the methods, expressed as the slopes of the calibration curves, ranged from $(0.14 \pm 0.01) \times 10^6$ for *n*-C₄ to $(2.37 \pm 0.04) \times 10^6$ for 2-MOP with regular HS-SPME and from $(0.12 \pm 0.01) \times 10^6$ for *i*-C₄ and *n*-C₄ to $(9.8 \pm 0.2) \times 10^6$ for 2-EP with vacuum HS-SPME. For most analytes, sensitivity was higher with vacuum HS-SPME and the only exceptions were the more volatile *i*-C₄, *n*-C₄ and *i*-C₅, for which sensitivity was similar with both methods. The limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) were estimated as three and ten times the signal-to-noise ratio, respectively, and were verified by performing extractions at those levels. Table 3 shows that for almost all target analytes, lower LOD and LOQ values could be obtained with the proposed vacuum HS-SPME procedure.

Table 4 shows the results on intra-day precision study for both methods, estimated as the relative standard deviation (RSD) at two different spiked levels (n = 3). For the low spiking level, the obtained RSD values ranged from 1.4% for Ph to 9.0% for *i*-C₄ when using HS-SPME sampling, and between 0.3% for 2-EP to 10% for *n*-C₇ for vacuum HS-SPME. It is noteworthy that with vacuum HS-SPME lower RSD values were obtained for almost all target analytes.

3.3. Analysis of milk and milk derivatives samples using vacuum HS-SPME

The applicability of the vacuum HS-SPME method to the analysis of milk samples was evaluated by analyzing raw goat milk and a milk derivative (a liquid yogurt with fruits flavor), and at optimum vacuum HS-SPME conditions (see Table 2). Figure 5 depicts representative chromatograms obtained for the analysis of each sample and Table 5 includes the estimated values of FFAs and phenols in each sample. 2-EP was not detected in any of the samples, while *i*-C₄ and 4-Al-2-MOP were not detected in the liquid yogurt. 2-MOP and Ph were detected but not quantified in the goat milk, whereas *i*-C₆ and 2-MOP were detected but not quantified in the liquid yogurt. For the remaining analytes, the obtained values ranged between 0.1 ± 0.2 mg·L⁻¹ for *i*-C₄ and 4.7 ± 0.4 mg·L⁻¹ for *n*-C₄ when goat milk was analyzed,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 3. Analytical performance of the optimized Regular HS-SPME and Vacuum HS-SPME procedures using CAR-PDMS (n = 7 calibration levels).

Analyte	Regular HS-SPME method with CAR-PDMS						Vacuum HS-SPME method with CAR-PDMS					
	Calibration range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁶	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻⁶	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)	Calibration range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁶	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻⁶	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^d (µg·L ⁻¹)
<i>i</i> -C ₄	0.4 – 5.8	0.147 ± 0.005	0.997	0.02	18	61	0.1 – 5.7	0.12 ± 0.01	0.994	0.03	13	43
<i>n</i> -C ₄	0.6 – 7.6	0.14 ± 0.01	0.991	0.07	19	62	0.6 – 5.7	0.12 ± 0.01	0.990	0.04	13	44
<i>i</i> -C ₅	0.4 – 8.5	0.43 ± 0.01	0.997	0.07	6.0	20	0.1 – 6.6	0.39 ± 0.02	0.994	0.10	4.0	13
<i>n</i> -C ₅	0.7 – 11	0.43 ± 0.02	0.993	0.23	1.7	5.8	0.1 – 6.6	0.53 ± 0.02	0.997	0.10	2.9	9.8
<i>i</i> -C ₆	0.5 – 13	0.81 ± 0.04	0.993	0.47	1.5	4.9	0.1 – 12.6	0.82 ± 0.03	0.994	0.44	1.4	4.5
<i>n</i> -C ₆	0.07 – 12.6	0.98 ± 0.03	0.998	0.34	1.6	5.4	0.1 – 12.6	1.13 ± 0.03	0.998	0.42	1.0	3.3
2-MOP	0.04 – 1.00	2.37 ± 0.04	0.999	0.04	0.68	2.3	0.001 – 1.0	3.4 ± 0.1	0.993	0.15	0.33	1.1
<i>n</i> -C ₇	0.8 – 14	1.66 ± 0.01	0.999	0.18	2.5	8.2	0.1 – 14	2.35 ± 0.09	0.995	1.4	0.27	0.91
Ph	0.005 – 1.00	0.98 ± 0.01	0.999	0.01	4.2	14	0.001 – 1.0	1.28 ± 0.06	0.992	0.07	0.50	1.7
2-EP	0.005 – 1.00	6.9 ± 0.1	0.999	0.06	0.15	0.50	0.001 – 1.0	9.8 ± 0.2	0.998	0.26	0.14	0.46
4-Al-2-MOP	0.005 – 1.00	1.79 ± 0.06	0.996	0.07	0.61	2.0	0.001 – 1.0	2.82 ± 0.05	0.999	0.06	0.44	1.5

^a standard deviation of the slope^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limit of detection, calculated as 3 times the signal-to-noise ratio^e limit of quantification, calculated as 10 times the signal-to-noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 4. Intra-day precision of the proposed Regular HS-SPME and Vacuum HS-SPME procedures.

Analyte	HS-SPME method with CAR-PDMS				Vacuum HS-SPME method with CAR-PDMS			
	Low spiked level		Intermediate spiked level		Low spiked level		Intermediate spiked level	
	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)
<i>i</i> -C ₄	0.86	8.1	3.8	7.7	0.77	3.3	3.8	8.0
<i>n</i> -C ₄	0.86	5.5	3.8	7.9	0.77	3.3	3.8	6.1
<i>i</i> -C ₅	1.0	9.0	4.4	6.3	0.89	1.9	4.4	7.2
<i>n</i> -C ₅	1.0	8.5	4.4	5.4	0.89	2.6	4.4	5.4
<i>i</i> -C ₆	1.1	8.0	5.0	6.7	1.0	3.3	5.0	5.8
<i>n</i> -C ₆	1.1	7.1	5.0	6.4	1.0	2.8	5.0	6.1
2-MOP	0.080	2.7	0.30	3.9	0.060	2.7	0.30	7.0
<i>n</i> -C ₇	1.3	5.3	5.6	9.5	1.1	10	5.6	8.3
Ph	0.080	1.4	0.30	2.9	0.060	3.3	0.30	6.1
2-EP	0.080	2.4	0.30	5.5	0.060	0.3	0.30	7.5
4-Al-2-MOP	0.080	3.0	0.30	8.0	0.060	2.6	0.30	8.9

^a relative standard deviation (n = 3)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

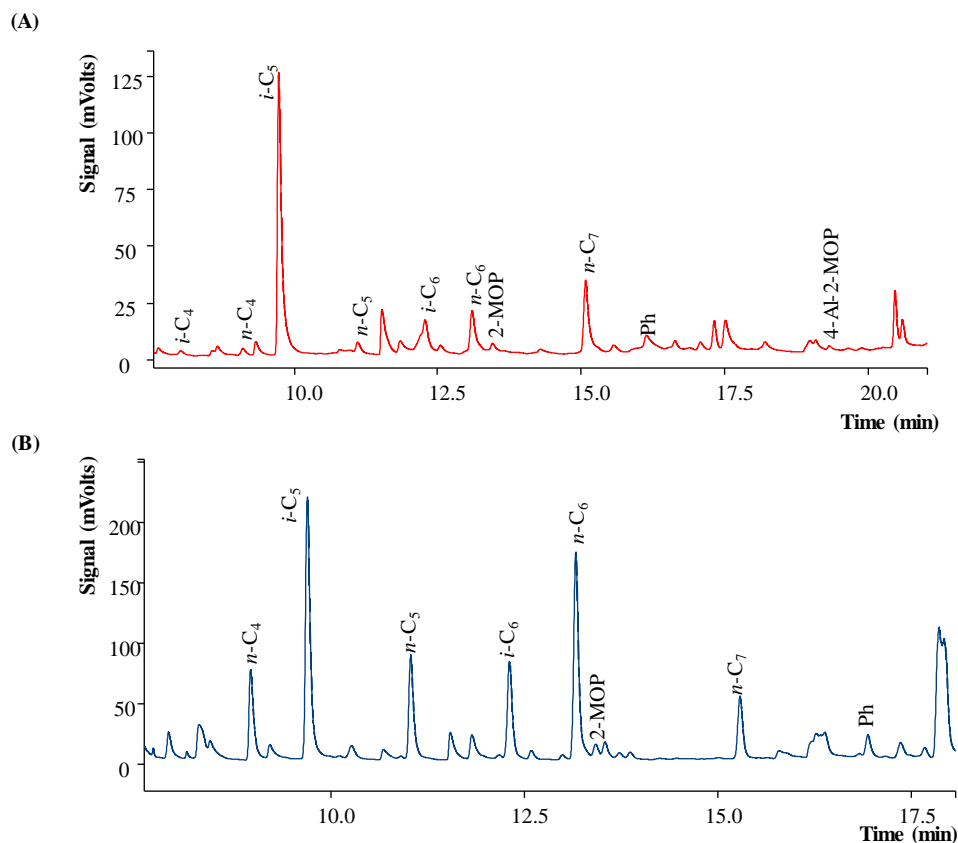


Figure 5. Representative chromatograms obtained after the analysis of (A) goat milk and (B) a milk derivative (liquid yogurt) using the optimum Vacuum HS-SPME-GC-FID method. $0.10 \pm 0.04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-Al-2-MOP to $2.6 \pm 0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for *i*-C₆ when liquid yogurt was analyzed. In the past, Amer *et al.* determined short chain FFAs in raw milk after derivatization and analysis via GC-MS. The obtained values ranged between 1.8 and $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ [40]. Rincón *et al.* also determined FFAs in goat cheese (which normally present higher contents of FFAs), obtaining an average content for the analogue FFAs of $57 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ via multiple HS-SPME-GC-FID, and $78 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ via solid phase extraction (SPE)-GC-FID [1].

Table 5. Analysis of real milk and milk derivative samples using the proposed vacuum HS-SPME method.

Analyte	Concentration found \pm SD ^a (mg·L ⁻¹)	
	Goat milk	Liquid yogurt
<i>i</i> -C ₄	0.1 \pm 0.2	N.D. ^c
<i>n</i> -C ₄	4.7 \pm 0.4	1.5 \pm 0.3
<i>i</i> -C ₅	0.1 \pm 0.2	2.6 \pm 0.2
<i>n</i> -C ₅	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1
<i>i</i> -C ₆	0.1 \pm 0.4	>LOD, <LOQ ^b
<i>n</i> -C ₆	0.1 \pm 0.3	0.3 \pm 0.3
2-MOP	>LOD, <LOQ ^b	>LOD, <LOQ ^b
<i>n</i> -C ₇	0.4 \pm 0.5	0.4 \pm 0.5
Ph	>LOD, <LOQ ^b	0.10 \pm 0.04
2-EP	N.D. ^c	N.D. ^c
4-Al-2-MOP	0.18 \pm 0.02	N.D. ^c

^a standard deviation (n = 3)^b detected but non-quantified^c non-detected

and from 0.10 \pm 0.04 mg·L⁻¹ for 4-Al-2-MOP to 2.6 \pm 0.2 mg·L⁻¹ for *i*-C₆ when liquid yogurt was analyzed. In the past, Amer *et al.* determined short chain FFAs in raw milk after derivatization and analysis via GC-MS. The obtained values ranged between 1.8 and 20 mg·L⁻¹ [40]. Rincón *et al.* also determined FFAs in goat cheese (which normally present higher contents of FFAs), obtaining an average content for the analogue FFAs of 57 mg·kg⁻¹ via multiple HSSPME-GC-FID, and 78 mg·kg⁻¹ via solid phase extraction (SPE)-GC-FID [1].

4. Conclusions

The present study is of particular importance to flavor aroma analysis as it involved a thorough investigation and discussion of extraction conditions for best analyte coverage under low pressure conditions and ultimately results in a fast and sensitive vacuum HS-SPME procedure at a mild sampling temperature. At the concentration levels used here, competitive displacement became more intense for smaller and more volatile analytes when lowering the sampling pressure due to the faster fiber-loading of all analytes present in the multicomponent solution. For practical rapid sampling with adsorbent-type SPME fibers, the appropriate sampling time for which the mass uptake is still linear should be first estimated and used for

vacuum HS-SPME. Further evidence is provided here, that conferring about reaching equilibrium is not appropriate when using Carboxen fibers. The first experimental evidence of the positive combined effect of reduced pressure and temperature on HS-SPME sampling from water samples was recorded for the larger analytes of the multicomponent system, and confirmed the strong adsorbent ability of CAR-PDMS. Increasing the temperature was also assumed to enhance water molecule collisions with the fiber and resulted in fewer binding sites for the smaller and more volatile analytes. Despite the intensification of competitive adsorption phenomena when lowering the sampling pressure, the careful selection of optimum extraction conditions resulted in a vacuum HS-SPME method that was more sensitive and yielded better intra-day precision than regular HS-SPME for almost all target analytes.

Acknowledgements

MJT-R thanks the Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información (ACIISI), co-funded by the European Social Fund, for her FPI PhD fellowship. VP acknowledges funding from the Spanish Ministry of Economy (MINECO) project ref. MAT2014-57465-R. JLA acknowledges funding from the Chemical Measurement and Imaging Program at the National Science Foundation (Grant number CHE-1413199).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] A.A. Rincón, V. Pino, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *Talanta* 129 (2014) 183–190.
- [2] H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, Aroma compounds, in: H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle (Eds.), *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, 2009, pp.340–402.
- [3] E.A. Souza-Silva, R. Jiang, A. Rodríguez-Lafuente, E. Gionfriddo, J. Pawliszyn, *Trends. Anal. Chem.* 71 (2015) 224–235.
- [4] E.A. Souza-Silva, N. Reyes-Garcés, G.A. Gómez-Ríos, E. Boyacı, B. Bojko, J. Pawliszyn, *Trends. Anal. Chem.* 71 (2015) 249–264.
- [5] E.A. Souza-Silva, E. Gionfriddo, J. Pawliszyn, *Trends. Anal. Chem.* 71 (2015) 236–248.
- [6] Z. Zhang, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 65 (1993) 1843–1852.
- [7] E. Psillakis, E. Yiantzi, L. Sanchez-Prado, N. Kalogerakis, *Anal. Chim. Acta* 742 (2012) 30–36.
- [8] E. Psillakis, A. Mousouraki, E. Yiantzi, N. Kalogerakis, *J. Chromatogr. A* 1244 (2012) 55–60.
- [9] J. Ai, *Anal. Chem.* 69 (1997) 1230–1236.
- [10] M. Cordero-Vaca, M.J. Trujillo-Rodríguez, C. Zhang, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 4615–4627.
- [11] M.J. Trujillo-Rodríguez, H. Yu, W.T.S. Cole, T.D. Ho, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, *Talanta* 121 (2014) 153–162.
- [12] E. Carasek, E. Cudjoe, J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. A* 1138 (2007) 10–17.
- [13] J. Merib, G. Nardini, J. Nunes Bianchin, A. Neves Dias, V. Simão, E. Carasek, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 1410–1417.
- [14] N.P. Brunton, D.A. Cronin, F.J. Monahan, *Flavour Frag. J.* 16 (2001) 294–302.
- [15] E. Psillakis, E. Yiantzi, N. Kalogerakis, *J. Chromatogr. A* 1300 (2013) 119–126.
- [16] G.S. Groenewold, J.R. Scott, C. Rae, *Anal. Chim. Acta* 697 (2011) 38–47.
- [17] E. Yiantzi, N. Kalogerakis, E. Psillakis, *Anal. Chim. Acta* 927 (2016) 46–54.
- [18] M.-L. Glykioti, E. Yiantzi, E. Psillakis, *Anal. Methods* 8 (2016) 8065–8075.
- [19] J. Darrouzès, M. Bueno, C. Pécheyran, M. Holeman, M. Potin-Gautier, *J. Chromatogr. A* 1072 (2005) 19–27.
- [20] E. Yiantzi, N. Kalogerakis, E. Psillakis, *Anal. Chim. Acta* 890 (2015) 108–116.
- [21] C. Lee, Y. Lee, J.-G. Lee, A.J. Buglass, *Anal. Methods* 7 (2015) 6504–6513.
- [22] D.T. Mannion, A. Furey, K.N. Kilcawley, *Int. J. Dairy Technol.* 69 (2015) 1–12.
- [23] C. Velázquez Vázquez, M.G. Villa Rojas, C. Álvarez Ramírez, J.L. Chávez-Servín, T. García-Gasca, R.A. Ferriz Martínez, O.P. García, J.L. Rosado, C.M. López-Sabater, A.I. Castellote, H.M. Andrade Montemayor, K. de la Torre Carbot, *Food Chem.* 176 (2015) 480–486.
- [24] T.J. Smith, R.E. Campbell, Y. Jo, M.A. Drake, *J. Dairy Sci.* 99 (2016) 1–22.
- [25] C. Cagliero, T.D. Ho, C. Zhang, C. Bicchi, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A*, 1449 (2016) 2–7.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [26] F. Zhao, Y. Meng, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A, 1208 (2008) 1–9.
- [27] J.L. Anderson, D.W. Armstrong, Anal. Chem. 77 (2005) 6453–6452.
- [28] Y. Meng, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 6143–6152.
- [29] M.D. Joshi, T.D. Ho, W.T.S. Cole, J.L. Anderson, Talanta 118 (2014) 172–179.
- [30] J. Pawliszyn, Handbook of solid phase microextraction, Elsevier, Waltham, MA, USA, 2012.
- [31] M. Ábalos, J.M. Bayona, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 873 (2000) 107–115.
- [32] E. Gionfriddo, É.A. Souza-Silva, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 87 (2015) 8448–8456.
- [33] J. Koziel, M. Jia, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 72 (2000) 5178–5186.
- [34] H.-J. Cho, K. Baek, H.-H. Lee, S.-H. Lee, J.-W. Yang, J. Chromatogr. A 988 (2003) 177–184.
- [35] T.D. Ho, W.T.S. Cole, F. Augusto, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A 1298 (2013) 146–151.
- [36] C. Pérès, C. Viallon, J.-L. Berdagué, Anal. Chem. 73 (2001) 1030–1036.
- [37] C. Pizarro, N. Pérez-del-Notario, J.M. González-Sáiz, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 6013–6021.
- [38] D. Fiorini, D. Pacetti, R. Gabbianelli, S. Gabrielli, R. Ballini, J. Chromatogr. A 1409 (2015) 282–287.
- [39] T. Górecki, X. Yu, J. Pawliszyn, Analyst 124 (1999) 643–649.
- [40] B. Amer, C. Nebel, H.C. Bertram, G. Mortensen, K. Hermansen, T.K. Dalsgaard, Int. Dairy J. 32 (2013) 199–203.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. Physicochemical properties of the group of FFAs and phenols studied. Data was obtained from SciFinder® Scholar.

Analyte	Abbreviation	MW ^a (g·mol ⁻¹)	Solubility ^b ·10 ³ (mg·L ⁻¹)	d ^c (g·cm ⁻³)	BP ^d (°C)	VP ^e (Pa)	pKa (25 °C)	Log Kow ^f	(K _{ow} ^g)·10 ⁷ (atm·m ³ ·mol ⁻¹)	Size (Å)
<i>iso</i> -butyric acid	<i>i</i> -C ₄	88.11	49	0.950	152.0	217	4.85	0.541	9.7	4.29
<i>n</i> -butyric acid	<i>n</i> -C ₄	88.11	66	0.958	165.5	180	4.76	0.697	5.3	5.60
<i>iso</i> -valeric acid	<i>i</i> -C ₅	102.1	25	0.931	176.5	73.9	4.78	1.05	13	5.49
<i>n</i> -valeric acid	<i>n</i> -C ₅	102.1	19	0.939	186.0	60.3	4.78	1.21	4.5	6.97
<i>iso</i> -hexanoic acid	<i>i</i> -C ₆	116.2	11	0.939	200.5	17.5	4.78	1.56	17	6.73
<i>n</i> -hexanoic acid	<i>n</i> -C ₆	116.2	5.9	0.929	205.8	21.1	4.78	1.72	7.1	7.54
guaiaicol (2-methoxyphenol)	2-MOP	124.1	7.2	1.13	204.0	23.9	9.97	1.34	11	6.98
<i>n</i> -heptanoic acid	<i>n</i> -C ₇	130.2	2.0	0.918	222.2	7.73	4.78	2.23	8.8	8.67
phenol	Ph	94.11	26	1.07	181.8	81.9	9.86	1.54	3.4	5.25
2-ethylphenol	2-EP	122.2	2.9	1.02	204.5	24.5	10.3	2.47	8.2	7.15
eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol)	4-Al-2-MOP	164.2	0.75	1.07	253.2	1.33	10.3	2.40	0.48	9.40

^a molecular weight^b water solubility at 25°C^c density^d boiling point^e vapor pressure at 25°C^f logarithm of the octanol-water partition coefficient^g Henry's law constant, predicted data generated using the US Environmental Protection Agency's EPISuite, HENRYWIN v3.10; BOND METHOD

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

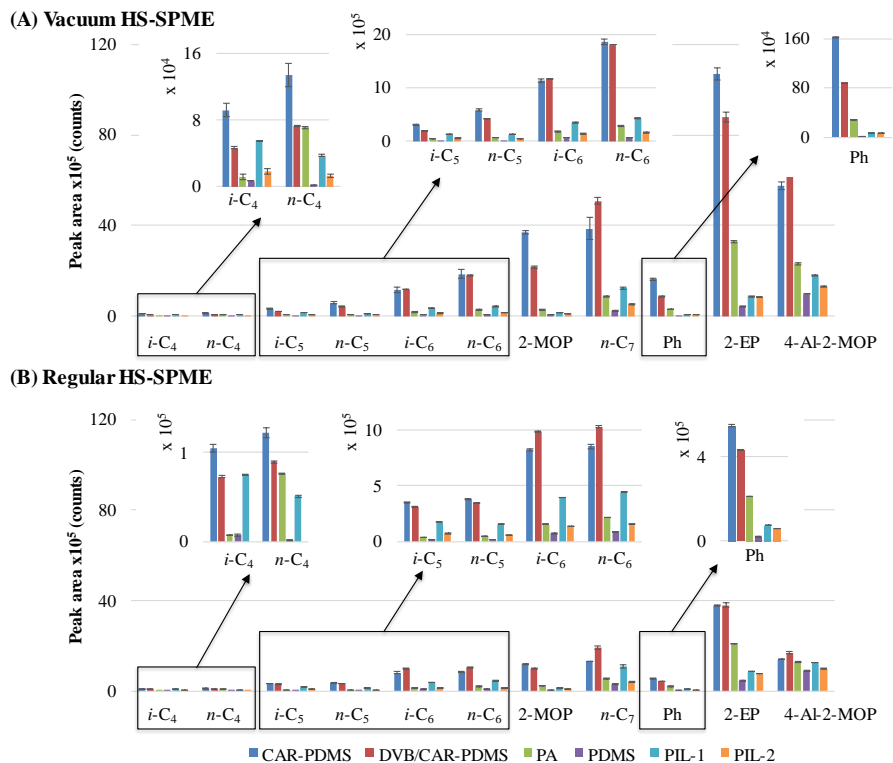
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1 Analyte extraction efficiency, expressed as chromatographic peak area, obtained with (A) Vacuum HS-SPME and (B) regular HS-SPME using the commercial and PIL-based SPME fibers. Other experimental conditions: 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol; 30 min extraction time; 40 °C sampling temperature; 400 rpm agitation rate; 6 min GC desorption time at 280 °C.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

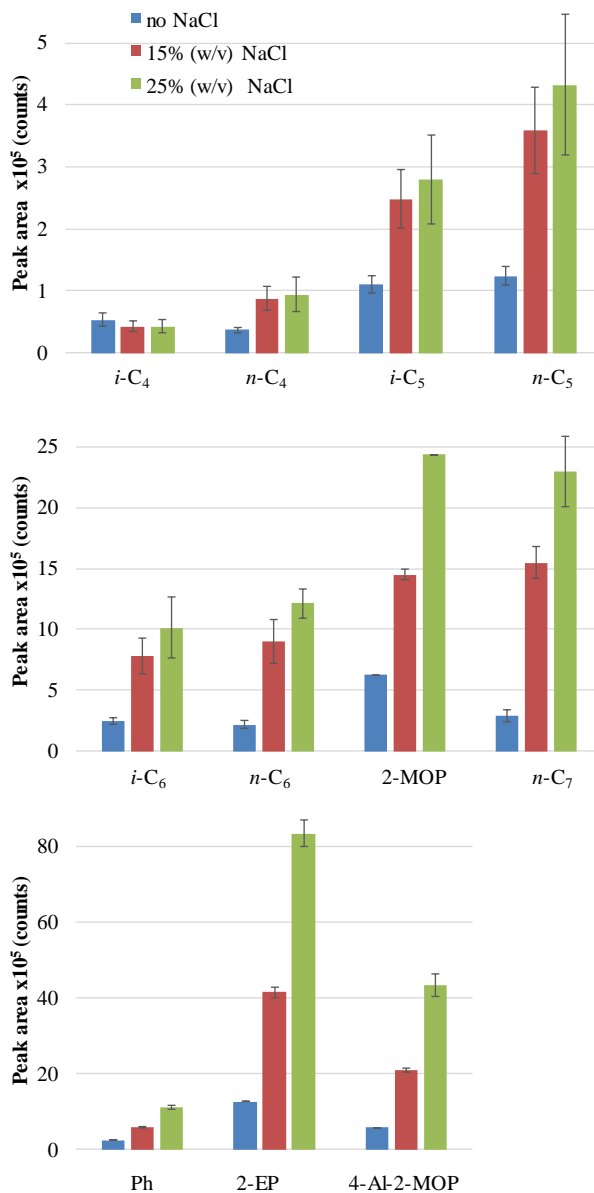
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. (A) Optimization of the HS-SPME method using CAR-PDMS: Effect of the NaCl content (0–25%, w/w). Experimental conditions (n = 3): 5 mL ultrapure water, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol, extraction time of 40 min, extraction temperature of 45 °C, extraction stirring of 400 rpm, desorption time of 6 min, desorption temperature of 280 °C.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Figure S2. (continued) (B) Optimization of the Vacuum HS-SPME method using CAR-PDMS: Effect of the NaCl content (0–25%, w/w). Experimental conditions (n = 3): air evacuation (7 mbar, 1.5 min), 5 mL ultrapure water, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol, extraction time of 40 min, extraction temperature of 45 °C, extraction stirring of 400 rpm, desorption time of 6 min, desorption temperature of 280 °C.

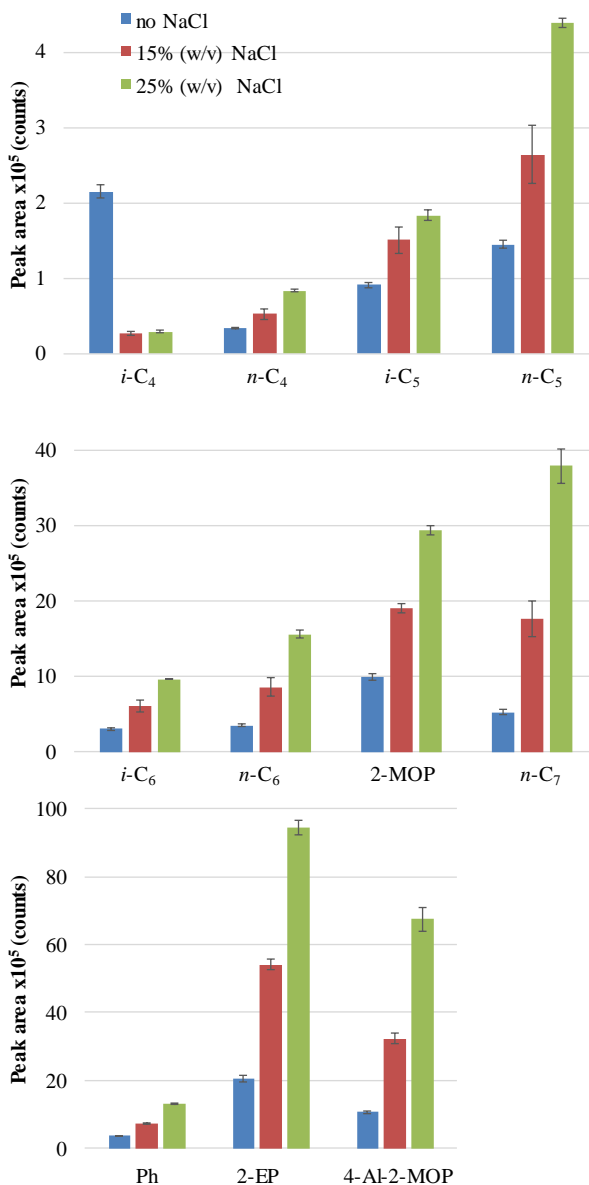


Figure S3. Desorption time profiles obtained (i) under reduced (Vacuum HS-SPME; filled symbols) and (ii) atmospheric (Regular HS-SPME; open symbols) pressure conditions. Other experimental conditions (n = 3): CAR-PDMS fiber; 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of each FFA and 1 mg·L⁻¹ of each phenol; 40 min extraction time at 45 °C; 400 rpm agitation rate; 280 °C of desorption temperature.

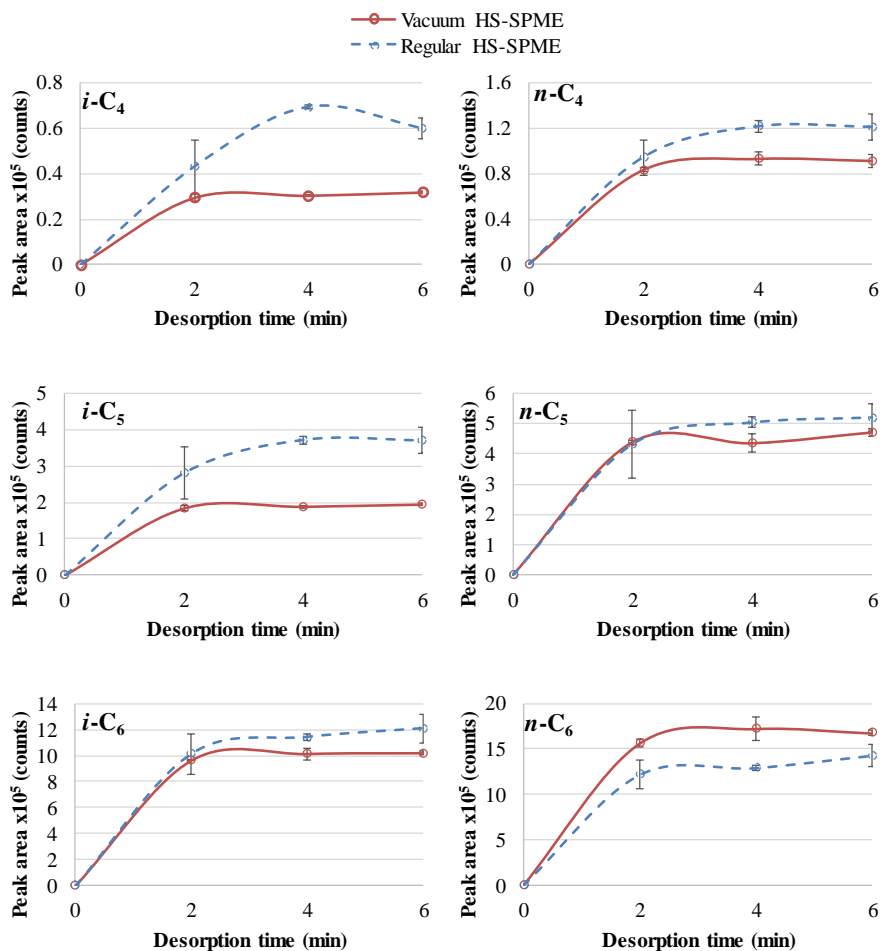


Figure S3. (continued) Desorption time profiles obtained (i) under reduced (Vacuum HS-SPME; filled symbols) and (ii) atmospheric (Regular HS-SPME; open symbols) pressure conditions. Other experimental conditions (n = 3): CAR-PDMS fiber; 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of FFAs and 1 mg·L⁻¹ of phenols; 40 min extraction time at 45 °C; 400 rpm agitation rate; 280 °C of desorption temperature.

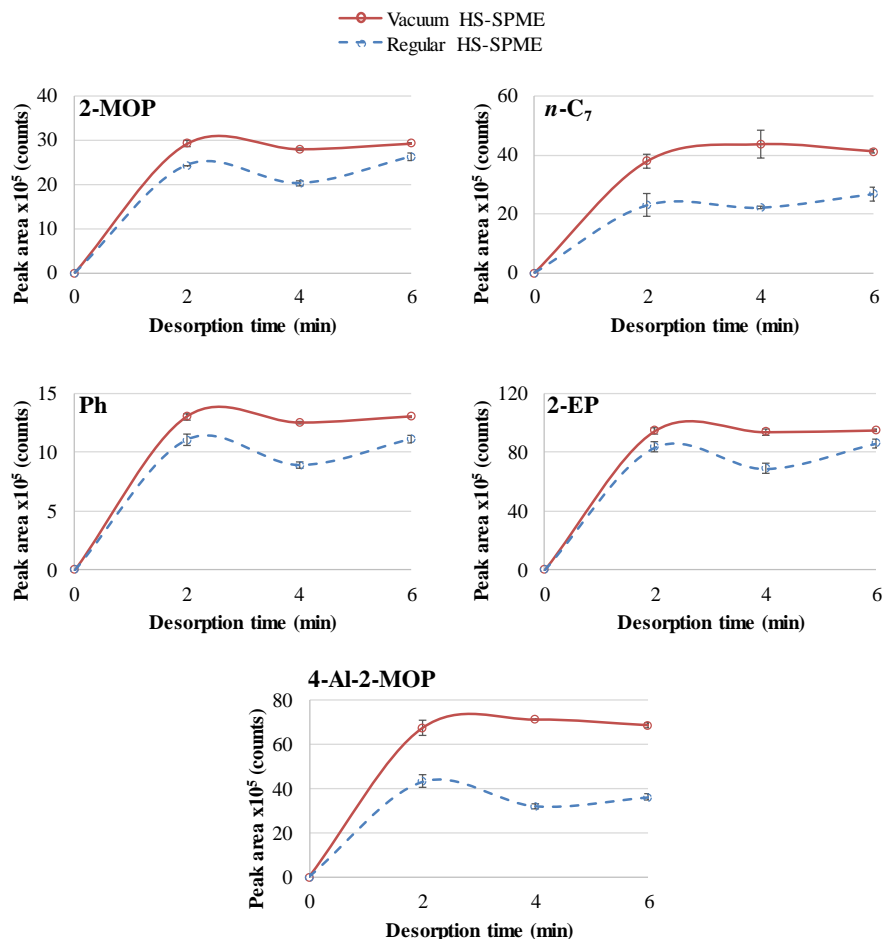
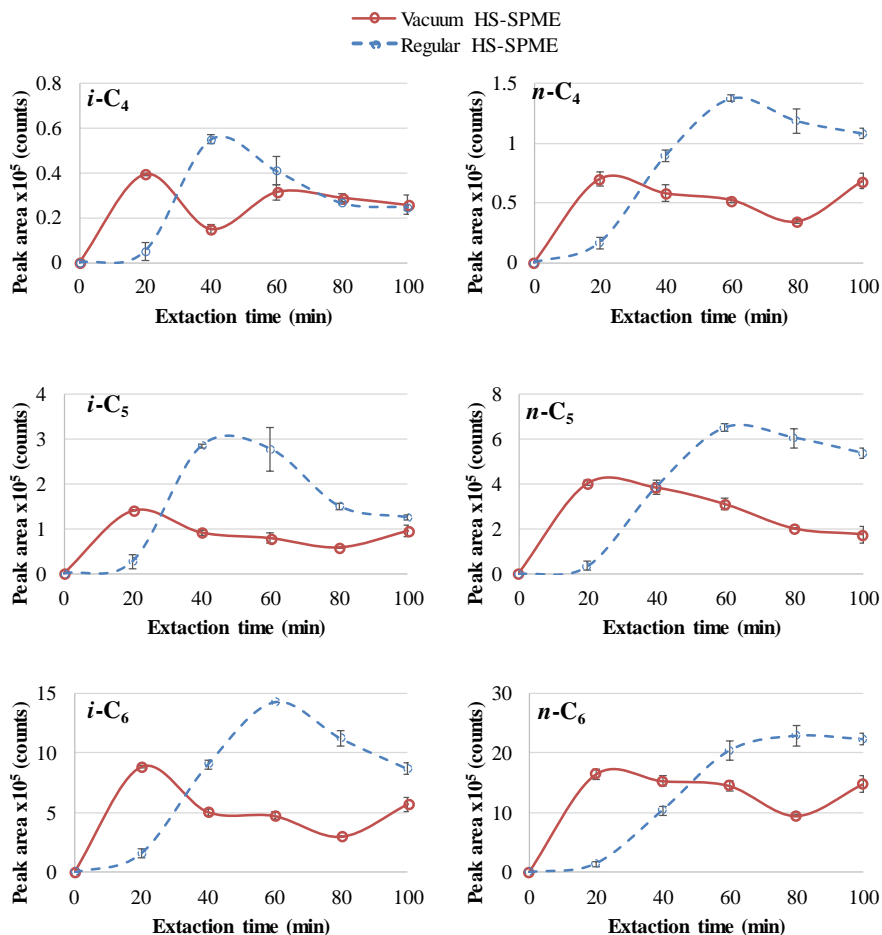


Figure S4. Extraction time profiles obtained (i) under reduced (Vacuum HS-SPME; filled symbols) and (ii) atmospheric (Regular HS-SPME; open symbols) pressure conditions. Other experimental conditions (n = 3): CAR-PDMS fiber; 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of FFAs and 1 mg·L⁻¹ of phenols; 45 °C of extraction temperature; 400 rpm agitation rate; 6 min of desorption at 280 °C.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

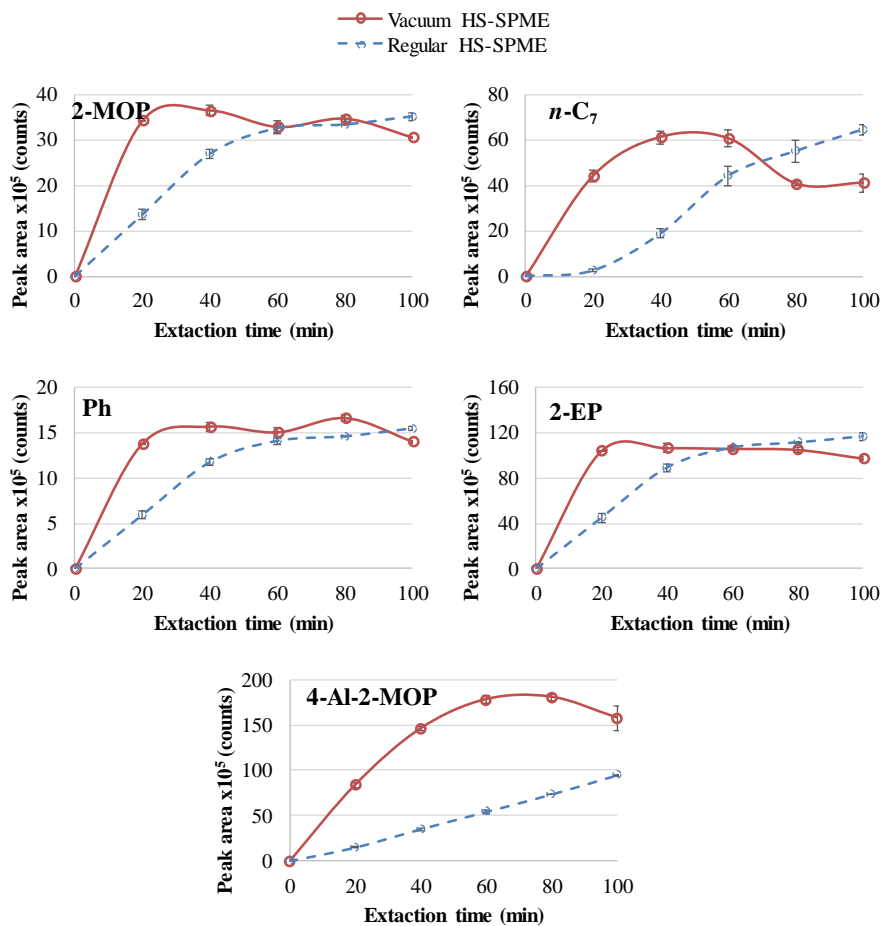
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Extraction time profiles obtained (i) under reduced (Vacuum HS-SPME; filled symbols) and (ii) atmospheric (Regular HS-SPME; open symbols) pressure conditions. Other experimental conditions ($n = 3$): CAR-PDMS fiber; 5 mL ultrapure water containing 25% (w/v) NaCl, 0.022 mmol·L⁻¹ of FFAs and 1 mg·L⁻¹ of phenols; 45 °C of extraction temperature; 400 rpm agitation rate; 6 min of desorption at 280 °C.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Capítulo V

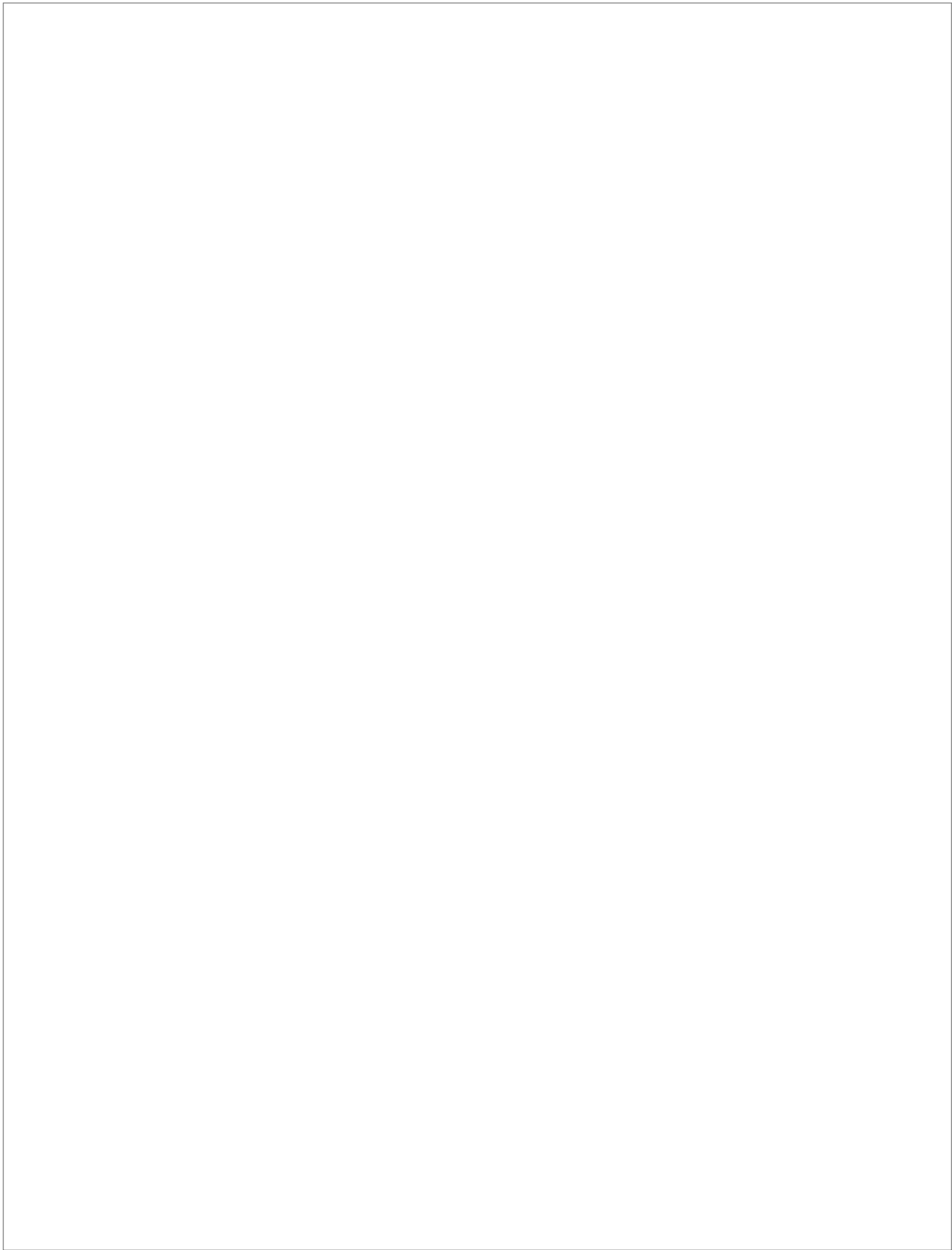
Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los surfactantes basados en líquidos iónicos (ILs) constituyen un amplio grupo de novedosos materiales con propiedades micelares mejoradas respecto de otros sistemas micelares convencionales. Así, la mayoría de surfactantes basados en ILs están caracterizados por poseer bajos valores de concentración micelar crítica (CMC) y bajos números de agregación micelar (N_{agg}) si se compara con surfactantes convencionales de naturaleza similar. Esto implica que se requiere menor cantidad de surfactante para formar medios micelares, lo cual se traduce en una disminución de costes y menor generación de residuos cuando son empleados en aplicaciones específicas. A ello se une otras propiedades derivadas de su naturaleza de IL, tales como la facilidad para diseñar diferentes surfactantes basados en ILs para aplicaciones específicas y su carácter anfifílico, que facilita la solvatación de compuestos de tipo polar y apolar.

En la actualidad, los surfactantes basados en ILs se han empleado para una gran variedad de aplicaciones. Entre ellas, destaca su empleo en microemulsiones. Las microemulsiones son mezclas de dos líquidos inmiscibles (uno polar y otro apolar) estabilizados en un surfactante. Los surfactantes basados en ILs se han empleado en microemulsiones de agua en aceite o como uno de los dos líquidos inmiscibles, tanto en microemulsiones de IL en aceite (en las que el surfactante basado en ILs es la fase polar) como en microemulsiones de agua en IL (en la que el surfactante basado en ILs actúa como fase orgánica). Estos tipos de microemulsiones han sido utilizadas en diversas áreas de la Química, destacando su empleo en reacciones de polimerización o la síntesis de nanopartículas (microemulsiones de agua en aceite con surfactante basado en ILs), para la recuperación de aceites (microemulsiones de IL en aceite) o para la extracción de hemoglobina y compuestos hidrofílicos en plantas (microemulsiones de agua en IL).

En el área de la Bioquímica, se ha estudiado la interacción de los surfactantes basados en ILs con diversos sistemas biológicos, incluyendo proteínas, albúmina de suero bovino o lisozimas.

Por otro lado, los surfactantes basados en ILs se han añadido como reactivos auxiliares durante la síntesis de nanomateriales. Estos materiales se emplean como

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

modificadores para el control del tamaño y morfología en la fabricación de nanocristales de oro, nanopartículas de ferrita o zeolitas mesoporosas.

Como catalizadores, el carácter anfifílico de estos materiales mejora el contacto de reactivos orgánicos y agua en catálisis heterogénea. Por ello, se han empleado efectivamente como alternativas a otros catalizadores convencionales como el paladio. También, se ha combinado su uso con el de otros materiales como diferentes nanopartículas magnéticas, para su empleo como catalizadores.

En Química Analítica, se han empleado tanto en técnicas de separación como en técnicas de extracción y preconcentración. En técnicas de separación, los surfactantes basados en ILs se utilizan como fases pseudo-estacionarias en cromatografía líquida (LC) y en cromatografía electrocinética micelar (MEKC). También, se han empleado en técnicas de preconcentración *on line* en electroforesis capilar (CE). Asimismo, los surfactantes basados en ILs se han empleado como aditivos en espectroscopía, para mejorar la sensibilidad de los métodos que los emplean.

En técnicas de extracción y preconcentración, los surfactantes basados en ILs pueden anclarse sobre diferentes materiales como las nanopartículas magnéticas (MNPs), formando así hemimicelas, admicelas o hemimicelas mixtas, las cuales actúan como excelentes materiales extractantes en extracción en fase sólida dispersiva (dSPE) o extracción en fase sólida dispersiva miniaturizada (μ -dSPE). También pueden ser empleados como disolventes dispersantes en microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME), o como material de extracción en *in situ* DLLME y otras variantes de LPME. Por otro lado, se han descrito aplicaciones en la que los surfactantes basados en ILs se usan en extracciones asistidas por microondas aplicadas a la determinación de compuestos orgánicos en muestras sólidas, o en sistemas bifásicos acuosos (ABS).

En este capítulo se distinguen tres secciones distintas, todas ellas en relación a la síntesis o uso de surfactantes basados en ILs, desarrollados todos en esta Tesis Doctoral. La Sección V.1 se ha centrado en la síntesis y caracterización de surfactantes basados en ILs de naturaleza dicatiónica y tricatiónica. Por otro lado, el resto de secciones (V.2 y V.3) están dedicadas al desarrollo de metodologías analíticas empleando surfactantes basados en ILs (o surfactantes basados en sales dobles de líquidos iónicos, DSILs) como materiales de extracción para μ -dSPE e *in situ* DLLME.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section V.1

Interfacial and aggregation behavior of dicationic and tricationic liquid-based surfactants in aqueous solution

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects

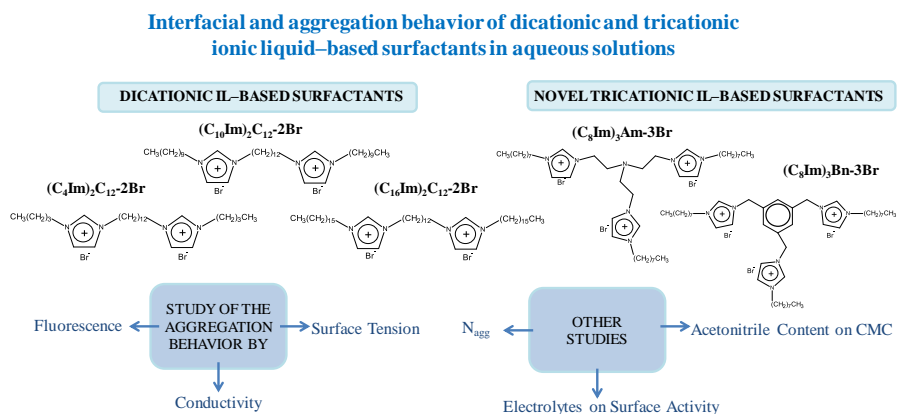
469 (2015) 224–234

Omprakash Nacham¹, Armide Martín-Pérez², Daniel J. Steyer¹, María J. Trujillo-Rodríguez², Jared L. Anderson^{1,*}, Verónica Pino^{2,**}, Ana M. Afonso²

¹Department of Chemistry and Biochemistry, School of Green Chemistry and Engineering, The University of Toledo, Toledo, OH 43606, USA

²Departamento de Química, sección Analítica, Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

The interfacial and aggregation behavior of three dicationic and two tricationic ionic liquid-based (IL) surfactants in aqueous solutions have been carried out. The studied dicationic IL-based surfactants were 1,12-di(3-butylimidazolium)dodecane bromide ((C₄Im)₂C₁₂-2Br), 1,12-di(3-decylimidazolium)dodecane bromide ((C₁₀Im)₂C₁₂-2Br), and 1,12-di(3-hexadecylimidazolium)dodecane bromide ((C₁₆Im)₂C₁₂-2Br). Two classes of trigonal tricationic surfactants containing triethylamine (Am) and 1,3,5-trimethylbenzene (Bn) cores were synthesized for first time and characterized, specifically, 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(2-ethylamino) imidazolium bromide ((C₈Im)₃Am-3Br), and 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(1,3,5)tris(methylene) benzene imidazolium bromide ((C₈Im)₃Bn-3Br). The critical micelle concentration (CMC) values and other aggregation parameters, including adsorption efficiency (pC₂₀), surface tension at the CMC (γ_{cmc}), degree of dissociation (α), and the degree of counterion binding in the micelle (β) were obtained using a variety of techniques including surface tension, conductivity and fluorescence measurements. For the first time, the aggregation numbers (N_{agg}) were also obtained for this group of surfactants. A study into the influence of acetonitrile on the stability and aggregation behavior of dicationic and tricationic IL-based surfactants was also undertaken. The CMC values of the dicationic surfactants clearly decrease as a function of the side chain, when the same linker is maintained. The CMC values of the tricationic surfactants were lower than analogous linear trimeric surfactants. For the novel tricationic surfactants, the effect of sodium salts (C₆H₅COONa, NaBr, and NaI) on the surface activity was also investigated. It was also observed that the surface activity parameters (pC₂₀ and CMC/C₂₀) of tricationic surfactants increased significantly in the presence of added electrolytes.

Keywords

ionic liquid-based surfactants, dicationic ionic liquids, tricationic ionic liquids, cationic surfactants, critical micelle concentration, aggregation number

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

Ionic liquids (ILs) are class of organic molten salts having low melting points (<100 °C), negligible vapor pressure, and high thermal stability. The physicochemical properties of ILs can be tailored for specific applications by structural modification of either the cation or anion [1]. Merrigan *et al.* reported the synthesis of imidazolium-based fluoruous ILs and examined the surface activity of these compounds in the solubilization of fluoroalkanes in conventional ILs [2]. Anderson *et al.* studied the aggregation phenomena of traditional surfactants in ILs using surface tension measurements [3]. It was observed that the surface tension values of ILs were decreased due to solvatophobic interactions between the IL and traditional surfactants. It was also reported for first time that the solvation properties of micellar IL solutions were modified due to the formation of traditional surfactant micelles in ILs [3].

The first reports on the study of amphiphilic association structures of monocationic imidazolium-based IL-surfactants in aqueous solutions was in 2004 [4,5]. The aggregation or micelle formation ability of ILs in aqueous solutions is due to the intrinsic amphiphilic nature of ILs [4-7]. Blesic *et al.* studied the self-aggregation behavior of the 1-alkyl-3-methyl imidazolium C_nMim^+ family of cations with various alkyl chain lengths and counter ions [8]. It was observed that ILs possessing octyl and higher alkyl chain analogues exhibited self-aggregation, whereas lower alkyl chain length analogues did not show significant reduction in surface tension. Baltazar *et al.* performed an extensive study on the surface activity of monocationic and dicationic imidazolium based IL-surfactants in aqueous solution by surface tensiometry measurements [9]. It was shown that the critical micelle concentration (CMC) values of monocationic IL-based surfactants depended on the length of alkyl chain substituent attached to the head group. Freire *et al.* also examined the effect of cation/anion, temperature, and water content on the surface activity of monocationic ILs containing the imidazolium head group [10]. Recently, Bhargava *et al.* performed molecular dynamic simulation studies on dicationic IL-based surfactants in aqueous solutions [11]. In their theoretical studies, it was observed that the hydrophobic tails of ILs were organized in a manner such that they possess minimum interaction with water molecules and anions of the IL. It was also observed that in comparison with anions, the cationic head groups of the ILs possessed weaker hydrogen bonding interaction with water molecules. Ao *et al.* investigated the effect of spacer length on the surface activity of Gemini IL-based surfactants [12]. It was observed

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

that spacer groups containing lower number of carbon atoms possessed higher surface activity.

The surface activity of IL-based surfactants can be influenced by their molecular structure [13,14] and the presence of added electrolytes [15,16]. Recently, Jiao *et al.* studied the effect of organic and inorganic salts on the aggregation of 1-butyl-3-methyl imidazolium dodecylsulfate in aqueous solutions [15]. It was observed that the CMC values of the surfactants decreased with the increase in concentration of electrolyte. From their study, it was also observed that hydrophobicity and hydration ability of added electrolytes were crucial in promoting aggregation.

Trigonal tricationic ILs are new class of ILs comprised of three cationic moieties appended to a central core with various combinations of anions. Recently, Planellas *et al.* studied palladium nanoparticle catalyzed Suzuki cross-coupling reactions, wherein the stabilization of nanoparticles was improved by the application of tris-imidazolium based tricationic ILs [17]. The number of applications of tricationic imidazolium-based ILs within the literature is very small in comparison with monocationic and dicationic imidazolium-based ILs. Therefore, studying the self-assembly behavior of tricationic imidazolium-based ILs in aqueous solutions will provide significant fundamental understanding of these compounds which may extend their applications into different areas, including extraction solvents in aqueous biphasic systems (ABS), ion-pairing reagents in liquid chromatography, and as catalysts in organic synthesis.

In this study, the behavior of a group of dicationic IL-based surfactants is presented in an effort to increase the fundamental knowledge of these surfactant systems. In addition, this is the first study to examine the interfacial and aggregation properties of trigonal tricationic imidazolium-based ILs. The synthetic preparation of a novel group of tricationic IL-based surfactants and the overall characterization of their aggregation behavior is presented. The two classes of trigonal tricationic imidazolium-based ILs are comprised of two different cores, namely, triethylamine (Am) and 1,3,5-trimethylbenzene (Bn) and were synthesized for first time in this study. CMC values and surface activity parameters including adsorption efficiency (pC_{20}), CMC/C_{20} , and surface tension at the CMC (γ_{cmc}), micelle degree of dissociation (α), degree of counterion binding to the micelle (β), and the aggregation number (N_{agg}) were obtained using a number of techniques including conductivity, fluorescence, and surface tensiometry. The influence of the acetonitrile content was also addressed for the dicationic and tricationic IL-based

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

surfactant micelles. In order to understand the effect of electrolytes on the aggregation of the novel tricationic surfactants in aqueous solutions, one organic and two inorganic salts were examined. Furthermore, the adsorption and aggregation phenomenon of tricationic IL-based surfactants was compared with traditional quaternary ammonium-based cationic surfactants.

2. Experimental

2.1. Reagents

The dicationic IL-based surfactants used in this study were 1,12-di(3-butylimidazolium)dodecane bromide $((C_4Im)_2C_{12}-2Br)$, 1,12-di(3-decylimidazolium)dodecane bromide $((C_{10}Im)_2C_{12}-2Br)$, and 1,12-di(3-hexadecylimidazolium)dodecane bromide $((C_{16}Im)_2C_{12}-2Br)$. These dicationic IL-based surfactants were synthesized and fully characterized according to the procedures described by Baltazar *et al.* [9].

The new tricationic IL-based surfactants prepared were 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(2-ethylamino) imidazolium bromide $((C_8Im)_3Am-3Br)$, and 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(1,3,5)tris(methylene) benzene imidazolium bromide $((C_8Im)_3Bn-3Br)$.

The structures of all surfactants utilized in this work are shown in Figure S1 of the Annex Material.

The reagents used for the synthesis of the dicationic and tricationic IL-based surfactants were: 1-bromobutane, 1-bromooctane, 1-bromodecane, 1-bromohexadecane, 1,12-dibromododecane, imidazole, toluene, anhydrous dimethylsulfoxide (DMSO), tris(2-chloroethyl)amine hydrochloride, sodium iodide, sodium bromide, and sodium benzoate, which were supplied by Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Isopropanol, methanol, dichloromethane, chloroform, sodium hydroxide, potassium hydroxide, ethyl acetate, acetonitrile, 1,3,5-tris(bromomethyl)benzene, and diethyl ether were purchased from Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA). Deuterated chloroform was purchased from Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, USA).

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Ultrapure water with a conductivity value of $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ and a total organic carbon content of $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, was obtained from Milli-Q water purification system with A-10 gradient (Millipore, Bedford, MA, USA).

For conductivity measurements, a standard solution of potassium chloride (specific conductance of $1.41 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$) from Merck (Darmstadt, Germany) was utilized.

For fluorescence measurements, pyrene and benzophenone-3 (<97.0%), were both supplied by Sigma-Aldrich.

2.2. Synthesis of tricationic IL-based surfactants

Tricationic IL-based surfactants were synthesized as shown in Figure 1, using a slightly modified procedure of Planellas and co-workers [17].

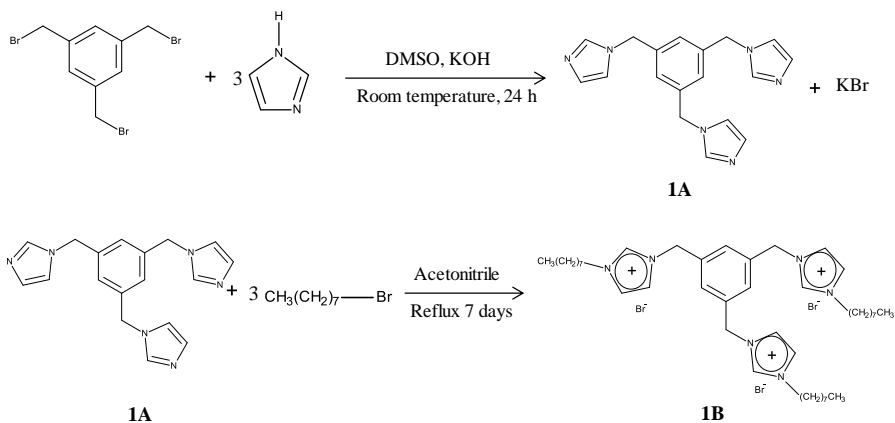
2.2.1. Synthesis of 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(1,3,5)tris (methylene) benzene imidazolium bromide ((C₈Im)₃Bn-3Br)

Imidazole (1.00 g, 14.68 mmol) and potassium hydroxide (3.49 g, 62.3 mmol) were dissolved in 40 mL of dimethylsulfoxide and the solution stirred for 6 h at room temperature. The compound 1,3,5-tris(bromomethyl)benzene (1.58 g, 4.45 mmol) was added and stirred for 24 h at room temperature. Water (40 mL) was then added to the reaction mixture and the contents transferred to a separatory funnel and the mixture extracted using chloroform ($4 \times 40 \text{ mL}$). The organic phases were collected, washed several times with water, and then dried over anhydrous sodium sulfate and filtered. The solvent was partially evaporated under reduced pressure followed by the addition of excess diethyl ether. Upon addition of excess diethyl ether, a white powder was precipitated, filtered, and washed with diethyl ether. Compound **1A** was recrystallized using a dichloromethane-diethyl ether solvent mixture and dried at $60 \text{ }^\circ\text{C}$ for 12 h. The yield was 75%. Compound **1A** was characterized using ^1H NMR, ^{13}C NMR, and ESI-MS. All spectra are provided in the supporting information (Figures S2 and S3).

A stirred solution of **1A** (1 g, 3.14 mmol) and the appropriate 1-bromoalkane (4.09 mmol) in acetonitrile (40 mL) was heated under reflux for 7 days. After cooling the reaction flask to room temperature, the solvent was partially evaporated under reduced pressure. Upon addition of excess diethyl ether, a yellow precipitate was observed. The

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Synthesis of $(C_8Im)_3Bn-3Br$



Synthesis of $(C_8Im)_3Am-3Br$

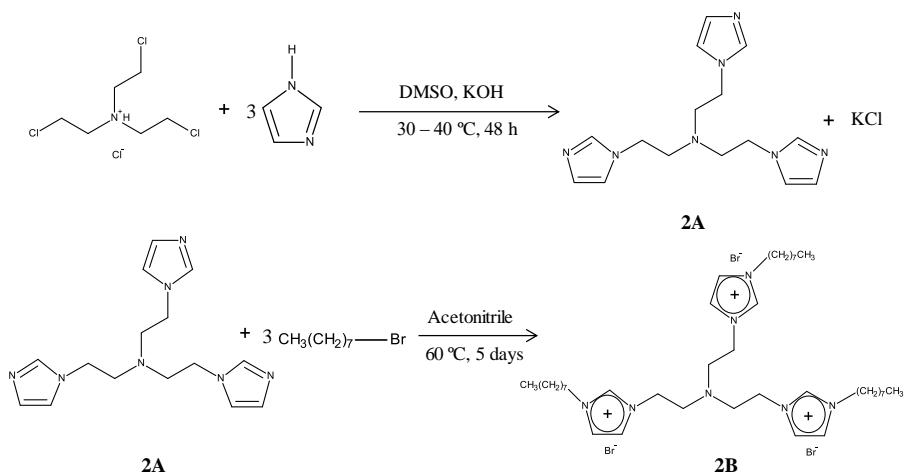


Figure 1. Synthesis of trigonal tricationic IL-based surfactants.

solid was filtered and washed several times with diethyl ether to afford a light yellow colored product (**1B**). The compound was recrystallized using a dichloromethane-diethyl ether solvent mixture followed by removal of residual solvent under reduced pressure and dried at 70 °C for 24 h. The yield was 85%. The final product was characterized using ¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS, and elemental analysis. All spectra and elemental analysis data are provided in the supporting information (Figures S4 and S5).

2.2.2. Synthesis of 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(2-ethyl amino)imidazolium bromide ((C₈Im)₃Am-3Br)

Imidazole (1.5 g, 22 mmol) and potassium hydroxide (3.74 g, 67 mmol) were dissolved in dimethylsulfoxide (30 mL) and stirred for 5 h at room temperature. The compound tris (2-chloroethyl)amine hydrochloride (1.61 g, 6.67 mmol) was added and the solution continually stirred for 48 h at 30-40 °C. After evaporating the solvent under reduced pressure, the crude product was washed with anhydrous chloroform to precipitate potassium chloride. The mixture was filtered and chloroform evaporated under reduced pressure to yield a light yellow colored compound **2A**. This compound was dried at 70 °C under reduced pressure for 6 h. The yield was 70 %. The final product was characterized using ¹H NMR, ¹³C NMR, and ESI-MS. All spectra are provided in supporting information (Figures S6 and S7).

A stirred solution of **2A** and the appropriate 1-bromoalkane (6 mmol) in acetonitrile (45 mL) was heated under reflux for 5 days. After evaporation of the solvent under reduced pressure, the crude product was washed several times with hexane and ethyl acetate to remove excess starting material. The compound **2B** was filtered and dried at 70 °C under reduced pressure for 24 h to remove residual solvent. The yield was 80%. The final product was characterized using ¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS, and elemental analysis. All spectra and elemental analysis data are provided in supporting information (Figures S8 and S9).

2.3. Instrumentation and equipment

Surface tension measurements were performed using a Fisher Scientific Model 20 Du Nouy surface tensiometer equipped with a platinum-iridium ring having a mean circumference of 6.00 cm.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

A CM35 Crison conductimeter ($\pm 0.02 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ precision) equipped with a temperature sensor ($\pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ precision) was used for conductivity measurements and supplied by Crison Instruments (Alella, Barcelona, Spain). The conductimeter was calibrated by using a standard solution of potassium chloride. All measurements were carried out at $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ by the use of a IKA HB 10 digital thermostatic bath ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ precision) acquired to IKA Instruments Werke GmbH & Co. KG (Staufen, Germany). The solutions were measured in 15 mL Pyrex® tubes supplied by SciLabware Limited (Cambell Road, Stoke on Trent, UK).

Fluorescence measurements were carried out using a Cary Eclipse Varian spectrofluorimeter (Mulgrave, Victoria, Australia) and employed a quartz cell.

2.4. Procedures

2.4.1. Surface tension measurements

Surface tension measurements were performed by immersing the platinum-iridium ring in aqueous solutions of tricationic IL-based surfactant solutions prepared by dissolving required amounts of the surfactants in deionized water. After each measurement, the ring was washed with deionized water and subjected to high temperature flame to remove residual surfactant. Surfactant solutions were kept at room temperature ($20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) for at least 1 h before performing the surface tension measurements. All glassware used in the preparation of surfactant solutions was cleaned with chromic acid, rinsed with deionized water, and dried at room temperature.

2.4.2. Conductivity measurements

Conductivity studies were carried out with dicationic and tricationic IL-based surfactant solutions prepared by dissolving required amounts of surfactant in deionized water. For the study of the acetonitrile effect in the micellization, aqueous solutions of the surfactants were dissolved in acetonitrile (between 0 and 15 %, v/v, of acetonitrile) to prepare the three component systems (IL-based surfactant, water and acetonitrile).

All measurements were made immersing the conductivity cell, previously calibrated, in 10 mL of surfactant solution immersed in the thermostatic bath at 25 ± 1

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

°C. Conductivities values ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ or $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) were obtained by duplicate. Proper mixing and equilibration of solutions were ensured before the measurements.

2.4.3. Fluorescence measurements

For the determination of the CMCs values, pyrene was added (using a constant concentration of $8\cdot 10^{-7}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) as the fluorescence probe in all of the measured IL-based surfactant solutions. Emission spectra were registered in the range of 350 to 450 nm, with an excitation wavelength (λ_{ex}) of 335 nm, and 2.5 nm as excitation and emission slit widths. The ratio of band intensities of pyrene I_1/I_3 , obtained at λ_{em} of 375 and 385 nm, respectively, was selected for the measurements.

For the determination of the N_{agg} values, benzophenone-3 was used as a quencher to inhibit pyrene fluorescence. In optimum conditions, IL-based surfactant solutions with a constant concentration (at least two times above their respective CMC values) were mixed with pyrene ($1.6\cdot 10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) as the fluorescence probe and different concentrations of benzophenone-3 (between 10^{-6} and $10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Emission spectra were registered in the range of 350 to 450 nm, with λ_{ex} of 335 nm, and 2.5 nm as excitation and emission slit widths. An emission wavelength of 375 nm was selected for estimation of N_{agg} values.

3. Results and discussion

The interfacial and micellar behavior of the novel tricationic IL-based surfactants reported in this work have been characterized for first time using conductivity, fluorescence, and surface tensiometry measurements.

The micellization behavior of the selected group of dicationic IL-based surfactants has been studied before using surface tensiometry [9], but not yet by fluorescence or conductivity measurements; therefore, this characterization has been undertaken and the results presented in this work.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3.1. Synthesis of novel tricationic IL-based surfactants

In this study, two classes of trigonal tricationic IL-based surfactants containing different cores based on triethylamine (Am) and 1,3,5-trimethylbenzene (Bn) were synthesized (Figure S1, Figure 1). In each analogous series, the free hydrocarbon chain length employed was octyl, which was directly appended to the imidazolium head group.

The aqueous solubility of a surfactant also depends on the counter-ion and valency of the counter-ion. Recently, Yoshimura *et al.* reported star-shaped trimeric quaternary ammonium surfactants with bromide counter-ions [18]. In their study, it was shown that trimeric surfactants with bromide counter-ions were more soluble than iodide counter-ions due to the difference in the size and hydrophobicity of the counter-ion [18]. Based on the solubility behavior of trimeric quaternary ammonium surfactants, tricationic IL-based surfactants in the present study were prepared with bromide counter ions in an effort to maximize surfactant solubility.

Both tricationic IL-based surfactants were synthesized in two steps (Figure 1). In the first step, imidazole was reacted with the core molecule using potassium hydroxide as a base. The addition of a base facilitated nucleophilic substitution on the core [19]. In the second step, excess alkyl halide was reacted with the intermediate synthesized in the first step. Initial attempts to synthesize tricationic surfactants containing longer alkyl chains (e.g., hexadecyl) resulted in poor solubility of the surfactants in aqueous solutions. Since the surface activity of surfactants in aqueous solutions is very sensitive to impurities present in the surfactant, re-crystallization of the final products was performed using a dichloromethane-diethyl ether solvent system (1:5). All reports of characterization of the tricationic IL-based surfactants are included in Figures S4, S5, S8, and S9 of the Annex Material.

3.2. Determination of micellization parameters by conductivity measurements

3.2.1. Determination of CMC

The determination of the CMC values was carried out according to Section 2.4.2, and so the specific conductivity (κ) was measured at different surfactant concentrations. It was observed that the value of κ increased almost linearly with the increase in the

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

surfactant concentration. At a certain concentration value there is a change in the slope of such trend, due to the beginning of surfactant aggregation to form micelles. Depending on the surfactant, the change in the slopes was abrupt, whereas in other cases was not that significant. The concentration corresponding to the break-point of the two slopes indicates the CMC value. Below and above CMC, the relationships between κ and the IL-based surfactant concentration were linear with correlation coefficients (R values) between 0.992 and 0.999 for all surfactants studied, as it can be observed in Table S1 of the Annex Material.

Below the CMC (premicellar region), the increase of κ with the surfactant concentration is due to the increasing amount of free ions in solution. Above the CMC (postmicellar region), the increase of κ with the concentration is more gradual for two reasons, as stated by Shanks and Franses [20]: (1) the confinement of a fraction of the counterions onto the micellar surface results in an effective loss of ionic charges and (2) the micelles can contribute to the charge transport to a lesser extent than the free ions owing to their lower mobility. Figure 2 shows examples of the variation of κ with the surfactant concentration for one dicationic surfactant (specifically $(C_{10}Im)_2C_{12-2}Br$) and one tricationic surfactant (specifically $(C_8Im)_3Bn-3Br$). The change in the gradient of κ versus IL-based surfactant concentration has also been plotted in Figure 2 (dotted curve in grey). The CMC can also be determined as the concentration corresponding to the maximum change in the gradient of κ versus surfactant concentration. There were not significant differences in the calculated CMC values for the IL-based surfactant studied if the CMC were estimated by the break-point of the two slopes or by the maximum change in the gradient above mentioned.

The CMC values obtained by conductivity measurements are also shown in Table 1, and their corresponding premicellar and postmicellar curves in Table S1. The CMC values varied from $0.19 \pm 0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for the dicationic $(C_{16}Im)_2C_{12-2}Br$ to $4.15 \pm 0.85 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for the tricationic $(C_8Im)_3Am-3Br$. In general, lower CMC values were obtained with the dicationic surfactants, with the exception being $(C_4Im)_2C_{12-2}Br$.

Regarding dicationic IL-based surfactants, the same trend was observed as with conventional surfactants: a decrease in the CMC values when the lateral chain length of the surfactant is increased (keeping constant the spacer). Thus, they decrease from 58.56 ± 11.30 with to the butyl side chain to $0.19 \pm 0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ with to the hexadecyl side chain. In general, low CMC values have been reported for Gemini surfactants. For

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

example, the CMC of the dicationic surfactant butyl bis(dimethyltetradecylammonium) dibromide $(C_{14}M_2N)_2C_4-2Br$ is of 0.17 mM [21], which is similar to the 0.19 mM value obtained by conductivity in this work for $(C_{16}Im)_2C_{12}-2Br$.

For the two tricationic IL-based surfactants considered, it can be concluded that the increase in aromaticity and volume of the spacer (keeping constant the same lateral chains) induce lower CMC values; from $1.87 \pm 0.20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for the tricationic surfactant with a Bn spacer to $4.15 \pm 0.85 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for the surfactant with Am spacer.

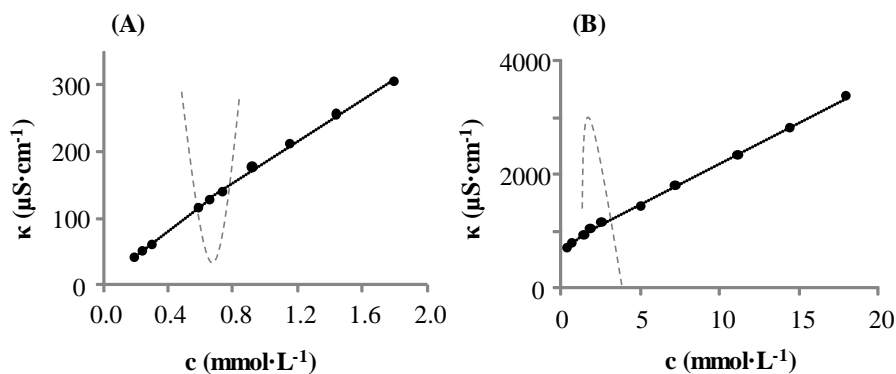


Figure 2. Plots of the variation of the specific conductivity (κ) with the IL-based surfactant concentration (c) (isotherms in black), altogether with the change in the gradient of κ versus c (dotted grey) for a representative dicationic surfactant, $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ (A), and a tricationic surfactant, $(C_8Im)_3Bn-3Br$ (B).

3.2.2. Determination of the degree of micelle dissociation (α) and the degree of counterion binding to micelles (β)

The degree of micelle dissociation (α) can be determined from the ratio of the slopes of the postmicellar (S_2) and the premicellar (S_1) linear regions (Table S1).

$$\alpha = \frac{S_2}{S_1} \quad (1)$$

Table 1. CMC, α , and β values for the studied IL-based surfactants, obtained from conductivity measurements, and as a function of the content of acetonitrile in the micellar solution (298 K).

IL-based surfactant	acetonitrile (% v/v)	$\alpha \pm \text{error}^a$	$\beta \pm \text{error}^a$	CMC $\pm \text{error}^b$ (mmol·L ⁻¹)
<u>Dicationic surfactants</u>				
(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0	0.82 ± 0.01	0.18 ± 0.01	58.6 ± 11.3
	5	0.71 ± 0.05	0.29 ± 0.05	64.2 ± 13.6
	10	0.55 ± 0.04	0.45 ± 0.04	70.1 ± 12.0
	15	0.67 ± 0.12	0.33 ± 0.12	78.3 ± 21.4
(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0	0.84 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.66 ± 0.24
	5	0.81 ± 0.07	0.19 ± 0.07	1.67 ± 0.67
	10	0.32 ± 0.04	0.68 ± 0.04	2.14 ± 1.56
	15	0.98 ± 0.05	0.02 ± 0.05	3.18 ± 1.32
(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0	0.41 ± 0.04	0.59 ± 0.04	0.19 ± 0.05
	5	0.46 ± 0.09	0.54 ± 0.09	1.21 ± 0.80
	10	0.58 ± 0.05	0.42 ± 0.05	2.82 ± 0.45
	15	0.44 ± 0.06	0.56 ± 0.06	3.20 ± 2.36
<u>Tricationic surfactants</u>				
(C ₈ Im) ₃ Am-3Br	0	0.52 ± 0.06	0.48 ± 0.06	4.15 ± 0.85
	5	0.70 ± 0.15	0.30 ± 0.15	4.46 ± 1.18
	10	0.75 ± 0.04	0.25 ± 0.04	4.94 ± 0.66
	15	0.92 ± 0.04	0.08 ± 0.04	6.47 ± 0.62
(C ₈ Im) ₃ Bn-3Br	0	0.62 ± 0.04	0.38 ± 0.04	1.87 ± 0.20
	5	0.72 ± 0.09	0.28 ± 0.09	2.70 ± 0.50
	10	0.88 ± 0.03	0.12 ± 0.03	4.01 ± 0.84
	15	0.85 ± 0.03	0.15 ± 0.03	5.60 ± 0.44

^a error in the determination of α and β , calculated from mathematical propagation of the errors, and also considering the errors of S_1 and S_2

^b CMC error, calculated from mathematical propagation of the error in the prediction of the CMC concentration

The degree of the counterion binding to micelles (β) is obtained by subtracting the α values to 1:

$$\beta = 1 - \alpha \quad (2)$$

Tables 1 and S1 also includes α and β values for each surfactant studied. The obtained α values oscillates between 0.41 ± 0.04 for (C₁₆Im)₂C₁₂-2Br and 0.84 ± 0.03 for (C₁₀Im)₂C₁₂-2Br. Regarding β , there are several values reported in literature for the dicationic surfactants (C₁₀Im)₂C₄-2Br, (C₁₂Im)₂C₄-2Br, and (C₁₄Im)₂C₄-2Br, being of 0.67, 0.70 and 0.57 at 298 K [22], respectively. The values obtained in this work are lower, which can be justified considering the effect of difference in the size of the spacer: C₄ for the literature IL-based surfactants *versus* C₁₂ for the surfactants studied. A longer spacer is probably accompanied by a lower density of effective positive charge and

therefore by a lower attraction of counterions. With respect to the observed differences between β values among dicationic IL-based surfactants, this could be related to the fact that bigger lateral chains like C_{16} can provide a non-spherical 3D structure of the micelle. This structural arrangement can involve an increasing attraction of the counterion with respect to $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ and $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$. This behavior is not observed with tricationic surfactants probably due to the presence of the Bn and Am spacers. They provide the same effective positive charge densities because they are close to the head groups. Thus, similar β values were obtained for tricationics: 0.48 ± 0.06 for $(C_8Im)_3Am-3Br$ and 0.38 ± 0.04 for $(C_8Im)_3Bn-3Br$.

3.2.3. Influence of acetonitrile content in micellization parameters

Addition of organic solvents like methanol, acetonitrile or ethanol into aqueous solutions of surfactants delays the process of micellization, thereby increasing the CMC values. This effect can be due to three main reasons: (1) an increase in the hydration of the hydrophilic group due to the rupture of the water structure, (2) a decrease of static dielectric constant of the aqueous solution (ϵ), and (3) an increase in the surfactant solubility. Besides, the micellar aggregation becomes thermodynamically non favorable at certain organic solvent content and the micelle finally breaks.

Acetonitrile was the organic solvent selected in this work because it is widely employed within analytical chemistry; for example, as a mobile phase component in high-performance liquid chromatography (HPLC) or as a solvent in dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME). We focused on this solvent given the intended analytical applications of these IL-based surfactants [7].

CMC, α , and β values of dicationic and tricationic surfactants were calculated from conductivity measurements in the presence of different contents of acetonitrile (between 5 and 15%, v/v), as described in Section 2.4.2. Results are shown in Table 1. It can be observed that the effect of acetonitrile in the surfactant micelles is similar to that of short chain *n*-alcohols: an increase in their content causes an increase of the CMC value [23]. A decrease in the polarity of the media obviously takes place when acetonitrile is dissolved in the aqueous phase of the surfactants, which in turns is not favorable for the stabilization of the IL-based surfactant monomers (which prefer a polar phase), and therefore higher concentrations of surfactants are needed for successful aggregation.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

It was observed that the variation of the CMC values with the acetonitrile content followed a linear trend, with correlation coefficients between 0.995 and 0.993 for the dicationic $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$ and the tricationic $(C_8Im)_3Am-3Br$, respectively. Figure S10 of the supplementary material shows representative plots of such trends. In any case, the maximum variation of the CMC values with the acetonitrile content was observed for the dicationic $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$, which is the IL-based surfactant with the highest CMC value of all studied surfactants.

In general, α values of dicationic surfactants decrease when the acetonitrile content increases. There are exceptions at higher contents of acetonitrile (15%, v/v), probably due to the start of the micellar breakdown and to the overall decrease in the polarity of the media. However, the opposite effect takes place for tricationic surfactants: the increase of acetonitrile contents results in an increase of α values. Although this is not common behavior for surfactants, Tiwari *et al.* have observed the same effect with other organic solvents and for several dicationic IL-based surfactants [24]. Similar explanations as those obtained for α , but obviously with opposite trend, are valid for the β values obtained.

3.3. Determination of micellization parameters by fluorescence measurements

The utilization of fluorescence probes to study micellar systems is a versatile and widely used approach. Pyrene is a fluorescent hydrophobic compound commonly used as probe, which exhibits different fluorescence characteristics depending upon the properties of the solubilizing medium. Its usefulness to determine solvent environments is due to its excited state, which presents a different non-polar structure compared to the ground state. Certain emission bands are unaffected but others show variations in intensity due to the interaction with the solvent.

3.3.1. Determination of CMC

The fluorescence emission spectrum of pyrene in an aqueous medium exhibits five characteristic bands in the region of 370 to 400 nm, as shown in Figure S11 of the Supplementary Material. The vibronic peak of pyrene corresponding to a I_1 intensity appears with a λ_{em} of ~375 nm, and the vibronic peak related to I_3 with λ_{em} of ~385 nm. In a polar media, there is an increase of the band intensity 0-0 (peak 1) *versus* others due

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

to vibronic coupling [25]. The emission spectrum of pyrene obtained when working below the CMC of a representative IL-based surfactant (the dicationic $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$) is shown in Figure S11(B). It can be observed that it is quite similar to that obtained in water (Figure S11(A)), because there are not yet micelles in the environment. When working above the CMC (Figure S11(C)), pyrene is normally dissolved in the interior region of the micelles due to its hydrophobicity and poor solubility in water ($2 - 3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). This change results in an alteration of the ratio of relative band intensities I_1/I_3 [25]. Therefore, CMC values can be estimated by plotting the ratio of the relative band intensities I_1/I_3 versus surfactant concentration or logarithm of surfactant concentration, with the curves following a simple sigmoidal expression.

Thus, the determination of the CMC values for the group of dicationic and tricationic IL-based surfactants was performed utilizing an optimum concentration for pyrene of $8\cdot 10^{-7} \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, altogether with the remaining group of conditions described in Section 2.4.3. Figure S12(A) of the Supplementary Material shows the typical sinusoidal shape of plots of the variation of the I_1/I_3 ratio versus logarithm of surfactant concentration, with the dicationic $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ being the plotted representative example. The CMC values correspond to the inflection point of the curves, and can be calculated by using the 2nd derivative method. The obtained CMC values are listed in Table 2. They are accompanied by the corresponding polynomial equations (I_1/I_3 versus logarithm of surfactant concentration). It can be observed that correlation coefficients higher than 0.99 were obtained in all cases.

Regarding the CMC values obtained by fluorescence measurements for the dicationic IL-based surfactants, it can be observed that they decrease when the number of carbons of lateral alkyl chains of surfactants increase, from $58.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$ to $0.21 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for $(C_{16}Im)_2C_{12}-2Br$. The obtained CMC values for the tricationic surfactants were very similar among them, being higher than those for dicationics except for $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$.

If these CMC values are compared with those obtained by conductimetry, it can be observed that they are in agreement and are slightly higher those obtained by fluorescence measurements.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. CMC values obtained by fluorescence measurements for the group of IL-based surfactants studied at 298 K and the corresponding polynomial equations obtained.

IL-based surfactant	Polynomial equation ^a	R ^b	CMC (mmol·L ⁻¹)
<u>Dicationic surfactants</u>			
(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	$I_1/I_3 = -4.2 \times \log^4 c - 34.6 \times \log^3 c - 106.9 \times \log^2 c - 146.6 \times \log c - 74.3$	0.997	58.5
(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	$I_1/I_3 = 4.2 \times \log^4 c + 53.9 \times \log^3 c + 259.8 \times \log^2 c + 552.5 \times \log c + 1.3$	0.995	1.04
(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	$I_1/I_3 = -0.01 \times \log^5 c - 0.2 \times \log^4 c - 1.3 \times \log^3 c - 3.7 \times \log^2 c - 0.5 \times \log c - 1.1$	0.998	0.21
<u>Tricationic surfactants</u>			
(C ₈ Im) ₃ Am-3Br	$I_1/I_3 = 2.7 \times \log^5 c + 36.0 \times \log^4 c + 186.6 \times \log^3 c + 478.1 \times \log^2 c + 603.2 \times \log c + 300.2$	0.992	5.13
(C ₈ Im) ₃ Bn-3Br	$I_1/I_3 = -0.1 \times \log^4 c + 1.2 \times \log^3 c + 5.5 \times \log^2 c + 10.6 \times \log c + 8.7$	0.995	2.30

^a I_1 (375 nm)/ I_3 (385 nm) versus log (IL-based surfactant concentration, in mol·L⁻¹), using 8·10⁻⁷ mol·L⁻¹ of pyrene as probe, 2.5 nm excitation and emission slit widths, and data acquisition in the range of 350 to 450 nm

^b correlation coefficient

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

3.3.2. Determination of N_{agg}

N_{agg} values of IL-based surfactants were determined by the static luminescence quenching technique, originally proposed by Turro and Yekta [26]. The method requires the use of a micellar system, a probe and a quencher. Several assumptions have to be considered about the probe and the quencher: (1) they are solubilized by micelles, (2) they have a Poisson distribution in the micelles, (3) they remain confined in the micelles during a time longer than the lifetime of the excited probe and, (4) the fluorescence of probe is inhibited when quencher and probe occupy the same micelle [27].

If these assumptions are satisfied, for specific values of λ_{em} and λ_{exc} , the logarithm of the ratio of probe fluorescence intensities in absence (I_0) and presence (I) of the quencher can be plotted *versus* the concentration of the quencher (C_Q). The slope of such representation is $N_{agg}/(C_{surf} - CMC)$, being C_{surf} the surfactant concentration, whereas $\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \frac{N_{agg}}{C_{surf}-CMC} \cdot C_Q \cdot N_{agg}$ and CMC values refer to each studied IL-based surfactant (using the CMC values already derived from fluorescence measurements: Table 2, Section 3.3.1).

In this work, pyrene was selected as the probe with an optimum concentration of $1.6 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, and benzophenone-3 was selected as quencher. The fluorescence responses were monitored at λ_{em} of 375 nm ($\lambda_{ex} = 335 \text{ nm}$), corresponding with the highest intensity fluorescence peak of pyrene (I_1). Figure S12 (B) shows a representative plot of such quenching effect for the representative tricationic IL-based surfactant $(C_8Im)_3Bn-3Br$ ($7.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). The calculated N_{agg} values for all surfactants studied are listed in Table 3, along with the corresponding quality analytical parameters of the linear least-squares fit of the $\ln(I_0/I)$ *versus* C_Q plot. The concentration values used for surfactants are also listed in Table 3. In all cases, the molar fraction of benzophenone-3 was always lower than $8.8 \cdot 10^{-3}$.

It can be observed that the N_{agg} values for dicationic IL-based surfactants oscillate between 4.7 ± 0.1 for $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ and 547 ± 17 for $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$. In general, no trends were observed within the dicationic IL-based surfactants. Nevertheless, it had been described for monocationic surfactants that N_{agg} increases with the increasing size of lateral alkyl chains [27]. This increase is only observed from $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ to $(C_{16}Im)_2C_{12}-2Br$, with $(C_4Im)_2C_{12}-2Br$ being an exception.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 3. N_{agg} values obtained for the studied dicationic and tricationic IL-based surfactants using fluorescence measurements, including the corresponding quality analytical parameters of the equations employed for their calculations. Pyrene was used as probe ($1.6 \cdot 10^{-6}$ mol·L⁻¹), benzophenone-3 as quencher, and the employed λ_{em} was 375 nm (I_1).

IL-based surfactant	$C_{Surf.}^a$ (mmol·L ⁻¹)	(Slope ^b ± error) × 10 ⁻⁴	Intercept ^b ± error	R ^c	$N_{agg} \pm error^d$
<u>Dicationic surfactants</u>					
(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	121	0.87 ± 0.03	-0.02 ± 0.01	0.996	547 ± 17
(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	1.3	2.196 ± 0.003	0.10 ± 0.02	0.996	4.7 ± 0.1
(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	1.0	12.5 ± 0.7	0.00 ± 0.02	0.993	99.5 ± 5.4
<u>Tricationic surfactants</u>					
(C ₈ Im) ₃ Am-3Br	6.3	2.03 ± 0.05	-0.07 ± 0.02	0.997	24.7 ± 1.1
(C ₈ Im) ₃ Bn-3Br	7.2	1.98 ± 0.06	0.01 ± 0.01	0.997	98.6 ± 3.2

^afixed IL-based surfactant concentration in the study

^bslope and intercept refer to the linear equation obtained when plotting $\ln(I_0/I)$ versus C_Q

^ccorrelation coefficient of such plot

^derror in the determination N_{agg} , calculated from mathematical propagation of the error for the slopes and intercepts

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

For tricationic IL-based surfactants, the obtained N_{agg} values were 24.7 ± 1.1 for $(C_8Im)_3Am-3Br$ and 98.6 ± 3.2 $(C_8Im)_3Bn-3Br$. These results can be explained in terms of aromaticity. In the case of $(C_8Im)_3Bn-3Br$, the higher aromaticity due to the Bn spacer implies higher intra-micelle repulsion and so more monomers of surfactant are required for micelle formation.

The literature N_{agg} value for the monocationic $C_{16}MIm-Br$ is 66 [27], which is obviously much lower than that of the dicationic $(C_{16}Im)_2C_{12}-2Br$ ($N_{agg} \sim 104$). There are few literature N_{agg} values for monocationic surfactants containing substituents higher than methyl in the 3-position of the cation, which makes difficult the comparison with our reported values. To the best of our knowledge, there are not reported N_{agg} values for dicationic surfactants, at least not with similar structures to compare with and clearly not for tricationics.

3.4. Determination of micellization behavior by surface tension measurements

As discussed previously, these studies are focused on tricationic IL-based surfactants because the characterization of dicationic surfactants by surface tensiometry has been previously carried out [9].

3.4.1. Determination of CMC and surface activity of tricationic IL-based surfactants

Figure 3 shows the surface tension plots obtained for the tricationic surfactants. The absence of a minimum around the breakpoint in the plots confirms the high purity of the surfactants. The CMC values of the two surfactants were mathematically determined from the break points in the $-\log C$ curves, and are listed in Table 4.

It can be observed from Table 4 that $(C_8Im)_3Bn-3Br$ exhibited lower CMC values in comparison with $(C_8Im)_3Am-3Br$ with identical alkyl substituents. This difference in CMC values may be due to the higher hydrophobicity imparted by the benzyl core in $(C_8Im)_3Bn-3Br$. It can also be observed from Table 4 that the tricationic surfactants possess lower CMC values compared to the linear trimeric surfactant methyloctyl bis[3-(dimethyloctylammonio)ethyl]ammonium tribromide (8-2-8-2-8), particularly when compared with the $(C_8Im)_3Am-3Br$ surfactant containing the same hydrocarbon chain

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

length [28]. Similar observations were also found when comparing monocationic surfactants and traditional monomeric quaternary ammonium based surfactants [29].

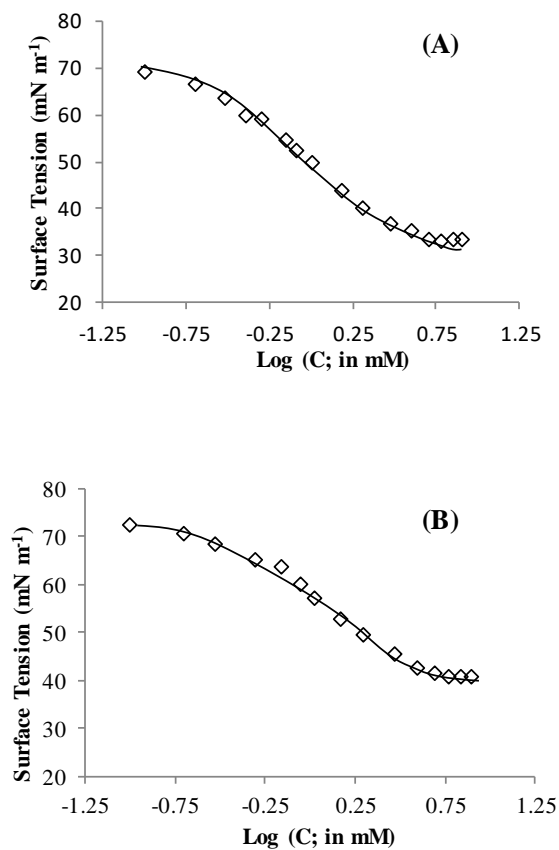


Figure 3. Surface tension plots of trigonal tricationic IL-based surfactants, (A) (C₈Im)₃Am-3Br, and (B) (C₈Im)₃Bn-3Br.

Surface activity of surfactants is usually expressed in terms of *effectiveness* of the surface tension reduction and *efficiency* of surfactant adsorption. *Effectiveness* is the minimum surface tension (γ_{cmc}) caused by the surfactant regardless of the concentration. It is also related to the maximum surface adsorption (Γ_{max}) occurring below the CMC. These values are obtained from surface tension plots and are calculated using the Gibbs adsorption isotherm represented by Equation (3):

$$\Gamma_{\text{max}} = -\frac{1}{iRT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln C} \right)_T \quad (3)$$

In this relationship, the term within parenthesis is the linear slope of the surface tension plots below the CMC; C is the concentration of the surfactant in bulk solution, the value of i for the tricationic IL-based surfactants is 4, R is the gas constant ($8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), and T is the absolute temperature [28].

The area occupied by a single surfactant molecule at the air-solution interface (A_{min}) can be calculated by the following Equation (4):

$$A_{\text{min}} = \frac{1}{N \cdot \Gamma_{\text{max}}} \quad (4)$$

with N being Avogadro's constant ($6.022 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$).

The calculated values for γ_{CMC} , Γ_{max} , and A_{min} are also included in Table 4. In comparing the $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Bn-3Br}$ and $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Am-3Br}$ surfactants, the benzyl core surfactant exhibited the higher γ_{cmc} value. This indicates that the triethylamine core surfactants are more effective in reducing the surface tension of water. The lower γ_{cmc} values of $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Am-3Br}$ may be attributed to enhanced interactions of the three alkyl chain moieties around the triethylamine core allowing them to be adsorbed strongly at the air/water interface. The traditional trimeric surfactant 8-2-8-2-8 exhibited similar values to $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Am-3Br}$, which is the IL-based surfactant with closer structure to compare with. The Γ_{max} values of $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Am-3Br}$ are smaller and A_{min} values were higher than those of $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Bn-3Br}$. This indicates that the benzene ring exerts a stronger influence, and so the packing density of surfactant molecules at the interface is higher for $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Am-3Br}$ than for $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Bn-3Br}$. Monomers of the $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Bn-3Br}$ may be more compact than $(\text{C}_8\text{Im})_3\text{Am-3Br}$ monomers at the air/solution interface.

An additional parameter that can be obtained from the surface tension plots is pC_{20} , which provides a measure of the adsorption efficiency of the surfactant at the air-

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

water interface. C_{20} is the IL-based surfactant concentration required to reduce the initial surface tension of the pure solvent by 20 mN m^{-1} . The larger the pC_{20} value, the greater the tendency of the surfactant to undergo adsorption rather than forming a micelle in solution [23]. From Table 4, it is clear that pC_{20} values of $(C_8Im)_3Am-3Br$ were higher than those of $(C_8Im)_3Bn-3Br$, indicating that they are more efficient in adsorbing at the interface.

Recently, Ao *et al.* studied the effect of spacer length on the adsorption efficiency of dicationic surfactants using the ratio of the CMC/C_{20} values [12]. The CMC/C_{20} values provide information about the relative structural and micro-environmental factors of the surfactant on adsorption over micellization [12]. Surfactants with larger CMC/C_{20} ratios indicate a greater tendency of the surfactant to adsorb at the air/water interface *versus* micellization. From Table 4, $(C_8Im)_3Am-3Br$ exhibited higher CMC/C_{20} values, which is concordant with all results derived from the surface tension study accomplished. The CMC/C_{20} values obtained for the tricationic surfactants of the present work are lower or similar to the IL-type Gemini imidazolium-based surfactants with dodecyl hydrocarbon chain substituents [12].

Table 4. Values of CMC, γ_{CMC} , Γ_{max} , A_{min} , pC_{20} and CMC/C_{20} obtained for the tricationic IL-based surfactants examined in this study, and for previously reported traditional trimeric surfactants.

IL-based surfactant	CMC \pm error ^a (mM)	γ_{cmc} (mN m ⁻¹)	Γ_{max} ($\times 10^6$ mol m ⁻²)	A_{min} (nm ²)	pC_{20}	CMC/C_{20}
$(C_8Im)_3Am-3Br$	4.3 ± 0.2	33	1.11	1.50	3.13	5.7
$(C_8Im)_3Bn-3Br$	2.2 ± 0.1	40	1.37	1.21	2.81	1.4
8-2-8-2-8	14 ^b	35 ^b	1.07 ^b	1.55 ^b	-	-

^a CMC error, calculated from mathematical propagation of the error in the prediction of the CMC concentration

^b data obtained from [28]

3.4.2. Effect of salt additives on solubility and CMC of tricationic IL-based surfactants

Electrolytes are able to screen the charge repulsion between head groups and facilitate the formation of a micelle at lower concentration. As a result, the CMC values of surfactants are often lower in comparison to aqueous surfactant solutions that do not

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

contain electrolytes [30,31]. Several studies have examined the effect of electrolytes on the aggregation of surfactants in aqueous solutions [12,15, 16]. Wang *et al.* studied the aggregation properties of the surface active monocationic surfactant 1-decyl-3-methylimidazolium bromide in aqueous solutions in the presence of 15 different salts [16]. Recently, Yu *et al.* reported the salting-out phenomenon with cationic Gemini surfactants. It was shown that variations in the spacer group resulted in a significant difference in salt concentration required to produce the salting-out effect [30].

In the present study, two inorganic salts (sodium iodide and sodium bromide) and one organic salt (sodium benzoate) were studied to examine their effect on the CMC and surface active properties of the trigonal tricationic surfactants in aqueous solutions, as a preliminary study of their behavior.

The concentration of salts used in aqueous surfactants solutions was dependent on the nature of the surfactant. Furthermore, the concentration of sodium iodide used in the study was lower in comparison with sodium bromide and sodium benzoate salts due to the increased salting-out effect of sodium iodide. For example, it was observed that aqueous solutions of the tricationic $(C_8Im)_3Bn-3Br$ phase separated when the concentration of sodium iodide exceeded 0.1 mM. Therefore, this concentration was not examined. However, this behavior was not observed for the other two salts at similar concentrations. The maximum working concentration of sodium iodide used in aqueous solutions of the $(C_8Im)_3Am-3Br$ was 2 mM due to the salting-out effect. Aqueous solutions containing high concentrations of sodium bromide (>10 mM) and sodium benzoate (>5 mM) also exhibited the salting-out phenomenon for both tricationic IL-based surfactants.

The surface tension plots obtained from the tricationic surfactants and salts studied are included in Figures 4 and S13 of the Supplementary Material. It can be observed from Tables 4 and 5 that the CMC values for both classes of surfactants decreased in the presence of electrolytes. For example, the CMC value of the $(C_8Im)_3Am-3Br$ decreased from 4.3 mM in pure water to 2.1 mM in 2 mM sodium iodide (Figure 4(D)) or in 5 mM sodium benzoate (Figure 4(C)). As shown in Figure S13 for $(C_8Im)_3Bn-3Br$, a clear shift in the break point is observed when the concentration of sodium benzoate was increased from 2 to 5 mM, resulting in a drop in CMC from 1.8 to 0.9 mM.

A comparison of the CMC values for the tricationic surfactants in the presence of similar concentrations of sodium salts provides information into the effects of different counter-

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

ions. It can be seen from Table 5 that the sodium salts (at the same or similar concentration) lower the CMC values of $(C_8Im)_3Am-3Br$ following the order: $NaI > C_6H_5COONa > NaBr$. At equal concentrations of $NaBr$ and C_6H_5COONa salts, the $(C_8Im)_3Bn-3Br$ surfactant exhibited a lower CMC value in the presence of sodium benzoate. This counter-ion effect on the tricationic surfactant may be rationalized due to difference in hydration and polarizability of the counter-ion. Wang *et al.* studied the effect of electrolytes on the aggregation of monocationic surfactants in aqueous solution using conductivity, fluorescence, and dynamic light scattering techniques. It was reported that aggregation depended on the polarizability and hydrodynamic radius of the counter-ion used as the electrolyte [16]. Thus, the observed effects of electrolytes on the aggregation of tricationic surfactants follow similar trends to those previously observed for monocationics.

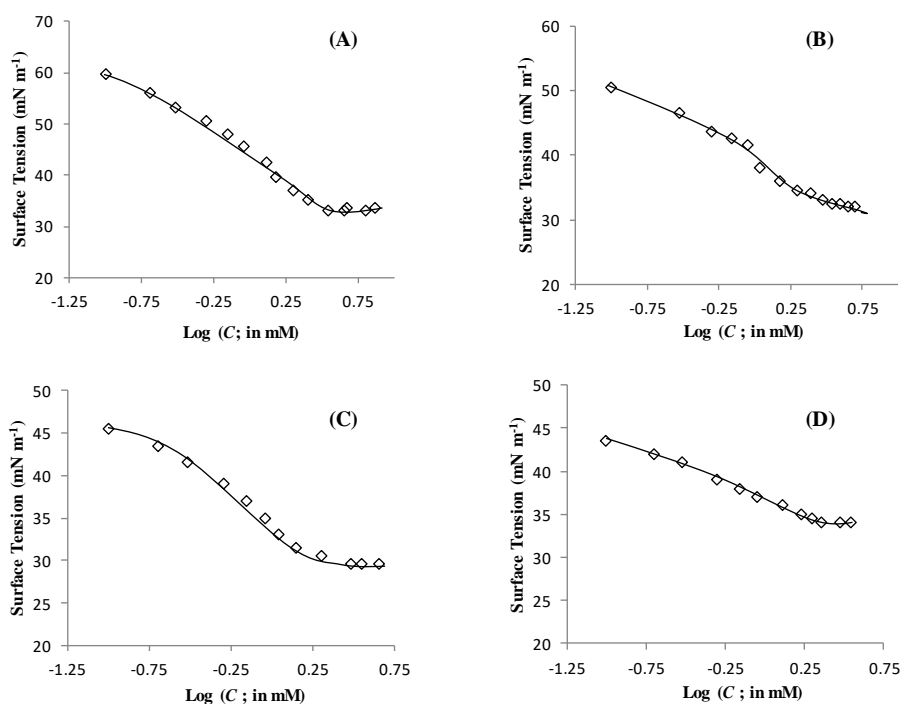


Figure 4. Surface tension plots of the tricationic IL-based surfactant $(C_8Im)_3Am-3Br$ in presence of: **(A)** 5 mM sodium bromide, **(B)** 2 mM sodium benzoate, **(C)** 5 mM sodium benzoate, and **(D)** 2 mM sodium iodide.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/		
Identificador del documento: 909081		Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38	
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58	
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35	
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09	

Table 5. Values of CMC, γ_{cmc} , pC_{20} and CMC/C_{20} obtained by surface tensiometry for the trigonal tricationic IL-based surfactants in the presence of added electrolytes.

Salt	Salt conc. (mM)	CMC (mM)	γ_{cmc} (mN m ⁻¹)	pC_{20}	CMC/C_{20}
(C₈Im)₃Am-3Br					
sodium bromide	5	3.0	33	3.33	6.4
sodium benzoate	2	2.6	32	3.67	12
sodium iodide	5	2.1	29	4.25	38
sodium iodide	2	2.1	34	4.92	173
(C₈Im)₃Bn-3Br					
sodium bromide	5	2.2	41	3.29	4.9
sodium benzoate	2	1.8	40	4.02	18.1
sodium benzoate	5	0.90	39	4.52	29

3.4.3. Effect of electrolytes on the interfacial adsorption of tricationic IL-based surfactants

The effect of electrolytes on the interfacial adsorption of tricationic surfactants was examined by comparing the surface activity parameters including γ_{CMC} , pC_{20} , and CMC/C_{20} values for pure aqueous solutions of surfactants with those of solutions containing sodium salts. These values are also included in Table 5. It can be observed that the pC_{20} and CMC/C_{20} values increased in the presence of sodium salts. This effect may be due to the enhanced adsorption of tricationic surfactant molecules at the interface. For example, the pC_{20} and CMC/C_{20} values were 3.13 and 5.7, respectively, for the (C₈Im)₃Am-3Br IL-based surfactant in water. These values increased up to 4.92 and 173, respectively, in the presence of 2 mM sodium iodide. The effect of sodium iodide on this surfactant can be observed by comparing the surface tension plots in Figures 3(A) and 4(D). Thus, at similar surfactant concentrations, the surface tension value of the water dropped from 69.5 to 44.5 mN m⁻¹. This drop in surface tension may be due to the enhanced adsorption of surfactant molecules in the presence of sodium iodide. Similar observations can also be made for sodium bromide and sodium benzoate salts from Figures 4(A) and 4(C), wherein the surface tension of water dropped to 59.5 and 45.5 mN m⁻¹, respectively. A similar electrolyte effect was also observed for the (C₈Im)₃Bn-3Br surfactant. As shown in Figure S13, the surface tension of water decreased significantly as the sodium benzoate concentration increased from 0 to 5 mM.

The pC_{20} and CMC/C_{20} values for both tricationic IL-based surfactants depend on the concentration of sodium salt employed. In Table 5, it can be observed for both classes of surfactants that an increase in sodium benzoate concentration resulted in an increase in pC_{20} and CMC/C_{20} values. For $(C_8Im)_3Am-3Br$, the increase in these parameters follows the order: $NaI > C_6H_5COONa > NaBr$. Similarly, in the case of the $(C_8Im)_3Bn-3Br$, and at equal concentrations of sodium bromide and sodium benzoate salts, the CMC/C_{20} and pC_{20} values were higher in the presence of sodium benzoate. Para *et al.* previously studied the adsorption properties of aqueous solutions of traditional cationic quaternary ammonium-based surfactants in the presence of sodium salts and developed a model to describe their experimental observations [31]. According to this model, adsorption of ionic surfactants is accompanied by the formation of an electric double layer (EDL) at the interface. The surface potential at the EDL hinders further adsorption of ionic surfactants and facilitates the adsorption of the counter-ions. The adsorption of counter-ions at the interface reduces the surface potential and enhances the adsorption of ionic surfactants. Based on experimental and theoretical studies, these authors claimed that the adsorption of counter-ions is related to the polarizability and size of the counter-ion [31]. Thus, the observed specific-ion effect in the present study may be related to similar observations made in such previous study for traditional cationic surfactants.

At higher concentrations of sodium benzoate salt, the γ_{cmc} values of $(C_8Im)_3Am-3Br$ decreased (see Table 5). For the other two salts, the obtained γ_{cmc} values are similar than those obtained for $(C_8Im)_3Am-3Br$ in water. Recently, Yu *et al.* also observed a decrease in γ_{cmc} values for dicationic Gemini surfactants only in the presence of sodium benzoate, but did not observe this decrease in aqueous solutions of sodium chloride and sodium sulfate. The specific-ion effect was explained based on the additional hydrophobicity imparted by the benzoate anions at the interface [30]. Interestingly, the γ_{cmc} values of the $(C_8Im)_3Bn-3Br$ surfactant solutions only experience a small decrease in the presence of sodium benzoate salts.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

4. Conclusions

For first time, two trigonal tricationic IL-based surfactants comprised of two different cores were synthesized and their surface activity parameters (interfacial and aggregation behavior) were studied in aqueous solutions using surface tension, conductivity and fluorescence measurements. Three dicationic IL-based surfactants were also characterized using conductivity and fluorescence measurements.

The obtained CMC values of the tricationic surfactants were lower than analogous linear trimeric surfactants. For the two tricationics considered, it seemed that an increase in the aromaticity and size of the linker (Bn *versus* Am), while keeping constant the lateral chains of the surfactants, is accompanied by a decrease in the CMC. The CMC values of dicationic surfactants clearly decreased as a function of the alkyl chain size when maintaining the same linker.

To the best of our knowledge, this is the first time that the aggregation number has been determined for dicationic IL-based surfactants and, obviously, for tricationics. For tricationics, the higher N_{agg} value was obtained for the surfactant containing the Bn core, which can be linked to higher intra-micelle repulsion due to the aromaticity of the ring, and so more monomer are required for micelle formation. Regarding dicationics, there was an increase in the N_{agg} values when increasing the alkyl chain side from butyl to decyl, but then a decrease for the hexadecyl substituent.

The effect of sodium salts in decreasing CMC values of the tricationic surfactants followed the general trend: NaI > C₆H₅COONa > NaBr. The observed trend may be rationalized due to difference in hydration and polarizability of the counter-ion. It was observed that pC_{20} and CMC/C₂₀ values increased significantly in the presence of sodium salts due to enhanced adsorption of the tricationic surfactant molecules at the air/water interface.

On-going studies in our group are focused on studying mixed micellization of various monocationic surfactants with the tricationic and dicationic IL-based surfactants presented in this study. The goal is to further understand how the molecular structures of surfactants influence co-micellization in aqueous solutions.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Acknowledgements

V.P. thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for the Ramón y Cajal contract with the University of La Laguna (ULL), as well as funding from MINECO ref. MAT2013-43101-R and from the ULL ref. 2013-young researchers modality. A.M.A. acknowledges funding from a Bridge Project and a Consolidated Research Funding Project of ULL. J.L.A. acknowledges funding from the Chemical Measurement and Imaging Program in the Division of Chemistry at the National Science Foundation (CHE-1413199). A.M.P. thanks his fellowship from the Environmental Service of ULL (SEMALL), and M.J.T.R. thanks her PhD fellowship from “Fundación CajaCanarias”. D.J. Steyer thanks the office of Undergraduate Research at The University of Toledo for funding of an undergraduate research grant.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] T. Welton, Chem. Rev. 99 (1999) 2071–2084.
- [2] T.L. Merrigan, E.D. Bates, S.C. Dorman, J.H. Davis Jr, Chem. Commun. 20 (2000) 2051–2052.
- [3] J.L. Anderson, V. Pino, E.C. Hagberg, V.V. Sheares, D.W. Armstrong, Chem. Commun. 19 (2003) 2444–2445.
- [4] J. Bowers, C.P. Butts, P.J. Martin, M.C. Vergara-Gutierrez, R.K. Heenan, Langmuir. 20 (2004) 2191–2198.
- [5] J. Sirieix-Plénet, L. Gaillon, P. Letellier, Talanta, 63 (2004) 979–986.
- [6] J. Łuczak, J. Hupka, J. Thöming, C. Jungnickel, Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp. 329 (2008) 125–133.
- [7] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, Sep. Sci. Technol. 47 (2011) 264–276.
- [8] M. Blesic, M.H. Marques, N.V. Plechkova, K.R. Seddon, L.P.N. Rebelo, Green Chem. 9 (2007) 481–490.
- [9] Q.Q. Baltazar, J. Chandawalla, K. Sawyer, J.L. Anderson, Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp 302 (2007) 150–156.
- [10] M.G. Freire, P.J. Carvalho, A.M. Fernandes, I.M. Marrucho, A.J. Queimada, J.A.P. Coutinho, J. Colloid Interface Sci. 314 (2007) 621–630.
- [11] B.L. Bhargava, M.L. Klein, J. Chem. Theory Comput. 6 (2010) 873–879.
- [12] M. Ao, P. Huang, G. Xu, X. Yang, Y. Wang, Colloid Polym Sci. 287 (2009) 395–402.
- [13] A. Modaressi, H. Sifaoui, M. Mielcarz, U. Domańska, M. Rogalski, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp. 302 (2007) 181–185.
- [14] H. Wang, J. Wang, S. Zhang, X. Xuan, J. Phys. Chem. B 112 (2008) 16682–16689.
- [15] J. Jiao, Y. Zhang, L. Fang, L. Yu, L. Sun, R. Wang, N. Cheng, J. Colloid Interface Sci. 402 (2013) 139–145.
- [16] H. Wang, Q. Feng, J. Wang, H. Zhang, J. Phys. Chem. B 114 (2010) 1380–1387.
- [17] M. Planellas, R. Pleixats, A. Shafir, Adv. Synth. Catal. 354 (2012) 651–662.
- [18] T. Yoshimura, T. Kusano, H. Iwase, M. Shibayama, T. Ogawa, H. Kurata, Langmuir 28 (2012) 9322–9331.
- [19] Y. Yuan, I. Thomé, S.H. Kim, D. Chen, A. Beyer, J. Bonnamour, E. Zuidema, S. Chang, C. Bolm, Adv. Synth. Catal. 352 (2010) 2892–2898.
- [20] P.C. Shanks, E.I. Franses, J. Phys. Chem. 96 (1992) 1794–1805.
- [21] P.A. Koya, K. Ismail, K.u. Din, T.A. Wagay, J. Mol. Liq. 177 (2013) 288–294.
- [22] M. Ao, G. Xu, Y. Zhu, Y. Bai, J. Colloid Interface Sci. 326 (2008) 490–495.
- [23] V. Pino, C. Yao, J.L. Anderson, J. Colloid Interface Sci. 333 (2009) 548–556.
- [24] A.K. Tiwari, S.M. Sowmiya, S.K. Saha, J. Mol. Liq. 167 (2012) 18–27.
- [25] B. Dong, X. Zhao, L. Zheng, J. Zhang, N. Li, T. Inoue, Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp. 317 (2008) 666–672.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [26] N.J. Turro, A. Yekta, J. Am. Chem. Soc. 100 (1978) 5951–5952.
- [27] R. Vanyúr, L. Biczók, Z. Miskolczy, Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp. 299 (2007) 256–261.
- [28] T. Yoshimura, H. Yoshida, A. Ohno, K. Esumi, J. Colloid Interface Sci. 267 (2003) 167–172.
- [29] T. Inoue, H. Ebina, B. Dong, L. Zheng, J. Colloid Interface Sci. 314 (2007) 236–241.
- [30] D. Yu, X. Huang, M. Deng, Y. Lin, L. Jiang, J. Huang, Y. Wang, J. Phys. Chem. B 114 (2010) 14955–14964.
- [31] G. Para, E. Jarek, P. Warszynski, Adv. Colloid Interface Sci. 122 (2006) 39–55.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. CMC, α and β values obtained by conductivity studies (at 298 K) for the selected group of IL-based surfactants, together with the curves employed for the calculations.

IL-based surfactant	CMC (mmol·L ⁻¹) ± error ^a	Premicellar curve (below CMC)			Postmicellar curve (above CMC)			$\alpha \pm \text{error}^f$	$\beta \pm \text{error}^f$
		S ₁ ^b ± SD ^c	interc. ± SD ^d	R	S ₂ ^e ± SD ^c	interc. ± SD ^d	R		
<u>Dicationic surfactants</u>									
(C ₄ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	58.56 ± 11.30	0.116 ± 0.003	0.76 ± 0.12	0.999	0.096 ± 0.003	1.98 ± 0.20	0.998	0.82 ± 0.01	0.19 ± 0.01
(C ₁₀ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.66 ± 0.24	187.1 ± 3.2	4.51 ± 1.37	0.999	156.4 ± 4.5	27.8 ± 5.4	0.998	0.84 ± 0.03	0.17 ± 0.03
(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.19 ± 0.05	30.5 ± 2.3	1.52 ± 0.26	0.992	12.5 ± 0.6	7.07 ± 1.31	0.997	0.41 ± 0.04	0.59 ± 0.04
<u>Tricationic surfactants</u>									
(C ₈ Im) ₃ Am-3Br	4.15 ± 0.85	237.2 ± 9.9	430.2 ± 22.7	0.995	123.6 ± 1.6	919.2 ± 24.4	0.999	0.52 ± 0.06	0.48 ± 0.06
(C ₈ Im) ₃ Bn-3Br	1.87 ± 0.20	229.4 ± 8.6	621.2 ± 10.7	0.999	142.9 ± 6.5	760.5 ± 66.3	0.996	0.62 ± 0.04	0.38 ± 0.04

^a CMC error, calculated from the mathematical propagation of the error in the prediction of the concentration

^b premicellar slope

^c error of the slope of the linear region

^d error of the intercept of the linear region

^e postmicellar slope

^f error in the determination of α and β , calculated from the mathematical propagation of the error, and also considering the errors of S₁ and S₂

Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

383

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. Chemical structures of all the surfactants utilized in this study, including dicationic IL-based surfactants (A), and tricationic IL-based surfactants (B).

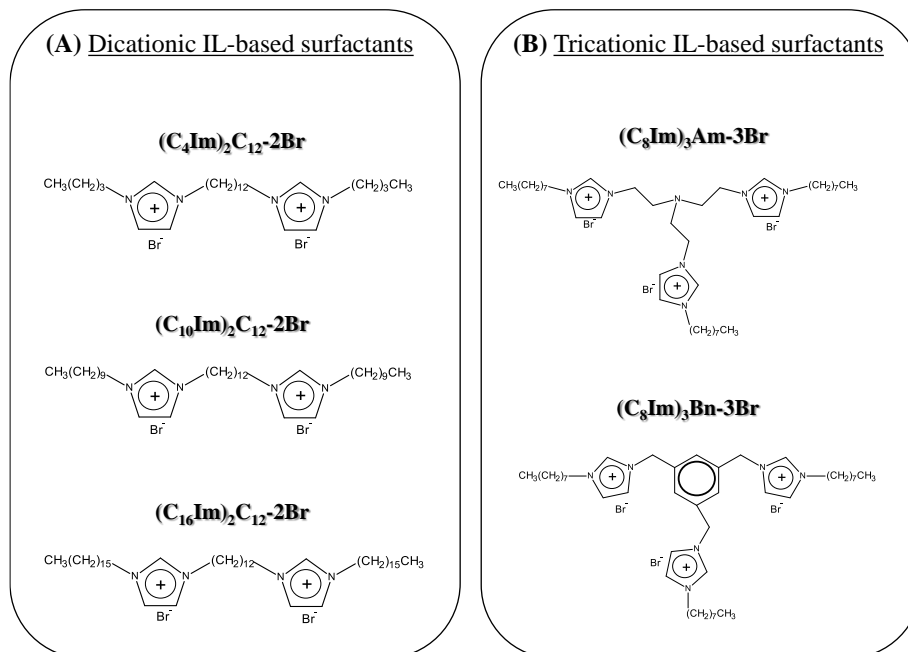
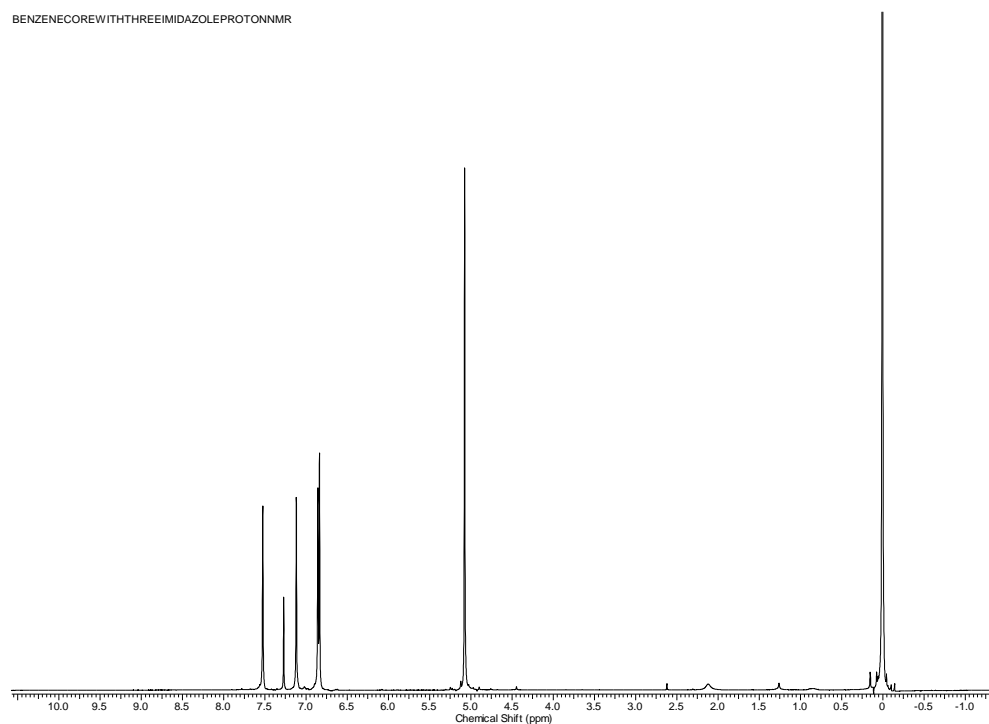


Figure S2. ^1H NMR (A) and ^{13}C NMR (B) spectra for 1-(3,5-bis((1H-imidazol-1-yl)methyl)benzyl)-1H-imidazole (compound 1A).

(A) ^1H NMR

BENZENECOREWITHTHREEIMIDAZOLEPROTONNMR



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 5.08 (s, 6H), 6.84 (d, $J = 1\text{Hz}$, 3H), 6.86(d, $J = 1\text{Hz}$, 3H), 7.12 (s, 3H), 7.52 (s, 3H).

385

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

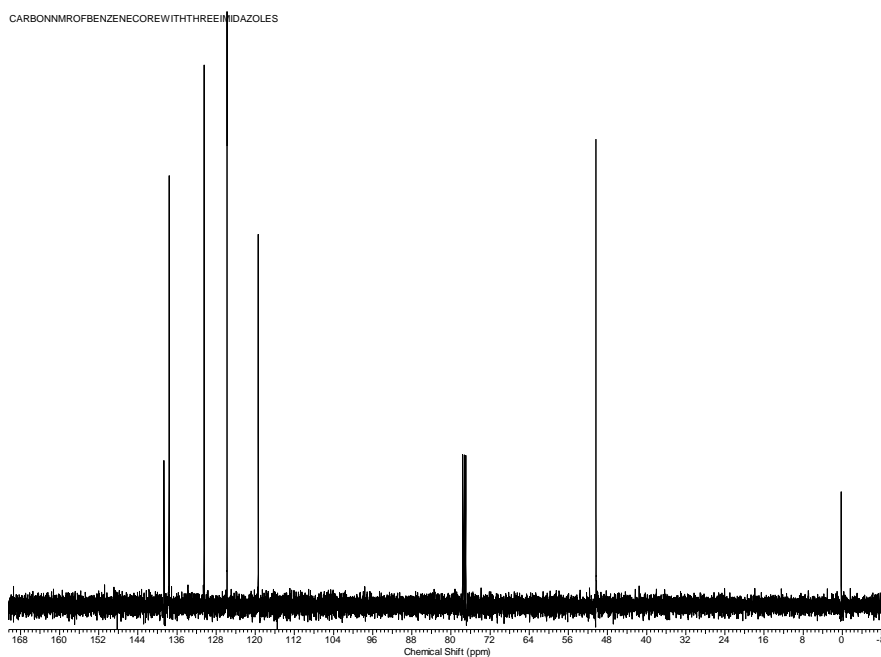
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. (continued). ^1H NMR (A) and ^{13}C NMR (B) spectra for 1-(3,5-bis((1H-imidazol-1-yl)methyl)benzyl)-1H-imidazole (compound 1A).

(B) ^{13}C NMR



^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 50.37, 119.40, 125.77, 130.45, 137.61, 138.65.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

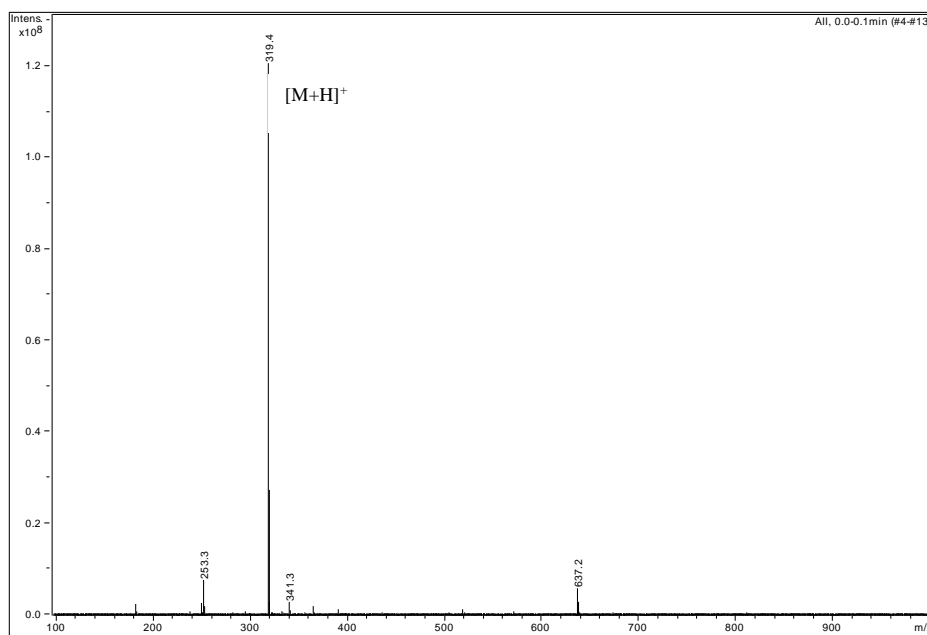
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S3. ESI mass spectrum of 1-(3,5-bis((1H-imidazol-1-yl)methyl)benzyl)-1H-imidazole (compound 1A).



387

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

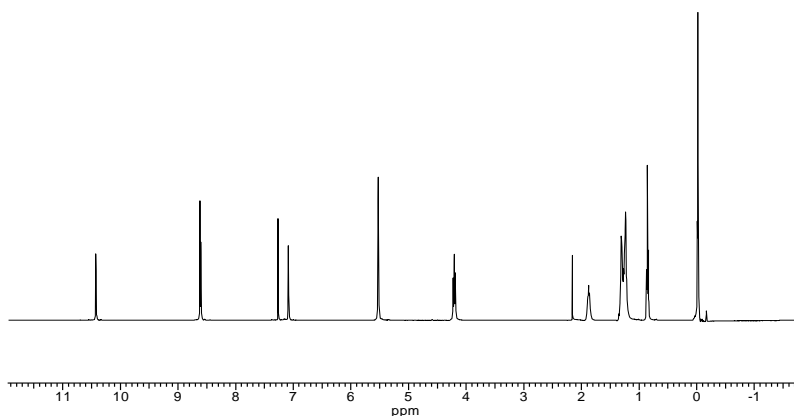
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

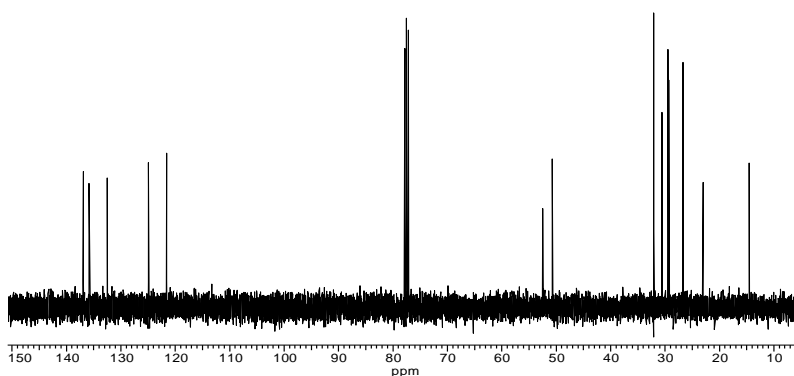
Figure S4. ^1H NMR (A), ^{13}C NMR (B), and elemental analysis data (C) for 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(1,3,5)tris (methylene) benzene imidazolium bromide (compound 1B).

(A) ^1H NMR



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 0.83 (t, $J = 7.32$ Hz, 9H), 1.20 (m, 30H), 1.79 (m, 6H), 4.22 (t, $J = 7.69$ Hz, 6H) 5.58 (s, 6H), 7.08 (s, 3H), 8.61 (d, $J = 2$ Hz, 3H), 8.63 (d, $J = 2$ Hz, 3H), 10.43 (s, 3H)

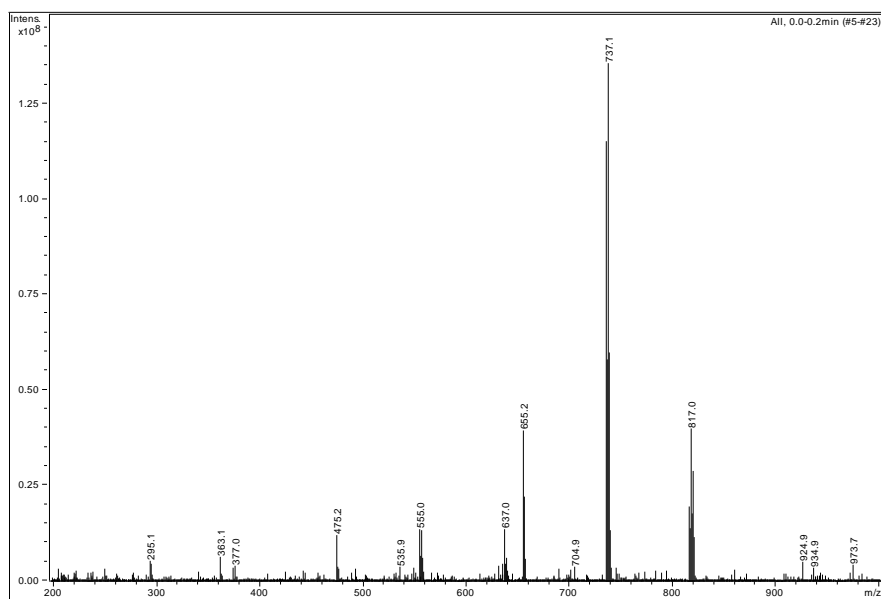
(B) ^{13}C NMR



^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 14.29, 22.80, 26.48, 29.11, 30.35, 31.86, 50.45, 52.27, 121.36, 124.69, 132.26, 135.61, 136.65

(C) Elemental analysis calculated for $\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{Br}_3\text{N}_6$: 56.19 % C, 7.75 % H, and 9.36 % N; found: 56.21 % C, 8.20 % H, and 9.21 % N

Figure S5. ESI mass spectrum of 3,3',3''-octyl-1, 1', 1''-(1,3,5)tris (methylene) benzene imidazolium bromide (compound 1B).



$[\text{Bn}(\text{C}_8\text{Im})_3 - 2\text{H}]^+$: 655.2 amu

$[\text{Bn}(\text{C}_8\text{Im})_3]^{3+} 2[\text{Br}]^-$: 817.1 amu

$[\text{Bn}(\text{C}_8\text{Im})_3 - \text{H}]^{2+} [\text{Br}]^-$: 737.1 amu

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

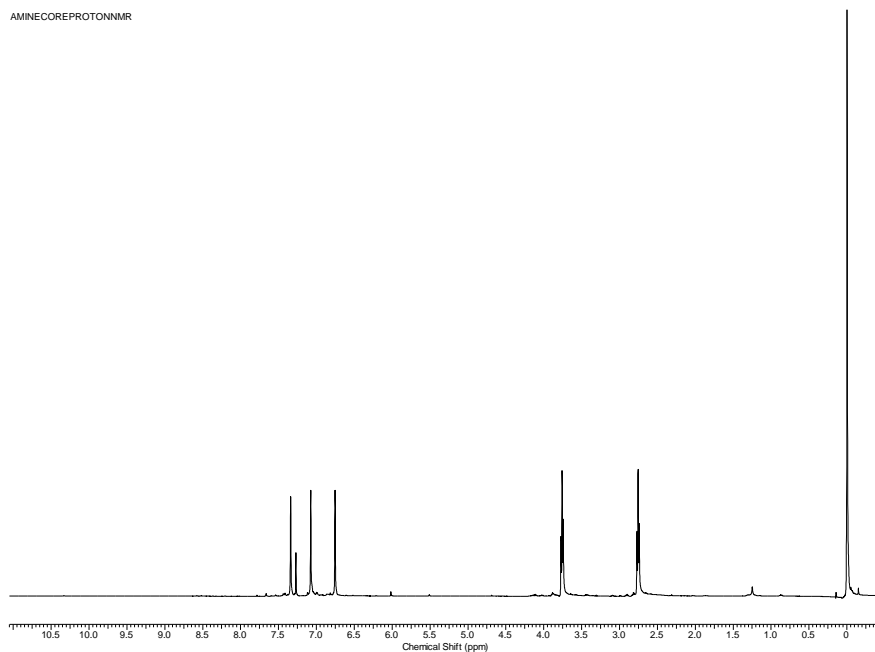
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S6. ^1H NMR (A) and ^{13}C NMR (B) spectra for tris(2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl)amine (compound 2A).

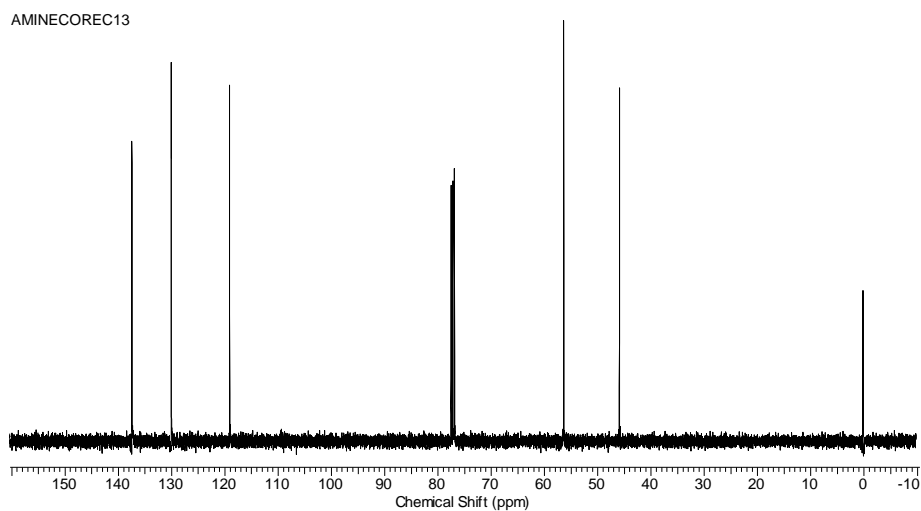
(A) ^1H NMR



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 2.76 (t, $J = 5.86$ Hz, 6H), 3.76 (t, $J = 5.86$ Hz, 6H), 6.75 (s, 3H), 7.07 (s, 3H), 7.34 (s, 3H)

Figure S6. (continued) ^1H NMR (A) and ^{13}C NMR (B) spectra for tris(2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl)amine (compound 2A).

(B) ^{13}C NMR



^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 45.94, 56.39, 119.12, 130.09, 137.47.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

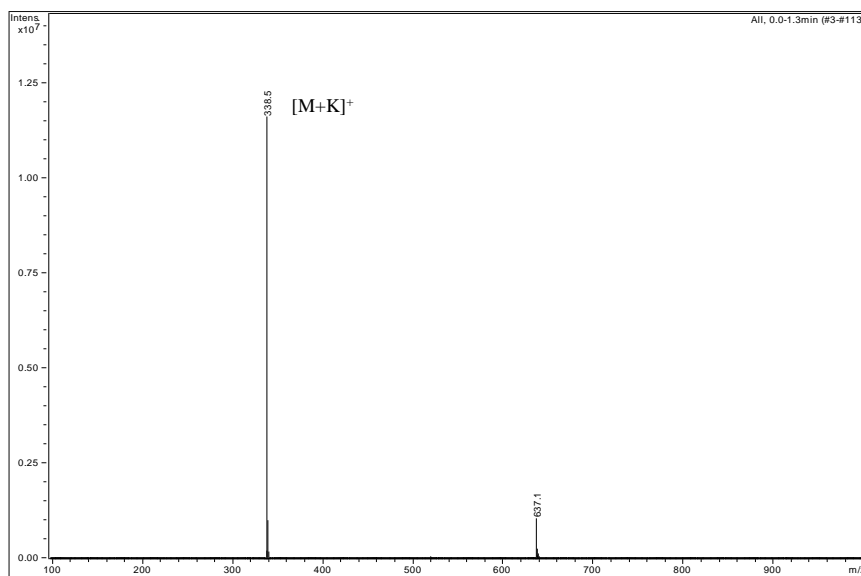
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S7. ESI mass spectrum of tris(2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl)amine (compound 2A).



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

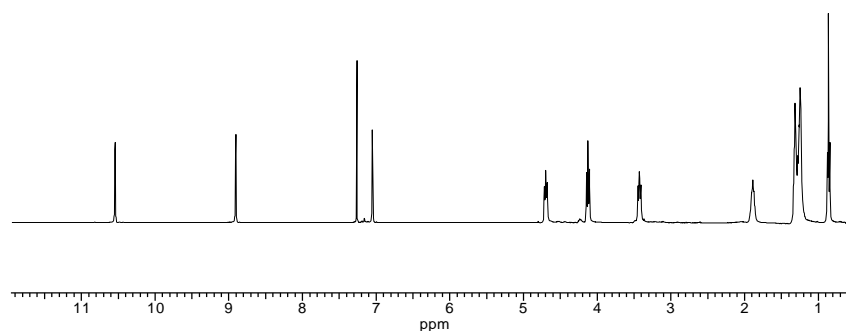
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

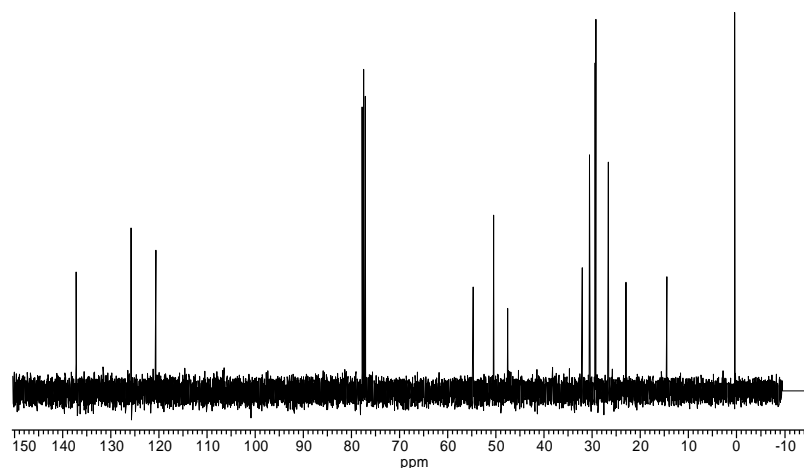
Figure S8. ^1H NMR (A), ^{13}C NMR (B), and elemental analysis data (C) for 3,3',3''octyl-1,1',1''- (2-ethylamino)imidazolium bromide (compound 2B).

(A) ^1H NMR



^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 0.87 (t, $J = 6.96$ Hz, 9H), 1.27 (m, 30H), 1.90 (m, 6H), 3.44 (t, $J = 7.32$ Hz, 6H), 4.13 (t, $J = 7.32$ Hz, 6H), 4.32 (t, 7.69 Hz, 6H), 7.06 (s, 3H), 8.91 (s, 3H), 10.55 (s, 3H)

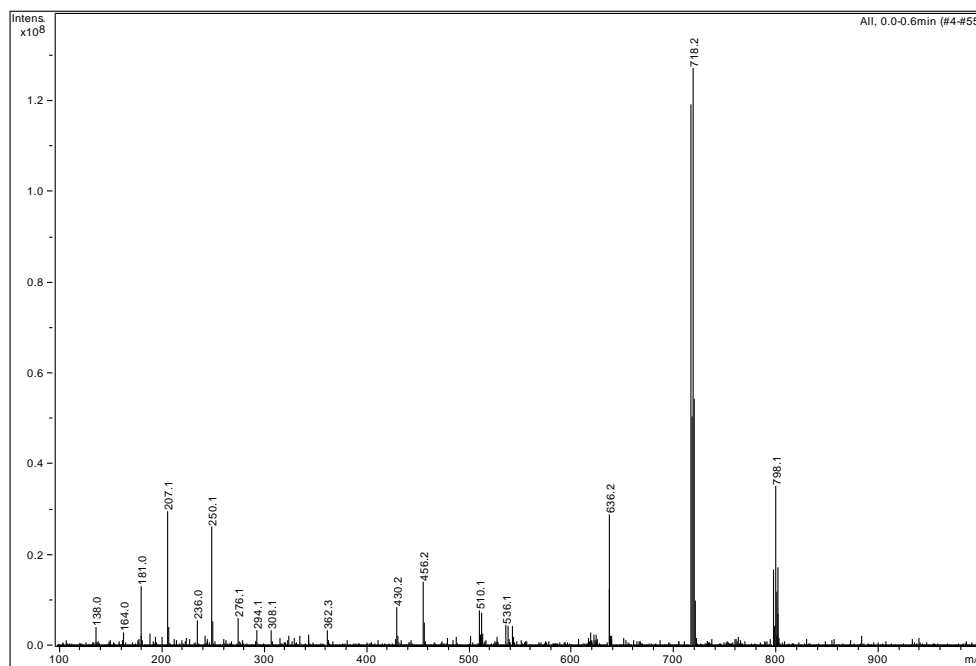
(B) ^{13}C NMR



^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 14.30, 22.79, 26.47, 29.06, 29.21, 30.37, 31.85, 47.38, 50.30, 54.51, 120.48, 125.61, 137.02

(C) Elemental analysis calculated for $\text{C}_{39}\text{H}_{72}\text{Br}_3\text{N}_7$: 53.31 % C, 8.26 % H, and 11.16 % N; found: 52.62 % C, 9.14 % H, and 10.92 % N

Figure S9. ESI mass spectrum of 3,3',3''-octyl -1,1',1''- (2-ethyl amino)imidazolium bromide (compound 2B).



$[\text{Am}(\text{C}_8\text{Im})_3 - 2\text{H}]^+$: 636.2 amu

$[\text{Am}(\text{C}_8\text{Im})_3]^{3+} 2[\text{Br}]^-$: 798.1 amu

$[\text{Am}(\text{C}_8\text{Im})_3 - \text{H}]^{2+} [\text{Br}]^-$: 718.1 amu

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

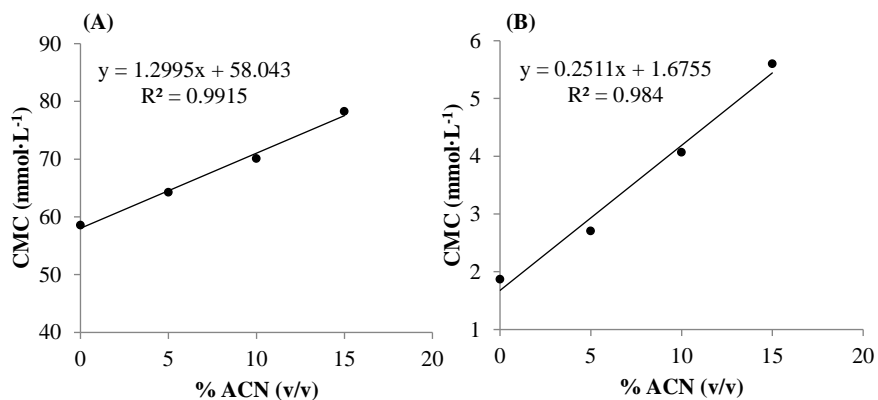
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S10. Variation of the CMC with the acetonitrile content, examples for **(A)** $(C_4Im)_2C_{12}Br$, and **(B)** $(C_8Im)_3Bn-3Br$. CMC values were determined by conductivity measurements.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S11. Fluorescence emission spectrum of pyrene: **(A)** in aqueous solution, **(B)** in presence of $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ at $0.3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (a concentration below the CMC), and **(C)** in presence of $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$ at $1.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (a concentration above the CMC). The excitation wavelength was 335 nm and the remaining conditions are described in Section 2.4.3.

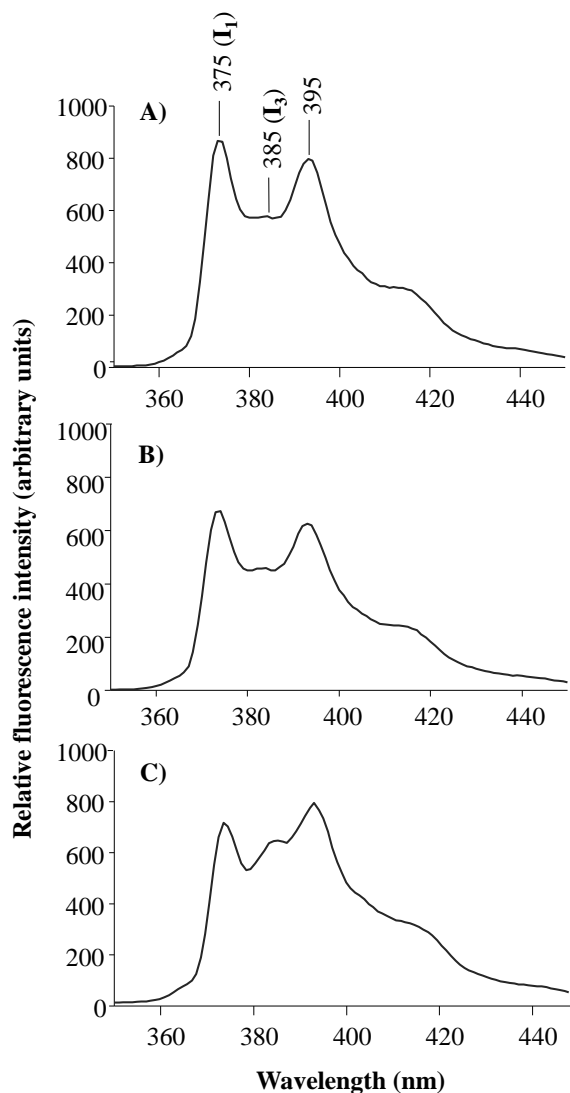
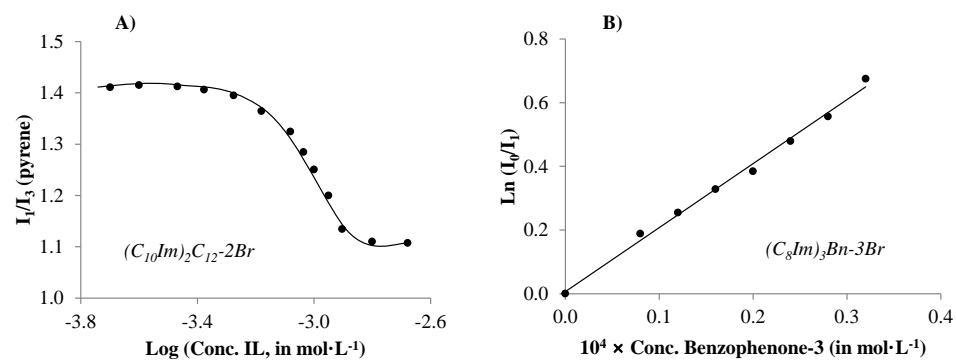


Figure S12. Representative plots obtained by fluorescence measurements for determining the CMC and the N_{agg} . **(A)** Variation of the ratio of band intensities I_1/I_3 of the emission spectrum of pyrene *versus* the logarithm of the concentration for the representative dicationic $(C_{10}Im)_2C_{12}-2Br$. The excitation wavelength was 335 nm and the remaining conditions are described in section 2.4.3. **(B)** Fluorescence quenching of pyrene by benzophenone-3 in 0.05 mol·L⁻¹ solutions of the representative tricationic $(C_8Im)_3Bn-3Br$. The relative intensities (I and I_0) were recorded at 375 nm. The excitation wavelength was 335 nm and the remaining conditions are described in Section 2.4.3.



Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

397

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

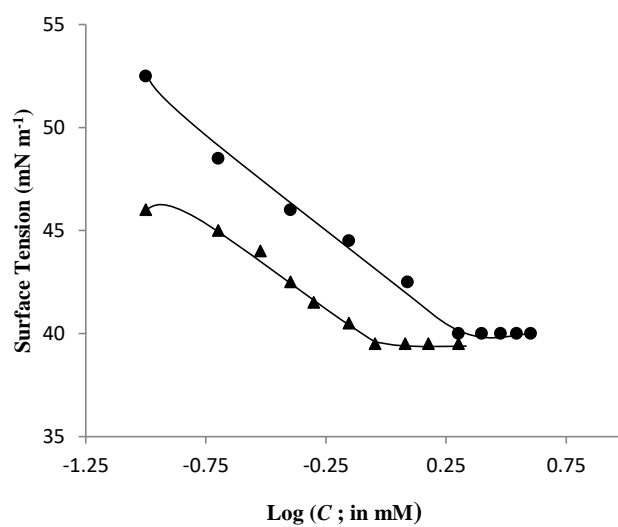
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S13. Surface tension plots of the tricationic IL-based surfactant $(C_8Im)_3Bn-3Br$ in presence of: (●) 2 mM of sodium benzoate and (▲) 5 mM of sodium benzoate.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Section V.2

Double salts of ionic liquid-based surfactants in microextraction: application of their mixed hemimicelles as novel sorbents in magnetic-assisted micro-dispersive solid-phase extraction for the determination of phenols

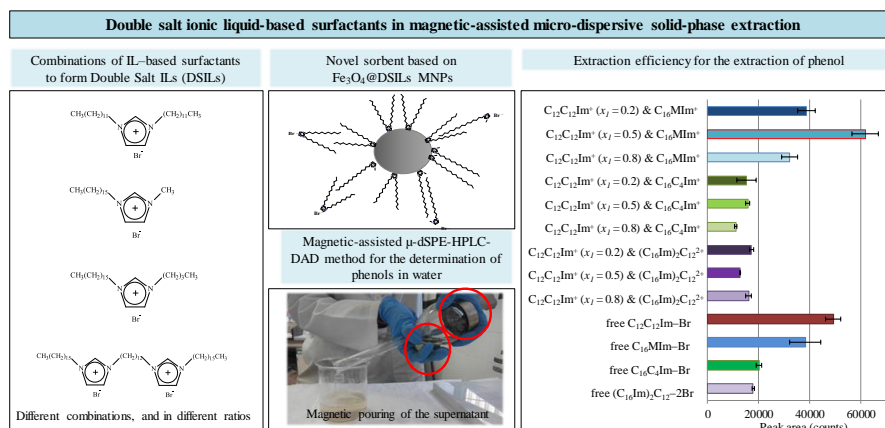
Analytical and Bioanalytical Chemistry 407 (2015) 8753–8764

María J. Trujillo-Rodríguez¹, Verónica Pino^{*1}, Jared L. Anderson², Juan H. Ayala¹, Ana M. Afonso^{*1}

¹Departamento de Química (Área de Química Analítica), Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

²Department of Chemistry, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

The use of mixed hemimicelles of ionic liquid (IL)-based surfactants in a magnetic-based micro-dispersive solid-phase extraction (m- μ -dSPE) approach is described. Not only is the symmetric monocationic IL-based surfactant 1,3-didodecylimidazolium bromide (C₁₂C₁₂Im-Br) studied for first time in m- μ -dSPE, but double salts (DS) IL-based surfactants are also examined. Up to nine DSIL-based surfactants were formed by combining C₁₂C₁₂Im-Br with other IL-based surfactants, including non-symmetric monocationic and dicationic ILs combined at three different molar fractions. The analytical application was focused on the determination of a group of 8 phenols, including bisphenol A, in waters. Best results were attained with the DSIL formed by C₁₂C₁₂Im-Br (molar fraction = 0.5) & 1-hexadecyl-3-methylimidazolium bromide (C₁₆MIm-Br), after proper optimization of the overall method in combination with high-performance liquid chromatography (HPLC) and diode-array detection (DAD). Optimum conditions for 100 mL of waters require a small amount (10 mg) of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles (MNPs), a low content (5.0 mg of C₁₂C₁₂Im-Br and 3.9 mg of C₁₆MIm-Br) for the selected DSIL, a pH value of 11, 2.5 min of sonication time and 5 min of equilibration time with the aid of NdFeB magnets, followed by elution of phenols, evaporation and reconstitution with 0.5 mL of acetonitrile. The overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method is characterized for limits of detection down to 1.3 μ g·L⁻¹, intra-day relative standard deviation (RSD) values lower than 13% (n = 3), inter-day RSD values lower than 17% (n = 9), using a spiked level of 15 μ g·L⁻¹; with enrichment factors between 15.7 and 141, and average relative recoveries of 99.9%.

Keywords

ionic liquids, double salts ionic liquids, ionic liquid-based surfactants, magnetic nanoparticles, mixed hemimicelles, dispersive solid-phase extraction

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

Ionic liquids (ILs) are a group of non-molecular compounds with melting points below to 100 °C and unique physico-chemical properties such as high thermal stability, low to negligible vapor pressure at room temperature, tunable-solvation ability and the capacity to interact with many analytes through different mechanisms [1]. As pointed out by Rogers' group, when two or more ILs are dissolved in water and mixed together, the obtained solutions present different properties that the corresponding solutions of each free IL. They cannot be considered as mixtures because the inherit identity of the individual ILs is not maintained due to their ionic nature. In this context, the term double salt ionic liquids (DSILs) rather than simple mixtures should be considered [2]. Thus, DSILs are a type of IL derivatives composed of more than two types of ions, while being liquids at room temperature. The specific properties of each DSIL depend on the different combinations of ions types and ions ratios [2].

ILs and DSILs possessing long alkyl chains in their cationic headgroup/s are capable to act as surfactants when dissolved in water [3,4]. In comparison with conventional surfactants with analogues structures, IL- and DSIL-based surfactants present lower CMC values, and their micellar solutions can be easily modified by changing the nature of their cation(s) and anion(s). To the best of our knowledge, DSILs or DSIL-based surfactants have not yet been tested in extraction approaches.

Micro solid-phase extraction (μ -SPE) is a microextraction method which retains the same operation principles of SPE: the partitioning of analytes present in a sample to a solid sorbent [5,6]; but minimizing the sample amount and the solid sorbent requirements. Thus, μ -SPE is a simpler, cheaper, environmental-friendlier and less-time consuming technique than SPE [7]. In its dispersive mode (μ -dSPE), the sorbent material is dispersed into the sample matrix with the aid of vortex, ultrasound, or using strong stirring. This dispersion accelerates the mass transfer of analytes, providing higher extraction efficiencies and lower extraction times than non-dispersive μ -SPE [8].

In an attempt to extend the use of both μ -SPE and μ -dSPE, new materials are appearing in the literature with the purposes of increasing the selectivity and/or the affinity towards different types of analytes [9,10]. Among other materials, the utilization of surfactant-modified sorbents is of particular interest [9,11]. Ionic surfactants experience sorption onto the surface of active solids due to the establishment of

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

electrostatic interactions between the charged group of the surface and the oppositely charged ions of the surfactants. These interactions lead to the formation of monolayers and/or bilayers termed hemimicelles and admicelles, respectively [9]. Interestingly, the method requires surfactant concentrations slightly below than their critical micelle concentration (CMC) values, thus minimizing surfactant consumption *versus* other micellar extraction schemes (in which it is commonly recommended the utilization of much higher values than the CMC). Hemimicelles and admicelles can be found together adsorbed on a surface, termed in these cases mixed hemimicelles [11]. The use of mixed hemimicelles favors the generation of multiple mechanisms between analytes and sorbent due to the hydrophobic and ionic nature of hemimicelles and admicelles, respectively.

Several studies in the recent literature report the utilization of different IL-based surfactants in both μ -SPE and μ -dSPE [9,10,12]. To the best of our knowledge, there is not any work on the utilization of DSIL-based surfactants in either μ -SPE or in μ -dSPE.

Regarding solid supports, many different solid sorbents have been used in combination with ionic surfactants in μ -SPE or μ -dSPE, such as silica [13], alumina [14], as well as different types of nanomaterials including carbon nanotubes [15], graphene [16], and different types of magnetic nanoparticles (MNPs) [17-20]. Clearly, the use of nanomaterials reduces the solid sorbent requirements because they provide greater surface areas for the partitioning of the analytes. The magnetic character of some nanomaterials also helps in simplifying the overall microextraction procedure, by avoiding tedious centrifugation and filtration steps [21,22].

The main aim of this work was to evaluate the performance of DSIL-based surfactants as novel sorbents. In testing the extraction method, a magnetic-assisted μ -dSPE (m- μ -dSPE) approach has been developed based on the utilization of mixed hemimicelles of IL- or DSIL-based surfactants coated onto MNPs: Fe₃O₄@IL MNPs and Fe₃O₄@DSIL MNPs. Thus, the method is first optimized and validated for one single IL and then studied with DSILs. The analytical application was devoted to the extraction and preconcentration of a group of phenols, including chlorophenols and alkylphenols, in combination with high-performance liquid chromatography and diode array detection (HPLC-DAD). Apart from the novel use of DSILs in analytical chemistry, the symmetric monocationic IL-based surfactant 1,3-didodecylimidazolium bromide (C₁₂C₁₂Im-Br) is used for first time in μ -SPE. DSIL-based surfactants were formed by combining

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

C₁₂C₁₂Im-Br with two non-symmetrical monocationics and one dicationic IL-based surfactants, in different molar ratios.

2. Experimental

2.1. Reagents and materials

2-Chlorophenol (2-CP, 99.5%) and 2,4-dimethylphenol (2,4-DMP, 99.5%) were purchased from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Ausburg, Germany). 4-*tert*-butylphenol (4-*t*-BP, 99%), 4-octylphenol (4-OP, 99%), 4-cumylphenol (4-CuP, 99%), and bisphenol A (BPA, 99%), were supplied by Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Phenol (Ph, 99.5%) was obtained from Merck (Darmstadt, Germany), and 4-nonylphenol (4-NP, 98%) to Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany). Their structures and many of their physicochemical properties are summarized in Table S1 of the Annex Material. Ultrapure water (18.2 M Ω -cm) was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Watford, UK).

All analytes were individually dissolved in acetonitrile ($\geq 99.9\%$), supplied by VWR International Eurolab S.L. (Barcelona, Spain). Standard solutions of 1000 mg·L⁻¹ were prepared for Ph, 2-CP, 2,4-DMP and 4-OP, of 1100 mg·L⁻¹ for BPA and 4-*t*-BP, of 1200 mg·L⁻¹ for 4-NP, and of 1300 mg·L⁻¹ for 4-CuP. An intermediate solution containing all analytes at 50 mg·L⁻¹ was prepared from these individual standard solutions, also in acetonitrile.

Calibration curves of analytes for the HPLC-DAD system (without considering the m- μ -dSPE extraction/preconcentration procedure) were obtained by preparation of different working standard solutions with concentration values ranging between 0.1 and 7.0 mg·L⁻¹ for all phenols.

The working standard solutions used for the optimization studies and for the calibration curves of the overall method m- μ -dSPE-HPLC-DAD were prepared in ultrapure water. The concentration level was 25 μ g·L⁻¹ for each analyte in the optimization study, and between 2 and 80 μ g·L⁻¹ in the overall calibration method. The preconcentration method permits the use of lower concentration levels.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Other reagents utilized during the extraction procedure include NaOH ($\geq 98\%$), HCl (36.5-38%), NaCl ($\geq 99.5\%$), and anhydrous acetic acid (HAc, 100%), all obtained from Sigma-Aldrich. 0.45 μm polyethylene terephthalate (PET) membrane filters supplied by Macherey-Nagel GmbH & Co (Düren, Germany) were also used.

IL-based surfactants utilized in this work include three monocationic ILs: the symmetric 1,3-didodecylimidazolium bromide ($\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$, $\text{CMC} = 0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in pure water [23]) and two non-symmetric ILs, namely 1-hexadecyl-3-methylimidazolium bromide ($\text{C}_{16}\text{MIm-Br}$, $\text{CMC} = 0.7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in pure water [23]) and 1-hexadecyl-3-butylimidazolium bromide ($\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$, $\text{CMC} = 0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in pure water [23]); and the dicationic 1,12-di(3-hexadecylimidazolium)dodecane bromide ($(\text{C}_{16}\text{Im})_2\text{C}_{12}\text{-2Br}$, $\text{CMC} = 0.2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in pure water [23,24]). The structures of all IL-based surfactants used in this work are shown in Figure 1. For the synthesis of these ILs-based surfactants, the reagents utilized were: imidazole, 1-methylimidazole, 1-butylimidazole, 1-bromododecane, 1-bromohexadecane, 1,12-dibromododecane, acrylonitrile, toluene and anhydrous dimethylsulfoxide, which were supplied by Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Isopropanol, methanol, hexane, dichloromethane, chloroform, sodium hydroxide and ethyl acetate were purchased from Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA).

$\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99.0\%$) and $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99\%$), required for the synthesis of the Fe_3O_4 MNPs, were purchased from Sigma-Aldrich.

Wastewater obtained by a primary treatment was collected from a wastewater treatment plant (WWTP) located in Tenerife (Spain). Tap water was taken from the laboratory. Samples were stored in amber glass bottles at 4 °C before analysis for a maximum time of fifteen days. Water samples were filtered through 0.45 μm polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane filters (Merck). Then, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (from Sigma-Aldrich) was added to tap water to reach a concentration of 0.003% (w/v), and a concentration of 0.008% (w/v) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ for the wastewater [25]. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added to eliminate any residual chlorine present in the samples.

The m- μ -dSPE procedure required 250 mL volumetric flasks. The microextraction was assisted by two NdFeB magnets, specifically one cylinder (7 cm long \times 2 cm thickness) and one prism (5 cm \times 2 cm \times 2 cm), purchased from ENES Magnesny Pawel Zientek (Warszawa, Poland).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

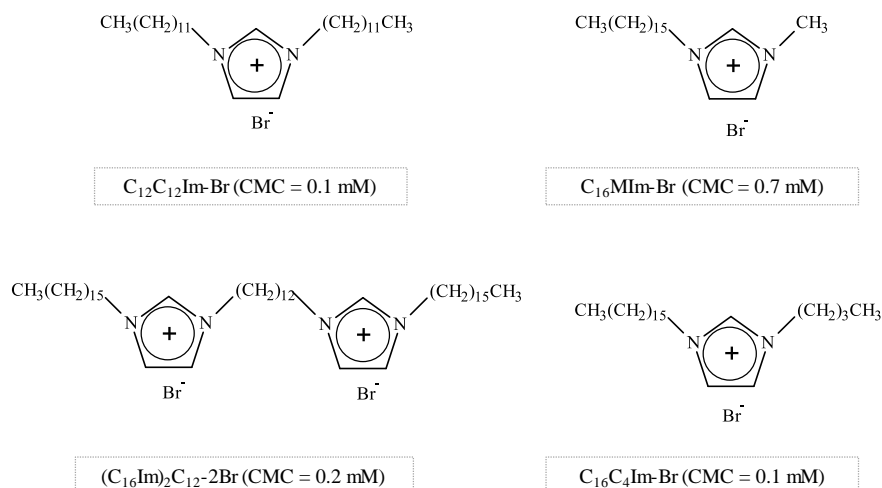


Figure 1. Structures of the IL-based surfactants studied in this work, altogether with their critical micelle concentration values in pure water.

2.2. Instrumentation

A HPLC system equipped with a solvent delivery Varian ProStar 230 SDM module (Palo Alto, CA, USA), a Rheodyne 7725i injection valve obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA) with a loop of 20 μL , and a photodiode array detection (DAD) Varian ProStar 330 was used in this study. The analytical column was a reversed-phase column Vydac 201TP54 C18 (250 mm L \times 4.6 mm I.D. \times 5 μm particle size) purchased from W. R. Grace & Co. (Hesperia, CA, USA) and protected by a Pelliguard LC-18 guard column supplied by Supelco. Data was obtained using the LC workstation software version 6.41 from Varian.

The evaporator IKA RV 10 digital with temperature control was obtained from Werke GmbH & Co. (Staufen, Germany). It was equipped with a pumping unit with vacuum and speed control VP 2 autovac from Vacuubrand GmbH & Co. (Wertheim, Germany).

The microscopic morphology of the MNPs was evaluated using a JEM-2100 transmission electron microscopy (JEOL, Tokyo, Japan). The dimension of the MNPs was determined by atomic force microscopy (AFM) in tapping mode in air with a

Multimode microscope 8 and Nanoscope V control unit from Digital Instruments-Bruker (Santa Bárbara, CA, USA) at a scan rate of 1.0–1.2 Hz.

2.3. Procedures

2.3.1. Synthesis and characterization of Fe₃O₄ MNPs

α -Fe₃O₄ (magnetite) MNPs were synthesized through a modification of the alkaline co-precipitation of Fe(II) and Fe(III) method initially developed by Kang *et al.* [26]. 2.0 g of FeCl₂·4H₂O and 5.2 g of FeCl₃·6H₂O were dissolved in 25 mL of ultrapure water containing 0.85 mL of concentrated HCl (in a nitrogen atmosphere). Then, 250 mL of 1.5 mol·L⁻¹ NaOH was added dropwise under vigorous stirring in nitrogen atmosphere. Once the reaction was complete, the black precipitate of MNPs was separated from the reaction medium using a magnet. MNPs are then washed with 200 mL of ultrapure water (previously degassed) five times. The final product is re-suspended in 200 mL of ultrapure water, obtaining an estimated Fe₃O₄ MNPs concentration of ~10 mg·mL⁻¹.

The morphology of the Fe₃O₄ MNPs was determined by transmission electron microscopy (TEM) and atomic force microscopy (AFM). The obtained results of the two experiments are summarized in Figure S1 of the Annex Material. The majority of the particles presented super-paramagnetism and a quasi-spherical shape with diameters between 1 and 20 nm (14.9 ± 2.9 nm in average), being less than 35 nm in size. These results obtained by AFM are in agreement with those obtained by TEM, as it can be observed in Figure S1 (A) of the Annex Material.

2.3.2. Synthesis of IL-based surfactants

Synthesis of the IL-based surfactants was carried out according to previous methods of our group reported by Baltazar *et al.* [23]. Briefly, the synthesis of C₁₆MIm-Br and C₁₆C₄Im-Br was carried out refluxing (70 °C, 24 h, stirring) 0.10 mol of either 1-methylimidazole or 1-butylimidazole and 0.11 mol of 1-bromohexadecane in isopropanol (20 mL). Then, isopropanol was removed under vacuum (60 °C) and the product was dissolved in ultrapure water (25 mL). The excess of starting materials was extracted with

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

ethyl acetate (15 mL × 5 times) and finally water was evaporated under vacuum (80 °C). The product was dried in a vacuum oven for 2 days.

C₁₂C₁₂Im-Br was synthesized mixing 0.10 mol of imidazol and 0.13 mol of acrylonitrile in methanol (10 mL) in N₂ for 5 h. Methanol and acrylonitrile excess was then removed under vacuum (65 °C). The product was refluxed (60 °C, 8 h) with 0.11 mol of 1-bromododecane in isopropanol (20 mL). After that, the residue was dissolved in chloroform and washed with aqueous solution of NaOH (0.15%, w/w), with stirring for 5 h. The chloroform phase was washed with ultrapure water (10 mL × 2 times) and finally both chloroform and water were removed under vacuum (70 °C, 3 h). The residue was refluxed (60 °C, 8 h) with 0.11 mol of 1-bromododecane in isopropanol (20 mL). Following the removal of isopropanol, the product was extracted with hexane (25 mL × 5 times). Then, hexane was evaporated under vacuum (60 °C). Finally, the product was dried in a vacuum oven for 2 days.

In the case of the dicationic (C₁₆Im)₂C₁₂-2Br IL, the synthesis of Baltazar *et al.* is a modification of the method of Nakaijama and Ohno [27]: 0.10 mol of imidazole was dissolved in toluene (120 mL) and dimethylsulfoxide (120 mL), and then an aqueous solution of NaOH (50%, w/w, 80 g NaOH) was added. The water was removed by azeotropic distillation and 0.50 mol of 1,12-dibromododecane was added dropwise with stirring (120 °C, 2 h). The deposit of NaBr was filtered and the solvent was removed under vacuum. The crude was re-dissolved in dichloromethane (200 mL) and the residual NaBr was filtered off. Then, 0.10 mol of this product was refluxed (70 °C, 24 h) with 0.22 mol of 1-bromohexadecane in isopropanol (20 mL). Isopropanol was removed under vacuum (60 °C) and the IL was recrystallized in ethyl acetate (100 mL × 2 times).

2.3.3. Preparation of DSIL-based surfactant solutions

DSIL-based surfactant solutions were prepared by the mixing of aqueous solutions of C₁₂C₁₂Im-Br with aqueous solution of C₁₆MIm-Br, C₁₆C₄Im-Br or (C₁₆Im)₂C₁₂-2Br. Thus, DSIL-based solutions contained the following pairs of IL cations: C₁₂C₁₂Im⁺ & C₁₆MIm⁺, C₁₂C₁₂Im⁺ & C₁₆C₄Im⁺, or C₁₂C₁₂Im⁺ & (C₁₆Im)₂C₁₂²⁺. All solutions contain the bromide anion.

CMC values of DSIL-based surfactants solutions (CMC*) can be estimated from the CMC values of their corresponding IL-based surfactants, assuming that they form an

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

ideal mixture and that the activity coefficients of free surfactants monomers for each surfactant type in the mixture are equal to unity [28]. If a DSIL-based surfactant solution is generated from two free IL-based surfactants, the equation for the calculation of the resulting CMC* is the following:

$$\frac{1}{CMC^*} = \frac{x_1}{CMC_1} + \frac{(1-x_1)}{CMC_2} \quad (1)$$

where x_1 is the molar fraction of the IL-based surfactant “1” ($C_{12}C_{12}Im-Br$ in our case) and CMC_1 and CMC_2 the critical micelle concentrations of the IL-based surfactants “1” and “2”, being “2”: $C_{16}MIm-Br$, $C_{16}C_4Im-Br$ or $(C_{16}Im)_2C_{12}-2Br$ (depending on the DSIL).

From Equation (1), CMC^* can be calculated from a certain x_1 . In the study, each DSIL-based surfactant was prepared using three different molar fractions of $C_{12}C_{12}Im-Br$: $x_1 = 0.2, 0.5$ or 0.8 . Thus, a total of nine DSIL-based surfactant solutions were tested. Their CMC^* values are shown in Table 1.

2.3.4. Optimum m-μ-dSPE procedure

Experiments using free $C_{12}C_{12}Im-Br$ or DSIL-based surfactants in optimum conditions for the extraction of 100 mL of water containing the spiked analytes require 10 mg of Fe_3O_4 MNPs and the amount of surfactant necessary to obtain a concentration of a half of its CMC (or CMC^*) in the final solution: 2.6 mg of free $C_{12}C_{12}Im-Br$ or, in the case of the best DSIL-based surfactant (namely $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_1 = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$), 5.0 mg of $C_{12}C_{12}Im-Br$ and 3.9 mg of $C_{16}MIm-Br$. The pH was adjusted to 11 with $0.5 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ NaOH and the mixture was subjected to ultrasounds (2.5 min), to ensure formation of mixed hemimicelles on the surface of the Fe_3O_4 MNPs. Afterwards, a cylindrical magnet is placed at the bottom of the flask during an equilibrium time of 5 min, followed by pouring of the supernatant. This separation was facilitated by the use of another prismatic magnet, placed at the neck of the flask during such pouring (the cylindrical one is kept at the bottom of the flask). Next, analytes were eluted from the $Fe_3O_4@surfactant$ MNPs with portions of 2 mL of acetonitrile containing 1% (v/v) of acetic acid, followed by ultrasounds (30 s), 1.5 min of equilibration time with the cylindrical magnet, and

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 1. Composition and estimated critical micelle concentration (CMC*) values of the DSIL-based surfactant solutions utilized in this study.

DSIL-based surfactant abbreviation	DSIL-based surfactant composition	IL-based surfactant 1	IL-based surfactant 2	CMC*(mmol·L ⁻¹) ^a		
				$x_I^b = 0.2$	$x_I^b = 0.5$	$x_I^b = 0.8$
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ & C ₁₆ MIm ⁺	C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ , C ₁₆ MIm ⁺ and Br ⁻	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	C ₁₆ MIm-Br	0.3	0.2	0.1
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ & C ₁₆ C ₄ Im ⁺	C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ , C ₁₆ C ₄ Im ⁺ and Br ⁻	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	C ₁₆ C ₄ Im-Br	0.1	0.1	0.1
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ & (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺	C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ , (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺ and Br ⁻	C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	(C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	0.2	0.1	0.1

^a critical micelle concentration of the DSIL-based surfactant solution, calculated from Equation (1) as described in the text

^b molar fraction of the IL-based surfactant 1

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

magnetic separation of the eluent. This elution step is repeated twice. Finally, the total volume of eluent is subjected to evaporation at 40 °C using a vacuum at 150 mbar for 5 min. The residue is then diluted up to 500 µL with acetonitrile of HPLC grade, filtrated (0.45 µm), and injected in the HPLC system.

A scheme of the overall optimized extraction procedure using ILs or DSILs is included in Figure S2 of the Annex Material.

2.3.5. HPLC-DAD method

A linear gradient elution procedure was employed using a mobile phase composed of acetonitrile/water at a constant flow rate of 1 mL·min⁻¹, starting from 30% to 45% of acetonitrile in 10 min, then from 45% to 100% of acetonitrile in 13 min, and finally kept at 100% of acetonitrile during 2 min. The DAD was operated at two wavelengths: 270 nm for P and 280 nm for the remaining phenols.

3. Results and discussion

3.1. HPLC-DAD determination of the group of phenols in presence of IL-based surfactants

The utilization of micellar media (ILs and DSILs-based surfactants) during the extraction of the group of phenols can affect their chromatographic separation if the selected surfactants absorb at common UV wavelengths [11,29]. For this reason, the chromatographic separation of phenols was studied in the presence of each IL- and DSIL-based surfactants utilized in the work.

The complete separation of the analytes was achieved in 25 min using the conditions described in Section 2.3.5. Figure S3 of the Annex Material shows a representative chromatogram obtained under optimized conditions and in the presence of C₁₂C₁₂Im-Br at 29 mmol·L⁻¹, which is roughly 300 times its CMC value. This high concentration was used to simulate the highest preconcentration possible with the method. The utilization of this IL-based surfactant as solvent of the phenols presented a strong

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

absorbance at several retention times: 3.1 ± 0.1 min (close to the dead-line time, at $\lambda = 270$ nm), 21.3 ± 0.4 min (2 non-resolved peaks, at $\lambda = 280$ nm), and 23.4 ± 0.1 min (at $\lambda = 280$ nm). The interfering peaks were resolved from the remaining analytes and no other significant interferences were observed. Similar conclusions were obtained with the rest of DSILs tested. Under the optimized conditions, chromatographic retention times and the reproducibility values are shown in Table S2 of the Annex Material. In all cases, relative standard deviation values lower than 0.67% ($n = 20$) for the retention times were obtained.

Regarding the calibration of phenols in the HPLC-DAD system (without any preconcentration step, Section 2.1), the main analytical quality parameters are included in Table S3 of the Annex Material.

3.2. Optimization of the m- μ -dSPE procedure

The overall m- μ -dSPE procedure was optimized using the IL-based surfactant C₁₂C₁₂Im-Br and a factor by factor approach. C₁₂C₁₂Im-Br was selected due to several reasons. First, there are no reports using this IL-based surfactant in a μ -dSPE method (magnetic-assisted or not). Additionally, its CMC value is very low ($0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), making it appropriate for the development of an environmental-friendly method. The m- μ -dSPE method requires working at concentration values slightly below than the critical micelle concentration (CMCs) of the IL-based surfactant. Thereby, the amount of waste generated by an IL with a low CMC value is less than that generated by other ILs with higher CMC values. Finally, evaluating the behavior of a symmetric IL-based surfactant and comparing it to common non-symmetrical surfactants employed in literature is of interest [18,30-33].

A spiked level of $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of each phenol was selected for all optimization experiments. Several parameters of the extraction method were also fixed to simplify the optimization, such as the volume of aqueous sample (100 mL, to ensure adequate preconcentration), the volume of C₁₂C₁₂Im-Br solution initially utilized (1.2 mL, to ensure minimum distortion of the overall solution volume), and the use of ultrasounds *versus* other stirring methods (due to its superior strength).

Several parameters were also fixed in the elution step, such as the eluent nature (acetonitrile containing 1% of acetic acid), the elution volume in each step (2 mL, to avoid

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

unnecessary delays in the solvent-exchange step), the application of ultrasounds to increase the kinetics of the elution (during 0.5 min), and the utilization of a magnet to facilitate the removal of the elution solvent (with an equilibration time of 1.5 min). Many studies in the literature regarding hemimicelles employ acetonitrile containing 1% (v/v) of acetic acid as elution solvent [32-35]. Acetic acid decreases the pH of the media, changing the charge density of the MNPs surface thus inducing desorption of the phenols, being also compatible with the HPLC system.

The final step of evaporation during the solvent-exchange step was selected considering the vacuum pressure necessary to evaporate the eluting solvent (acetonitrile) at 40 °C and 200 rpm, and employing the minimum time necessary to evaporate at least the 96% of the eluent. Finally, the residue was diluted with acetonitrile so that all extractions had the same final volume.

The main parameters studied in the optimization of the m- μ -dSPE method were: the concentration of the IL-based surfactant (between 0.05 and 0.28 mmol·L⁻¹ in the final extractant flask), the amount of Fe₃O₄ MNPs required (from 10 to 100 mg, corresponding to the addition of volume of suspension of MNPs from 1 to 10 mL), the pH of the media (from 8 to 12), the ionic strength of the media (as NaCl content), the ultrasonic time required to properly disperse the extracting material in the solution (0–10 min), the equilibration time required after the extraction (5–25 min), and the number of elution steps (1–4 steps). Fig S4 of the Annex Material shows the extraction efficiency, expressed peak–area, obtained for all tested analytes as a function of the abovementioned parameters. According to these studies, the optimum values selected (described in Section 2.3.4) were: 10 mg of Fe₃O₄ MNPs (1 mL, suspension of ~10 mg·mL⁻¹), a concentration of IL-based surfactants corresponding to a half of their CMC (or CMC*) values in the extractant flask, pH 11, 2.5 min of sonication time, 5 min of equilibration time, and 2 elution steps. Figure S2 of Annex Material shows a scheme of the optimized procedure.

3.3. Use of mixed hemimicelles of DSIL-based surfactants in m- μ -dSPE

Once the overall m- μ -dSPE method was optimized, a total of nine DSIL-based surfactant solutions were tested for their application in the determination of phenols. All DSIL-based surfactant solutions were composed of the bromide anion and two different types of cations: C₁₆MIm⁺, C₁₆C₄Im⁺ or (C₁₆Im)₂C₁₂²⁺, in combination with C₁₂C₁₂Im⁺.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Besides, the $C_{12}C_{12}Im^+$ cations were present in the DSIL solution at three different molar fractions ($x_f = 0.2, 0.5$ or 0.8).

As a preliminary consideration, it was assumed that mixed hemimicelles of DSILs and free $C_{12}C_{12}Im-Br$ present similar behavior regarding the extraction of phenols using a $m-\mu$ -dSPE method. Thus, a screening study of the DSILs for the extraction of phenols was performed using those optimized conditions already obtained for free $C_{12}C_{12}Im-Br$. The initial concentration of each DSIL in the extractant flask was $CMC^*/2$.

Under the above mentioned conditions, the extraction efficiencies were obtained using a spiked level of $25 \mu g \cdot L^{-1}$ for all phenols, and using all DSILs or all free individual IL-based surfactants. Figure 2 shows the results obtained for P, as a representative example. Extraction efficiencies obtained with both IL- and DSIL-based surfactants for all analytes are shown in Table S4 of the Annex Material.

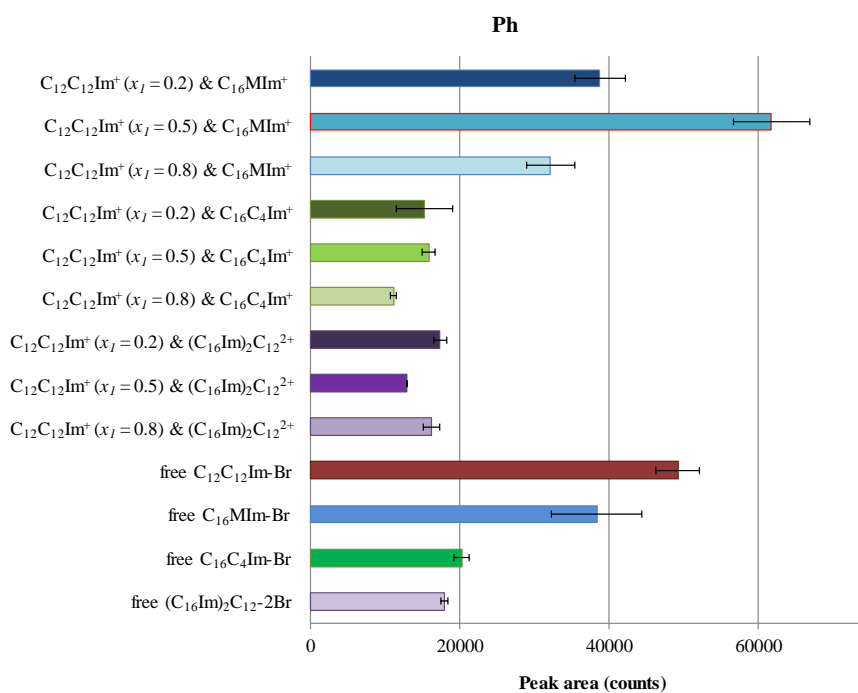


Figure 2. Extraction efficiency (as chromatographic peak area) obtained for Ph, as representative example, obtained when applying the optimum $m-\mu$ -dSPE method with all DSIL- and IL-based surfactants tested.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Attending to these results, highest extraction efficiencies were achieved with $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$ for the majority of phenols, except in the cases of 4-OP and 4-NP, for which the highest peak areas were obtained employing free $C_{16}C_4Im-Br$. It is also important to note that good extraction efficiencies were achieved using free $C_{12}C_{12}Im-Br$ for Ph, 2-CP, 2,4-DMP and 4-*t*-BP, using $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.2$) & $C_{16}MIm^+$ for BPA and 4-CuP, and $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.2$) & $C_{16}C_4Im^+$ for 4-OP and 4-NP. In any case, it results clear that the molar fraction is the main factor exerting an influence in the overall extraction efficiency, rather than the concentration employed (CMC*/2).

Considering the nature of the ions forming the DSILs, highest extraction efficiencies were in general obtained for DSILs of the type $C_{12}C_{12}Im^+$ & $C_{16}MIm^+$, independently of the ion ratio. Worse results were obtained for the remaining DSILs, with similar extraction efficiencies for $C_{12}C_{12}Im^+$ & $C_{16}C_4Im^+$, and $C_{12}C_{12}Im^+$ & $(C_{16}Im)_2C_{12}^+$. This could be related to certain steric impediments in the formation of micelles when two large cations form part of the DSIL-based surfactant. In the case of $C_{12}C_{12}Im^+$ & $C_{16}MIm^+$ DSILs, the smaller methyl groups of $C_{16}MIm^+$ cations favor the formation of micelles with $C_{12}C_{12}Im^+$ cations, which justify the higher performance of DSILs formed by these cations, except for 4-OP and 4-NP.

Regarding the ratio of IL-based surfactants in the DSILs, it is interesting to note that better results were in many cases obtained for the 1:1 ratio ($x_I = 0.5$).

3.4. Analytical performance of the m- μ -dSPE method using $C_{12}C_{12}Im-Br$ and the optimum DSIL

The DSIL selected as optimum was $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$. The initial concentration in the extractant flask for this optimum DSIL was $0.20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, being of $0.05 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ for $C_{12}C_{12}Im-Br$. The analytical performance of the m- μ -dSPE method was assessed for the first time not only with this optimum DSIL, but also with free $C_{12}C_{12}Im-Br$.

Tables 2 and 3 include several quality analytical parameters of the calibration methods such as the linearity ranges, correlation coefficients, limits of detection and quantification, and analytical sensitivities; obtained for free $C_{12}C_{12}Im-Br$ and the selected DSIL, respectively. These calibrations correspond to the overall method, thus, deionized

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Analytical performance of the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method with free C₁₂C₁₂Im-Br. The linearity range was 2–80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, using 7 calibration levels.

Phenols	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	(Intercept \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	R ^b	(S _{y/x} ^c) $\cdot 10^{-3}$	LOD ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ ^e ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Ph	1.74 \pm 0.05	8 \pm 2	0.9972	3.85	0.35	1.2
2-CP	5.9 \pm 0.1	9 \pm 4	0.9988	8.79	0.33	1.1
2,4-DMP	4.4 \pm 0.1	18 \pm 4	0.9978	8.79	0.44	1.5
BPA	10.20 \pm 0.06	6 \pm 2	0.9999	4.25	0.13	0.44
4- <i>t</i> -BP	7.4 \pm 0.1	13 \pm 5	0.9987	10.3	0.12	0.40
4-CuP	6.5 \pm 0.1	20 \pm 4	0.9989	8.21	0.40	1.3
4-OP	3.64 \pm 0.07	1 \pm 3	0.9988	5.09	0.55	1.8
4-NP	3.0 \pm 0.1	11 \pm 3	0.9963	7.09	0.35	1.2

^a standard deviation of slope and intercept

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 3. Analytical performance of the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method with C₁₂C₁₂Im⁺ ($\alpha_l = 0.5$) & C₁₆MIm⁺. The linearity range was 2–100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (5–100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-OP), with 8 calibration levels.

Phenols	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	(Intercept \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	R ^b	(S _{y/x} ^c) $\cdot 10^{-3}$	LOD ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ ^e ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Ph	1.72 \pm 0.05	0.3 \pm 0.2	0.9970	5.0	0.74	2.5
2-CP	4.19 \pm 0.07	1.8 \pm 0.3	0.9988	7.8	0.57	1.9
2,4-DMP	3.98 \pm 0.09	1.5 \pm 0.4	0.9980	9.8	0.32	1.1
BPA	5.5 \pm 0.1	1.1 \pm 0.6	0.9970	16	0.23	0.76
4- <i>t</i> -BP	6.7 \pm 0.1	1.0 \pm 0.7	0.9982	16	0.20	0.66
4-CuP	6.7 \pm 0.2	0.8 \pm 0.7	0.9973	18	0.61	2.0
4-OP	3.37 \pm 0.05	0.2 \pm 0.2	0.9991	5.5	1.3	4.3
4-NP	2.14 \pm 0.05	0.2 \pm 0.2	0.9974	5.9	0.46	1.5

^a standard deviation of slope and intercept

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

water samples were spiked with phenols and subjected to the optimized m- μ -dSPE method.

Both calibration curves presented a wide linearity range, from 2 to 80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for all phenols when free $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ was used, and from 2 to 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ when $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$ was employed. The correlation coefficients (R) corresponding to the overall method ranged from 0.9963 to 0.9999 for free $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$, and from 0.9970 to 0.9991 for $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$.

Limits of detection (LODs) and limits of quantifications (LOQs) were calculated as three and ten times the signal to noise ratio, respectively. Low LODs and LOQs values were obtained with both methods, particularly if taking into account that DAD is the detection system used in this study. For free $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$, LODs ranged between 0.12 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-*t*-BP and 0.55 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-OP whereas for $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$ LODs ranged from 0.20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-*t*-BP to 1.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 4-OP. It must be also considered that mass spectrometry (MS) can be used as detector in this method, because acetonitrile with 1% acetic acid is used as eluent. Thus, much higher sensitivities could be undoubtedly achieved.

The reproducibility of both methods was evaluated by determining the relative standard deviation (RSD) obtained in intra-day ($n = 3$) and inter-day ($n = 9$, 3 non-consecutive days) experiments. Intra-day precision was estimated at two spiked levels (15 and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and inter-day precision at one spiked level (15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Table 4 summarizes the obtained results. Regarding intra-day precision at the low spiked level, RSDs values ranged from 2.3% for 4-OP to 8.2% for Ph when free $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ was employed, and from 1.6% for 4-*t*-BP to 13% for 4-NP when $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$ was used. Regarding inter-day precision, RSDs values lower than 17% for free $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ and lower than 11% for $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$ were achieved. The DSIL presented, in general, better precision than free $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$.

The performance of both methods was also evaluated by the determination of enrichment factors (E_F), extraction efficiencies (E_R , in %) and relative recovery (RR, in %) at two spiked levels (15 and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Experiments were performed in triplicate in ultrapure water.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 4. Reproducibility obtained by the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method.

Phenols	free C ₁₂ C ₁₂ Im-Br IL		C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ ($x_I = 0.5$) & C ₁₆ MIm ⁺ DSIL			
	Spiked level 1		Spiked level 2		Spiked level 2	
	RSD intra-day ^a (%)	RSD inter-day ^b (%)	RSD intra-day ^a (%)	RSD intra-day ^a (%)	RSD inter-day ^b (%)	RSD Intra-day ^a (%)
Ph	8.2	16	17	2.6	9.9	1.5
2-CP	5.7	13	17	1.8	9.4	1.3
2,4-DMP	6.4	17	17	2.3	8.1	1.6
BPA	2.9	16	11	5.5	9.0	2.0
4- <i>t</i> -BP	4.8	15	13	1.6	6.5	2.6
4-CuP	2.5	16	9.5	3.3	5.8	3.1
4-OP	2.3	8.9	6.0	5.6	13	7.8
4-NP	4.0	14	11	13	17	11

spiked level 1: 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ spiked level 2: 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^a relative standard deviation (n = 3)^b relative standard deviation (n = 9), 3 non-consecutive days

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

For the estimation of the enrichment factors, it was necessary to determine calibration curves of each phenol in the HPLC-DAD system (without the m- μ -dSPE step), as described in Section 2.1. Table S3 of the Annex Material shows the analytical performance of these calibration curves. Thus, enrichment factors (E_F) of the m- μ -dSPE methods were calculated by the ratio of the predicted concentration obtained from chromatographic calibrations (taking into account the steps carried out in the method) and the initial spiked concentration of phenol. The obtained results are shown in Table 5. Minimum and maximum E_F values were obtained for Ph and 4-CuP, respectively, independently of the spiked level and the type of mixed hemimicelles utilized. Therefore, for the low spiked level, E_F values range between 20.4 and 150 for free $C_{12}C_{12}Im-Br$, and between 15.7 and 141 for $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$. These values can be compared with the theoretical maximum preconcentration factor ($E_{F,max}$), which can be estimated from the ratio of the initial volume in the extractant flask (100 mL, and ~2.2 mL of MNPs and ILs) and the final volume of eluent (0.5 mL), obtaining in this case that $E_{F,max}$ is ~205. Considering this, in average, E_F values of all phenols are 85.3 and 65.7 for free $C_{12}C_{12}Im-Br$ and $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$, respectively. It can be concluded that 42% and 32%, respectively, of phenols can be effectively removed from the initial aqueous solution.

Extraction recoveries (E_R) were calculated by the ratio $E_F / E_{F,max}$, as a percentage value. For the low spiked level, E_R values ranged between 10.0% for Ph and 73.3% for 4-CuP when free $C_{12}C_{12}Im-Br$ is utilized, whereas slightly lower E_R values were obtained for $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$, ranging between 7.65% for Ph and 69.1% for 4-CuP. Average E_R values were of 41.7% for $C_{12}C_{12}Im-Br$ and of 32.7% for the DSIL selected at the low spiked level. It is important to highlight here that it is difficult to achieve E_R values close to 100% in any microextraction procedure, so E_R values are valid as long as the LODs, E_F values, and the reproducibility of the method are sufficient for a given application [36].

Relative recovery (RR, in %) was calculated as the ratio of the predicted concentration obtained from the calibration curves of the overall method (Tables 2 and 3) and the initial spiked concentration of phenol. In all cases, RR values ranged from 85.4% to 123%, and from 89.2% to 112% for the low spiked level with mixed hemimicelles of free $C_{12}C_{12}Im-Br$ and $C_{12}C_{12}Im^+$ ($x_I = 0.5$) & $C_{16}MIm^+$, respectively. These RR values are considered adequate [37].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 5. Enrichment factors, extraction efficiencies and relative recoveries obtained by the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method with free C₁₂C₁₂Im-Br and with C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_T = 0.5$) & C₁₆MIm⁺ DSIL-based surfactant.

Phenols	free C ₁₂ C ₁₂ Im-Br IL			C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ ($x_T = 0.5$) & C ₁₆ MIm ⁺ DSIL								
	Spiked level of 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			Spiked level of 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			Spiked level of 15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			Spiked level of 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
	E _F ^a	E _R ^b (%)	RR ^c (%)	E _F ^a	E _R ^b (%)	RR ^c (%)	E _F ^a	E _R ^b (%)	RR ^c (%)	E _F ^a	E _R ^b (%)	RR ^c (%)
Ph	20.4	10.0	108	16.7	8.18	105	15.7	7.65	96.0	11.4	5.60	75.5
2-CP	103	50.2	109	89.2	43.6	100	72.1	35.2	89.2	74.5	36.4	112
2,4-DMP	61.3	30.0	123	45.1	22.0	99.4	44.8	21.9	98.2	44.9	22.0	112
BPA	110	53.7	106	89.5	43.8	87.7	62.3	30.4	104	58.8	28.7	104
4- <i>t</i> -BP	95.1	46.5	109	78.0	38.1	91.2	85.9	42.0	112	73.6	36.0	95.8
4-CuP	150	73.3	106	117	57.3	91.3	141	69.1	108	121	58.9	94.5
4-OP	77.7	38.0	108	74.3	36.3	102	64.1	31.3	94.1	71.7	35.0	106
4-NP	64.5	31.5	85.4	68.3	33.4	97.2	39.5	19.3	98.4	47.9	23.4	103

^a enrichment factor (n = 3), being E_{Fmax} = 205

^b extraction efficiency (n = 3).

^c real recovery (n = 3).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

3.5. Analysis of water samples using the developed m- μ -dSPE method with the optimum DSIL C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺

Two real water samples were analyzed: wastewater and tap water, to test the applicability of the developed m- μ -dSPE method with the DSIL selected. In all cases, water samples were previously filtered and treated with Na₂S₂O₃ as it was described in Section 2.1. C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺ mixed hemimicelles were selected to extract phenols due to its higher sensitivity and adequate reproducibility. Phenols could not be detected in tap water, whereas 4-*t*-BP and 4-CuP could be detected but not quantified in the wastewater. Both real samples were analyzed without performing any previous dilution.

The matrix effect was evaluated with both samples by spiking phenols at 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($n = 4$), and assessing the reproducibility and extraction efficiency of the method with those calibrations obtained in ultrapure water (Tables 2 and 3). Main results are summarized in Table S5 of the Annex Material.

In the case of the wastewater sample, the performance of the method for 4-*t*-BP and 4-CuP was not considered in the study for being both analytes already present. For the rest of phenols, RSD values varied between 2.2% for 4-OP and 7.9% for 2,4-DMP and RR values between 6.0% for Ph and 98% for 4-NP. Clearly, there is a significant matrix effect in these samples. Furthermore, the high salinity content of the samples negatively affected the extraction of analytes such as Ph, 2-CP, and 2,4-DMP. On the other hand, despite the sample complexity, it is important to note that there were no problems in the determination of BPA, 4-*t*-BP, 4-CuP, 4-OP, and 4-NP. Clearly, better results could be achieved if MS analysis is performed with ¹³C labelled internal standards for each analyte.

In the case of the analysis of tap waters, all analytes could be correctly determined with RSD values ranging from 4.6% to 2-CP and 16% for Ph, and RR values from 13.6% for Ph to 115% for 4-NP. Thus, even for tap water there is matrix effect for Ph, 2-CP, and 2,4-DMP.

To overcome this inconvenience, matrix-matched calibration were obtained in tap water using the overall m- μ -dSPE method with C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺. Table S6 of the Annex Material shows the analytical performance of the methods, including linearity, sensitivity and LODs. The calibration curves exhibit a linear range from 5 to

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for the majority of phenols, with correlation coefficients ranging from 0.9853 to 0.9984 with the exception of Ph. There is a slight loss of sensitivity if compared with ultrapure water, particularly for phenol. Nevertheless, the behavior for the extraction of phenols with mixed hemimicelles is the same: the most hydrophilic compounds, including Ph, 2-CP and 2,4-DMP, presented the lowest analytical sensitivities whereas the maximum sensitivities were reached with BPA, 4-CuP and 4-*t*-BP. With respect to LODs, they ranged from 0.39 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for BPA to 1.8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for 2,4-DMP, being higher for Ph: 4.9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

The reproducibility and extraction efficiency of the method with $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$ was also evaluated in tap water at two spiked levels: 30 and 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, considering the matrix-matched calibrations. Results are shown in Table 6. RSD values lower than 16% were obtained at the low spiked level. It must be considered that in this case the $E_{F,\text{max}}$ is roughly 105 (higher amounts of NaOH to adjust the pH with real samples are required). Average extraction efficiencies are of 30.5% at the low spiked level; and of 33.6% at the higher spiked level. RR values at the low spiked level varied between 74.3% for 2,4-DMP and 121% for BPA.

4. Conclusions

For first time, different DSIL-based surfactants forming mixed hemimicelles onto Fe_3O_4 MNPs have been used in a m- μ -dSPE procedure in combination with HPLC-DAD for the determination of a group of 8 phenols. The performance of DSILs was compared with that of the single symmetric IL-based surfactant $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$, which is also successfully used for first time as sorbent in m- μ -dSPE.

The utilization of DSILs is a novel and interesting tool to tailor mixed hemimicelles, while minimizing the total amount of surfactant required in the method. Indeed, low amounts of both Fe_3O_4 MNPs (10 mg) and surfactants (5.0 mg of $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ and 3.9 mg of $\text{C}_{16}\text{MIm-Br}$) are required for the optimum DSIL ($\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im}^+$ ($x_I = 0.5$) & $\text{C}_{16}\text{MIm}^+$)-based method. The use of DSILs can be advisable for analytical methods currently based on using one single IL.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 6. Reproducibility, extraction efficiency, and relative recovery of the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method with C₁₂C₁₂Im⁺ ($\alpha_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺ with tap waters assessed by matrix-matched calibrations.

Phenols	Spiked level of 30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$			Spiked level of 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$				
	RSD ^a (%)	E _F ^b	E _R ^c (%)	RR ^d (%)	RSD ^a (%)	E _F ^b	E _R ^c (%)	RR ^d (%)
Ph	16	2.79	2.65	95.9	10	2.53	2.40	62.2
2-CP	6.9	17.2	16.3	116	17	16.0	15.2	92.4
2,4-DMP	15	8.14	7.73	74.3	16	7.80	7.40	63.6
BPA	9.2	51.1	48.5	121	10	49.9	47.3	119
4- <i>t</i> -BP	14	25.6	24.3	110	6.7	30.9	29.3	119
4-CuP	11	55.1	52.3	87.2	9.2	68.6	65.1	111
4-OP	9.5	48.4	45.9	110	8.3	54.1	51.3	130
4-NP	13	49.0	46.5	112	7.6	53.5	50.8	93.0

^a relative standard deviation (n = 3)^b enrichment factor (being E_{Fmax} = 105)^c extraction efficiency^d relative recovery

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Acknowledgements

V.P. thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for the Ramón y Cajal contract with the University of La Laguna (ULL). V.P. also thanks the MINECO for the Projects Ref. MAT2013-43101-R and MAT2014-57465-R. V.P. and J.H.A. acknowledge funding from Fundación CajaCanarias project ref. SPDs-AGUA05. M.J.T.-R. thanks Fundación CajaCanarias for her PhD research fellowship with ULL. J.L.A. acknowledges funding from the Chemical Measurement and Imaging Program at the National Science Foundation (Grant number CHE-1413199).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 86 (2014) 262–285.
- [2] G. Chatel, J.F.B. Pereira, V. Debbeti, H. Wang, R.D. Rogers, *Green Chem.* 16 (2014) 2051–2083.
- [3] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, *Sep. Sci. Technol.* 47 (2012) 264–276.
- [4] V. Pino, C. Yao, J.L. Anderson, *J. Colloid Interface Sci.* 333 (2009) 548–556.
- [5] C. Basheer, A. Alnedhary, B.S.M. Rao, S. Valliyaveetil, H.K. Lee, *Anal. Chem.* 78 (2006) 2853–2858.
- [6] D. Chen, Y. Zhao, H. Miao, Y. Wu, *Talanta* 134 (2015) 144–152.
- [7] A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namieśnik, *J. Chromatogr. A* 1321 (2013) 1–13.
- [8] M. Cruz-Vera, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Anal. Methods* 3 (2011) 1719–1728.
- [9] F. Augusto, L.W. Hantao, N.G.S. Mogollón, S.C.G.N. Braga, *Anal. Chem.* 43 (2013) 14–23.
- [10] Y. Wen, L. Chen, J. Li, D. Liu, L. Chen, *Trends Anal. Chem.* 59 (2014) 26–41.
- [11] M. Moradl, Y. Yamini, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 2319–2340.
- [12] L. Vidal, M.-L. Riekkola, A. Canals, *Anal. Chim. Acta* 715 (2012) 19–41.
- [13] Z. Wang, R. Sun, Y. Wang, N. Li, L. Lei, X. Yang, A. Yu, F. Qiu, H. Zhang, *J. Chromatogr. B* 969 (2014) 205–212.
- [14] A. García-Prieto, L. Lunar, S. Rubio, D. Pérez-Bendito, *Analyst* 131 (2006) 407–414.
- [15] D. Xiao, D. Yuan, H. He, C. Pham-Huy, H. Dai, C. Wang, C. Zhang, *Carbon* 72 (2014) 274–286.
- [16] Q. Liu, J. Shi, T. Wang, F. Guo, L. Liu, G. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1257 (2012) 1–8.
- [17] J. Jiao, H. Zhang, L. Yu, X. Wang, R. Wang, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 408 (2012) 1–7.
- [18] S. Dong, G. Huang, X. Wang, Q. Hu, T. Huang, *Anal. Methods* 6 (2014) 6783–6788.
- [19] H. Parham, S. Saeed, *J. Chromatogr. A* 1336 (2014) 34–42.
- [20] J. Chen, X. Zhu, *Spectroc. Acta Pt. A.-Molec. Biomolec. Spectr.* 137 (2015) 456–462.
- [21] M. Wierucka, M. Biziuk, *Trends Anal. Chem.* 59 (2014) 50–58.
- [22] H. Yan, M. Gao, C. Yang, M. Qiu, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 2669–2677.
- [23] Q.Q. Baltazar, J. Chandawalla, K. Sawyer, J.L. Anderson, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 302 (2007) 150–156.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [24] O. Nacham, A. Martín-Pérez, D.J. Steyer, M.J. Trujillo-Rodríguez, J.L. Anderson, V. Pino, A.M. Afonso, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 469 (2015) 224–234
- [25] E.W. Rice, R.B. Baird, A.D. Eaton, L.S. Clesceri, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, American Water Works Association. 2012.
- [26] Y.S. Kang, S. Risbud, J.F. Rabolt, P. Stroeve, *Chem. Mater.* 8 (1996) 2209–2211.
- [27] H. Nakajima, H. Ohno, *Polymer* 46 (2005) 11499–11504.
- [28] Rosen MJ, Kunjappu JT (1978) *Surfactants and interfacial phenomena*, Wiley, New York. ISBN: 978-0-470-54194-4
- [29] B. Delgado, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, V. González, *Talanta* 99 (2012) 972–983.
- [30] X. Liu, X. Lu, Y. Huang, C. Liu, S. Zhao, *Talanta* 119 (2014) 341–347.
- [31] D. Xiao, D. Yuan, H. He, C. Pham-Huy, H. Dai, C. Wang, C. Zhang, *Carbon* 72 (2014) 274–286.
- [32] Q. Zhang, F. Yang, F. Tang, K. Zeng, K. Wu, Q. Ca, S. Yao, *Analyst* 135 (2010) 2426–2433.
- [33] X. Zhao, Y. Shi, T. Wang, Y. Cai, G. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1188 (2008) 140–147.
- [34] Q. Cheng, F. Qu, N.B. Li, H.Q. Luo, *Anal. Chim. Acta* 715 (2012) 113–119.
- [35] H. He, D. Yuan, Z. Gao, D. Xiao, H. He, H. Dai, J. Peng, N. Li, *J. Chromatogr. A* 1324 (2014) 78–85.
- [36] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. Rocío-Bautista, V. Pino, A.M. Afonso, *Trends Anal. Chem.* 51 (2013) 87–106.
- [37] AOAC Peer-Verified Methods Program, *Manual on Policies and Procedures*, AOAC International, Gaithersburg, MD, 1998.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

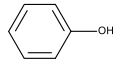
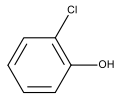
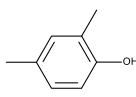
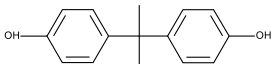
Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. Structures, abbreviations, and some physicochemical properties of the group of phenols studied.

Analyte (abbreviation)	Chemical formula	Structure	MW ^{a,b} (mol·L ⁻¹)	pK _a ^b (25 °C)	Density ^b (g·cm ⁻³) (20 °C, 1 atm)
phenol (Ph)	C ₆ H ₆ O		94.11	9.9 ± 0.1	1.07 ± 0.06
2-chlorophenol (2-CP)	C ₆ H ₅ ClO		128.6	8.5 ± 0.1	1.29 ± 0.06
2,4-dimethylphenol (2,4-DMP)	C ₈ H ₁₀ O		122.2	10.6 ± 0.2	1.01 ± 0.06
bisphenol A (BPA)	C ₁₅ H ₁₆ O ₂		228.3	10.3 ± 0.1	1.14 ± 0.06

Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

427

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

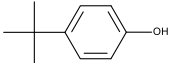
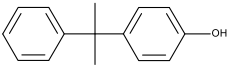
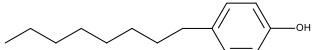
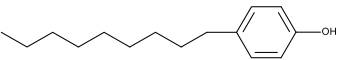
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S1. (continued) Structures, abbreviations, and some physicochemical properties of the group of phenols studied.

Analyte (abbreviation)	Chemical formula	Structure	MW ^{a,b} (mol·L ⁻¹)	pKa ^b (25 °C)	Density ^b (g·cm ⁻³) (20 °C, 1 atm)
4- <i>tert</i> -butylphenol (4- <i>t</i> -BP)	C ₁₀ H ₁₄ O		150.2	10.1 ± 0.1	0.97 ± 0.06
4-cumylphenol (4-CuP)	C ₁₅ H ₁₆ O		212.3	10.6 ± 0.1	1.06 ± 0.06
4-octylphenol (4-OP)	C ₁₄ H ₂₂ O		206.3	10.2 ± 0.2	0.94 ± 0.06
4-nonylphenol (4-NP)	C ₁₅ H ₂₄ O		220.4	–	0.94

^a molecular weight^b values obtained from SciFinder© Scholar database 2015

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S2. Retention times of phenols under the optimized conditions in the HPLC-DAD.

Phenols	$t_R^a \pm SD^b$ (min)
Ph	4.75 ± 0.02
2-CP	6.55 ± 0.04
2,4-DMP	8.12 ± 0.04
BPA	9.10 ± 0.05
4- <i>t</i> -BP	12.12 ± 0.07
4-CuP	15.71 ± 0.07
4-OP	22.21 ± 0.08
4-NP	24.1 ± 0.1

^a retention time

^b standard deviation of retention time (n = 20)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S3. Analytical calibration curves obtained by HPLC-DAD (without any preconcentration procedure) for the phenols studied. The linearity range was 0.1–7.0 mg·L⁻¹ for all phenols, except for 4-CuP, 4-OP and 4-NP, which was: 0.3–7.0 mg·L⁻¹.

Phenols	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	(Intercept ± SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	(S _{y/x} ^c)·10 ⁻³	LOD ^d (mg·L ⁻¹)	LOQ ^e (mg·L ⁻¹)
Ph	11.9 ± 0.2	-1 ± 4	0.9992	11.7	0.01	0.02
2-CP	6.8 ± 0.1	1 ± 4	0.9982	9.89	0.02	0.05
2,4-DMP	10.4 ± 0.2	4 ± 5	0.9989	12.4	0.01	0.04
BPA	10.0 ± 0.2	3 ± 4	0.9989	11.1	0.01	0.04
4- <i>t</i> -BP	8.7 ± 0.2	10 ± 5	0.9988	11.5	0.01	0.03
4-CuP	5.4 ± 0.1	3 ± 2	0.9992	4.77	0.04	0.13
4-OP	5.0 ± 0.1	2 ± 2	0.9990	4.95	0.08	0.25
4-NP	4.4 ± 0.1	7 ± 2	0.9986	5.22	0.09	0.29

^a standard deviation of slope and intercept (n = 9 calibration levels)

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S4. Relative extraction efficiency obtained when applying the optimum m- μ -dSPE method with all DSIL- and IL-based surfactants tested (spiked level of 25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Surfactant	Relative extraction efficiency (%) ^a							
	Ph	2-CP	2,4-DMP	BPA	4- <i>t</i> -BP	4-CuP	4-OP	4-NP
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.2) & C ₁₆ MIm ⁺	62.8	70.9	73.1	98.4	87.4	95.9	89.9	71.3
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.5) & C ₁₆ MIm ⁺	100	100	100	100	100	100	81.2	64.7
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.8) & C ₁₆ MIm ⁺	52.1	66.4	57.4	80.0	77.8	81.9	62.6	46.6
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.2) & C ₁₆ C ₄ Im ⁺	24.7	20.4	27.6	94.2	39.0	78.8	97.4	92.5
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.5) & C ₁₆ C ₄ Im ⁺	25.6	25.5	33.6	73.7	46.3	77.6	70.6	70.0
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.8) & C ₁₆ C ₄ Im ⁺	18.0	27.9	26.2	73.5	50.2	64.5	72.9	68.6
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.2) & (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺	28.1	20.0	28.7	65.2	41.7	69.2	74.2	75.3
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.5) & (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺	20.9	37.0	31.6	73.0	55.7	73.5	81.2	78.0
C ₁₂ C ₁₂ Im ⁺ (x _l = 0.8) & (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ ²⁺	26.2	46.7	38.3	69.2	61.4	70.2	72.4	65.5
free C ₁₂ C ₁₂ Im-Br	79.7	89.9	90.8	75.2	95.6	76.2	75.4	82.2
free C ₁₆ MIm-Br	62.2	67.4	58.3	87.2	80.5	86.7	91.3	88.3
free C ₁₆ C ₄ Im-Br	32.8	42.6	42.2	93.6	71.5	88.8	100	100
free (C ₁₆ Im) ₂ C ₁₂ -2Br	29.0	21.3	27.1	74.5	47.4	71.0	84.5	78.4

^a relative extraction efficiency is calculated assuming as 100% extraction efficiency the maximum peak area obtained for a phenol in the overall set of experiments using ILs and DSILs

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S5. Reproducibility and relative recovery obtained in the analysis of real water samples by the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method using C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_1 = 0.5$) & C₁₆MIm⁺.

Phenols	Wastewater			Tap water		
	Non-spiked Conc ^a \pm SD ^b	Spiked (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) RSD ^c (%)	RR ^d (%)	Non-spiked Conc ^a \pm SD ^b	Spiked (50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) RSD ^c (%)	RR ^d (%)
Ph	n.d.	4.2	6.01	n.d.	16	13.6
2-CP	n.d.	2.4	15.7	n.d.	4.6	17.3
2,4-DMP	n.d.	7.9	12.3	n.d.	11	14.5
BPA	n.d.	7.6	47.1	n.d.	9.7	87.4
4- <i>t</i> -BP	n.q.	–	–	n.d.	7.5	40.2
4-CuP	n.q.	–	–	n.d.	9.2	53.1
4-OP	n.d.	2.2	71.9	n.d.	8.3	79.8
4-NP	n.d.	4.0	98.5	n.d.	7.6	115

^a predicted concentration, in $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

^b standard deviation of predicted concentration (n = 3), in $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

^c relative standard deviation (n = 3)

^d relative recovery

n.d. = non-detected

n.q. = non-quantified

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S6. Analytical performance of the overall m- μ -dSPE-HPLC-DAD method with C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺ using matrix-matched calibrations in tap water. The linearity range was 5–100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (20–100 for Ph), with 6 calibrations levels.

Phenols	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-3}$	(Intercept \pm SD ^a) $\cdot 10^{-4}$	R ^b	(S _{y/x} ^c) $\cdot 10^{-3}$	LOD ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ ^e ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Ph	0.22 \pm 0.03	0.3 \pm 0.2	0.974	2.5	4.2	14
2-CP	0.89 \pm 0.02	0.5 \pm 0.1	0.998	1.8	0.90	3.0
2,4-DMP	0.82 \pm 0.06	1.1 \pm 0.3	0.985	5.7	1.8	5.9
BPA	3.7 \pm 0.2	2.2 \pm 0.8	0.993	17	0.39	1.3
4- <i>t</i> -BP	2.1 \pm 0.1	0.8 \pm 0.5	0.992	9.6	0.68	2.3
4-CuP	3.32 \pm 0.08	0.5 \pm 0.4	0.998	7.3	0.57	1.9
4-OP	1.92 \pm 0.09	1.1 \pm 0.4	0.994	8.0	1.1	3.6
4-NP	1.76 \pm 0.06	1.2 \pm 0.3	0.996	5.5	1.0	3.4

^a standard deviation of slope and intercept

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^e limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

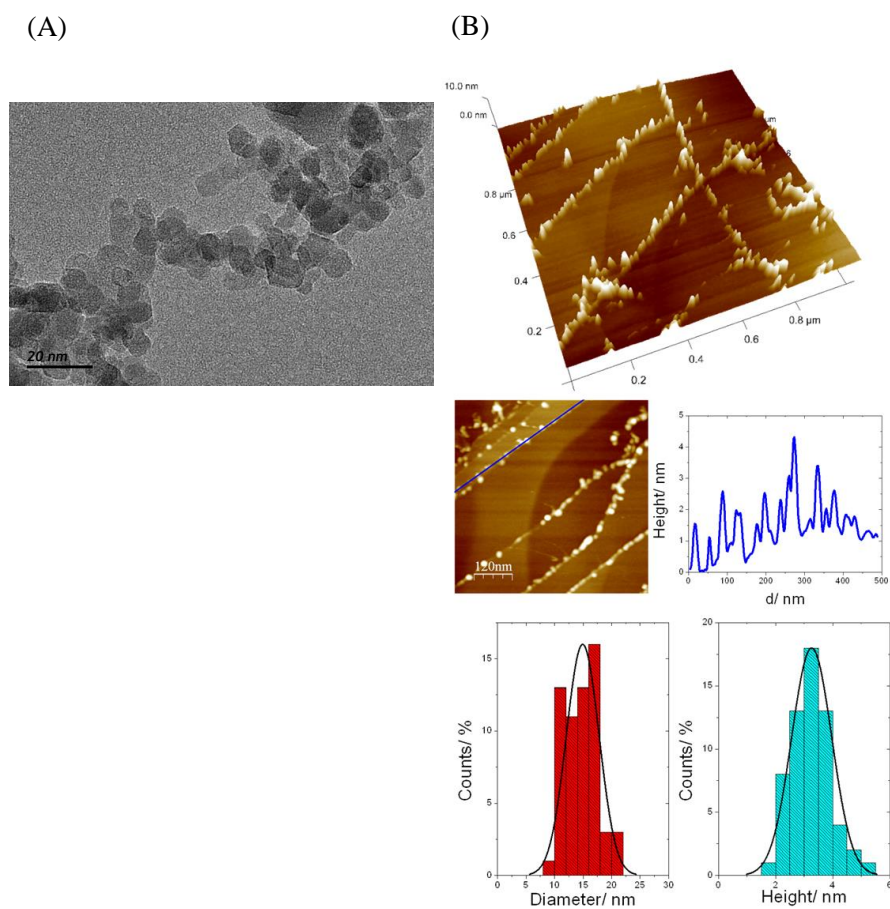
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. Characterization of the Fe_3O_4 MNPs, being (A) the transmission electron microscopy (TEM) image, (B) the atom force microscopy (AFM) data of quasi-spherical MNPs.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

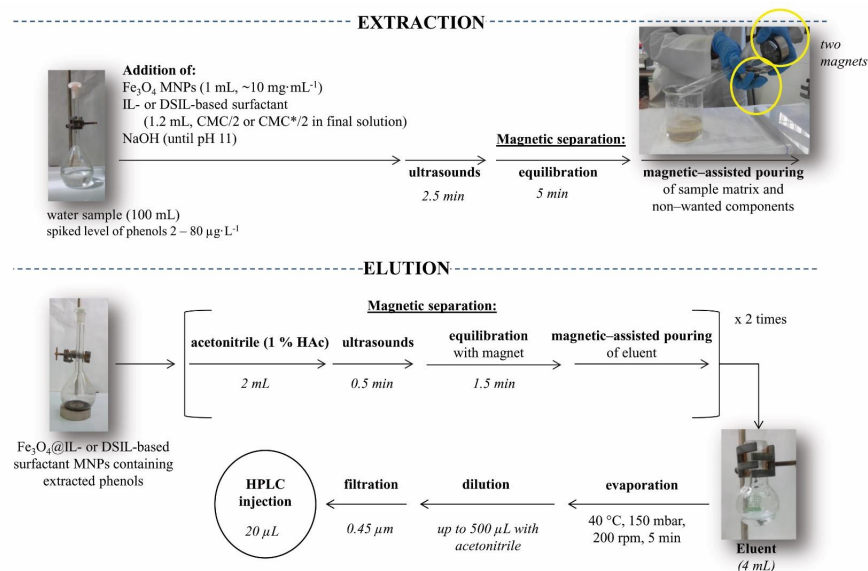
ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. Scheme of the main steps of the m- μ -dSPE using IL-based surfactants or DSIL-based surfactants, performed under optimum conditions.



Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

435

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

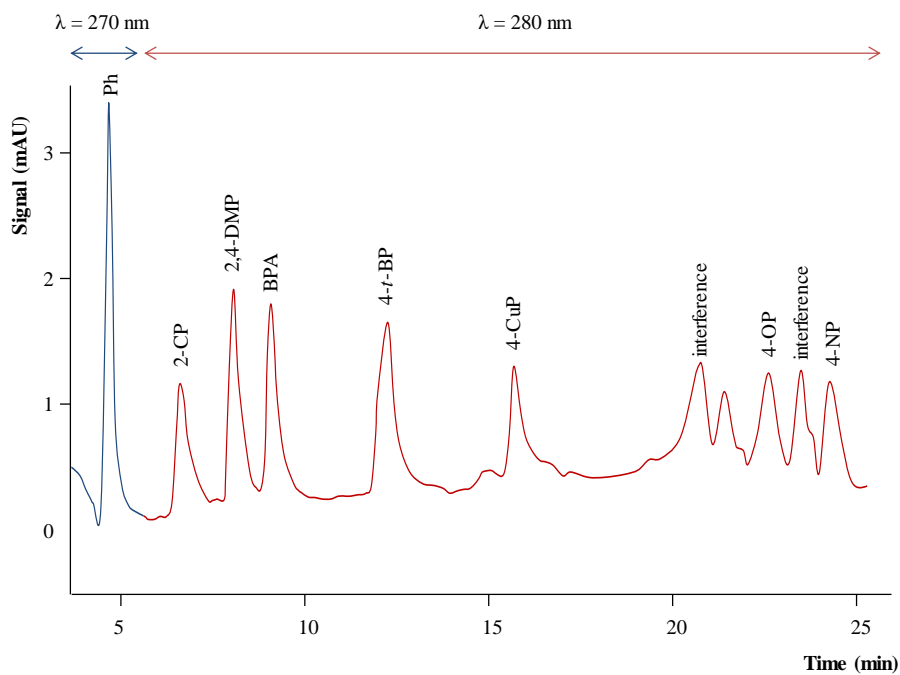
ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S3. HPLC-DAD chromatogram obtained for the group of phenols at $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, dissolved in $\text{C}_{12}\text{C}_{12}\text{Im-Br}$ $29 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (roughly 300 times its CMC).



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

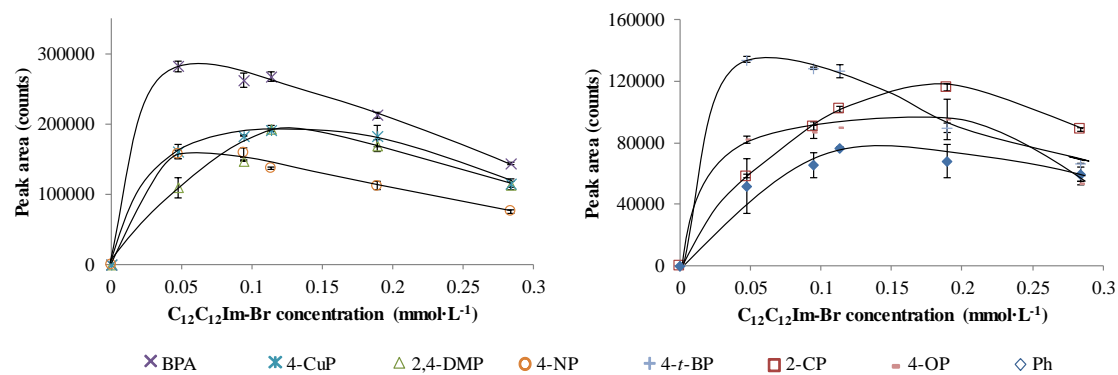
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

(A) Effect of the C₁₂C₁₂Im-Br concentration on the extraction efficiency of analytes, expressed as chromatographic peak area. Fixed extraction conditions: 40 mg of Fe₃O₄ MNPs, pH 10, no control of the ionic strength, 5 min of ultrasounds during extraction, 15 min of equilibration time, and elution performed in 3 steps. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate. Experiments in absence of IL-based surfactant were also undertaken to evaluate the extraction efficiency of neat MNPs. ANOVA analysis for a significance level of 0.05 showed that there were not significant differences in the extraction efficiencies when the C₁₂C₁₂Im-Br concentration varied from 0.05 to 0.2 mmol·L⁻¹.



Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

437

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

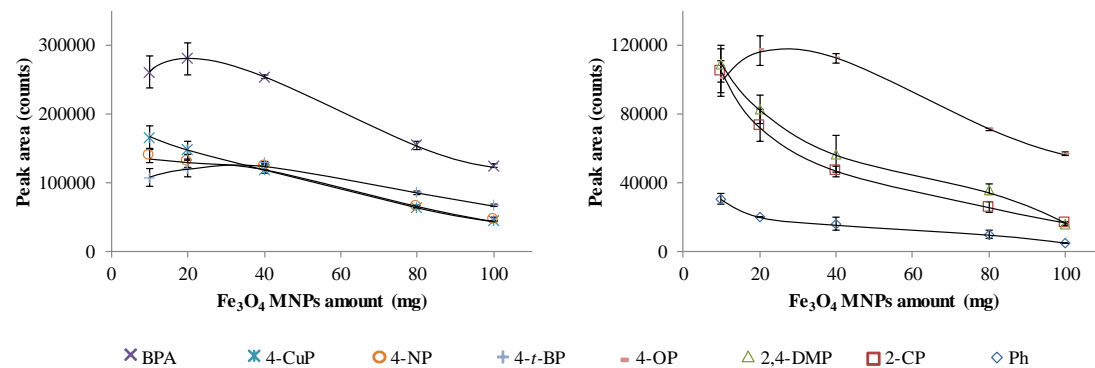
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

- (B)** Effect of the Fe₃O₄ MNPs amount in the extraction efficiency of analytes, expressed as chromatographic peak area. Fixed extraction conditions: C₁₂C₁₂Im-Br concentration of 0.05 mmol·L⁻¹, pH 10, no control of the ionic strength, 5 min of ultrasounds during extraction, 15 min of equilibration time, and elution performed in 3 steps. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate. Amounts lower than 10 mg were not attempted to ensure proper separation of the IL-based surfactant together with the MNPs when applying an external magnet.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

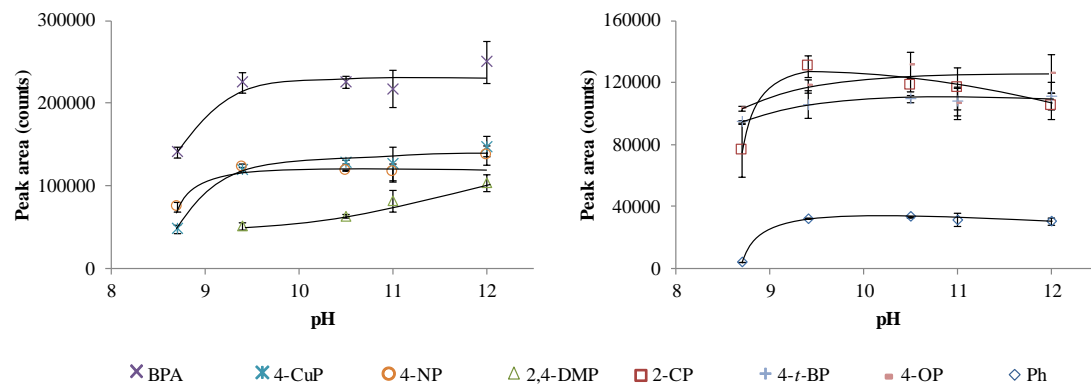
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

(C) Effect of the pH in the extraction efficiency of analytes, expressed as chromatographic peak area. Two factors have to be considered regarding pH and IL-based surfactants with MNPs. On one hand, it is necessary to work at an alkaline pH to maintain the surface of the MNPs negatively charged in order to set up adequate electrostatic interactions between the cations of the IL-based surfactant and the MNPs. However, they are not adequate to maintain phenols in their neutral form (which would not favor their partitioning to the mixed hemimicelles). Considering the pK_a values of phenols in a non-micellar media, the effect of the pH was evaluated in the range of pH between 8.5 and 12. Fixed extraction conditions: C₁₂C₁₂Im-Br concentration of 0.05 mmol·L⁻¹, 10 mg of Fe₃O₄ MNPs, no control of the ionic strength, 5 min of ultrasounds during extraction, 15 min of equilibration time, and elution performed in 3 steps. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

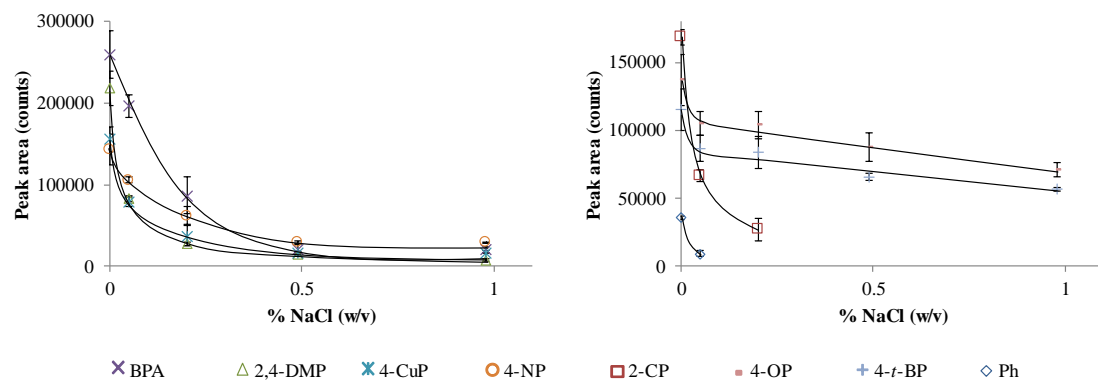
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

(D) Effect of the NaCl content in the extraction efficiency of analytes, expressed as chromatographic peak area. Fixed extraction conditions: C₁₂C₁₂Im-Br concentration of 0.05 mmol·L⁻¹, 10 mg of Fe₃O₄ MNPs, a pH value of 11, 5 min of ultrasounds during extraction, 15 min of equilibration time, and elution performed in 3 steps. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate. The decrease of the extraction efficiency with the NaCl content can be attributed to the capacity of Na⁺ cations to suppress the electrical single-layer of ILs firstly absorbed onto the MNPs surface, resulting in a decrease of the formation of mixed hemimicelles.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

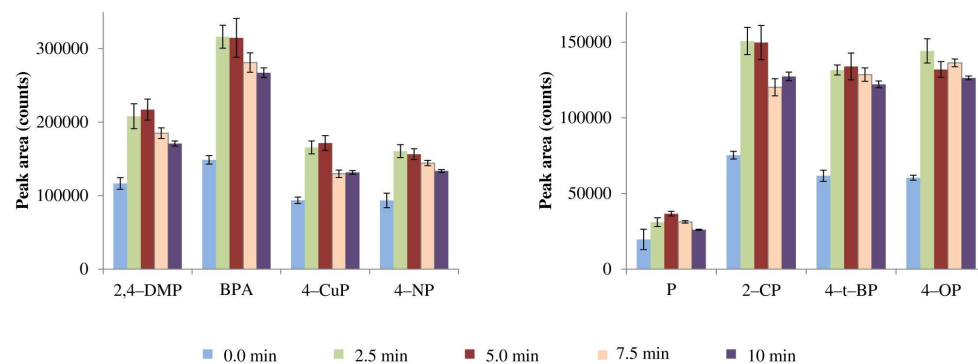
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

(E) Effect of the ultrasound time in the extraction efficiency of analytes, expressed as chromatographic peak area. Fixed extraction conditions: C₁₂C₁₂Im-Br concentration of 0.05 mmol·L⁻¹, 10 mg of Fe₃O₄ MNPs, pH value of 11, no control of the ionic strength, 15 min of equilibration time, and elution performed in 3 steps. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

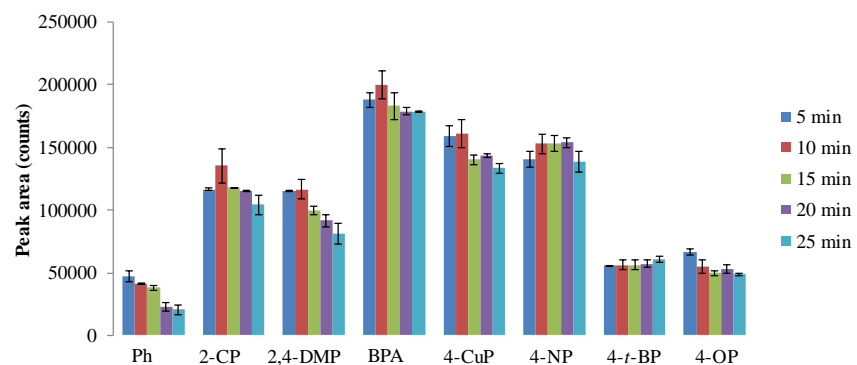
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

(F) Effect of the equilibration time in the extraction efficiency of analytes, expressed as chromatographic peak area. The equilibration time is the time required to achieve an efficient separation once the magnet is applied (after the application of ultrasounds). The minimum equilibration time is the time required to observe a clear and transparent supernatant (5 min in these experiments). Thus, it was evaluated if longer times were needed to ensure an efficient separation of phenols to the C₁₂C₁₂Im-Br coating Fe₃O₄ MNPs. Fixed extraction conditions: C₁₂C₁₂Im-Br concentration of 0.05 mmol·L⁻¹, 10 mg of Fe₃O₄ MNPs, pH value of 11, no control of the ionic strength, 2.5 minutes of ultrasounds during extraction, and elution performed in 3 steps. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

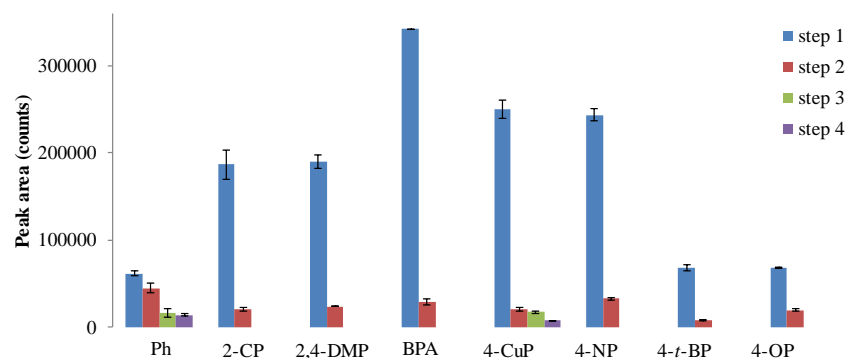
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S4. (continued) Factor by factor optimization of the m- μ -dSPE procedure using C₁₂C₁₂Im-Br.

(G) Extraction efficiency obtained after successive elution steps employing 2 mL of acetonitrile containing 1% (v/v) of acetic acid, using 0.5 min of ultrasounds to help desorption, and 1.5 min of equilibration time with a magnet before solvent removal. Fixed extraction conditions: C₁₂C₁₂Im-Br concentration of 0.05 mmol·L⁻¹, 10 mg of Fe₃O₄ MNPs, pH value of 11, no control of the ionic strength, 2.5 min of ultrasounds time during extraction, and 5 min of equilibration time. The remaining fixed conditions (phenols content spiked, sample volume, and eluting solvent nature and volume, among others) were kept in the whole optimization study, and are detailed in the text. Experiments were carried out by triplicate.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section V.3

Ionic liquids versus ionic liquid-based surfactants in dispersive liquid–liquid microextraction for determining copper in water by flame-atomic absorption spectrometry

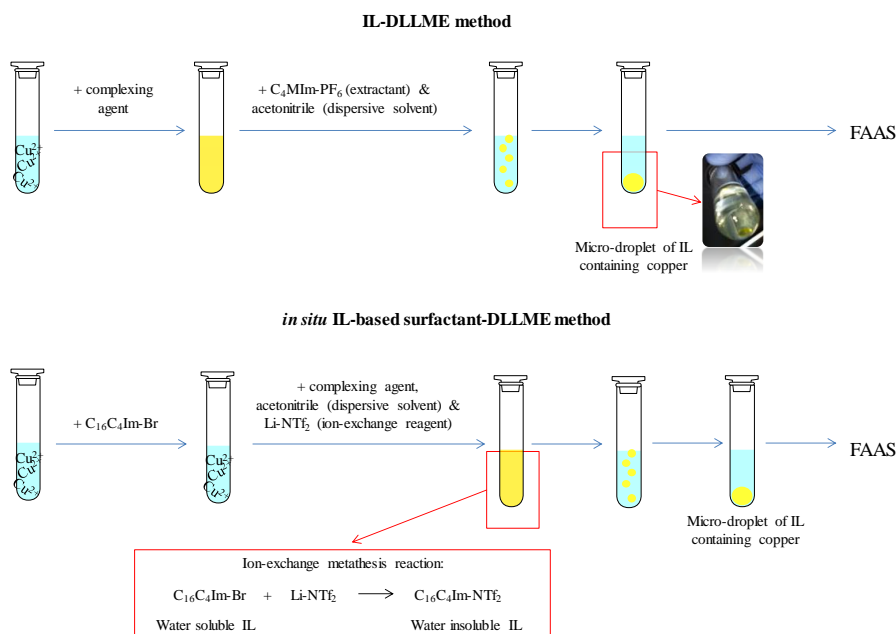
International Journal of Environmental Analytical Chemistry 96 (2016) 101–118

Juan F. Ayala-Cabrera¹, María J. Trujillo-Rodríguez¹, Verónica Pino^{*,1}, Óscar M. Hernández-Torres¹, Ana M. Afonso¹, Juliette Sirieix-Plénet²

¹Departamento de Química, Unidad Departamental de Química Analítica, Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife) 38206, Spain

²Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Laboratoire PHENIX, Case 51, 4 Place Jussieu, F-75005 Paris, France

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

This work compares the performance of dispersive liquid-liquid method (DLLME) as a prior step for determining copper by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) when using the ionic liquid (IL) 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (C₄MIm-PF₆) or the IL-based surfactant 1-hexadecyl-3-butylimidazolium bromide (C₁₆C₄Im-Br) as extractant solvents. For the water insoluble C₄MIm-PF₆, the most conventional DLLME mode using acetonitrile as dispersive solvent was employed. For the water soluble C₁₆C₄Im-Br, the *in situ* DLLME mode with lithium bis[(trifluoromethane)sulfonyl]imide (Li-NTf₂) as metathesis reagent was employed. In both approaches, some effective parameters such as volumes of extractant and dispersive solvents, concentration of complexing agent, pH of sample solution, salting out effect, and final diluting solvent to ensure compatibility with FAAS, were properly optimized. The optimum conditions for the IL-DLLME method using C₄MIm-PF₆ were: 100 µL of neat C₄MIm-PF₆, 1 mL of acetonitrile, 10 mL of water, no control of pH for environmental waters, NaCl content of 23 g·L⁻¹, diethyl dithiocarbamate (DDTC) as complexing agent at 10 mg·L⁻¹, and final dilution of the micro-droplet with acetonitrile up to 70 µL. The optimum conditions for the *in situ* IL-DLLME method using C₁₆C₄Im-Br were: 0.8 mL of acetonitrile, 10 mL of water containing C₁₆C₄Im-Br at 25.2 mmol·L⁻¹, final dilution step of the micro-droplet with 200 µL of acetonitrile, and remaining conditions as those of C₄MIm-PF₆. The analytical performance of both methods was similar, being slightly better for the IL-DLLME method using C₄MIm-PF₆, with limits of detection (LOD) of 3.3 µg·L⁻¹ (*versus* 5.1 µg·L⁻¹ when using C₁₆C₄Im-Br), precision values as intra-day relative standard deviation (RSD in %) lower than 8.8% (being of 10% for the C₁₆C₄Im-Br method), and an enrichment factor of 54 (being 27 when using C₁₆C₄Im-Br). The DLLME-FAAS method with C₄MIm-PF₆ was used in the analysis of environmental waters and urban wastewater coming from an inter-laboratory exercise with successful performance. The method was also valid for the determination of Cu²⁺ in presence of foreign ions commonly found in natural waters.

Keywords

dispersive liquid-liquid microextraction, metals, ionic liquids, ionic liquid-based surfactants, *in situ* microextraction, environmental analysis

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

The persistence of heavy metals in the environment constitutes an issue, different from that caused by organic pollutants, because metals cannot be chemically or biologically degraded [1] and can be easily accumulated to toxic levels [2]. Among heavy metals, copper is an essential element with many biological functions [3]. Nevertheless, its excess accumulation can be harmful [4]. In humans, gastrointestinal disturbances could be appear upon $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of copper in drinking water whereas at higher levels hemolysis or liver and kidney damages can origin [2,5].

The presence of copper in drinking waters is most often due to the corrosion of interior copper plumbing, with contents between ≤ 0.005 and $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The United States Environmental Protection Agency (US-EPA) has established a copper concentration action level of $1.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in drinking waters in 1991 [6], whereas the World Health Organization (WHO) currently has a guideline value of $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ [7].

The common low contents of copper in drinking waters require sensitive analytical methods for its monitoring: commonly an extraction/preconcentration step followed by atomic absorption spectrometry (AAS) [8] or inductively coupled plasma (ICP)-mass spectrometry (MS) [9]. Different extraction/preconcentration strategies have been developed towards copper determination. Among them, it is noticeable the high number of recent works linked to liquid-phase microextraction (LPME) modes [10]: cloud point extraction (CPE) [11], single drop microextraction (SDME) [12], hollow fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME) [9] and dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) [13,14]. These techniques minimize the consumption of toxic organic solvents, being included in the Green Analytical Chemistry trend [15,16].

DLLME has been particularly successful for the analytical determination of metals [17,18]. In its more conventional mode of operation, the microextraction technique requires two different solvents: one extractant solvent non-miscible with the aqueous sample and one dispersive solvent miscible with the aqueous sample and with the extractant solvent. To ensure a microextraction method, volumes down to few microliters for the extractant solvent are used, whereas common volumes for the dispersive solvent are $\sim 0.5 \text{ mL}$ for $\sim 10 \text{ mL}$ of aqueous sample. The shaking of this ternary mixture (water, extractant solvent, and dispersive solvent) generates a high dispersion of the extractant solvent within the sample due to the dispersive solvent. It also speeds up the mass-transfer

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

of the analytes to the low volume of the extractant phase. Thus, high preconcentration factors can be achieved with good extraction efficiencies in a fast mode [19,20]. In the case of metals determination, a complexation agent is normally required to ensure trapping the metal in an organic chelate before being partitioned to the extractant solvent. Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) and diethyl-dithiocarbamate (DDTC) have been commonly described as complexing agents for Cu^{2+} [21,22].

It is important to mention ionic liquids (ILs) as novel solvents in DLLME [23]. ILs are a group of non-molecular solvents with melting points below 100 °C [24]. They present almost negligible vapor pressure at room temperature; and high thermal, chemical and electrochemical stability [25]. Besides, they can be included as “green solvents” because they do not generate volatile organic compounds [26]. They can be easily tuned to be water soluble or insoluble, highly or moderately viscous, and even task-specific (TSILs). Given these outstanding properties, hydrophobic (water insoluble) and hydrophilic (water soluble) ILs have been successfully utilized in all DLLME modes, not only acting as extractant solvents but also as dispersive solvents [17,23].

Recently, a group of IL derivatives presenting aggregation behavior when used at concentrations higher than their critical micelle concentration (CMC), termed IL-based surfactants [27,28], are starting to receive attention towards their use in DLLME approaches. Indeed, a number of applications have been described [29-31].

The determination of copper using IL-DLLME and AAS has already been reported [13,32-37].

Aggregates of IL-based surfactants have not been tested for Cu^{2+} determination. There are two works reporting the use of the IL-based surfactant $\text{C}_6\text{MIm-Cl}$ for the extraction of copper using DLLME [13,37], but none of them employ the IL at concentrations above its CMC value ($900 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ [38]), and thus these works have not exploited its surfactant behavior. Indeed, to the best of our knowledge there is only one report from Vaezzadeh *et al.* [39] which uses an IL-based surfactant at a concentration above its CMC value, specifically for the determination of Pd^{2+} .

Therefore, the main aim of this work was to compare for first time the performance of the DLLME method for copper determination in water when using a common IL (specifically 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate, $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$) or when using an IL-based surfactant (specifically 1-butyl-3-hexadecylimidazolium bromide

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(C₁₆C₄Im-Br) at concentrations above its CMC value, followed by flame-atomic absorption spectrometry (FAAS). It is intended to test if IL-based surfactants have potential for metals determination by DLLME compared to neat ILs.

Given the fact that all IL-based surfactants (including C₁₆C₄Im-Br) are soluble in water, the IL-DLLME mode to be employed is the termed *in-situ* approach [40,41]. In the case of the water insoluble C₄MIm-PF₆, the most conventional IL-DLLME mode will be used. In both cases, DDTC will be employed as complexing agent.

This work proposes, for first time, the utilization of an IL-based surfactant for the determination of copper, while comparing its performance with a more conventional IL-DLLME method using a neat IL.

2. Experimental

2.1. Chemicals, reagents and materials

A certified standard solution of 1000 mg·L⁻¹ of Cu(NO₃)₂·3H₂O in HNO₃ 0.5N from Panreac (Barcelona, Spain) was utilized. An intermediate standard solution of 20 mg·L⁻¹ of Cu²⁺ was prepared by dilution in ultrapure water. Calibration curves of the overall method using the neat IL or the IL-based surfactant were obtained with standard solutions of Cu²⁺ in ultrapure water, with concentrations values between 5 and 310 µg·L⁻¹.

Certified standard solutions of 1000 mg·L⁻¹ of Cr³⁺, Fe³⁺, Pb²⁺ and Zn²⁺ in HNO₃ 0.5 N were purchased from Panreac. 1000 mg·L⁻¹ Ca²⁺ in HNO₃ 2 N was supplied by VWR International® (Belgium) whereas 1000 mg·L⁻¹ Cd²⁺ in HNO₃ 0.5 N was purchased from Fluka (Buchs, Switzerland).

The complexation agent utilized was sodium diethyl dithiocarbamate (Na-DDTC, >98%), supplied by Panreac.

The monocationic IL used was 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate (C₄MIm-PF₆, >97%), supplied by Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). The IL-based surfactant used was 1-butyl-3-hexadecylimidazolium bromide

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(C₁₆C₄Im-Br, with a critical micelle concentration of 0.7 mmol·L⁻¹ in pure water [42]). It was synthesized in our laboratory following a previously described procedure [42]. The synthesis of C₁₆C₄Im-Br required 1-butylimidazole and 1-bromohexadecane, supplied by Sigma-Aldrich, and isopropanol and ethyl acetate, supplied by Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA).

Lithium bis[(trifluoromethane)sulfonyl]imide (Li-NTf₂, 99.95%), sodium chloride (>99.5%), and acetone (>99.8%), were obtained by Sigma-Aldrich. An aqueous solution of Li-NTf₂ was used with a concentration of 0.5 g·mL⁻¹. Acetic acid and ethanol (HPLC grade) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Acetonitrile (LC-MS grade) was supplied by VWR International® (Llinars del Vallés, Spain).

Ultrapure water (18.2 mΩ·cm) was obtained from a Milli-Q gradient A10 system (Millipore, Watford, UK). Tap water samples were collected in our laboratories. Treated wastewater samples were directly sampled at one wastewater treatment plant (Tenerife, Canary Islands), at the effluent outfalls (~the sea). In all the cases, sampling was carried out while avoiding the formation of bubbles, and using clean amber glass bottles of 100 mL in volume. Samples were also maintained in a portable fridge until they reached the laboratory, and then maintained in the dark at 4 °C for no more than 48 h, before being analyzed. Urban wastewater sample, coming from an inter-laboratory control exercise, was sampled in a secondary decantation tank of a sewage treatment plant. The sample was kept in HNO₃ at pH < 2 in the fridge. The Cu²⁺ concentration was previously estimated by the agreement of 93 laboratories as (0.760 ± 0.007) mg·L⁻¹.

2.2. Equipment

Pyrex® glass tubes with a volume capacity of 30 mL were employed (Staffordshire, United Kingdom). A centrifuge model Eppendorf 5702 (Hamburg, Germany) was used in the DLLME experiments. A micro-syringe of 50 µL, supplied by Hamilton (Reno, Nevada, USA), was employed to handle the micro-droplet obtained in the DLLME method. Micro-droplets were placed in propylene graduated microtubes obtained from Sarstedt Aktiengesellschaft & Co. (Nümbrecht, Germany) before FAAS determination.

The atomic absorption spectrometer SpectrAA 50B equipped with an air/acetylene MK7 burner and a hollow cathode lamp of copper supplied by Varian (Palo

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Alto, CA, USA) was used for Cu^{2+} determination. The SprettrAA Worksheet Oriented AA version 5.1 Software (Varian) was used for data acquisition. High purity acetylene was purchased from Air Liquid España S.A. (Madrid, Spain).

The Statgraphics Plus 5.1 software was employed for statistical treatment.

2.3. Procedures

2.3.1. Synthesis of the IL-based surfactant $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$

The synthesis was carried out according to previous methods reported by Baltazar *et al.* [42]. Briefly, 0.10 mol of either 1-butylimidazole and 0.11 mol of 1-bromohexadecane were refluxed (70 °C, 24 h, stirring) in isopropanol (20 mL). Then, isopropanol was removed under vacuum (60 °C). The product was dissolved in ultrapure water (25 mL) and the excess of starting materials was extracted with ethyl acetate (15 mL \times 5 times). Finally, water was evaporated under vacuum (80 °C) and the product was dried in a vacuum oven for 2 days.

2.3.2. IL-DLLME method using $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$

The IL-DLLME method using $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ was carefully optimized. The method performed under optimum conditions requires 10 mL of aqueous sample placed in a glass conic tube. In the case of ultrapure water and tap water, the ionic strength was adjusted with NaCl to a concentration of 23 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. No adjustment of the ionic strength was required for wastewater.

38.2 μL of 3000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Na-DDTC solution (complexing agent) and 1 mL of acetonitrile (dispersive solvent) containing 100 μL of $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ (extractant solvent) are sequentially added. Then, the tube is centrifuged at 3500 rpm during 5 min, followed by cooling in a freezer at -8 °C during 5 min to favor the settling of the droplet. After that, the micro-droplet is taken with a Hamilton syringe from the bottom of the tube and placed in a propylene vial to be diluted with acetonitrile up to 70 μL . 50 μL of this diluted micro-droplet are transferred into another microtube and subjected to FAAS. Figure 1 (A) shows a scheme of the whole procedure under optimum conditions.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

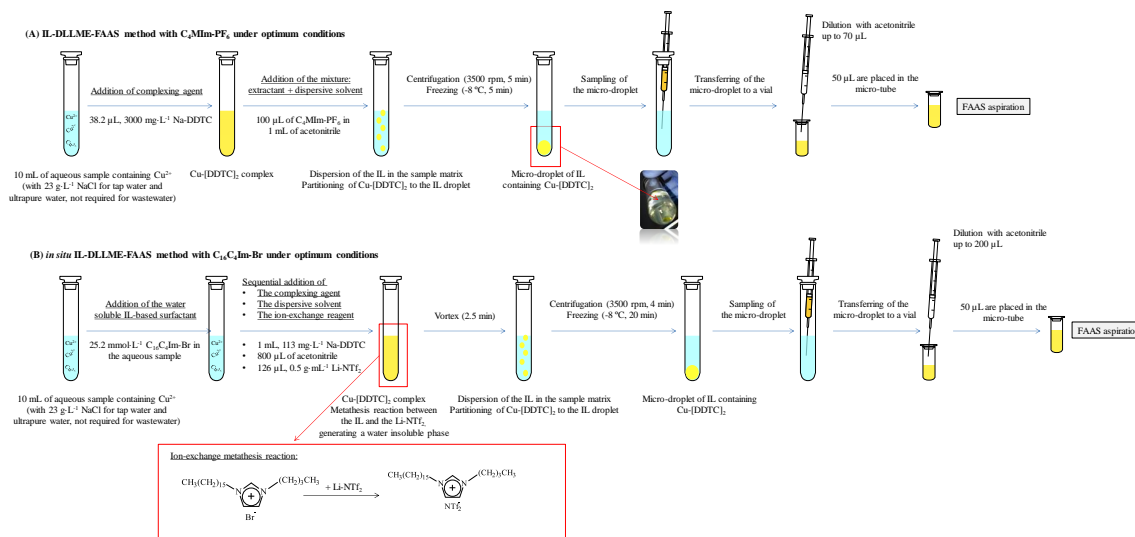


Figure 1. Scheme of the experimental procedure for the overall extraction methods performed under optimum conditions, being (A) the IL-DLLME-FAAS method using $C_4Mim-PF_6$, and (B) the *in situ* IL-DLLME-FAAS method using $C_{16}C_4Im-Br$.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

2.3.3. *In situ* IL-DLLME method using C₁₆C₄Im-Br

The *in situ* IL-DLLME method using C₁₆C₄Im-Br was carefully optimized. The method performed under optimum conditions requires 10 mL of aqueous sample placed in a glass conic tube. The ionic strength requirements were the same as those described in Section 2.3.2. The optimum concentration of the IL-based surfactant in the aqueous solution is 25.2 mmol·L⁻¹. To the tube, the following aliquots are added: 1 mL of 113 mg·L⁻¹ Na-DDTC solution (complexing agent), 800 μL of acetonitrile (dispersive solvent), and 126 μL of 0.5 g·mL⁻¹ Li-NTf₂ (ion-exchange reagent). Thus, the final concentration of C₁₆C₄Im-Br in the extractant tube is ~20 mmol·L⁻¹. The metathesis reaction between the IL-based surfactant and Li-NTf₂ is performed with a 1:1 molar ratio, as shown in Figure 1 (B). The tube is shaken by vortex during 2.5 min to facilitate the metathesis reaction, followed by centrifugation at 3400 rpm during 4 min, and then cooling in a freezer at -8 °C during 20 min to facilitate the settling of the micro-droplet. The supernatant is removed and the frozen micro-droplet, located at the bottom of the tube, is diluted with 200 μL of acetonitrile. 50 μL of this diluted micro-droplet are sampled and placed into a microtube and subjected to FAAS. A scheme of the whole procedure is summarized in Figure 1 (B).

2.3.4. FAAS conditions for Cu²⁺ determination in a micro-droplet

An acetylene/air flame was employed with 1.5 L·min⁻¹ and 3.5 L·min⁻¹ of acetylene and air flows, respectively. Premix burner was used with a standard length of 10 cm. The lamp current was fixed at 4.0 mA and 0.5 nm was selected as slit width in the monochromator. The gain oscillates between 25 and 30%. The absorbance of the copper was measured at 324.8 nm by the aspiration of a micro-droplet of 50 μL. The micro-droplets were introduced in the FAAS system by direct aspiration from the propylene microtube. The signal was registered during 8 s. For quantitative purposes, the value obtained by peak integration was used rather than average absorbance.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3. Results and discussion

3.1. Copper determination in a micro-droplet by FAAS

Main FAAS conditions were described in the experimental section 2.3.4. It is important to consider that the FAAS method was performed aspirating a micro-droplet. The transient signal is shown in Figure S1 of the Annex Material. The manual injection (aspiration of the micro-droplet) caused that the initial time at which peak appears suffered minor variations.

3.2. Optimization of the IL-DLLME-FAAS method using C₄MIm-PF₆

3.2.1. Previous considerations

The optimization was carried out using an experimental design. However, several considerations have to be considered first to ensure the compatibility between the DLLME method and the FAAS, and also to reduce the number of variables in the experimental design.

Water sample volume was fixed to 10 mL. This volume ensures an adequate preconcentration, and permits working with common centrifugation tubes.

The neat IL selected as extractant solvent in the IL-DLLME method was C₄MIm-PF₆ for being water immiscible, not very expensive, commercially available, with moderate viscosity, and with adequate thermal lability which later facilitates its decomposition in the flame.

Acetonitrile was also selected as dispersive solvent given its miscibility with the extractant solvent (the IL C₄MIm-PF₆) and the aqueous sample. In initial screening experiments, acetonitrile proved to be adequate to reduce the viscosity of the IL C₄MIm-PF₆ thus facilitating its aspiration in the FAAS.

Regarding the complex agent for Cu²⁺, the common Na-DDTC was selected [22]. Cu-[DDTC]₂ complex is also labile at the common flame temperatures.

Centrifugation was always performed at 3500 rpm during 5 min to achieve the adequate separation of the micro-droplet from the aqueous phase. After centrifugation, it

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

was accepted as beneficial to cool the tube down to ~ -8 °C (freezer) to favor the settling of the micro-droplet [31].

The water content in the final micro-droplet is critical for further FAAS determination of Cu^{2+} . Several physical properties of the micro-droplet such as density or viscosity change with its water content, thus provoking modifications in the nebulization of the droplet in the flame. Indeed, a signal reduction was observed when increasing the water content, as it can be observed in Figure S2 of the Annex Material. It was therefore decided to sample a volume slightly lower than the total volume of the final micro-droplet (to avoid taking water from the aqueous solution when sampling it). Such sampled volume was then diluted up to 70 μL with an organic solvent. Thus, if any water was still present, it would suffer dilution. Different organic solvents were studied in the final dilution step before FAAS, including ethanol, acetone and acetonitrile. Their effect in the IL-DLLME method was evaluated in terms of reproducibility and sensitivity, by performing four experiences. The spiked level of Cu^{2+} was $519 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 10 mL of ultrapure water were used, and 700 μL of a mixture IL/organic solvent in a 1:3.7 (IL:organic solvent) ratio. Relative standard deviations (RSDs) values higher than 30% were obtained when ethanol and acetone were utilized as final dilution solvent. However, an adequate RSD value of 7.8% was obtained employing acetonitrile, and so it was selected as final dilution solvent of the micro-droplet. Furthermore, the sensitivity of the method increased when using acetonitrile, as it is shown in Figure S3 of the Annex Material.

3.2.2. Influence of pH and ionic strength

The pH can affect to the formation of the $\text{Cu}\text{-}[\text{DDTC}]_2$ complex, because pH values lower than 5 cause Na-DDTC decomposition whereas pH values higher than 7 permit the formation of copper hydrolytic species that compete with the formation of the $\text{Cu}\text{-}[\text{DDTC}]_2$ complex. Gao *et al.* suggested the utilization of an acetate/acetic acid buffer to favor the formation of the complex [43]. To test the pH effect, experiments (by triplicate) of the overall IL-DLLME-FAAS procedure were carried out with the preliminary fixed conditions already described in Section 3.2.1, and in presence or absence of the acetate/acetic acid buffer (pH ~ 5.6). A statistical analysis of the results showed no significant differences in presence or absence of the buffer (significance level of 0.05). It can be concluded that determination may not be affected by buffer presence

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

at the common water pH values (pH ~ 6.5). Therefore, no further control of the sample pH was carried out.

The ionic strength effect was evaluated by modifying the NaCl content in the initial aqueous sample. NaCl concentration in seawater is usually ~23 g·L⁻¹ in average, but the present method is intended not only for salty waters but also to drinking waters. Thus, experiments were carried out by triplicate using a spiked level of Cu²⁺ of 527 µg·L⁻¹ together with the fixed conditions already described in Section 3.2.1. A RSD value of 5.3% was observed in those experiments performed with a NaCl content of 23 g·L⁻¹ whereas a non-acceptable RSD value of 30% (and even higher) was obtained in those experiments performed in absence of NaCl. High contents of NaCl are probably increasing the surface tension of the IL micro-droplet, thus favoring its further manipulation and therefore increasing the reproducibility of the method. In summary, NaCl was added to drinking waters before analysis (23 g·L⁻¹) whereas treated wastewaters were analyzed as received (without controlling the NaCl content).

3.2.3. Experimental design

After selection of the nature of the extractant solvent, dispersive solvent and complex agent in the IL-DLLME-FAAS method, together with the pH and ionic strength of the aqueous sample, and the dilution required for the final micro-droplet, there are three remaining variables that require optimization: the volume of the extractant solvent C₄MIm-PF₆, the volume of the dispersive solvent (acetonitrile), and the concentration of the complex agent Na-DDTC.

The response surface design selected for such optimization was a central composite design with two levels (2³ + star), being a face centered matrix with two central points randomly located. Peak area was utilized as response signal. The limits selected for the extractant volume were 100 and 200 µL. Volumes lower than 100 µL generates difficulties in the reproducibility when handling the final micro-droplet. Volumes higher than 200 µL do not meet adequate requirements of sensitivity (low preconcentration). The limits for the volume of acetonitrile were 0.1 and 1 mL. Volumes higher than 1 mL are against the principle of a green analytical method. Volumes lower than 0.1 mL hardly helps in dispersing the IL through the aqueous sample and were not used. The limits for the concentration of the complex agent were 10 and 200 mg·L⁻¹.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Higher contents were not tried to avoid unnecessary waste of reagent, whereas lower contents were not used to ensure the presence of an excess of this reagent and thus obtaining a whole complexation of the Cu^{2+} .

The results obtained with the experimental design are shown in Figure 2. Significant effects of IL volume and acetonitrile volume can be clearly observed from the Pareto chart (Figure 2 (A)). However, they have opposite influences: an increase of IL volume causes a higher final micro-droplet volume and therefore, a smaller precocentration. Thus, this variable has a negative effect in the peak area. On the other hand, a positive effect is observed for the acetonitrile volume, because higher volumes favor the dispersion of the IL. A negative influence of the interaction IL volume – acetonitrile volume is also observed, accompanied by low influences of the complex agent concentration together with remaining interactions.

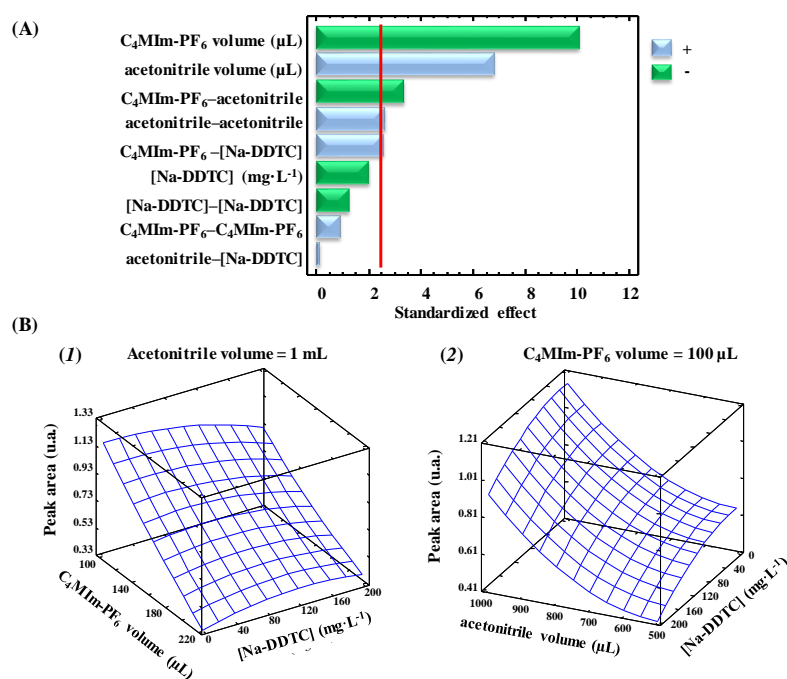


Figure 2. Results obtained for the experimental design utilized during the optimization of the IL-DLLME-FAAS method using $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$, being: (A) Pareto chart, and (B) Response surfaces obtained for (1) a constant acetonitrile volume and (2) a constant $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ volume, as representative examples.

The response surfaces of Figure 2 (B) (selected as examples) clearly show the optimum conditions for the variables, with a maximum located at the limits of the experimental design: the smallest IL volume, the highest acetonitrile volume, and low concentrations of complex agent. The abovementioned limitations of the IL-DLLME-FAAS method imply that it is not possible to work outside of these limits.

In summary, 100 μL of $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$, 1 mL of acetonitrile, and 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of Na-DDTC were chosen as optimal conditions of the IL-DLLME-FAAS method.

3.3. Optimization of the *in situ* IL-DLLME-FAAS method using $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$

A useful rule for all IL and IL-based surfactants in an *in situ* IL-DLLME method is the utilization of a 1:1 molar ratio between the water soluble IL (or IL-based surfactant) and the ion-exchange reagent of the metathesis reaction. This ratio normally leads to a successful microextraction. Thus, it results very simple to get the optimum variables. Besides, the same variables that were fixed in the IL-DLLME method (Section 3.2.1.) were also kept constant in the *in situ* IL-DLLME method: water sample volume (10 mL), nature of the dispersive solvent (acetonitrile), nature of the final solvent to be used for micro-droplet dilution before FAAS aspiration (acetonitrile), Na-DDTC as complex agent, and centrifugation speed (3500 rpm). The optimum concentration of Na-DDTC (10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) obtained in the IL-DLLME method was also employed for this *in situ* IL-DLLME, because it is expected that Cu^{2+} complexation is not going to be modified as a result of the nature of the extractant used. The same comments can be applied to the effect of the pH and NaCl content. Thus, the optimum results obtained in Section 3.2.2. were used: no control of pH for environmental waters and a NaCl content of 23 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for tap waters. To sum up, an *in situ* IL-DLLME method using $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$ has been already studied in a previous work of our group regarding the extraction of organic compounds [31], which gave us an important background regarding the optimization of the current method.

Therefore, the optimization was basically shifted to decide the initial concentration of $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$ (which would later decide the Li-NTf_2 concentration), in all cases working well above its CMC value. Thus, several experiments were performed with initial contents of 20, 25, 30, 35 and 40 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Lower amounts were not tried to ensure at least 20 times the CMC. Higher amounts were not tried to avoid costs and unnecessary

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

waste of chemicals: C₁₆C₄Im-Br and Li-NTf₂. In all experiments, a 1:1 molar ratio C₁₆C₄Im-Br:Li-NTf₂ was employed. There were no differences between extraction efficiencies as a result of the initial C₁₆C₄Im-Br concentration. Therefore, 20 mmol·L⁻¹ (the lowest amount) was selected to decrease costs. This is accompanied by the need of 126 µL of an aqueous solution of 0.5 g·mL⁻¹ Li-NTf₂.

The main modification of the overall performance of this method *versus* the IL-DLLME is that the final micro-droplet obtained (composed of C₁₆C₄Im-NTf₂ after the metathesis reaction) is extremely viscous, much more than C₄MIm-PF₆. Therefore, it was necessary to dilute the final micro-droplet with 200 µL of acetonitrile to reduce the viscosity. Later on, 50 µL were aspirated by FAAS.

Therefore, there is an important difference in the final dilution step of the micro-droplet volumes: addition of ~20 µL of acetonitrile with the IL-DLLME method and addition of ~200 µL of acetonitrile with the *in situ* IL-DLLME method. This is going to exert an important differentiation in the enrichment factors achieved with both methods.

It is important to consider that the dilution of the final micro-droplet obtained for the IL-based surfactant is required to decrease its viscosity for avoiding further problems when aspirating the droplet by FAAS. It is expected that no dilution is required if graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) is used instead of FAAS, and thus higher applicability is expected for IL-based surfactants in combination with GFAAS.

3.4. Analytical performance of both IL-DLLME methods

Several quality analytical parameters of the IL-DLLME-FAAS method using C₄MIm-PF₆ and the *in situ* IL-DLLME-FAAS method using C₁₆C₄Im-Br were obtained for the determination of Cu²⁺ in environmental water samples, and have been included in Table 1. These calibrations include the overall analytical method and not only the FAAS determination.

It can be observed that both methods present adequate linearity ranges and determination coefficients (see Table 1). The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) were calculated as three and ten times the signal to noise ratio, respectively (Table 1). The obtained LOD values were also verified preparing aqueous solutions containing Cu²⁺ at that concentration levels, which were subjected to the overall IL-DLLME-FAAS method. Therefore, the analytical sensitivity of the IL-DLLME method with C₄MIm-PF₆

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

is better than that of the *in situ* IL-DLLME method with C₁₆C₄Im-Br. Nevertheless, it is important to note that both methods provide adequate sensitivities to achieve the guideline levels in the determination of copper in water.

Table 1. Analytical performance of the methods developed for the determination of Cu²⁺ in waters: IL-DLLME method using C₄MIm-PF₆ and *in situ* IL-DLLME method using C₁₆C₄Im-Br.

Parameter	IL-DLLME method using C ₄ MIm-PF ₆ ^a	<i>in situ</i> IL-DLLME method using C ₁₆ C ₄ Im-Br ^a
Determination coefficient, R ²	0.999	0.997
Standard deviation of the residuals (S _(y/x))	9·10 ⁻³	14·10 ⁻³
Linearity range (µg·L ⁻¹)	25 – 300	25 – 300
LOD ^b (µg·L ⁻¹)	3.3	5.1
LOQ ^c (µg·L ⁻¹)	11	17
RSD ^d (%), spiked level of 60 µg·L ⁻¹	8.8	10
RSD ^d (%), spiked level of 160 µg·L ⁻¹	4.7	5.6
IL micro-droplet volume (µL) / final volume after dilution (µL)	~50 / ~70	~70 / ~270
Possibility of re-measurements of the micro-droplet by FAAS ^e	No	Yes (up to 5)
E _F ^f	54	27
E _R ^g (%)	36	68

^a results for n = 6 calibration levels

^b limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^c limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

^d intra-day precision (n = 4)

^e 50 µL are required for FAAS aspiration

^f enrichment factor, calculated as described in Section 3.4

^g extraction efficiency, calculated as described in Section 3.4, and considering an E_{F,max} of ~149 for the method with C₄MIm-PF₆ and of ~39.2 for the method using C₁₆C₄Im-Br

It is interesting to take into account that, if considering the differential final dilution step when using C₄MIm-PF₆ or C₁₆C₄Im-Br (see Table 1), it seems that indeed the IL-based surfactant ensures higher extraction efficiency, which is later decreased due to necessary dilution. Besides, it is possible to perform replicates of the content of Cu²⁺ in the IL-based surfactant micro-droplet, whereas one single measurement can be performed with the neat IL micro-droplet. Such repetitive measurements of the micro-droplet can be also beneficial for multi-element determination if properly optimized.

It is possible to estimate the maximum theoretical enrichment factor (E_{F,max}) reached with the DLLME-FAAS method as the ratio of the initial aqueous solution (~11

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

mL, if considering all reagents added to water) and the final micro-droplet volume obtained after dilution with acetonitrile (~70 μL for the IL-DLLME method using $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$, and ~270 μL for the *in situ* IL-DLLME method with $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$), as shown in Table 1.

For the estimation of the E_F values obtained, a calibration curve of Cu^{2+} was obtained by FAAS (without any DLLME step) by direct aspiration of 50 μL of standard solutions of Cu^{2+} in ultrapure water, with concentrations ranging from 4 to 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. E_F is calculated as the ratio between the slopes obtained by DLLME-FAAS (using $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ or $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$) versus the slope obtained by simple FAAS (see Table 1).

Extraction efficiency (E_R) values were calculated as the ratio between E_F and $E_{F,\text{max}}$, in % (Table 1). The obtained values evidence that the *in situ* IL-DLLME method with $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$ provides higher extraction efficiencies, as it was discussed above when commenting the obtained LODs and the dilution of the final microdroplet. It is also noticeable that obtained E_R values are valid (as long as the rest of the parameters of the method were sufficient for the intended application) because E_R values close to 100% are hardly achieved in any microextraction method [23].

The precision of both methods was evaluated intra-day by quadruplicate at two spiked levels of Cu^{2+} , specifically 60 and 160 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (see Table 1). Both methods present adequate precision, particularly if considering that these values refer to the whole procedure extraction and analytical determination: DLLME-FAAS.

Regarding the overall time required to form the IL micro-droplet containing $\text{Cu-}[\text{DDTC}]_2$ and to separate it from the bulk solution, ~10 min are needed when using $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ whereas higher times (~27 min) are required for $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-NTf}_2$ micro-droplet. In any case, 30 min cannot be considered a tedious procedure.

Thus, considering both aspects: analytical performance and extraction time, the IL $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ was selected in the more conventional IL-DLLME mode to perform further experiments analyzing real samples for this particular application.

In any case, it is important to consider that the IL-based surfactant selected for this work ($\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$) is indeed giving quite similar performance to that obtained with the neat IL $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$. This is despite the huge dilution required to decrease the viscosity of the $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-NTf}_2$ micro-droplet. Clearly, it is needed to carry out more experiments

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

with more IL-based surfactants of different nature. It can be foreseen that those with lower viscosities in the final micro-droplet are going to be more efficient.

The analytical performance of both methods is compared with other methods published for the determination of copper, in terms of experimental conditions, LOD, enrichment factor, relative recovery, reproducibility, and linearity range, being summarized in Table 2. It is remarkable that the majority of preconcentration procedures published need pH control of the sample with a buffer and the dilution of the final microdroplet to reduce its viscosity previous to the analysis. In addition, the LODs, relative recoveries and RSDs reported in this work are totally comparable with other methods. It must be considered that FAAS has been used in this work, and better sensitivities can be undoubtedly obtained if GFAAS is used instead.

3.5. Accuracy, intermediate precision, robustness, and extraction performance of the IL-DLLME-FAAS method with C₄MIm-PF₆

The accuracy of the method was estimated by the analysis of an urban wastewater coming from an inter-laboratory exercise. The analysis was performed by the IL-DLLME method with C₄MIm-PF₆ using the standard addition method. Copper was effectively determined, obtaining a relative recovery (RR) of 102% (ratio of predicted concentration and the agreement concentration of Cu²⁺). It is remarkable the good results achieved with this wastewater sample, despite the complexity of the sample, and the presence of other components in the sample, including chromium, fluoride, nitrate anion, sulfate anion, organic matter, and bioorganic matter.

The robustness of the IL-DLLME method using C₄MIm-PF₆ was evaluated performing overall calibration curves during four non-consecutive days while keeping the FAAS unaltered. The obtained analytical parameters of the calibration curves (slopes, intercepts, standard deviation of the residuals, and determination coefficients) are shown in Table 3. Determination coefficients were always higher than 0.998 and the standard deviation of the residuals of the calibration curves were also very small ($9.8 \cdot 10^{-3}$ in average). A statistical study was carried out to compare the slopes of all regression lines, according to Andrade and Estévez-Pérez [44] (see Table S1 of the Annex Material). Results showed equal variances for all the calibration methods together with absence of differences among the slopes obtained.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Comparison of the developed IL-DLLME methods with other published DLLME methods for metal determination.

Metal/sample (volume)	Complexing agent	Extraction/ Extractant solvent/ Analysis	Extraction conditions	RR% (spiked level, or CM ^a)/ RSD% (spiked level)/ E _F	Linearity range (µg·L ⁻¹)	LOD (µg·L ⁻¹)	Ref.
Cu ²⁺ / tap water and wastewater (10 mL)	DDTC (38.2 µL, 3000 mg·L ⁻¹)	IL-DLLME/ C ₄ MIm-PF ₆ (100 µL)/ FAAS	NaCl adjustment (to 23 g·L ⁻¹), dispersive solvent addition (1 mL acetonitrile), centrifugation, cooling (5 min), <u>dilution</u> (up to 70 µL with acetonitrile)	110 (60 µg·L ⁻¹)/ 8.8 (60 µg·L ⁻¹)/ 54	25–300	3.3	This work
Cu ²⁺ / tap water and wastewater (10 mL)	DDTC (1 mL of 113 mg·L ⁻¹)	<i>in situ</i> IL-DLLME/ C ₁₆ C ₄ Im-Br (25.2 mmol·L ⁻¹ ≥ CMC)/ FAAS	NaCl adjustment (to 23 g·L ⁻¹), dispersive solvent addition (800 µL acetonitrile), ion exchange reagent addition (126 µL of 0.5 g·mL ⁻¹ Li-NTf ₂), vortex (2.5 min), centrifugation, cooling (20 min), <u>dilution</u> (200 µL acetonitrile)	97.5 (60 µg·L ⁻¹)/ 10 (60 µg·L ⁻¹)/ 36	25–300	5.1	This work
Cu ²⁺ / tap water and bottled mineral water	DDTC (0.04%, m/v)	DLLME/ CCl ₄ (0.4 mL)/ FAAS	pH adjustment (pH 10), dispersive solvent addition (0.4 mL methanol), shaking (1 min), centrifugation, <u>dilution</u> (2 mL, 1 mol·L ⁻¹ HNO ₃ in methanol)	107 (15 µg·L ⁻¹ , CM ^a)/ 3.7 (50 µg·L ⁻¹)/ 19	LOQ–300	1.0	[8]
Cu ²⁺ / water and aqueous extract of food (25 mL)	Curcumin (100 µg)	IL-DLLME C ₄ MIm-PF ₆ (8125 µL)/ FAAS	pH adjustment (pH 6), chloroform addition (3.0 mL), vortex, heating (250 °C, 10 min), cooling (15 min), centrifugation, <u>dilution</u> (250 µL, 3 mol·L ⁻¹ HNO ₃)	98–104 (CM ^a)/ 4.1/ 135	-	0.19	[35]

Aplicaciones basadas en el uso de surfactantes basados en líquidos iónicos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 2. (continued) Comparison of the developed IL-DLLME methods with other published DLLME methods for metal determination.

Metal/ sample (volume)	Complexing agent	Extraction/ Extractant solvent/ Analysis	Extraction conditions	RR% (spiked level, or CM ^a)/ RSD% (spiked level)/ E _F	Linearity range (µg·L ⁻¹)	LOD (µg·L ⁻¹)	Ref.
Cu ²⁺ / aqueous extract of soil and sediment samples (10 mL)	DDTC (100 µL, 0.11 g·L ⁻¹) ¹	<i>in situ</i> IL-DLLME/ C ₆ MIm-Cl (2 mg·mL ⁻¹ ≤ CMC)/ GFAAS	pH adjustment (pH 7), ion exchange reagent addition (100 µL of 0.2 g·L ⁻¹ Li-NTf ₂), equilibration (5 min), centrifugation, dilution (50 µL ethanol)	95–103 (CM ^a)/ 5–7 (CM ^a)/ -	20–150	1.8	[13]
Cu ²⁺ / aqueous extract of sediment and water (10 mL)	DDTC (100 µL, 5 mmol·L ⁻¹) ¹	<i>in situ</i> IL-DLLME/ C ₆ MIm-Cl (2 mg·mL ⁻¹ ≤ CMC)/ GFAAS	pH adjustment (pH 7), ion exchange reagent addition (10 mg Li-NTf ₂), equilibration (5 min), centrifugation, dilution (40 µL ethanol)	10–107 (CM ^a)/ 4 (0.7 µg·L ⁻¹)/ 200	LOQ–200	0.004	[37]
Pd ²⁺ / sea water, tea, aqueous biological samples and food additives (10 mL)	TMK ^b (5.2×10 ⁻⁶ mol·L ⁻¹)	<i>in situ</i> IL-DLLME C ₆ MIm-BF ₄ (60 mg·µL ⁻¹ ≥ CMC)/ UV-Vis (530 nm)	pH adjustment (pH 4), heating (50 °C, 4 min), ion exchange reagent addition (1.2 mL, 120 mg·mL ⁻¹ NaPF ₆), cooling (10 min), centrifugation, dilution (100 µL ethanol)	/ 1.7 (40 µg·L ⁻¹)/ 97	-	0.2	[39]

^a certified material^b michler thioiketone

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 3. Differences among overall calibration curves obtained by the IL-DLLME-FAAS method using C₄MIm-PF₆.

Calibration curve ^a	Slope \pm error ^b	Intercept \pm error ^b	S _{y/x} ^c	R ² ^d
1	2.0 \pm 0.1	-0.01 \pm 0.02	0.011	0.998
2	2.1 \pm 0.1	-0.01 \pm 0.01	0.009	0.999
3	1.97 \pm 0.08	-0.01 \pm 0.01	0.009	0.998
4	2.0 \pm 0.1	0.004 \pm 0.021	0.009	0.999

^a working range: 25 – 300 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^b errors in the determination of the slope and the intercept, respectively, calculated as “ $t_{n-2} \times \text{SD}$ ”, being t_{n-2} the Student’s t for “ $n - 2$ ” degrees of freedom and a significance level of 0.05, and SD the standard deviation of slope and intercept^c standard deviation of the residuals^d determination coefficient

The intermediate precision of the method was evaluated via inter-day experiments ($n = 8$, in two non-consecutive days) and at two different spiked levels of Cu²⁺ in ultrapure water (60 and 160 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Results are shown in Table 4. Inter-day reproducibility was valid for both spiked levels.

The extraction performance of the method was evaluated with the same experiments, and expressed as relative recovery (RR, in %). RR values were calculated as the ratio of the predicted concentration obtained from the calibration curve of the overall method and the initial spiked concentration of Cu²⁺. The obtained results were satisfactory for both spiked levels, as it is shown in Table 4.

Table 4. Intra-day and inter-day precision values, together with relative recovery values, for the IL-DLLME-FAAS method using C₄MIm-PF₆.

Analytical parameter	Spiked level of Cu ²⁺ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in ultrapure water	
	60	160
RSD Intra-day (day 1, in %) ^a	13	8.8
RSD Intra-day (day 2, in %) ^a	8.8	4.7
RSD Inter-day (%) ^b	21	7.4
RR (%) ^c	110	105

^a relative standard deviation, for $n = 4$ (intra-day)^b relative standard deviation, for $n = 8$ (inter-day, two non-consecutive days)^c relative recovery

3.6. Analysis of real samples with the optimized IL-DLLME-FAAS method with C₄MIm-PF₆

Two types of water samples were analyzed: tap water and wastewater. Tap water samples were taken at our laboratories (La Laguna, Tenerife, Spain). NaCl was added to these samples to reach a content of 23 g·L⁻¹, and then subjected to the overall optimized IL-DLLME-FAAS method with C₄MIm-PF₆ for determining Cu²⁺. Tap water was analyzed and shown to be free of Cu²⁺, and used to evaluate the matrix effect. Thus, reproducibility and extraction efficiency studies were carried out by quadruplicate with spiked tap waters at two levels: 40 and 160 µg·L⁻¹. RR values were 80.7 and 77.0% for the low and high spiked level, respectively, whereas a RSD value of 11.5% was achieved at both levels. These results are quite similar to those obtained with ultrapure water (see Section 3.5), and so tap waters can be considered as free from matrix effect.

Regarding wastewaters, two different samples were analyzed. It was not necessary to adjust the NaCl concentration due to the salty content of the samples. However, a filtration step was required previous to the analytical determination to eliminate suspended particles. Cu²⁺ was quantified in both samples, with contents of 394 ± 26 µg·L⁻¹ (discharge point 1, m = 3) and 33 ± 9 µg·L⁻¹ (discharge point 2, m = 3); with the errors calculated as $(t_{n+m-2} \times SD) / (m)^{1/2}$. In the above mentioned expression, “t_{n+m-2}” is the Student’s t for “n+m-2” degrees of freedom and a significance level of 0.05; SD is the standard deviation in the determination considering the mathematical propagation of errors; m is the number of replicates; and n is the number of calibration levels of the calibration plot used in the quantitation. Clearly, the method was adequate for Cu²⁺ determination in these complex samples.

3.7. Study of foreign ions for the IL-DLLME-FAAS method with C₄MIm-PF₆

The developed methods were based on the use of Na-DDTC as complexing agent for Cu²⁺. However, this reagent can also react with other metal ions present in the sample. Thus, the impact of foreign ions commonly found in natural water was studied in presence of copper. Experiments were carried out spiking 100 mg·L⁻¹ of each foreign ion (Ca²⁺, Cd²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Pb²⁺ or Zn²⁺) and 50 µg·L⁻¹ of Cu²⁺ in ultrapure water, and performing the IL-DLLME procedure with C₄MIm-PF₆. The recovery is calculated as the ratio of absorbance of each experiment in presence of the foreign ion + Cu²⁺, and the

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

corresponding experiment performed only with Cu^{2+} . The obtained recoveries of copper were 107% when adding Pb^{2+} , 99.6% when adding Fe^{3+} , 93.9% when adding Zn^{2+} , 91.7% when adding Cd^{2+} , 88.5% when adding Ca^{2+} , and 83.6% when adding Cr^{3+} .

A foreign ion is considered as interference when its presence produces a variation in the absorbance of the final micro-droplet of more than 5% (recoveries between 95 and 105%). However, if the RSD of the method is also considered (see Table 4), recoveries ranging from 86.2 to 114% will point out absence of interferences of the foreign ions studied herewith. With this consideration, the determination of copper can be performed in the presence of the foreign ions studied even if their concentrations are 2000 times higher than the copper concentration, with the exception of Cr^{3+} .

4. Conclusions

This work compares for first time the performance of two DLLME-FAAS methods for the determination of copper in water samples using one IL, specifically $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$, and one IL-based surfactant, specifically $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$. Both methods: DLLME-FAAS with $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ in its most conventional mode and *in situ* DLLME-FAAS with $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$ (and Li-NTf_2 as metathesis reagent) were properly optimized and validated.

The developed methods were adequate in terms of sensitivity to reach water guideline values, being the LODs of $3.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$ and $5.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$; precise, with RSD values lower than 8.8% for $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$, and 10% for $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$; and with high enrichment factors. The proposed methods did not require the use of a buffer when analyzing environmental waters, due to common water pH values (pH 4–6). Both methods were also valid for complex wastewater samples, and they were also fast, requiring an extraction time of ~10 min for the DLLME-FAAS with $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$, and less than 30 min for *in situ* DLLME-FAAS with $\text{C}_{16}\text{C}_4\text{Im-Br}$.

For the ILs studied in this work, the neat IL demonstrated superior performance for Cu^{2+} determination in environmental waters, because it did not require a significant dilution in the final step prior to FAAS to decrease its viscosity. However, given the similar performance of both ILs despite the important dilution suffered by the IL-based

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

surfactant, it is foreseen that other IL-based can perform better than neat ILs, particularly if GFAAS is utilized.

Ongoing work is being undertaken in our group to select IL-based surfactants with better characteristics of an IL-DLLME-FAAS method, mainly, presenting lower viscosity of the final micro-droplet. Furthermore, it would be really interesting to develop IL-based surfactant with chelating properties, and so the IL can act as both extractant solvent and complex agent of the metal.

Acknowledgements

V.P. thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for the Ramón y Cajal contract with the University of La Laguna (ULL). V.P. also thanks MINECO projects ref. MAT2013-43101-R and MAT2014-57465-R. J.F.A.-C. thanks the Spanish Ministry of Education (MEC) for his collaboration fellowship. M.J.T.-R. acknowledges MINECO project ref. MAT2013-43101-R for a contract within her PhD.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] H. Wang, Z.J. Ren, *Water Res.* 66 (2014) 219–232.
- [2] X. Jia, Y. Han, X. Liu, T. Duan, H. Chen, *Microchim. Acta* 171 (2010) 49–56.
- [3] G.L. Fischer, *Sci. Total Environ.* 4 (1975) 373–412.
- [4] G. Pethes, *Element Analysis of Biological Materials*, IAEA, Vienna, 1980, p. 3.
- [5] National Research Council, *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*, National Academy Press, Washington, D.C., 2001, pp. 224–257.
- [6] United States Environmental Protection Agency (US-EPA), National primary drinking water regulations, List of contaminants and their maximum contaminant levels, US-EPA, 2014. Accessed April 2017 <<http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#one>>.
- [7] World Health Organization (WHO), Copper in drinking-water, Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality, World Health Organization, 2004, reference: WHO/SDE/WSH/03.04/88. Accessed April 2017 <http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/copper/en/>.
- [8] X. Wen, M. Fan, D. Yang, M. Li, C. Li, Y. Zhang, *Anal. Methods* 5 (2013) 6030–6036.
- [9] L. Xia, Y. Wu, B. Hu, *J. Mass Spectrom.* 42 (2007) 803–810.
- [10] N.S. La Colla, C.E. Domini, J.E. Marcovecchio, S.E. Botté, *J. Environ. Manage.* 151 (2015) 44–55.
- [11] Y. Yamini, M. Faraji, S. Shariati, R. Hassani, M. Ghambarian, *Anal. Chim. Acta* 612 (2008) 144–151.
- [12] X. Wen, Q. Deng, J. Guo, *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* 79 (2011) 1941–1945.
- [13] E. Stanisz, A. Zgoła-Grześkowiak, H. Matusiewicz, *Talanta* 129 (2014) 254–262.
- [14] S. Yang, X. Fang, L. Duan, S. Yang, Z. Lei, X. Wen, *Spectroc. Acta Pt. A-Molec. Biomolec. Spectr.* 148 (2015) 72–77.
- [15] S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, *Trends Anal. Chem.* 71 (2015) 2–8.
- [16] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, *Trends Anal. Chem.* 50 (2013) 78–84.
- [17] M.S. El-Shahawi, H.M. Al-Saidi, *Trends Anal. Chem.* 44 (2013) 12–24.
- [18] E. Stanisz, J. Werner, A. Zgoła-Grześkowiak, *Trends Anal. Chem.* 61 (2014) 54–66.
- [19] H. Yan, H. Wang, *J. Chromatogr. A* 1295 (2013) 1–15.
- [20] M.-I. Leong, M.-R. Fuh, S.-D. Huang, *J. Chromatogr. A* 1335 (2014) 2–14.
- [21] K. Kocot, B. Zawisza, R. Sitko, *Spectroc. Acta Pt. B-Atom. Spectr.* 73 (2012) 79–83.
- [22] H. Sereshti, V. Khojeh, S. Samadi, *Talanta* 83 (2011) 885–890.

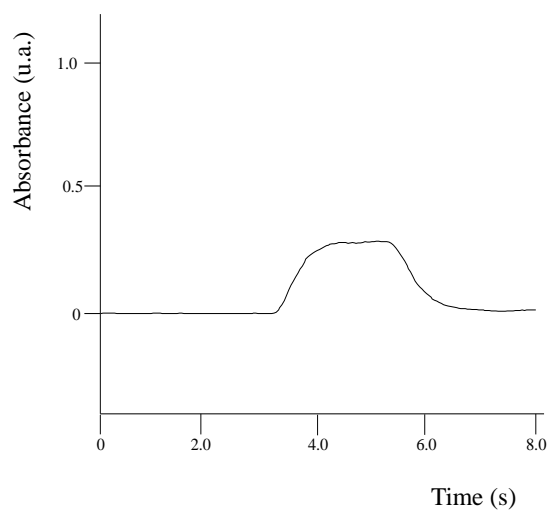
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [23] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. Rocío-Bautista, V. Pino, A.M. Afonso, *Trends Anal. Chem.* 51 (2013) 87–106.
- [24] R.D. Rogers, K.R. Seddon, *Science* 302 (2003) 792–793.
- [25] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 86 (2014) 262–285.
- [26] J.H. Davis, *Chem. Lett.* 33 (2004) 1072–1077.
- [27] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, *Sep. Sci. Technol.* 47 (2012) 264–276.
- [28] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. González-Hernández, V. Pino, *Analytical applications of ionic liquid-based surfactants in separation science*, in: K.P. Bidyut, S.P. Moulik (Eds.), *Ionic liquid-based surfactant science: formulation, characterization and applications*, John Wiley & Sons, 2015.
- [29] B. Delgado, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, V. González, *Talanta* 99 (2012) 972–983.
- [30] W. Bi, M. Tian, K.H. Row, *Talanta* 85 (2011) 701–706.
- [31] M. Germán-Hernández, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, *J. Chromatogr. A* 1227 (2012) 29–37.
- [32] R. Khani, F. Shemirani, B. Majidi, *Desalination* 266 (2011) 238–243.
- [33] M. Rajabi, S. Asemipour, B. Barfi, M.R. Jamali, M. Behzad, *J. Mol. Liq.* 194 (2014) 166–171.
- [34] N. Jalbani, M. Soylak, *Food Chem.* 167 (2015) 433–437.
- [35] Z. Al Othman, Y.E. Unsal, M. Habila, A. Shabaka, M. Tuzen, M. Soylak, *Anal. Lett.*, 48 (2015) 1738–1750.
- [36] Be. Barfi, M. Rajabi, M.M. Zadeh, M. Ghaedi, M. Salavati-Niasari, R. Sahraei, *Microchim. Acta* 182 (2015) 1187–1196.
- [37] L. Ranjbar, Y. Yamini, A. Saleh, S. Seidi, M. Faraji, *Microchim. Acta* 177 (2012) 119–127.
- [38] M. Blesic, M.H. Marques, N.V. Plechkova, K.R. Seddon, L.P.N. Rebelo, A. Lopes, *Green Chem.* 9 (2007) 481–490.
- [39] M. Vaezzadeh, F. Shemirani, B. Majidi, *Food Chem. Toxicol.* 48 (2010) 1455–1460.
- [40] C. Yao, J.L. Anderson, *Anal. Bioanal. Chem.* 395 (2009) 1491–1502.
- [41] M. Baghadi, F. Shemirani, *Anal. Chim. Acta* 634 (2009) 186–191.
- [42] T.D. Ho, W.T.S. Cole, F. Augusto, J.L. Anderson, *J. Chromatogr. A* 1298 (2013) 146–151.
- [43] Y. Gao, P. Wu, W. Li, Y. Xuan, X. Hou, *Talanta* 81 (2010) 586–590.
- [44] J.M. Andrade, M.G. Estévez-Pérez, *Anal. Chim. Acta* 838 (2014) 1–12.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Figure S1. An example of the Cu^{2+} absorbance *versus* the signal registration time after FAAS aspiration of the micro-droplet containing Cu^{2+} .



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

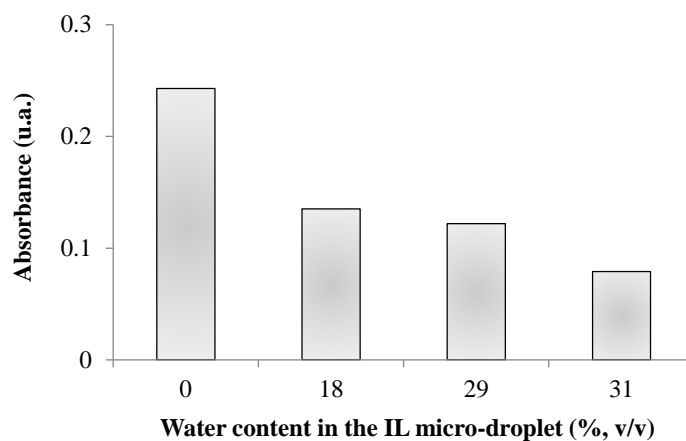
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. Influence of the water content of the IL micro-droplet in the signal when performing IL-DLLME-FAAS experiments with C₄MIm-PF₆.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

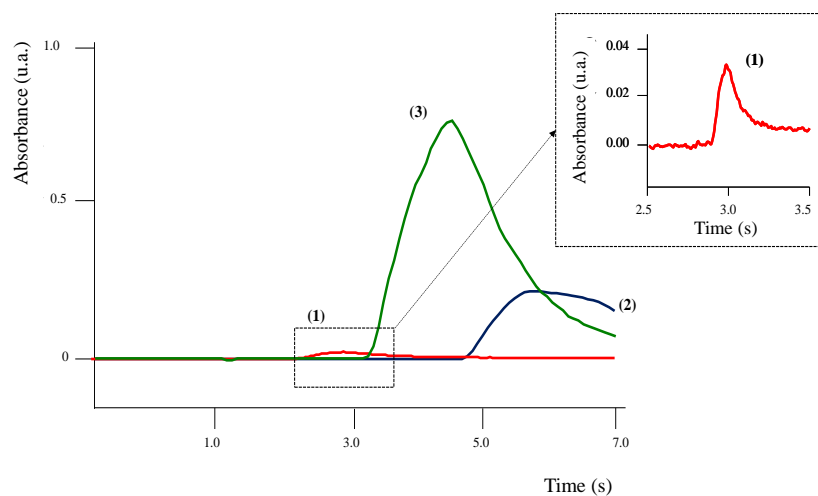
ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S3. Signals obtained when diluting the final IL micro-droplet of C₄MIm-PF₆ with different solvents: (1) ethanol, (2) acetone, and (3) acetonitrile, in the IL-DLLME-FAAS method. Remaining conditions of the method as described in the text. The different timings are due to manual aspiration.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Capítulo VI

Aplicaciones basadas en el uso de líquidos iónicos magnéticos

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Los líquidos iónicos magnéticos (MILs) se caracterizan por presentar una fuerte magnetización cuando se les aplica un campo magnético externo, fruto de incorporar un componente de naturaleza paramagnético en el catión o anión que constituye su estructura. A ello se une una gran variedad de propiedades físico-químicas interesantes debido a su carácter de líquido iónico (IL). Estas interesantes propiedades han contribuido a que el uso de los MILs haya estado en constante crecimiento desde su introducción en 2001.

En la actualidad, los MILs se han empleado con diversos fines en el área de la Química, Ingeniería, Electroquímica y Medicina. Así, se ha descrito el empleo de MILs como medios de reacción. En estos casos, se aprovecha el hecho de que los MILs poseen una elevada capacidad para solvatar especies de distinta naturaleza (incluyendo compuestos inorgánicos, orgánicos u organometálicos), de manera que pueden emplearse como sustitutos de disolventes polares apróticos. Además, en determinadas aplicaciones se ha comprobado que los MILs pueden actuar como catalizadores, acelerando reacciones de Friedel-Crafts para la acilación de compuestos aromáticos, o en la síntesis de 1,2-azidoalcoholes, entre otras aplicaciones.

Paralelamente, los MILs se han empleado para el control de la morfología de polímeros conductores nanoestructurados o microestructurados como la polianilina, polipirrol, politiofeno y sus derivados.

En el área de la Electroquímica y la Medicina, se ha estudiado el uso de MILs como nuevos materiales electrocrómicos, aprovechando las propiedades fotofísicas, ópticas y catalíticas únicas del componente metálico del MIL. Así, se han empleado para la fabricación de dispositivos electrónicos como pantallas informativas, o en espejos retrovisores con anti-deslumbramiento en automóviles. En el área médica, se ha utilizado MILs con bajo contraste de color como reactivo de contraste en sistemas de resonancia magnética, aunque su aplicación está limitada en base a la toxicidad del MIL.

En Química Analítica, el número de aplicaciones que describen el empleo de MILs es más pequeño si se compara con otros derivados de los líquidos iónicos (ILs).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Hasta la fecha, se han usado MILs anclados en membranas para la absorción de gases, incluyendo CO₂, N₂ o emisiones de benzeno. En cromatografía, se han diseñado fases estacionarias basadas en MILs para cromatografía de gases (GC). Las columnas desarrolladas han resultado eficaces para la separación de mezclas complejas en cromatografía de gases bidimensional (GC × GC). Del mismo modo, los MILs se han empleado como fases extractantes para técnicas de extracción y preconcentración. El empleo de los MILs en estos casos facilita el procedimiento de extracción/preconcentración en el sentido de que la separación del MIL conteniendo los analitos extraídos puede realizarse con ayuda de un imán. Así, las técnicas de filtración y centrifugación dejan de ser necesarias. En extracción líquido-líquido (LLE), se han empleado MILs en el análisis de muestras acuosas y no acuosas. En algunos de estos casos, los MILs cumplen dos funciones, actuando como catalizadores y como materiales de extracción. En microextracción en fase líquida (LPME), los MILs se han empleado en las modalidades de microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) y en microextracción en gota suspendida (SDME). Recientemente, se ha descrito el desarrollo fases extractantes basadas en nanofibras funcionalizadas con MILs para extracción en fase sólida miniaturizada (μ -SPE).

Dado el elevado potencial de los MILs y relativo bajo número de aplicaciones que describen su uso en microextracción, el objetivo principal de las aplicaciones analíticas desarrolladas en esta Tesis Doctoral y descritas en este capítulo ha sido el de diseñar novedosas metodologías basadas en MILs para el análisis de muestras de interés medioambiental y agroalimentario. En concreto, en las próximas secciones se describe el empleo de MILs como disolventes extractantes en DLLME con separación magnética y en SDME en espacio en cabeza en condiciones de vacío (*vacuum* HS-SDME).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section VI.1

Magnetic ionic liquids as non-conventional extraction solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons

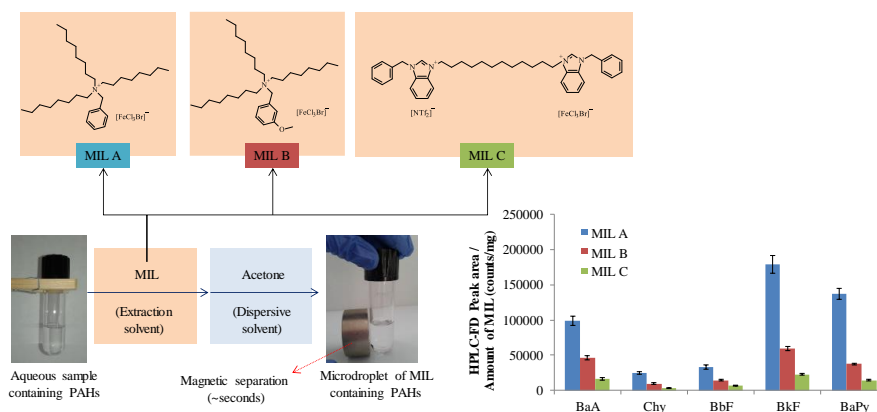
Analytica Chimica Acta 934 (2016) 106–113

María J. Trujillo-Rodríguez¹, Omprakash Nacham², Kevin D. Clark², Verónica Pino^{*1}, Jared L. Anderson^{*2}, Juan H. Ayala¹, Ana M. Afonso¹

¹Departamento de Química (Área de Química Analítica), Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

²Department of Chemistry, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

This work describes the applicability of magnetic ionic liquids (MILs) in the analytical determination of a group of heavy polycyclic aromatic hydrocarbons. Three different MILs, namely, benzyltrioctylammonium bromotrichloroferrate (III) (MIL A), methoxybenzyltrioctylammonium bromotrichloroferrate (III) (MIL B), and 1,12-di(3-benzylbenzimidazolium) dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide bromotrichloroferrate (III) (MIL C), were designed to exhibit hydrophobic properties, and their performance examined in a microextraction method for hydrophobic analytes. The magnet-assisted approach with these MILs was performed in combination with high performance liquid chromatography and fluorescence detection. The study of the extraction performance showed that MIL A was the most suitable solvent for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and under optimum conditions the fast extraction step required ~20 µL of MIL A for 10 mL of aqueous sample, 24 mmol·L⁻¹ NaOH, high ionic strength content of NaCl (25% (w/v)), 500 µL of acetone as dispersive solvent, and 5 min of vortex. The desorption step required the aid of an external magnetic field with a strong NdFeB magnet (the separation requires few seconds), two back-extraction steps for polycyclic aromatic hydrocarbons retained in the MIL droplet with n-hexane, evaporation and reconstitution with acetonitrile. The overall method presented limits of detection down to 20 ng·L⁻¹, relative recoveries ranging from 91.5 to 119%, and inter-day reproducibility values (expressed as relative standard derivation) lower than 16.4% for a spiked level of 0.4 µg·L⁻¹ (n = 9). The method was also applied for the analysis of real samples, including tap water, wastewater, and tea infusion.

Keywords

ionic liquids, magnetic ionic liquids, magnetic-assisted microextraction, polycyclic aromatic hydrocarbons, high-performance liquid chromatography

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

Trends in sample preparation are focused on the development of non-conventional solvents as well as novel solid materials in extraction and preconcentration schemes to improve limitations and toxicity issues of current organic solvents and common sorbents [1-4]. Within non-conventional solvents, ionic liquids (ILs) have been widely studied in recent years due to their interesting structures and unusual properties [5]. These non-molecular solvents exhibit melting points below 100 °C, low to negligible vapor pressure at room temperature, high chemical stability as well as wide electrochemical windows. They have been also pointed out as green solvents because select classes of ILs do not generate volatile organic compounds and are hydrolytically stable [6,7]. Their structures can be easily modified by changing the nature of the cation/s and/or anion/s of the IL, or by incorporating different functional groups to the cationic/anionic moieties [8,9]. This simple structural versatility is accompanied by important modification of their properties, from low to high viscosity, moderate to high conductivity, and miscibility in water or in organic solvents, among others [10].

Several derivatives of ILs have been also designed with the purpose of combining some of their unique properties with those derived from other types of materials. Thereby, polymeric ionic liquids (PILs) combine the inherent properties of polymers as well as IL character [11,12], while IL-based surfactants offer the possibility to form a micellar media when dissolved in an aqueous media at a certain concentration [13,14]. Following this idea, magnetic ionic liquids (MILs) exhibit paramagnetic behavior under the application of an external magnetic field [15], and can be designed to incorporate paramagnetic metal anions or metal complexes. Tetrachloroferrate (III) ($[\text{FeCl}_4]^-$) and tetrabromoferrate (III) ($[\text{FeBr}_4]^-$)-based MILs are among those that are more commonly studied [15]. In recent years, other MILs containing anions based on Fe (III) [16,17], Co (II) [17], Mn (II) [17,18] and lanthanide [17,19] complexes have also been reported.

Magnet-based separations constitute a quite interesting and evolving advancement in sample preparation [20]. These methods utilize an extractant material with magnetic properties. Analytes are enriched in the material, which can be further separated from the remaining components of the sample with the aid of a strong magnet [21,22]. Analytes are finally eluted from the material and subjected to quantification. Thus, the overall method is quite simple because it does not require centrifugation or filtration to separate the magnetic material from the sample once extraction has been accomplished. ILs

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

[23,24] and IL-based surfactants [25-27] have been described as extractants presenting a magnetic core (normally magnetite: $\alpha\text{-Fe}_3\text{O}_4$) in a number of magnet-based extraction approaches. Bare Fe_3O_4 MNPs tend to aggregate, they easily oxidize in air, or they experience biodegradation, and thus coatings are required in an attempt to increase their stability [20]. Applications using Fe_3O_4 @ILs (or @IL-based surfactants) require more than one synthetic step (that of the IL and that of the Fe_3O_4 magnetic nanoparticles, MNPs); and in some cases the whole extraction efficiency of the hybrid material is lower than that of the neat IL (or IL-based surfactant). In some approaches, dispersive solvents or agitation may be needed to disperse the extraction phase and improve the mass transfer of the analytes to the micro-amounts of material [20].

MILs have been utilized as extraction solvents for the preconcentration of DNA from a cell lysate [28]. They have also been shown to be highly compatible with the polymerase chain reaction thereby permitting high throughput DNA amplification from template DNA enriched in the MIL microdroplet [29]. MILs have been also used for the removal of certain compounds [17,30-34]. In these cases, there was no elution of the trapped analytes from the MIL prior to downstream analysis. In fact, there are few studies in the literature that exploit the use of neat MILs (paramagnetic MILs that do not combine ILs with $\alpha\text{-Fe}_3\text{O}_4$) in analytical microextraction approaches involving further determination of analytes [35-37]. Two of these studies required the addition of carbonyl iron powder to the MIL because the paramagnetism of the tested MILs (1-hexyl-3-methylimidazolium $[\text{FeCl}_4]$ [35] and 1-butyl-3-methylimidazolium- $[\text{FeCl}_4]$ [36]) was not sufficient to enable the magnetic separation under the application of an external magnetic field. The remaining report was applied to the determination of polar analytes (phenols) using methyltrioctylammonium $[\text{FeCl}_4]$ [37].

A main challenge encountered when working with MILs in microextraction approaches is the need to minimize water solubility of the MIL. This can largely be achieved by incorporating nonpolar moieties into the cation and/or using non-coordinating anions. The main aim of this work is the development of a MIL-based analytical microextraction approach devoted to the determination of hydrophobic analytes because so far the unique analytical determination study for small molecules with neat MILs has been devoted to the determination of polar compounds (phenols) [37]; and the majority of studies with MILs do not imply the further analytical determination of target compounds [17,30-34]. A group of five heavy polycyclic aromatic hydrocarbons

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(PAHs) was selected as test analytes, as model hydrophobic compounds widely determined using ILs or any other novel material [38-41]. The method was combined with high performance liquid chromatography and fluorescence detection (HPLC-FD) for the determination of these compounds within various aqueous samples.

2. Experimental

2.1. Chemicals, reagents, materials, and samples

Benzo(a)anthracene (BaA, $\geq 99.0\%$), chrysene (Chy, $\geq 99.0\%$), and benzo(a)pyrene (BaPy, $\geq 99.0\%$) were supplied by Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Benzo(b)fluoranthene (BbF, $\geq 99.0\%$) was purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA) whereas benzo(k)fluoranthene (BkF, $\geq 99.0\%$) was purchased from Fluka (St Louis, MO, USA). Ultrapure water ($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Watford, UK).

All PAHs were individually dissolved in acetonitrile ($\geq 99.9\%$), supplied by VWR International Eurolab S.L. (Barcelona, Spain) at a concentration of $1200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for BaA, $760 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for Chy, and $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for the remaining PAHs. Three intermediate solutions of all PAHs at $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, in acetonitrile, were prepared by dilution of the individual standards. All experiments were carried out by dilution of the intermediate solutions, or by spiking water with these intermediate solutions.

Calibration curves of the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method were carried out preparing standards of PAHs in ultrapure water, at concentrations between 0.05 and $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

The extraction method requires the use of NaOH ($\geq 98\%$), NaCl ($\geq 99.5\%$), acetone ($\geq 99.9\%$), n-hexane ($>97\%$), and acetonitrile ($\geq 99\%$), which were supplied by Sigma-Aldrich. Other reagents utilized during optimization of the method include chloroform ($\geq 99.5\%$), and dichloromethane (99.8%), obtained from Sigma-Aldrich, and the IL-based surfactants 1-hexadecyl-3-methylimidazolium bromide ($[\text{C}_{16}\text{MIm}] [\text{Br}]$), with a critical micelle concentration (CMC) value of $0.7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in pure water) and 1,3-

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

didodecylimidazolium bromide ($[C_{12}C_{12}Im] [Br]$, CMC = $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ in pure water). Both ILs were synthesized and fully characterized as previously reported [42].

Three different MILs were utilized in the analytical microextraction approach. These include two monocationic MILs, benzyltrioctylammonium bromotrichloroferrate (III) ($[N_{8,8,8,B}] [FeCl_3Br]$ denoted as MIL A) and methoxybenzyltrioctylammonium bromotrichloroferrate (III) ($[N_{8,8,8,MOB}] [FeCl_3Br]$ denoted as MIL B), and a dicationic MIL, 1,12-di(3-benzylbenzimidazolium)dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide bromotrichloroferrate (III) ($[(BBnIm)_2C_{12}] [NTf_2][FeCl_3Br]$ denoted as MIL C). These MILs were synthesized and characterized according to a recent report by Nacham *et al.* [16]. Table 1 shows their chemical structures together with some of their properties. Figure S1 of the Annex Material includes their 1H NMR and ^{13}C NMR spectra.

$0.22 \mu\text{m}$ polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane filters (Whatman, Freiburg, Germany) were used before HPLC injection, while all aqueous samples were filtered through $0.45 \mu\text{m}$ PVDF Durapore membrane filters (Millipore, Darmstadt, Germany) before analysis.

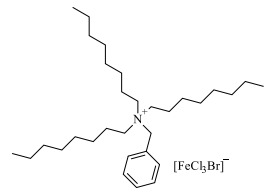
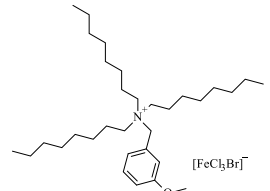
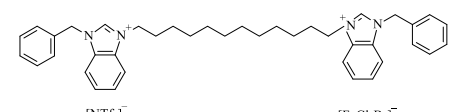
Aqueous samples include tap water taken in the laboratory, wastewater collected from a wastewater treatment plant (WWTP) located in Tenerife (Spain), and a tea infusion of wild fruits tea bag bought in a local supermarket. Wastewater was subjected to 5 min of sonication and stored in an amber glass bottle at $4 \text{ }^\circ\text{C}$ until analysis. Tea infusion was prepared to mimic common preparation of tea [43]: a tea bag was placed in a glass vessel containing 200 mL of previously boiled mineral water (acquired in a local supermarket) and kept at room temperature for 10 min.

2.2. Instrumentation

All MIL-based microextraction experiments were carried out in Pyrex® glass tubes of 25 mL (Staffordshire, United Kingdom). A cylindrical NdFeB magnet (5.08 cm diameter \times 5.08 cm thickness; $B = 0.9 \text{ T}$) was purchased from K&J Magnetics (Pipersville, PA, USA). Vortex was applied with a Reax-Control Heidolph GMBH (Schwabach, Germany). An ultrasonic bath KM (Shenzhen Codyson Electrical Co., Ltd., Shenzhen, China) was also employed. The evaporation step was performed in a Visiprep TM vacuum system of Supelco.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 1. Chemical structures and properties of the three MILs studied [16].

MIL	Chemical formula	MW (g·mol ⁻¹)	Thermal stability (° C)	μ_{eff}^a (μB)	Structure
MIL A	[N _{8,8,8,B}][FeCl ₃ Br]	689.9	258	5.26	
MIL B	[N _{8,8,8,MOB}][FeCl ₃ Br]	716.9	203	5.60	
MIL C	[(BBnIm) ₂ C ₁₂][NTf ₂][FeCl ₃ Br]	1107.1	314	5.45	

^a effective magnetic moment, measured at 295 K

Aplicaciones basadas en el uso de líquidos iónicos magnéticos

485

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Separation and detection of the PAHs were carried out in a HPLC system equipped with a solvent delivery Varian ProStar 230 SDM module (Palo Alto, CA, USA) and a Rheodyne 7725i injection valve obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA) with a 5 μ L loop. A fluorescence detection system (FD) Waters 474 (Waters, Milford, MA, USA) was used and connected through a Varian Star 800 module interface to the HPLC. The separation was achieved using a SUPELCOSIL™ LC-PAH column (25 cm \times 2.1 mm I.D. \times 5 μ m particle size) supplied by Supelco and protected by a Pelliguard LC-18 guard column purchased from Supelco. The temperature of the column was controlled in the thermostat of a Varian ProStar 410 autosampler. LC workstation software (version 6.41) from Varian was used for data acquisition.

2.3. Procedures

2.3.1. HPLC-FD

The HPLC separation was achieved using a binary mobile phase of acetonitrile:water at a constant flow rate of 0.5 mL·min⁻¹, and the following linear elution gradient: 3 min with 75% of acetonitrile (v/v), then up to 100% of acetonitrile (v/v) in 17 min, and finally kept for 5 min. The analytical column was maintained at a constant temperature of 30 °C.

Fluorescence detection required the use of excitation and emission splits of 18 nm and the following wavelength program: initially, 248/370 (nm) (excitation wavelength/emission wavelength: $\lambda_{ex}/\lambda_{em}$) with a gain of 10, a change to 273/384 (nm) and to a gain of 100 at a chromatographic time of 6.5 min, following by a change to 254/451 (nm) at 9.9 min, then change to 288/406 (nm) at 12.3 min, and finally changed to 248/370 (nm) and to a gain of 10 at 16.3 min. Figure S2(A) of the Annex Material shows a representative chromatogram of the PAHs (obtained without any preconcentration step, only HPLC-FD). PAHs eluted at the retention times reported in Table S1 of the Annex Material, with RSD values lower than 1.2%.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.3.2. MIL-based microextraction method

The MIL-based microextraction method under optimum conditions required 10 mL of the aqueous sample involving ultrapure water, tap water, wastewater, or tea infusion (with or without spiking PAHs, depending on the experiment). The NaCl content was adjusted to 25% (w/v), and 0.5 mL of NaOH 0.5 mol·L⁻¹ was added (final content in the extraction tube: 24 mmol·L⁻¹). The optimum extraction step required ~20 µL of MIL A (as extraction solvent) and 500 µL of acetone (as dispersive solvent), which were sequentially added to the tube containing the aqueous sample, followed by 5 min of vortex to ensure proper dispersion of the MIL. Then, the cylindrical magnet was placed at one side of the extraction tube. The MIL was immediately attracted to the magnet and retained on the wall of the tube, allowing easy removal of the supernatant using a pipette. Once PAHs were enriched in the MIL droplet already separated from the remaining aqueous sample, the optimum back-extraction required 500 µL of n-hexane, 1 min of vortex, and separation of the eluent with a pipette and the aid of the magnet. This procedure was repeated twice. The total volume of eluent (~1 mL) was evaporated to dryness using a stream of air (~10 min). The residue was diluted up to 300 µL with acetonitrile, and then filtered through 0.2 µm PVDF membrane filters. Finally, a volume of 5 µL was injected in the HPLC-FD system. The overall procedure under optimum condition is summarized in Figure 1.

All variables were properly studied in order to achieve the optimum conditions. Each optimization experiment was repeated in triplicate (n = 3).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

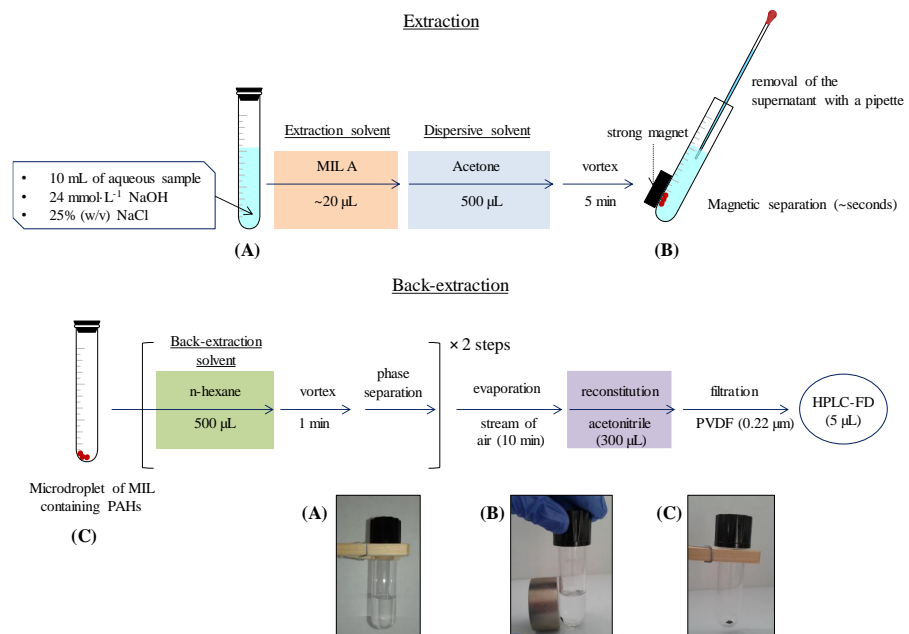


Figure 1. Scheme of the overall MIL-based microextraction method-HPLC-FD performed under optimum conditions.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

3. Results and discussion

3.1. Use of MILs in the microextraction method for determining PAHs

3.1.1. Previous considerations of the MIL-based microextraction method

A group of three different MILs, described in Section 2.1, were examined as candidates for the magnet-based microextraction of PAHs. As previously discussed, the intrinsic hydrophobicity and high viscosity of the MILs studied exert an important influence in the method development.

Given the hydrophobicity of the MILs, it was challenging to homogeneously disperse the neat MIL into the aqueous solution by using stirring media (e.g., sonication, vortex, or manual stirring) or by incorporating any dispersive solvent. Furthermore, once dispersed, MILs easily stick on the walls of the tube making the recovery and back-extraction complicated. It was observed that the addition of sodium hydroxide before introduction of the MIL was beneficial for MIL dispersion (helping in the formation of multiple microdroplets) and subsequent recovery. A concentrated NaOH solution (spiked volume: 0.5 mL) was added to the aqueous sample. Two concentration levels of NaOH, $4.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ and $24 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, were tested in the final aqueous solution. Figure S3 of the Annex Material shows that similar extraction efficiencies (expressed as peak area of the PAHs) were obtained with both NaOH concentration values, even slightly higher for the lower NaOH content for BaA and BkF. However, the reproducibility was worse at lower values, and therefore the highest concentration of NaOH ($24 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) was selected as the optimum condition and was used in the rest of the study.

Finally, it is important to evaluate the influence of the ionic strength in the MIL-based microextraction approach. The use of high ionic strength is normally beneficial for exploiting the salting-out effect in the majority of liquid-phase microextraction methods [44]. In magnet-based extraction approaches using bare Fe_3O_4 as core of the magnetic material, the use of high ionic strength is normally not convenient when using ILs [45,46] or IL-based surfactants [25,27]. The use of high ionic strength can be accomplished only when Fe_3O_4 coated with silica ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$) is used, but requires an additional step in the preparation of the material [24,47]. Figure S4 of the Annex Material shows the influence of the ionic strength (expressed as NaCl content), evaluated in the range of 0 to

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

25% (w/v) of NaCl. Clearly, an increase of the NaCl content increases the extraction efficiency for all PAHs. It is important to note that even when no NaCl is added, the net ionic strength of the sample is not zero due to the contribution of the NaOH (24 mmol·L⁻¹). From these results, 25% (w/v) of NaCl was selected as optimum value for the further experiments. The ability to utilize high ionic strength in MIL-based extraction is advantageous compared to other magnet-based extraction methods in which the addition of salts has a negative effect in the extraction efficiency [25,27,45,46]). The MIL-based microextraction method is therefore clearly valid for aqueous samples with a high salt content.

3.1.2. Screening of MILs in the microextraction method for determining PAHs

The three hydrophobic MILs were tested for the determination of PAHs, using the fixed conditions described above in Section 3.2.1. The normalized peak area for each PAH was introduced as a tool to compensate for possible differences in weighing the MIL (as described in Section 3.2.1) when different MILs are compared. Thus, the normalized peak area is defined as the ratio between the chromatographic peak area and the amount of MIL weighed. The obtained results are shown in Figure 2. It can be observed that better results are achieved with MIL A for all PAHs tested. MIL B showed adequate extraction efficiency (but lower than that obtained with MIL A), whereas MIL C poorly extracted the PAHs. It appears that MILs belonging to the ammonium family may be more suitable than those of the benzimidazolium family for the determination of PAHs. These results can be linked to the different viscosities of the MILs in which ammonium-based MILs (A and B) are less viscous than MIL C and, consequently, they are more easily dispersed in the bulk of the sample, thus favoring the mass transfer of PAHs to the MIL microdroplets. Interestingly, MIL C was designed to possess higher hydrophobicity (which *a priori* could be beneficial for PAHs) but its higher viscosity hindered its performance within the magnet-based microextraction approach.

3.2. Optimization of the MIL-based microextraction-HPLC-FD method

The remaining parameters that have an influence in the MIL-based microextraction-HPLC-FD procedure were optimized using a simple factor by factor approach, but other mathematical models can be used in more complex optimizations

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

[48]. The procedure was optimized with MIL A, which provided the best extraction efficiencies. The optimization study was carried out using a spiked level of $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for the PAHs in ultrapure water, with the remaining conditions presented in Section 3.2 ($\text{NaOH } 24 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 25% (w/v) of NaCl , and $20 \mu\text{L}$ of MIL A).

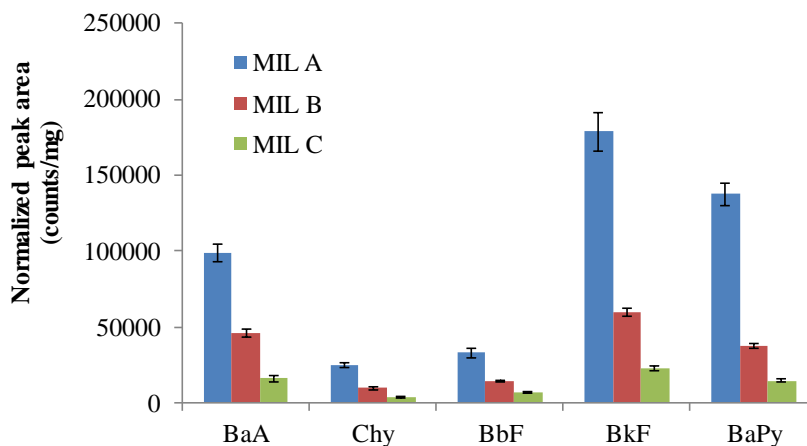


Figure 2. Comparison of the extraction efficiency of the tested MILs in the microextraction-HPLC-FD method for PAHs determination. The normalized peak area is defined as the chromatographic peak area of each PAH divided by the amount of MIL weighed in each experiment. Fixed experimental conditions ($n = 3$): 10 mL of ultrapure water containing $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of PAHs, spiked with 0.5 mL of NaOH solution of $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 25% (w/v) NaCl ; $20 \mu\text{L}$ of MIL A, MIL B or MIL C (depending on the experiment); 500 μL of acetone as dispersive solvent; 5 min of vortex; magnetic separation (few seconds); two back-extraction steps using 500 μL of n -hexane and 1 min of vortex; evaporation; reconstitution in 500 μL of acetonitrile; filtration; and HPLC injection.

The hydrophobic MILs used in this work possess high viscosity so their direct injection into HPLC is not recommended to avoid issues with high back pressure. Therefore, the MIL-based microextraction method was accomplished by designing a back-extraction step followed with reconstitution with acetonitrile. Regarding the back-extraction step, several parameters were fixed, including the volume of back-extraction solvent (500 μL , to ensure an adequate desorption volume to make contact with 20 μL of the MIL), together with the aid of vortex (1 min) to aid in the process. Once back-extracted, the time required to evaporate the solvent to dryness with the stream of air was

dictated by the nature of the elution solvent. Finally, acetonitrile was selected to reconstitute the dry residue due to its HPLC compatibility.

The optimized parameters include the nature and volume of the dispersive solvent, the type and time of the stirring method during the extraction step, and the nature of the back-extraction solvent as well as the number of back-extraction steps.

3.2.1. Optimization of the extraction step

The dispersion of MIL A was studied using various commonly used organic dispersive solvents (e.g., acetonitrile, methanol, and acetone) as well as two different IL-based surfactants ([C₁₆MIm] [Br] and [C₁₂C₁₂Im] [Br], working in both cases at concentrations in the extraction tube that correspond with their CMC values). Acetonitrile and methanol caused the MIL to be soluble in the aqueous phase, precluding phase separation upon application of the external magnetic field. For the remaining solvents examined, the best results were achieved with acetone which produced peak areas around 27 times higher than [C₁₆MIm] [Br] and around 3 times higher than [C₁₂C₁₂Im] [Br], as can be observed in Figure 3. Thus, acetone was selected for the subsequent experiments.

The volume of acetone was also studied in the range 0.25–1.5 mL (see Figure S5 of the Annex Material). The use of acetone volumes equal to or higher than 1.0 mL caused the MIL to be soluble in the aqueous phase. The use of 500 µL of acetone provided best extraction efficiencies for PAHs (with the exception of BbF). A volume of 500 µL of acetone was selected as optimum value to avoid any partial solubility of the MIL in the aqueous phase.

Vortex and sonication were tested as dispersion modes to increase the mass transfer of PAHs to the MIL A microdroplet while also considering the stirring time. Results are included in Figure S6 of the Annex Material. Vortex and sonication both gave higher extraction efficiency compared to when no stirring of any kind was applied. However, the application of sonication provoked partial solubility of MIL A in the aqueous solution causing lower extraction efficiency compared with vortex stirring. Therefore, the application of vortex was chosen to improve the efficiency of the method. The effect of the vortex time was then studied in the time range from 2.5 to 10 min. It was observed that a vortex of 10 min was adequate for the majority of PAHs (except for BbF). However, a vortexing time of 5 min was chosen with the goal of developing a fast

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

extraction method but also considering that higher times are usually not recommended due to the health of laboratory personnel.

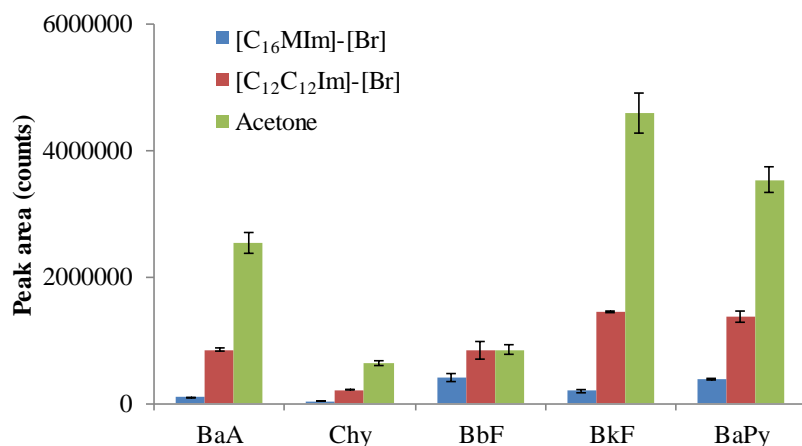


Figure 3. Study of the effect of the nature of the dispersive solvent in the MIL-based microextraction-HPLC-FD method. Fixed experimental conditions ($n = 3$): 10 mL of ultrapure water containing $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of PAHs, spiked with 0.5 mL of NaOH solution of $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 25% (w/v) NaCl; 20 μL of MIL A; 500 μL of $15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ [C₁₆MIm] [Br], 2.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of [C₁₂C₁₂Im] [Br], or acetone; 5 min of vortex; magnetic separation (few seconds); two back-extraction steps with 500 μL of n-hexane and 1 min of vortex; evaporation; reconstitution in 500 μL of acetonitrile; filtration; and HPLC injection.

3.2.2. Optimization of the MIL-DLLME back-extraction step

The solvent used to accomplish the back-extraction step of PAHs from MIL A should be immiscible with the MIL and should be a good solubilizing medium for PAHs. Several solvents were tested, including dichloromethane, chloroform, and n-hexane. Of these solvents, only n-hexane satisfied the above conditions as the chlorinated solvents were partially miscible with MIL A. Thus, n-hexane was selected as the back-extraction solvent.

Regarding the number of back-extraction steps, successive back-extraction steps ranging from 1-4 steps using 500 μL of n-hexane and 1 min of vortex, followed by magnetic separation, were undertaken. The obtained results are shown in Figure S7 of the

Annex Material. The majority of PAHs were back-extracted with only 2 steps, with the exception of BbF (which required only one single step). Therefore, two successive back-extraction steps were chosen as optimum.

In order to increase the enrichment factor of the method, the final volume of reconstitution with acetonitrile was decreased from 500 μL to 300 μL without any loss of efficiency. A summary of the overall optimized MIL-based microextraction-HPLC-FD method is shown in Figure 1.

3.3. Analytical performance of the MIL-based microextraction-HPLC-FD method

Calibration curves of the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method were obtained by applying the optimized method to standards of PAHs in ultrapure water. Figure S2 (B) of the Annex Material shows a representative chromatogram obtained after the application of the entire method. Table 2 includes several quality analytical parameters of the method such as the linearity ranges, calibration levels, correlation coefficients, slopes and intercepts, and limits of detection and quantification.

The obtained calibration curves show a wide linearity range, from 0.05–5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Chy and from 0.05–3.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for the remaining PAHs, with correlation coefficients (R) for the entire method ranging from 0.994 to 0.996.

Limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the entire method were estimated at three and ten times the signal-to-noise ratio, respectively. They were verified by preparing standards at those levels, which were then subjected to the whole microextraction-HPLC-FD method. Thus, LODs ranged from 0.005 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for BbF to 0.02 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for BaPy, while LOQs were always lower than 0.06 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The LODs of the overall method were ~13 to 54 times lower than those only associated with the HPLC-FD method (Table S2 of the Annex Material). It is also interesting to mention that the PAHs are dissolved in acetonitrile for injection in the HPLC-FD after the MIL-based microextraction approach, and so this method is also suitable for LC-MS.

Table 2 also summarizes results regarding the reproducibility and extraction performance of the method. The reproducibility was evaluated as the relative standard deviation (RSD) using intra-day ($n = 3$) and inter-day ($n = 9$) experiments. Two spiked levels (0.4 and 1.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) were selected for intra-day experiments. The obtained intra-day precision results ranged from 1.0% for Chy to 13% for BkF at the low spiked level,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Analytical performance of the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method. The linearity range was 0.05–5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Chy and 0.05–3.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for the remaining PAHs, using 7 calibration levels.

PAH	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-6}$	R ^b	LOD ^c ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Low spiked level (0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)				Intermediate spiked level (1.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)			
					E _F ^e	E _R ^f (%)	RR ^g (%)	RSD intra-day ^h / inter-day ⁱ (%)	E _F ^e	E _R ^f (%)	RR ^g (%)	RSD intra-day ^h (%)
BaA	1.5 \pm 0.1	0.996	0.01	0.03	10.3	29.3	105	5.3 / 7.1	11.2	32.0	111	9.1
Chy	0.20 \pm 0.01	0.995	0.01	0.05	13.9	39.6	98.9	1.0 / 10	12.3	35.3	107	9.6
BbF	0.43 \pm 0.02	0.994	0.005	0.02	12.7	36.3	119	3.0 / 16	10.7	30.6	120	7.5
BkF	1.9 \pm 0.1	0.994	0.01	0.04	8.84	25.3	91.5	13 / 16	8.70	24.9	99.0	13
BaPy	1.2 \pm 0.1	0.994	0.02	0.05	16.6	47.3	107	6.2 / 12	11.6	33.2	89.8	9.2

^a standard deviation of slope

^b correlation coefficient

^c limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio

^d limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio

^e enrichment factor

^f extraction efficiency (E_{F,max} = 35.0)

^g relative recovery

^h relative standard deviation (n = 3)

ⁱ relative standard deviation (n = 9), calculated in 3 non-consecutive days

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

and from 7.5% for BbF to 13% for BkF for the intermediate spiked level ($1.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). The inter-day precision was evaluated at the low spiked level ($0.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) and during three non-consecutive days. RSD values ranged between 7.1% for BaA and 16% for BbF.

The extraction performance of the method was evaluated by means of the enrichment factor (E_F) and the extraction efficiency (E_R , in %) of each PAH (see Table 2). They were determined by performing experiments in ultrapure water at two spiked levels (0.4 and $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, with $n = 3$).

The E_F of the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method was calculated as the ratio between the predicted concentration obtained with chromatographic calibrations, without performing the MIL-based microextraction approach (see Table S2 of the Annex Material) and the spiked concentration of each PAH. The obtained E_F values ranged from 8.84 for BkF to 16.6 for BaPy at the low spiked level, and between 8.70 for BkF and 12.3 for Chy for the intermediate spiked level.

E_R values were estimated as a percentage value by the ratio of the E_F and the theoretical maximum preconcentration factor ($E_{F,\text{max}}$) of the overall method. The $E_{F,\text{max}}$ was calculated as the ratio of the initial volume in the extraction tube (10.5 mL) and the final volume after reconstitution with acetonitrile (0.3 mL). Following this consideration, the $E_{F,\text{max}}$ of the method is ~ 35.0 . This value indicates the maximum preconcentration that can be achieved if all PAH are effectively extracted in the MIL and back-extracted by *n*-hexane in the method. Regarding E_R values, they ranged from 25.3% to 47.3% at the low spiked level, and from 24.9% to 35.3% at the intermediate spiked level. This means that, on average, around 35.6% and 31.2% of the PAHs could be extracted at each spiked level, respectively. It is important to mention that E_R values approaching $\sim 100\%$ are difficult to achieve in any microextraction procedure [49]. Thus, the obtained values are valid as long as the other analytical parameters of the method (mainly sensitivity and reproducibility) are sufficient for the intended analytical application. In any case, higher extraction efficiencies were obtained in this method using a hydrophobic MIL than those reported for the determination of phenols using a non-hydrophobic MIL, with calculated E_R values ranging from 17.9 to 18.8% [37].

The accuracy of the method was evaluated by the determination of the relative recovery (RR, in %). RR was calculated as the ratio of the predicted concentration obtained in the calibration curves of the overall method (Table 2) and the initial spiked concentration. The obtained RR values were expressed as a percentage for the studied

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

two spiked levels. RR values ranged from 91.5% to 119% at the low spiked level. The obtained RR values in this study are comparable to those obtained in other studies with non-hydrophobic MILs [35-37].

3.4. Analysis of real aqueous samples

Once the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method was optimized and validated, it was applied for the analysis of real aqueous samples, including tap water, wastewater, and a tea infusion. The sampling and pretreatment of both samples prior to the analysis was performed as explained in Section 2.1. The studied PAHs were not detected in any of the samples analyzed. A representative chromatogram obtained with a non-spiked wastewater subjected to the whole method is included in Figure S8 of the Annex Material.

The matrix effect of the method was evaluated with wastewater and tea infusion samples by the estimation of the reproducibility (as RSD) and the relative recovery. With this purpose, PAHs were spiked in these samples at $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and experiments were repeated in triplicate ($n = 3$). A representative chromatogram obtained with a spiked wastewater subjected to the whole method is included in Figure S8 of the Annex Material.

Regarding the reproducibility studies, low RSD values were obtained with both samples, with values ranging from 4.3% to 9.5%, and 3.5% to 17% when wastewater and tea infusion were analyzed, respectively. RR values ranged from 85.5% to 135% when analyzing wastewater; and from 46.2% to 116% when tea infusion was analyzed. Clearly, matrix effects were present but the method could still be successfully performed in these complex samples. For these complex samples, it is advisable the utilization of matrix-matched calibrations and, if possible, LC-MS.

This MIL-based microextraction approach provides similar extraction performance to other reported microextraction methods in the literature for determination of PAHs by HPLC-FD, in terms of extraction time, extraction solvent consumption, LODs, RR and reproducibility (see Table S3 of the Annex Material) [39-41]. Similar conclusions can be derived from Table S4 of the Annex Material, in which the proposed method is compared with other MIL-based approaches [35-37].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

4. Conclusions

Magnetic ionic liquids have been successfully studied for first time in a magnet-based microextraction approach for the determination of a group of heavy hydrophobic PAHs. The extraction efficiency of three different hydrophobic and viscous MILs was compared and the results indicate that $[N_{8,8,8,B}][FeCl_3Br]$, denoted as MIL A, provided the best extraction performance for the group of PAHs.

The novel microextraction approach in combination with HPLC-FD was properly optimized and the method validated using MIL A. The proposed method is capable of performing adequate quantitation of heavy PAHs, in terms of high sensitivity (LODs down to 5 ng L^{-1}), adequate reproducibility and efficiency, while requiring low sample volumes, low amounts of MIL, low consumption of organic solvent, while being simple and fast.

Ongoing work is currently being conducted in our laboratories to prepare less viscous MILs while maintaining their hydrophobic nature. By doing this, a better dispersion of the MIL in the sample matrix can be obtained, thus decreasing sources of error and increasing the extraction efficiency and precision.

Acknowledgements

MJT-R thanks the Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información (ACIISI), co-funded by the European Social Fund, for her FPI PhD fellowship. VP acknowledges funding from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) projects ref. MAT2013-43101-R and MAT2014-57465-R. JHA and VP also thank funding from the Fundación CajaCanarias, project ref. SPDs-Agua05. J.L.A. acknowledges funding from the Chemical Measurement and Imaging Program at the National Science Foundation (grant number CHE-1413199).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] M. Espino, M.A. Fernández, F.J.V. Gomez, M.F. Silva, *Trends Anal. Chem.* 76 (2016) 126–136.
- [2] H. Qiang, W. Zonghua, Z. Xiaoqiong, D. Mingyu, *Prog. Chem.* 26 (2014) 820–833.
- [3] B.H. Fumes, M. Ribeiro Silva, F.N. Andrade, C. E. Domingues Nazario, F.M. Lanças, *Trends Anal. Chem.* 71 (2015) 9–25.
- [4] L. Xu, X. Qi, X. Li, Y. Bai, H. Liu, *Talanta* 146 (2016) 714–726.
- [5] J.P. Hallet, T. Welton, *Chem. Rev.* 111 (2011) 3508–3576.
- [6] D. Coleman, N. Gathergood, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 600–637.
- [7] Y. Deng, I. Beadham, M. Ghavre, M.F. Costa Gomes, N. Gathergood, P. Husson, B. Légeret, B. Quilty, M. Sancelme, P. Besse-Hoggan, *Green Chem.* 17 (2015) 1479–1491.
- [8] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 86 (2014) 262–285.
- [9] Q. Liang, Y. Shi, W. Ma, Z. Li, X. Yang, *RSC Adv.* 2 (2012) 5403–5410.
- [10] D. Rooney, J. Jacquemin, R. Gardas, Thermophysical properties of ionic liquids, in: B. Kirchner (Ed.), *Topics in Current Chemistry*, vol. 290: Ionic Liquids, Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, 2009, pp. 185–212.
- [11] J. Yuan, D. Mecerreyes, M. Antonietti, *Prog. Polym. Sci.* 38 (2013) 1009–1036.
- [12] H. Yu, T.D. Ho, J.L. Anderson, *Trends Anal. Chem.* 45 (2013) 219–232.
- [13] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. González-Hernández, V. Pino, Analytical applications of ionic liquid-based surfactants in separation science, in: B.K. Paul, S.P. Moulik (Eds.), *Ionic liquid-based surfactant self-assemblies: formulation, characterization, and applications*, Wiley series on surface and interfacial chemistry, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA, 2015, pp. 475–502.
- [14] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, *Sep. Sci. Technol.* 47 (2012) 264–276.
- [15] E. Santos, J. Albo, A. Irabien, *RSC Adv.* 4 (2014) 40008–40018.
- [16] O. Nacham, K.D. Clark, H. Yu, J.L. Anderson, *Chem. Mater.* 27 (2015) 923–931.
- [17] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A.M. Afonso, A. Irabien, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 89 (2014) 866–871.
- [18] S. Pitula, A.-V. Mudring, *Chem. Eur. J.* 16 (2010) 3355–3365.
- [19] B. Mallick, B. Balke, C. Felser, A.-V. Mudring, *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (2008) 7635–7638.
- [20] P. Rocío-Bautista, V. Pino, Extraction methods facilitated by the use of magnetic nanoparticles, in: J.L. Anderson, A. Berthod, V. Pino, A. Stalcup (Eds.), *Analytical Separation Science*, vol. 5, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA, 2015, pp. 1681–1724.
- [21] M.K. Bojdi, M. Behbahani, G. Hesam, M.H. Mashhadizadeh, *RSC Adv.* 6 (2016) 32374–32380.
- [22] M. Behbahani, S. Bagheri, M.M. Amini, H.S. Abandansari, H.R. Moazami, A. Bagheri, *J. Sep. Sci.* 37 (2014) 1610–1616.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [23] M.D. Farahani, F. Shemirani, *Microchim. Acta* 179 (2012) 219–226.
- [24] J. Chen, X. Zhu, *Food Chem.* 200 (2016) 10–15.
- [25] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 8753–8764.
- [26] S. Dong, G. Huang, X. Wang, Q. Hu, T. Huang, *Anal. Methods* 6 (2014) 6783–6788.
- [27] Q. Cheng, F. Qu, N.B. Li, H.Q. Luo, *Anal. Chim. Acta* 715 (2012) 113–119.
- [28] K.D. Clark, O. Nacham, H. Yu, T. Li, M.M. Yamsek, D.R. Ronning, J.L. Anderson, *Anal. Chem.* 87 (2015) 1552–1559.
- [29] K.D. Clark, M.M. Yamsek, O. Nacham, J.L. Anderson, *Chem. Commun.* 51 (2015) 16771–16773.
- [30] G. Cheng, Q. Zhang, B. Bai, *Chem. Eng. J.* 252 (2014) 159–165.
- [31] P. Brown, A. Bushmelev, C.P. Butts, J. Cheng, J. Eastoe, I. Grillo, R.K. Heenan, A.M. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 (2012) 2414–2416.
- [32] J. Wang, H. Yao, Y. Nie, L. Bai, X. Zhang, J. Li, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51 (2012) 3776–3782.
- [33] W. Jiang, W. Zhu, H. Li, J. Xue, J. Xiong, Y. Chang, H. Liu, Z. Zhao, *Chem. Eng. Technol.* 37 (2014) 36–42.
- [34] N. Deng, M. Li, L. Zhao, C. Lu, S.L. de Rooy, I.M. Warner, *J. Hazard. Mater.* 192 (2011) 1350–1357.
- [35] Y. Wang, Y. Sun, B. Xu, X. Li, R. Jin, H. Zhang, D. Song, *J. Chromatogr. A* 1373 (2014) 9–16.
- [36] Y. Wang, Y. Sun, B. Xu, X. Li, X. Wang, H. Zhang, D. Song, *Anal. Chim. Acta* 888 (2015) 67–74.
- [37] T. Chatzimitakos, C. Binellas, K. Maidatsi, C. Stalikas, *Anal. Chim. Acta* 910 (2016) 53–59.
- [38] J.-T. Liu, G.-B. Jiang, Y.-G. Chi, Y.-Q. Cai, Q.-X. Zhou, J.-T. Hu, *Anal. Chem.* 75 (2003) 5870–5876.
- [39] Y. Shi, H. Wu, C. Wang, X. Guo, J. Du, L. Du, *Food Chem.* 199 (2016) 75–80.
- [40] C.-E. Nika, E. Yiantzi, E. Pisillakis, *Anal. Chim. Acta* 922 (2016) 30–36.
- [41] M. Fernández-Amado, M.C. Prieto-Blanco, P. López-Mahía, S. Muniategui-Lorenzo, D. Prada-Rodríguez, *Talanta* 155 (2016) 175–184.
- [42] Q.Q. Baltazar, J. Chandawalla, K. Sawyer, J.L. Anderson, *Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp.* 302 (2007) 150–156.
- [43] M. Germán-Hernández, P. Crespo-Llabrés, V. Pino, J.H. Ayala, A.M. Afonso, *J. Sep. Sci.* 36 (2013) 2496–2506.
- [44] H. Yan, H. Wang, *J. Chromatogr. A* 1295 (2013) 1–15.
- [45] E. Yilmaz, M. Soylak, *Talanta* 116 (2013) 882–886.
- [46] S. Kamran, M. Asadi, G. Absalan, *Anal. Methods* 6 (2014) 798–806.
- [47] F. Galán-Cano, M.C. Alcudia-León, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *J. Chromatogr. A* 1300 (2013) 134–140.
- [48] M. Valipour, *Meteorol. Appl.* 23 (2016) 91–100.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [49] AOAC Peer-Verified Methods Program, Manual on policies and procedures, AOAC International, Gaithersburg, 1998.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. Retention times of PAHs under the optimized conditions in the HPLC-FD.

PAHs	$t_R^a \pm SD^b$ (min)
BaA	8.0 ± 0.1
Chy	8.6 ± 0.1
BbF	11.5 ± 0.1
BkF	12.9 ± 0.1
BaPy	14.3 ± 0.1

^a retention time

^b standard deviation of retention time (n = 20)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table S2. Analytical performance and reproducibility of the HPLC-FD method (without considering the previous MIL-based microextraction step), and for n = 6 calibration levels.

Analyte	Linearity range ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	(Slope \pm SD ^a) $\cdot 10^{-5}$	R ^b	LOD ^c ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOQ ^d ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Spiked level = 6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		Spiked level = 30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
						RSD intra-day ^e (%)	RSD inter-day ^f (%)	RSD intra-day ^e (%)
BaA	0.5–60	1.52 \pm 0.03	0.998	0.16	0.50	2.4	2.6	2.4
Chy	3.0–60	0.30 \pm 0.01	0.996	0.79	2.6	1.7	5.3	1.7
BbF	1.0–60	0.63 \pm 0.02	0.997	0.27	0.89	4.4	9.0	4.4
BkF	0.6–60	2.5 \pm 0.1	0.995	0.15	0.51	1.9	3.1	1.9
BaPy	0.8–60	1.66 \pm 0.03	0.993	0.23	0.77	3.2	6.6	3.2

^a standard deviation of slope^b correlation coefficient^c limits of detection, calculated as 3 times the signal to noise ratio^d limits of quantification, calculated as 10 times the signal to noise ratio^e relative standard deviation (n = 3)^f relative standard deviation (n = 9), calculated in 3 non-consecutive days

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S3. Comparison of the developed MIL-based microextraction method with other microextraction methods in the literature for the determination of PAHs using HPLC-FD.

Number of PAHs/ Sample (volume)	Microextraction procedure/ Extractant (amount)	Extraction time (min)/ Organic solvent volume (mL)	RR, in %/ Er (spiked level)	RSD, in % (spiked level)	LOD (ng·L ⁻¹)	Ref.
5/ tap water, wastewater and fruit-tea infusion (10 mL)	DLLME/ [N _{8,8,8} B]-[FeCl ₃ Br] (18 ± 4 mg)	7/ 1.8	91.5–119/ 24.9–35.3 (0.4 µg·L ⁻¹)	7.07–16.4 ^a (0.4 µg·L ⁻¹)	5.0–20	This work
7/ coffee and tea infusion (50 mL)	magnetic-SPE/ Fe ₃ O ₄ @MPS@[VMIm]-[I] ^b (1 mg)	12/ 0.4	87.5–105/ 85.0–99.0 ^c (-)	2.2–3.8 ^a (-)	0.1–10.0	[39]
3/ environmental water (20 mL)	plastic pellet sorbent extraction/ low-density polyethylene (81.1 ± 1.3 mg)	10/ 0.1	92.0–109/ - (0.05 µg·L ⁻¹ & 0.5 µg·L ⁻¹)	5.1–7.8 (0.05 µg·L ⁻¹ & 0.5 µg·L ⁻¹)	1.3–3.5	[40]
15/ rainwater (5 mL)	on line in-tube SPME/ 95% poly(dimethylsiloxane)- 5% poly(diphenylsiloxane), 0.32 mm i.d., 3 µm thickness	~4/ 2.5	11–110/ - (0.25 & 1 µg·L ⁻¹)	6.7–13.9 ^a (0.25 µg·L ⁻¹)	2.3–28	[41]

^a inter-day reproducibility^b magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ coated with 3-(trimethoxysilyl)propylmethacrylate and 1-vinyl-3-methylimidazolium iodide^c calculated from the data included in the publication

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S4. Comparison of the developed MIL-based microextraction method with other MIL-based methods reported in the literature.

Analytes (number)/ Sample (volume)	Extraction procedure/ Extractant (amount)/ Analytical technique	Extraction time (min)/ Organic solvent volume (mL)/ Comments	RR, in %/ RSD, in %/ Er (spiked level)/	Linearity range ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ref.
PAHs (5)/ tap water, wastewater or fruit- tea infusion (10 mL)	DLLME/ [N _{8,8,8,B}]-[FeCl ₃ Br] (18 ± 4 mg)/ HPLC-FD	7 (+10 min evaporation)/ 1.8/ -	91.5–119/ 7.07–16.4 ^a / 24.9–35.3 (0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0.05–3.5 (0.05–5.0 for Chy)	0.005–0.02	This work
triazine herbicides (6)/ vegetable oil (1 mL)	DLLME/ [C ₆ MIm]-[FeCl ₄] (90 μL)/ HPLC-DAD	5.5 (+ evaporation)/ 10.1/ *carbonyl iron power addition	81.8–114/ 1.3–7.7/ -	5–1000	1.31–1.49	[35]
triazine herbicides (6)/ oil seed (1.0 g)	DLLME/ [C ₄ MIm]-[FeCl ₄] (90 μL)/ HPLC-DAD	5.5 (+ evaporation)/ 10.1/ *SPE previous DLLME *carbonyl iron power addition	82.9–114/ 0.8–7.7/ -	-	1.20–2.74 ng·g ⁻¹	[36]
phenols (10)/ wastewater, river water and lake water (30 mL)	SADBME ^b / [N _{8,8,8,1}]-[FeCl ₄] (16 ± 1 mg)/ HPLC-DAD	15/ 0.03	89–94/ 4.6–7.8 ^a / 17.9–18.8 ^c (-)	3–5000	1.05–33.0	[37]

^a inter-day reproducibility^b stirring-assisted drop-breakup microextraction

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

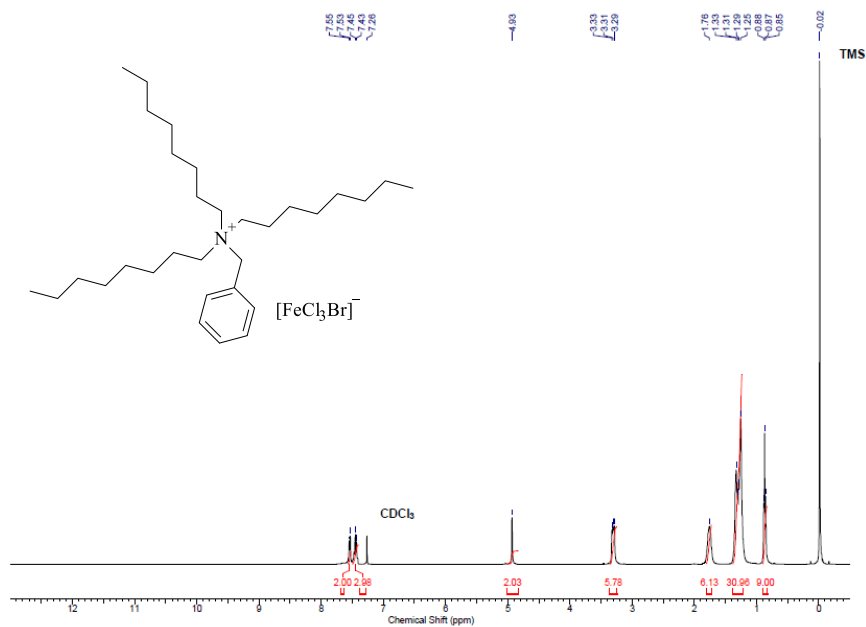
ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. ^1H NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz) and ^{13}C NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz) spectra of the developed MILs, being (A) spectra of MIL A, (B) spectra of MIL B, and (C) spectra of MIL C.

(A)

^1H NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz)



^{13}C NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz)

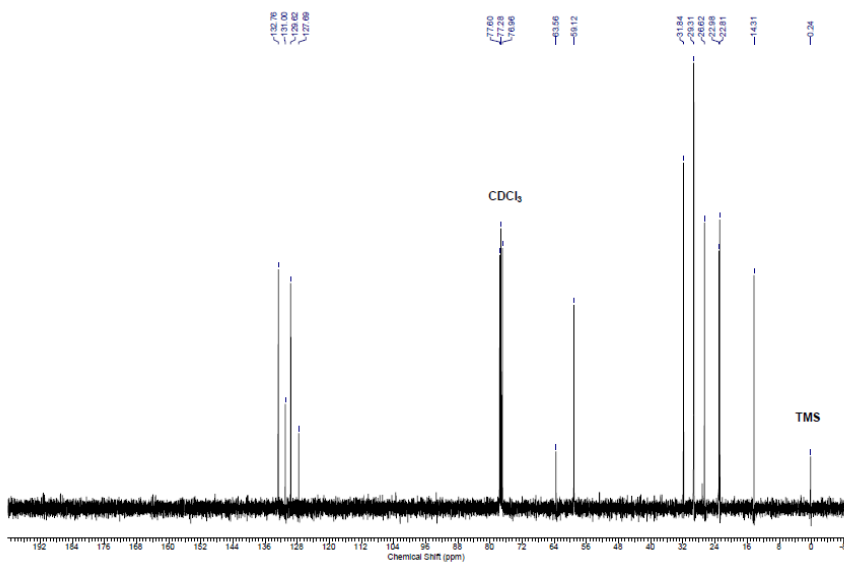
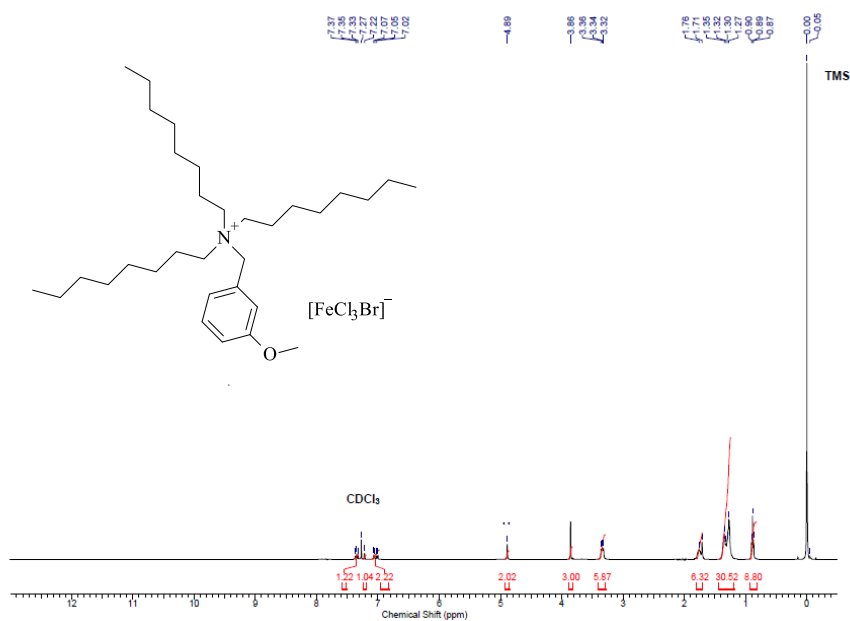


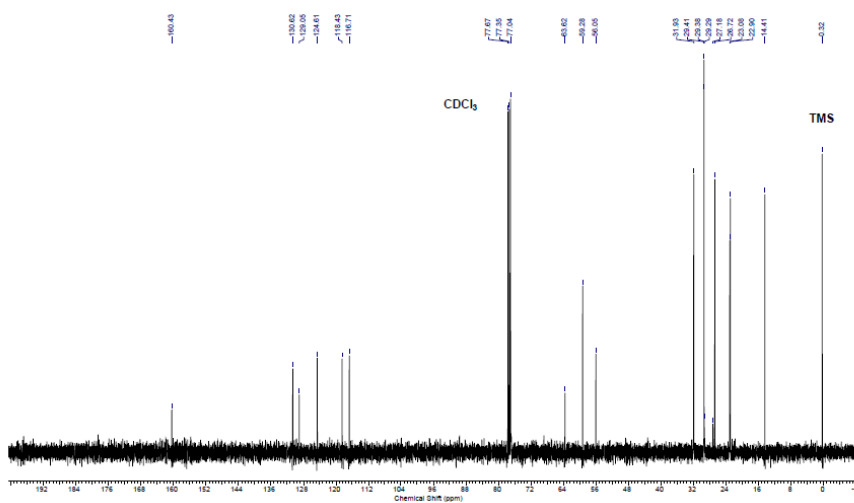
Figure S1. (continued) ^1H NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz) and ^{13}C NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz) spectra of the developed MILs, being (A) spectra of MIL A, (B) spectra of MIL B, and (C) spectra of MIL C.

(B)

^1H NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz)



^{13}C NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz)



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

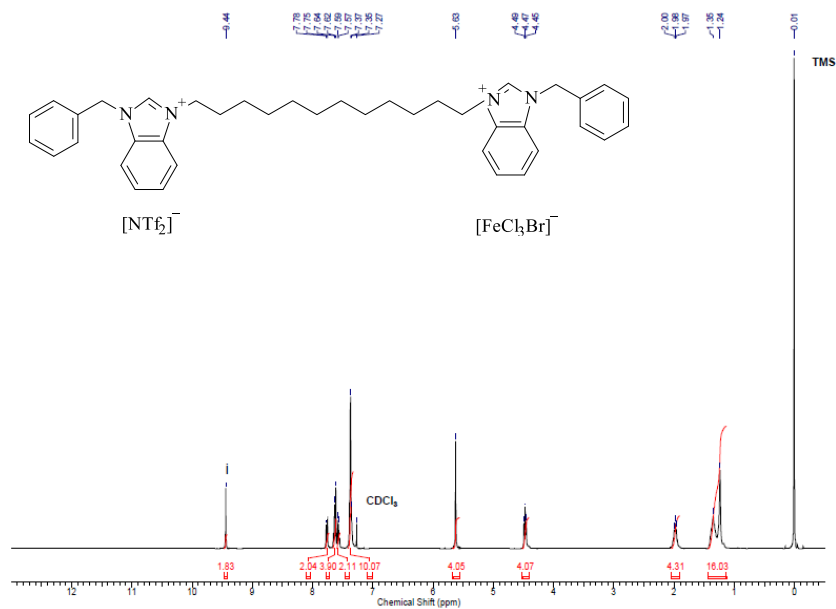
ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S1. (continued) ^1H NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz) and ^{13}C NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz) spectra of the developed MILs, being (A) spectra of MIL A, (B) spectra of MIL B, and (C) spectra of MIL C.

(C)

^1H NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz)



^{13}C NMR (CDCl_3 with 1 % v/v TMS, 400 MHz)

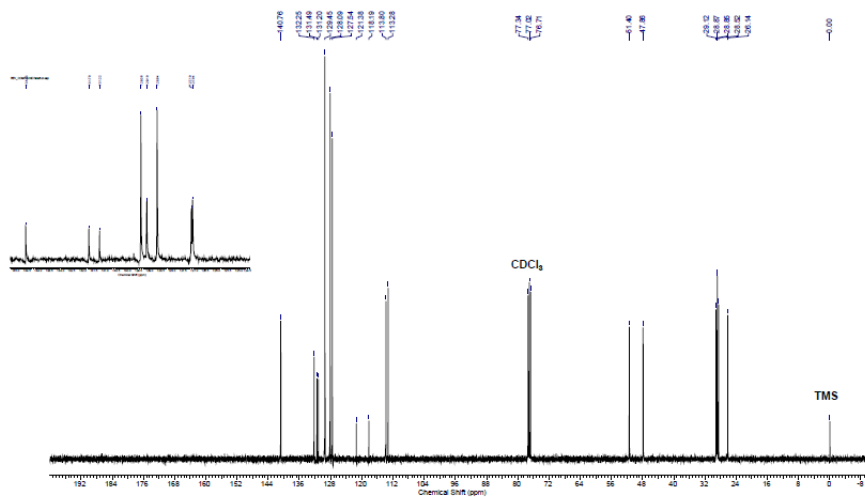
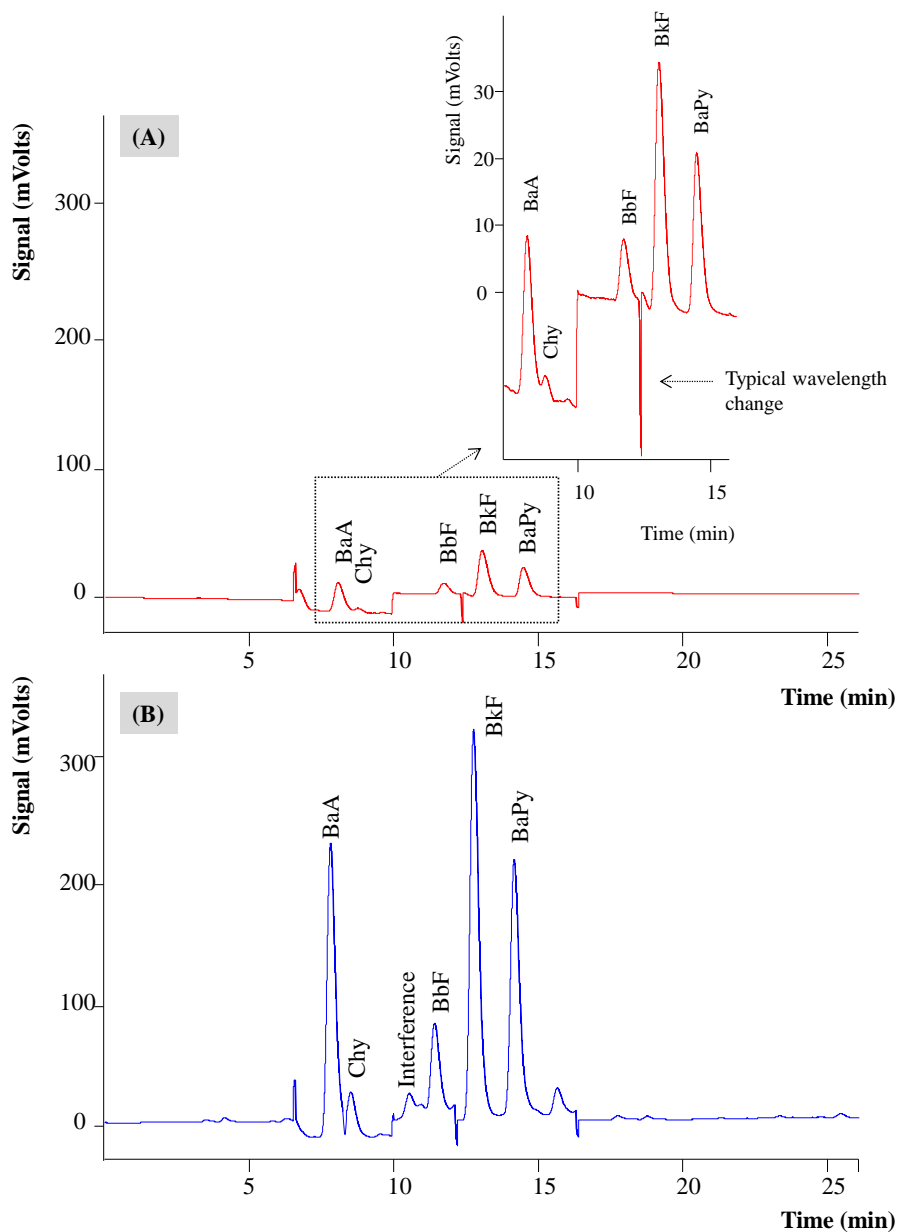


Figure S2. Representative chromatograms of (A) the injection of a standard of PAHs ($3.0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in the optimized HPLC-FD system (without preconcentration), and (B) the injection of an extract obtained after the application of the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method to an aqueous solution containing $3.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of PAHs.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S3. Influence of the amount of NaOH in the dispersion and efficiency of the MIL-based microextraction-HPLC-FD method for PAHs. Experimental conditions (n = 3): 10 mL ultrapure water; 0.5 mL of NaOH solution of 0.1 mol·L⁻¹ or 0.5 mol·L⁻¹; 25% (w/v) NaCl, 5 µg·L⁻¹ of PAHs, 20 µL of MIL A, 500 µL of acetone as dispersive solvent, 5 min of vortex, magnetic separation, two back-extraction steps with 500 µL of n-hexane and 1 min of vortex, evaporation, reconstitution in 500 µL of acetonitrile, filtration and HPLC injection.

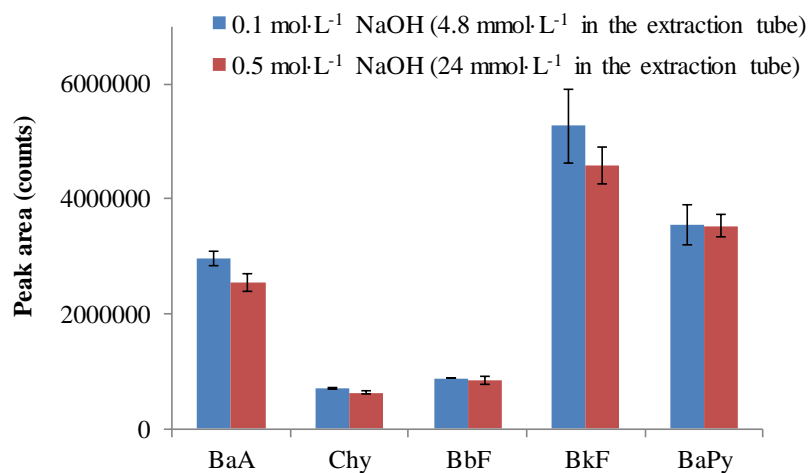
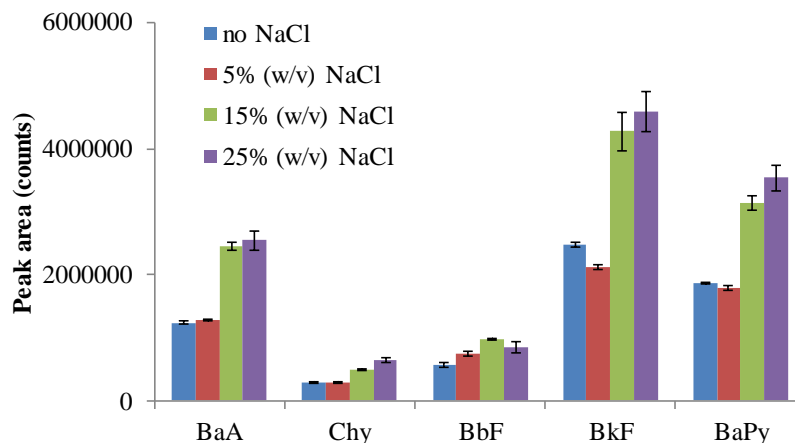


Figure S4. Study of the effect of the NaCl content in the extraction efficiency of the MIL-based microextraction-HPLC-FD method. Experimental conditions (n = 3): 10 mL ultrapure water; 0.5 mL of NaOH solution of 0.5 mol·L⁻¹; 5 µg·L⁻¹ of PAHs, 20 µL of MIL A, 500 µL of acetone as dispersive solvent, 5 min of vortex, magnetic separation, two back-extraction steps with 500 µL of n-hexane and 1 min of vortex, evaporation, reconstitution in 500 µL of acetonitrile, filtration, and HPLC injection.



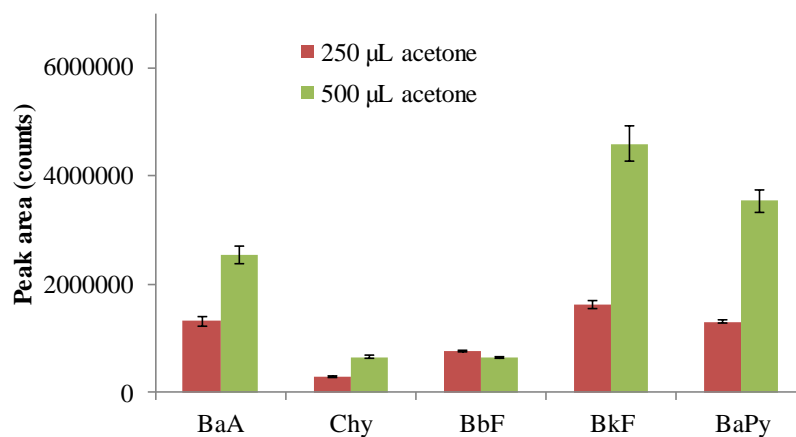
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Figure S5. Study of the effect of the volume of acetone (as dispersive solvent) in the MIL-based microextraction-HPLC-FD method. Experimental conditions (n = 3): 10 mL ultrapure water, 0.5 mL of NaOH solution of 0.5 mol·L⁻¹, 25% (w/v) NaCl, 5 µg·L⁻¹ of PAHs, 20 µL of MIL A, different amounts of acetone, 5 min of vortex, magnetic separation, two back-extraction steps with 500 µL of n-hexane and 1 min of vortex, evaporation, reconstitution in 500 µL of acetonitrile, filtration, and HPLC injection.



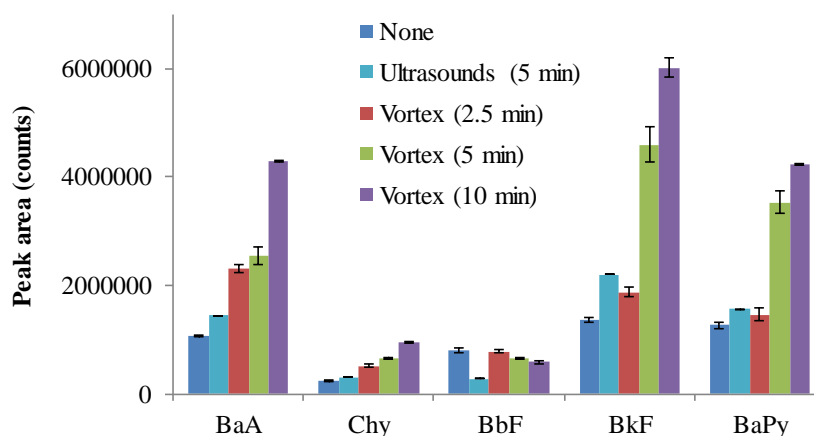
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Figure S6. Study of the type of dispersion (vortex, sonication, or none), and the vortex time, in the MIL-based microextraction-HPLC-FD method. Experimental conditions (n = 3): 10 mL ultrapure water, 0.5 mL of NaOH solution of 0.5 mol·L⁻¹, 25% (w/v) NaCl, 5 µg·L⁻¹ of PAHs, 20 µL of MIL A, 500 µL of acetone as dispersive solvent, 5 min of ultrasounds when applying ultrasounds and different extraction times when applying vortex, magnetic separation, two back-extraction steps with 500 µL of n-hexane and 1 min of vortex, evaporation, reconstitution in 500 µL of acetonitrile, filtration, and HPLC injection.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

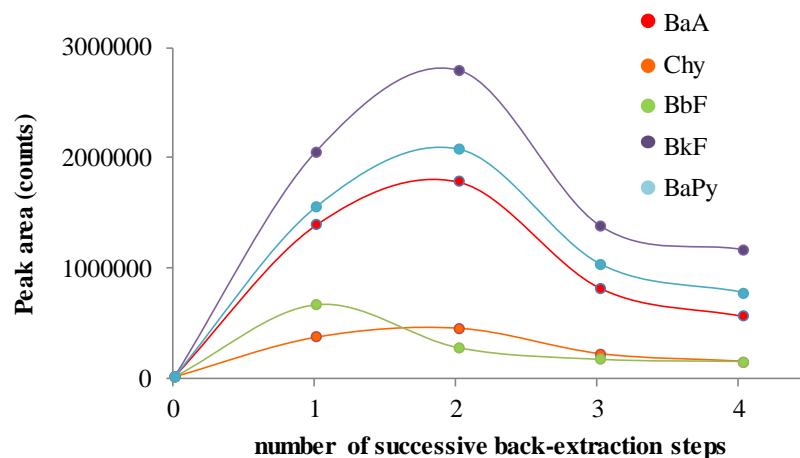
ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S7. Study of the number of back-extraction steps required for the MIL-based microextraction-HPLC-FD method. Experimental conditions: 10 mL ultrapure water, 0.5 mL of NaOH solution of 0.5 mol·L⁻¹, 25% (w/v) NaCl, 5 µg·L⁻¹ of PAHs, 20 µL of MIL A, 500 µL of acetone, 5 min of vortex, magnetic separation, successive back-extraction steps with 500 µL of n-hexane and 1 min of vortex, evaporation, reconstitution in 500 µL of acetonitrile, filtration, and HPLC injection.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

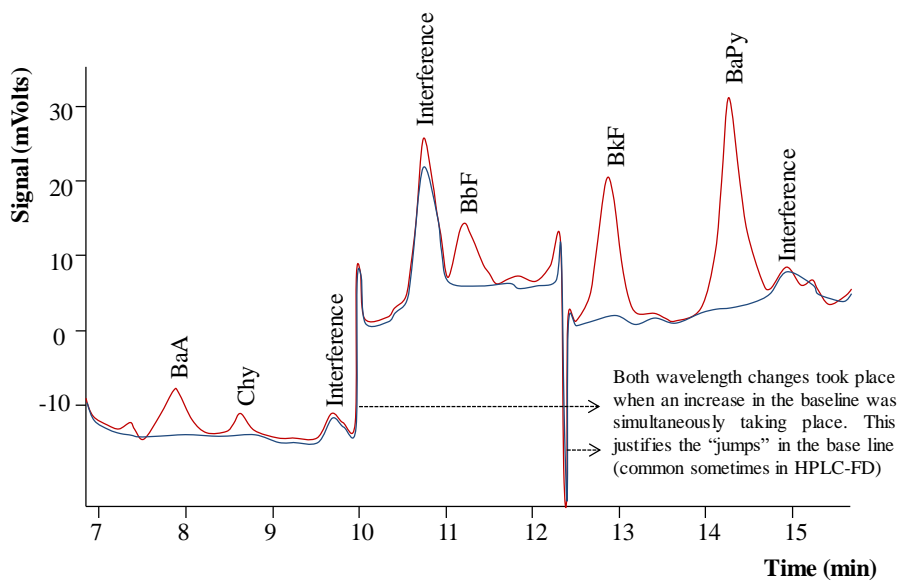
ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S8. Representative chromatograms of the injection of an extract obtained after the application of the overall MIL-based microextraction-HPLC-FD method to wastewater (blue), and wastewater containing spiked PAHs at a concentration level of $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (red).



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Section VI.2

Magnetic ionic liquids as extraction solvents in vacuum headspace single-drop microextraction

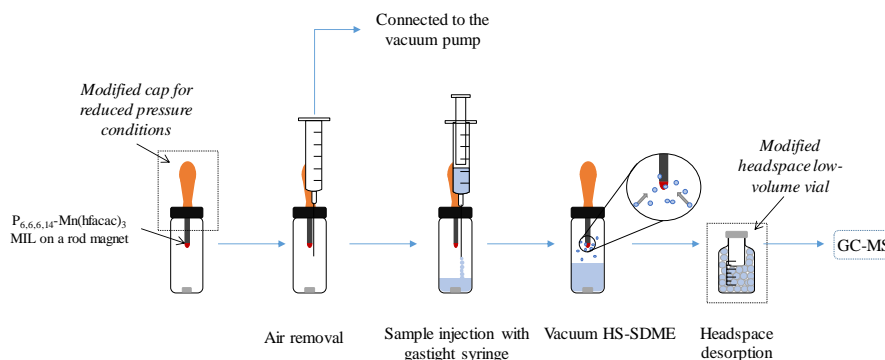
Talanta (2017) *in press*, DOI: 10.1016/j.talanta.2017.05.021

María J. Trujillo-Rodríguez^{1,2}, Verónica Pino¹, Jared L. Anderson^{2*}

¹Departamento de Química (Unidad Departamental de Química Analítica), Universidad de La Laguna (ULL), La Laguna (Tenerife), 38206 Spain

²Department of Chemistry, Iowa State University, Ames, Iowa 50011 USA

Graphical abstract



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Abstract

A vacuum headspace single-drop microextraction method based on the use of magnetic ionic liquids (vacuum MIL-HS-SDME) for the determination of short chain free fatty acids is described for the first time. The basis of the method involves the use of a rod magnet to aid in maintaining a small microdroplet of magnetic ionic liquid (MIL) during headspace single-drop microextraction (HS-SDME). The application favors reduced pressure conditions inside the sampling vial while maintaining the MIL droplet in the headspace. After extraction, the MIL microdroplet containing extracted FFAs is transferred to a headspace vial where static headspace desorption is performed, followed by gas chromatographic-mass spectrometry (GC-MS) analysis. A number of MILs were studied and the trihexyl(tetradecyl)phosphonium tris(hexafluoroacetylaceto)manganate(II) MIL was found to be the most suitable for the proposed method. A comparison with atmospheric pressure MIL-HS-SDME revealed that analytes reached equilibrium faster when reduced pressure conditions were applied and that an enhancement in the extraction efficiency of analytes under these vacuum conditions was observed at any extraction time. Under optimum conditions, the method requires only 20 µL of MIL placed at the end of a rod magnet and the evacuation of air using a modified extraction vial and a vacuum pump. Afterwards, 10 mL of sample containing 30% (w/v) of NaCl is injected in the vial and the vacuum MIL-HS-SDME is performed at 45 °C and 600 rpm for 60 min. The MIL microdroplet can easily be transferred to a 4.2 mL modified headspace vial for the headspace desorption and GC-MS analysis. The entire method is characterized by wide linearity ranges, low limits of detection for analytes (down to 14.5 µg·L⁻¹), good reproducibility (with relative standard deviation lower than 13%), and relative recoveries ranging from 79.5 to 111%. The proposed vacuum MIL-HS-SDME was applied towards the analysis of two different milk samples with the majority of analytes being detected and quantified.

Keywords

magnetic ionic liquid, headspace single drop microextraction, vacuum headspace microextraction, gas chromatography, mass spectrometry, short chain free fatty acid

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

1. Introduction

With the introduction of Green Analytical Chemistry (GAC), a wide number of miniaturized strategies have been developed in environmental, biological, and food analysis [1,2]. The objective is primarily oriented towards the application of cheap, fast, and environmentally-safer procedures. Among liquid-phase microextraction (LPME) methods fulfilling the requirements of GAC, the single-drop microextraction (SDME) mode is popular since it is based on the exposure of a few microliters of the extraction solvent to the sample, typically with the aid of a micro-syringe [3]. The headspace mode (HS-SDME) is especially advantageous for the determination of volatile and semi-volatile compounds from samples of varying complexity.

Recently, the use of reduced pressure conditions has been reported in microextraction techniques that use the headspace (HS) as an intermediate phase between the sample and the extraction solvent [4-7]. Specifically, the strategy applied in headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) has been beneficial for the determination of volatile and semi-volatile compounds [4-7]. The reduced pressure conditions were achieved by evacuating air inside the extraction vial with the help of a vacuum pump. Often referred to as vacuum HS-SPME, an enhancement in the sensitivity, shorter sampling times, and lower extraction temperatures were reported [5-7]. However, in the case of HS-SDME, the vacuum option has not been studied due to the fact that the extraction solvents commonly used in HS-SDME detach or evaporate from the needle tip of the microsyringe during the air evacuation step.

Magnetic ionic liquids (MILs) are a subclass of ionic liquids (ILs) that possess a number of interesting properties of ILs while incorporating a paramagnetic component (in general, transition or rare-earth metal anions or metal complexes) [8]. MILs exhibit a strong response to external magnetic fields as well as low vapor pressure at room temperature, relatively high thermal stability, and tunable solvation properties [8]. These interesting properties make MILs suitable extraction solvents for all LPME modes. MILs have been mainly explored in dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) procedures [9-11] as magnetic separation avoids common centrifugation and filtration steps (often required in DLLME). This simplifies the entire method while minimizing sources of error.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

The paramagnetic character of MILs allows for their exposure during HS-SDME with the aid of a rod magnet, thus avoiding the need of a micro-syringe to form and stabilize the MIL droplet [12]. In addition, larger volumes of the MIL extraction solvent can be loaded on the rod magnet compared to other types of solvents (including conventional ILs) when using micro-syringes [12]. Furthermore, the use of MILs in HS-SDME can facilitate working under reduced pressure conditions. In this case, air evacuation within the extraction vial can be achieved without compromising the stability of the MIL micro-droplet.

The theory for vacuum HS approaches predicts that reduced pressure conditions can be particularly beneficial for compounds with a low Henry's Law constant (K_H) value due to the mass transfer resistance of these analytes concentrated in the gas phase [4,7]. Short chain free fatty acids (FFAs) are a group of analytes possessing these characteristics [7] and are often present in milk and derivatives. Their presence is associated with health benefits, providing flavor and antimicrobial activity, and for being a direct cause of hydrolytic rancidity in milk and other dairy products [13]. In general, the determination of FFAs requires their derivatization via methyl esterification, following by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis [14]. However, this derivatization method consumes copious amounts of solvent and provides low resolution in GC and a high background in MS [14]. Furthermore, conventional methods for determining FFAs utilize liquid-liquid extraction (LLE) [15] or solid phase extraction (SPE) [16], that are not in concordance with GAC [1,2].

The aim the current study is to evaluate the suitability of MILs as extraction solvents in vacuum HS-SDME for the determination of a group of short-chained FFAs in milk samples. It is the first time that the vacuum mode can be combined with HS-SDME, and this is only possible due to the magnetic character of the MIL solvent, able to resist reduced-pressure conditions in the HS without falling. Furthermore, a new generation of MILs based on anions containing metal or rare earth complexes with hexafluoroacetilacetate as ligands are used for the first time in microextraction. To sum up, the vacuum MIL-HS-SDME method does not require derivatization of the FFAs, what represent a further advantage over other reported methods [15]. A comparison of the extraction performance of the method with MIL-HS-SDME at atmospheric pressure is performed to highlight the inherent advantages of MILs under vacuum conditions. In addition, we study the use of a headspace desorption unit coupled to the GC-MS to

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

facilitate the transfer of analytes from the MIL to the headspace. This is the first report on the use of a vacuum-assisted LPME method.

2. Experimental

2.1. Chemicals, reagents, materials and samples

The volatile free fatty acid (FFA) standard mix (certified reference material CRM46975) was purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA). The mix was a multi-component solution containing 10 mmol·L⁻¹ of propionic acid (C₃), *iso*-butyric acid (*i*-C₄), *n*-butyric acid (*n*-C₄), *iso*-valeric acid (*i*-C₅), *n*-valeric acid (*n*-C₅), *iso*-hexanoic acid (*i*-C₆), *n*-hexanoic acid (*n*-C₆), and *n*-heptanoic acid (*n*-C₇) dissolved in ultrapure water. The main physico-chemical properties of these analytes are detailed in Table S1 of the Annex Material. For extraction experiments, working solutions were prepared by dilution of the standard mix in ultrapure water containing 30% (w/v) of NaCl. Ultrapure water (18.2 MΩ·cm) was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA) while NaCl (≥99.5%) was purchased from Fisher Scientific (FairLawn, NJ, USA). Optimization experiments were developed using a concentration of 0.02 mmol·L⁻¹ of FFAs (corresponding to 1.8 mg·L⁻¹ for C₃, 2.0 mg·L⁻¹ for *i*-C₄ and *n*-C₄, 2.4 mg·L⁻¹ for *i*-C₅ and *n*-C₅, 2.6 mg·L⁻¹ for *i*-C₆ and *n*-C₆, and 3.0 mg·L⁻¹ for *n*-C₇). Calibration curves of the entire vacuum MIL-HS-SDME-headspace desorption (HSD)-GC-MS method were developed with concentrations of FFAs ranging from 0.2 to 11 mg·L⁻¹. Calibration curves of the HSD-GC-MS method (without the preconcentration method) were obtained by dilution of the standard mix of FFAs in acetonitrile (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) with a concentration from 15 to 194 mg·L⁻¹. All solutions were stored at -4 °C before use.

Four magnetic ionic liquids (MILs) were evaluated as extraction solvents, namely, trioctylmethylammonium tetrachloromanganate(II) ((aliquat)₂-MnCl₄), trihexyl(tetradecyl)phosphonium tetrachloromanganate(II) ((P_{6,6,6,14})₂-MnCl₄), trihexyl(tetradecyl)phosphonium tetrakis(hexafluoroacetylaceto)dysprosate(III) (P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄) and trihexyl(tetradecyl)phosphonium tris(hexafluoroacetylaceto)manganate(II) (P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃). The MILs were

521

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

synthesized and characterized according to recent studies [17-19]. Table 1 shows their structures and their main physicochemical properties. Figure S1 of the Annex Material summarizes the characterization of the MILs.

Two different milk samples were purchased from a local supermarket (Ames, IA, USA). The samples included a low fat milk (with less than 1 g·L⁻¹ of total fat) and an organic reduced fat milk (with a total content of 19 g·L⁻¹ of fat). The total salt content of both samples was adjusted to 30% (w/v) of NaCl by dissolving the appropriate amount of NaCl in the sample.

2.2. Instrumentation

Analyses were carried out using a 7890B GC from Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA) equipped with a 5977 A MS detector (single quadrupole). The GC-MS was coupled to an Agilent Technologies 7697A HS sampler unit for HSD of the analytes after extraction. The HSD of the analytes was achieved by working in the fill mode of the HS sampler (flow to pressure, 50 psi), and using a 150 °C, 165 °C and 175 °C as oven, loop and transfer line temperatures, respectively. The equilibration time was 10 min and the stirring rate 100 cycles·min⁻¹. The GC separation was achieved using a MEGA-FFAP EXT crossbond capillary column (50 m L. × 0.20 mm I.D. × 0.20 µm film thickness) purchased from Mega s.n.c (Legnano, MI, Italy). Helium was used as carrier gas at a flow rate of 1 mL·min⁻¹. The inlet was maintained at 290 °C with a 5:1 split ratio. The temperature program consisted of the following: initially 100 °C during 2 min, then the temperature was increased at 5 °C·min⁻¹ up to 240 °C, and held for 3 min. The transfer line from the GC to the MS was kept at 250 °C. The MS was operated in electron ionization (EI) mode at 70 eV, using 230 °C and 150 °C as the source and quadrupole temperatures, respectively. Data was acquired in single ion monitoring (SIM) mode. The retention time, quantifier and qualifier ions of each FFA, together with the employed segment program are all shown in Table S2 of the Annex Material.

During extraction via vacuum MIL-HS-SDME, a Büchi Labortechnik AG type V-500 vacuum pump (Flawil, Switzerland) with a suction volume of 1.6 m³·h⁻¹ and a final vacuum of 10 mbar, and a Corning PC-420D magnetic stirring hotplate (Corning, NY, USA) were utilized.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 1. Structures and important physicochemical properties of the studied MILs.

MIL	Structure	MW (g·mol ⁻¹)	Viscosity at 25°C (cP)	μ_{eff} (μB) ^a
(aliquat) ₂ -MnCl ₄		1009	_b	_b
(P _{6,6,6,14}) ₂ -MnCl ₄		1103	75230 ^c	_b
P _{6,6,6,14} -Dy(hfacac) ₄		1475	291.5 ^d	5.8 ^d
P _{6,6,6,14} -Mn(hfacac) ₃		1160	401.8 ^d	9.7 ^d

^a effective magnetic moment, in Bohr magnetons (μ_B)

^b non-reported data

^c ref. [18]

^d ref. [19]

Aplicaciones basadas en el uso de líquidos iónicos magnéticos

523

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.

Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Elemental analyses of MILs were obtained using a Perkin Elmer 2100 Series II CHN/S Analyzer (Waltham, MA, USA). Mass spectra of MILs were obtained using an Agilent 6230 TOF LC/MS (Santa Clara, CA, USA). A Renishaw Raman Spectrometer equipped with an Ar-ion laser operated at 488 nm and a charge coupled device detector was employed to record the Raman spectra.

2.3. Procedures

2.3.1. Cap design for vacuum MIL-HS-SDME and modification of the headspace vial

To perform the experiments in this study, a special cap was necessary for vacuum MIL-HS-SDME. The cap must permit the exposure of the magnet containing the MIL within the HS of the vial, but must also allow for the evacuation of the air within the vial and ensure a leak-tight seal. With these objectives, a polytetrafluoroethylene (PTFE)/silicone septum (Sigma-Aldrich) was pierced to introduce a NdFeB rod magnet (0.5 cm of diameter x 5 cm of thick, B = 0.66 T) from K&J Magnetics, Inc. (Pipersville, PA, USA). A pipette plastic bulb was coupled to a stainless steel screw cap (open-top, 8 mm center hole, Sigma-Aldrich). The pipette bulb with the cap and the rod magnet in the septum were assembled, as shown in Figure 1 (Step 1). The modified cap was then attached to a 20 mL thread, clear glass vial (Sigma-Aldrich).

Once vacuum MIL-HS-SDME was completed, the MIL containing enriched analytes was subjected to HSD. A modified HSD vial was also developed following the adaptation proposed by Zhang *et al.* [20]. In this case, 10 mL HS sampling glass vials (Agilent Technologies) were filled with 12.5 g of glass beads (3 mm diameter). A glass insert containing a flat bottom was placed inside the vial and a crimped silver aluminum cap with a PTFE/silicone septum (Agilent Technologies) was used to seal the system. The modified vial contained a HS volume of 4.2 mL. A scheme of the device is represented in Figure 1 (step 5).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

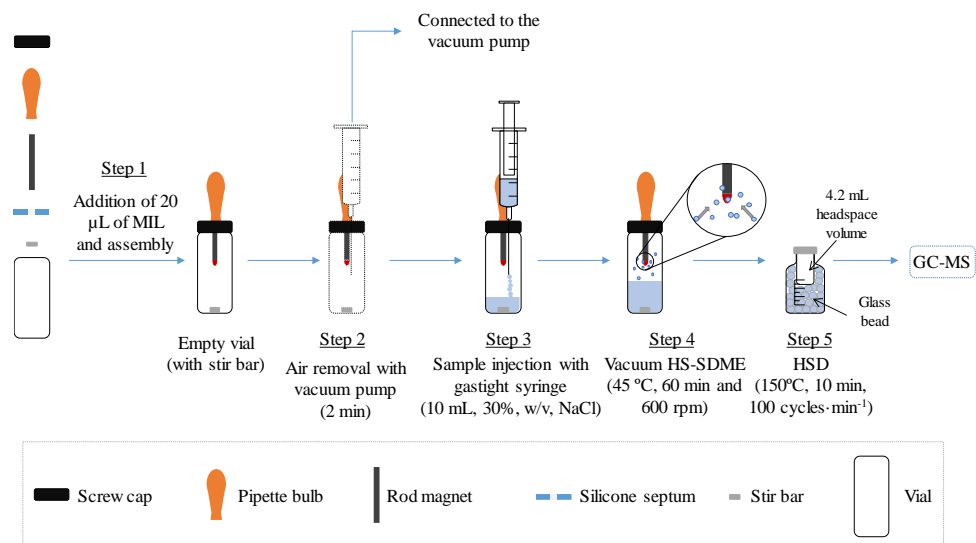


Figure 1. Schematic of the vacuum MIL-HS-SDME procedure under optimum conditions.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
 UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

2.3.2. Vacuum MIL-HS-SDME and MIL-HS-SDME procedures

The vacuum MIL-HS-SDME procedure is summarized in Figure 1. The modified cap was assembled and a certain volume of MIL was placed on the end of the rod magnet. The cap was then screwed onto a 20 mL empty vial containing a magnetic PTFE stir bar (15 mm × 4.5 mm; Sigma-Aldrich) (step 1 of Figure 1). The reduced pressure conditions inside the vial were achieved using a vacuum pump. The tubing of the vacuum pump was connected to the barrel of a 5 mL plastic medical syringe equipped with a detachable 22 gauge metallic needle possessing a beveled tip (Sigma-Aldrich). The needle was inserted through the pipette bulb and the septum of the cap and the air was evacuated for 2 min (Figure 1, step 2). Then, 10 mL of aqueous sample containing analytes and 30% (w/v) of NaCl was injected to the device through the same hole using a 10 mL Hamilton® gastight syringe (Sigma-Aldrich) (Figure 1, step 3) and the vial was immediately placed on the magnetic stir plate. Vacuum MIL-HS-SDME extraction was carried out by exposing the MIL to the HS of the vial and under control of the extraction time, temperature and agitation speed. The system was then opened, and the vial was allowed to equilibrate to atmospheric pressure. A microdroplet of MIL containing extracted analytes was transferred to a HS vial of 10 or 4.2 mL, depending on the experiment, for HSD and GC-MS analysis (Figure 1, step 5). Each experiment was repeated in triplicate (n = 3).

Under optimum conditions, 20 µL of P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ MIL were placed on the rod magnet, and vacuum MIL-HS-SDME was performed at 45 °C for 60 min using an agitation speed of 600 rpm.

For MIL-HS-SDME (at atmospheric pressure), extractions were performed using 20 µL of P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ MIL using the modified device of vacuum MIL-HS-SDME to mimic the same HS of both methodologies. A similar procedure to that used for vacuum MIL-HS-SDME was performed, but without the air evacuation step (Figure 1, step 2). Experiments were repeated in triplicate (n = 3).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

2.3.3. Quality assurance and quality control procedures

The quality assurance and quality control of the developed method was evaluated by the determination of the analytical performance of the entire method, the reproducibility, the extraction efficiency and the relative recovery.

The calibration curves of each FFA using the entire method of vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS were obtained by using external calibration.

The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) were estimated using the signal to noise ratio method. This methodology is based on the measuring of the chromatographic noise corresponding to blank samples which have been subjected to the entire method. The LODs and the LOQs were calculated as three or ten time the signal to noise ratio, respectively.

The reproducibility was estimated as the relative standard deviation (RSD). The extraction performance was determined by the enrichment factors (E_F). The E_F values were calculated as the ratio between the predicted concentration obtained using HSD-GC-MS calibration curves (without the vacuum MIL-HS-SDME step) and the spiked concentration of each FFA. Table S3 of the Annex Material includes the analytical performance of the HSD-GC-MS calibration curves. 20 μ L of the FFA standard solutions in acetonitrile were placed in the modified HSD vials and subjected to the HSD-GC-MS analysis to obtain these calibration curves. The relative recovery (RR) was calculated as the ratio of the predicted concentration obtained using the calibration curves of the entire method and the spiked concentration of each FFA.

The total uncertainty of the analytical results was estimated following the *bottom-up* approach adopted by the International Organization for Standardization (ISO) [21]. The *bottom-up* approach estimates the total uncertainty by the identification and combination of all uncertainty sources associated with the analytical results [22,23]. In this study, the most important contribution to the uncertainty is associated with the calibration. Thus, the total uncertainty was estimated as the calibration uncertainty and considering a coverage factor (k) of 2.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

3. Results and discussion

3.1. Selection of the MIL

In this study, direct GC-MS injection of the MIL containing FFAs after vacuum MIL-HS-SDME was not possible due to the incompatibility of IL solvents with GC. Therefore, we proposed the combination of the extraction method with HSD-GC-MS. The HSD step was carried out using a HS sampler unit to ensure the volatilization of analytes from the MIL (without volatilization of the MIL) followed by their transfer to GC-MS without loss of sensitivity.

The criteria for MIL selection were based on both their compatibility with the vacuum MIL-HS-SDME procedure as well as with the subsequent HSD-GC-MS analysis. The nature of the MIL should also be suitable for the extraction of the target analytes. A hydrophobic MIL possessing a relatively high viscosity is needed to ensure that the MIL microdroplet does not fall from the rod magnet during the air evacuation step (Figure 1, step 2). High thermal stability of the MIL is also mandatory to desorb analytes from the solvent during the HSD step but to avoid volatilization and/or degradation of the MIL. This last requirement is especially important because degradation products from the MIL may generate peaks within the GC-MS chromatogram that can interfere in the determination of the analytes. Several different MILs were selected as possible extraction solvents, including (aliquat)₂-MnCl₄, (P_{6,6,6,14})₂-MnCl₄, P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄ and P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃. 20 mg of each MIL were placed in 10 mL HS vials and HSD-GC-MS experiments were performed using the SCAN mode. Figure 2 shows representative HSD-GC-MS chromatograms obtained after these experiments. The observed chromatographic peaks were due to the degradation products of the MIL and were generated by applying extreme conditions of temperature and pressure in the HSD (10 min of equilibration time, 200 °C, 215 °C and 225 °C as oven, loop and transfer line temperatures, respectively, and agitation at 36 cycles·min⁻¹). Thus, it can be assumed that each chromatogram represents the background of the MIL in the GC-MS under these conditions. From Figure 2, higher backgrounds were observed using MILs containing MnCl₄²⁻ anions, with (aliquat)₂-MnCl₄ possessing the highest background.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

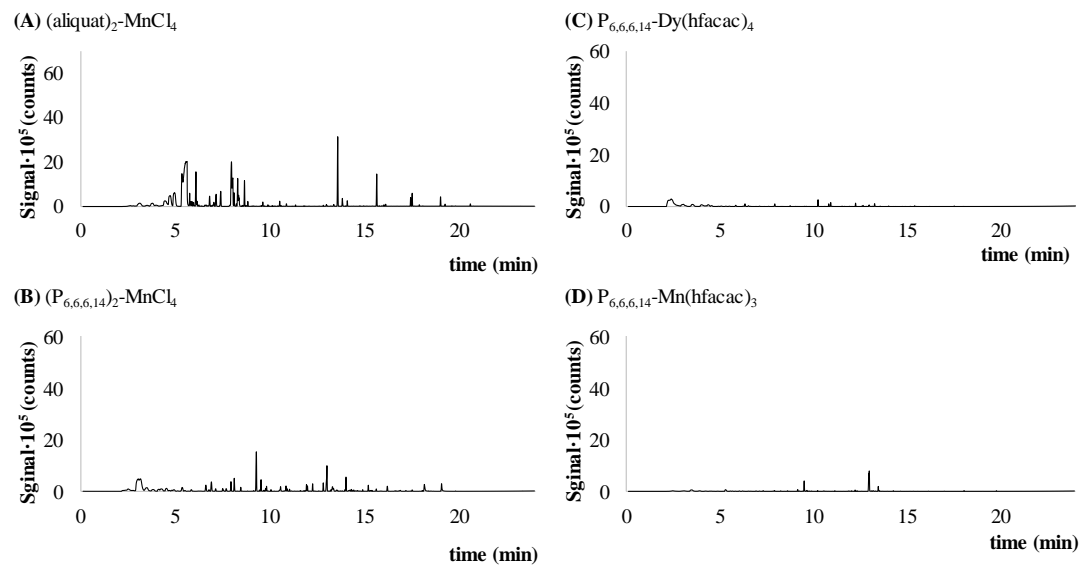


Figure 2. Representative chromatograms showing the background for different MILs in the HSD-GC-MS method. *Experimental conditions:* 20 mg of MIL in a 10 mL HS vial, HSD (10 min, 200 °C oven, 21 °C loop and 225 °C transfer line, agitation at 36 cycles·min⁻¹), inlet (220 °C), separation in a HP-5ms column (30 m L. × 0.250 mm I.D. × 0.25 μm of film thickness, Agilent Technologies), oven GC program (initial: 80°C; 10°C·min⁻¹ up to 320°C), MS detection (EI, SCAN mode, m/z range: 50–600).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

The use of P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄ and P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ in HSD-GC-MS resulted in drastically reduced backgrounds (Figure 2 (C) and (D)). From these two MILs, the P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ MIL possesses a relatively high viscosity (see Table 1) making it more suitable for vacuum MIL-HS-SDME; therefore, it was selected for subsequent method development.

3.2. HSD-GC-MS analysis

After selecting the most suitable MIL, separation and detection of the studied FFAs was optimized using HSD-GC-MS. The HSD unit is an extra module of the GC-MS. It permits to volatilize analytes present in the desorption vial by heating, pressurization and agitation. The HSD unit operates in fill mode, meaning that all desorbed analytes are transferred to the GC injector. Section 2.2 details the optimum GC-MS conditions. The key aspect to developing the HSD-GC-MS methodology was optimization of the parameters for the HSD step. The oven temperature of the HSD did not exceed the boiling point of the analytes (206 °C, corresponding with the boiling point of *n*-C₆), while the loop and transfer line temperatures were always 15 °C and 25 °C higher than the oven temperature. In this particular application, the maximum signal for the analytes was reached at an oven temperature of 150 °C (with the loop and transfer line temperature at 165 °C and 175 °C, respectively). These mild temperature conditions aided in generating a much lower background of the P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ MIL. Regarding the equilibration time during the HSD, equilibration times longer than 10 min did not significantly improve the sensitivity of the analytes, while an increase in the stirring rate up to 100 cycles·min⁻¹ provided high sensitivity of analytes. As a result, the typical chromatograms of FFAs obtained after vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS (SIM mode) are those represented in Figure 3 (in red). In Figure 3, a chromatogram from the extraction of a blank (only ultrapure water, no analytes) is overloaded (in black). No interferences from the blank were observed. The total time of the HSD step was ~15 min.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

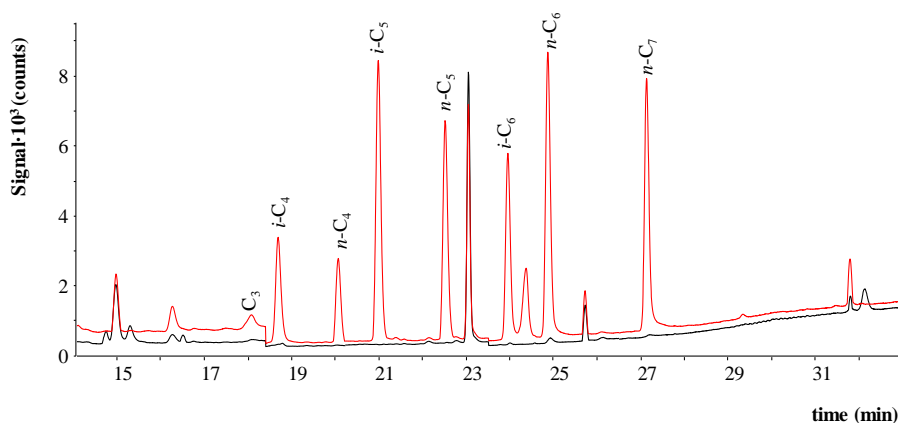


Figure 3. Chromatograms obtained after vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS (optimum conditions) using an aqueous solution containing FFAs at $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (in red), and an aqueous solution without FFAs (in black).

3.3. Influence of the extraction time in vacuum MIL-HS-SDME and MIL-HS-SDME

The first objective of this study was to determine the enhancement in analyte extraction efficiency when reduced pressure conditions are combined with MIL-HS-SDME. The influence of the extraction time was studied in the range between 20 and 100 min using both vacuum MIL-HS-SDME and MIL-HS-SDME (with no vacuum). Previous studies reported the positive effect from the addition of salt for the extraction of FFAs by similar approaches that used the HS as an intermediate phase [7,24,25]. Thus, a 30% NaCl (w/v) content was set to favor the transfer of the analytes to the HS. The sample volume was fixed at 10 mL to ensure adequate preconcentration and the spiked level of analytes was $0.02 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. $20 \mu\text{L}$ of the $\text{P}_{6,6,6,14}\text{-Mn}(\text{hfacac})_3$ MIL was added to the rod magnet and the extraction time was kept at $35 \text{ }^\circ\text{C}$ with a stirring speed of 400 rpm in all experiments. The subsequent HSD was performed using 10 mL HS vials and the conditions described in Section 2.2.

The extraction time profiles obtained using vacuum MIL-HS-SDME and atmospheric pressure MIL-HS-SDME are represented in Figure 4. When MIL-HS-SDME experiments were performed without vacuum, analytes did not achieve equilibration in the range of times studied. On the contrary, the majority of analytes achieved equilibrium at 60 min using vacuum MIL-HS-SDME. Furthermore, an enhancement in the extraction

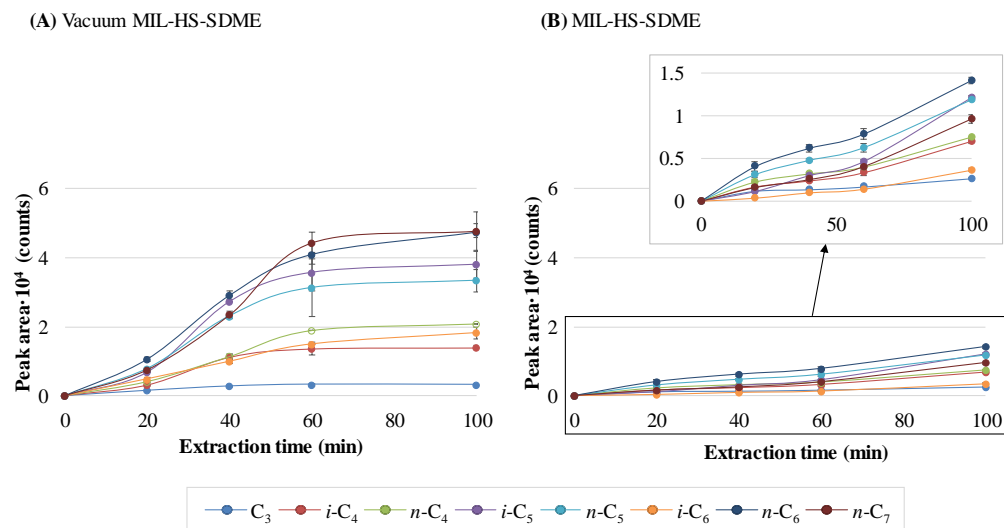


Figure 4. Comparison of the extraction-time profiles obtained after MIL-HS-SDME performed under reduced pressure conditions – vacuum MIL-HS-SDME (A) – or atmospheric pressure conditions –MIL-HS-SDME (B)–. Experimental conditions (n = 3): 20 μ L of $P_{6,6,6,14}$ -Mn(hfacac)₃, 10 mL ultrapure water containing 30% (w/v) NaCl and 0.02 mmol·L⁻¹ of FFAs, 35 °C extraction temperature, 400 rpm stirring speed, followed by HSD in 10 mL headspace vials, and GC-MS.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

efficiency was observed at any extraction time when reduced pressure conditions were applied. This enhancement was more drastic for less volatile compounds, especially for *i*-C₆, for which vacuum MIL-HS-SDME provided peak areas up to 14 times higher than MIL-HS-SDME (see Table S4 of the Annex Material). For more volatile compounds (from C₃ to *i*-C₅, with the exception of *n*-C₄), the highest ratios of peak area for vacuum MIL-HS-SDME *versus* MIL-HS-SDME were achieved at 40 min, while 60 min was required to observe the highest differences between both techniques in the case of less volatile FFAs and *n*-C₄ (Table S4 of the Annex Material). This improvement in the extraction efficiency using reduced pressure conditions is in agreement with results reported for vacuum HS-SPME for the same compounds [7].

Based on these results, vacuum MIL-HS-SDME was selected as the optimum HS-SDME procedure for the determination of FFAs using an optimal extraction time of 60 min.

3.4. Optimization of other parameters influencing vacuum MIL-HS-SDME

After demonstrating the superior extraction efficiency of vacuum MIL-HS-SDME, other parameters that influence the extraction performance were optimized, including the MIL volume, the extraction temperature, and the stirring rate. The remaining parameters were fixed for the same reasons explained in Section 3.2 and 3.3 (P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ as MIL, 10 mL of sample containing 30% (w/v) of NaCl, a spiked level of 0.022 mmol·L⁻¹ and subsequent HSD using 10 mL HS vials). Experiments were performed in triplicate (n = 3).

3.4.1. Influence of MIL volume

Drop stability during SDME is an essential condition for successful use of the technique [26]. When conventional SDME is performed by exposure of the extraction solvent using a micro-syringe, the stability of the microdroplet hanging from the needle tip is limited. In addition, agitation of the sample can cause perturbations in the microdroplet resulting in its detachment from the needle tip. The marriage of MILs to the rod magnet support allows for larger extraction solvent volumes to be exposed. Thus, the extraction volume in conventional SDME is on the order of 1–3 μL while MIL-HS-SDME permits larger volumes to be employed without sacrificing microdroplet stability.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

In vacuum MIL-HS-SDME, the influence of the MIL volume was studied in the range between 10 and 30 μL . Figure S2 of the Annex Material shows the obtained extraction efficiencies of all FFAs expressed as chromatographic peak areas. No significant differences in reproducibility were found within all ranges of volumes studied, showing that the MIL microdroplet is stable at the studied extraction conditions. However, volumes higher than 30 μL detached from the needle tip during the air evacuation step. Figure S2 of the Annex Material also reveals that the extraction efficiencies of all FFAs, with the exception of C_3 , initially increased when the MIL volume was increased from 10 μL to 20 μL and then decreased at MIL volumes higher than 20 μL , probably because diffusion is slower when higher microdroplet volumes are employed. This behavior was not observed for the highly volatile compound C_3 , for which the extraction efficiency reached a maximum using 30 μL of MIL. However, a MIL volume of 20 μL was selected as the optimum value.

3.4.2. Influence of the extraction temperature

Extraction temperature is another important parameter in HS-SDME [27]. The influence of this variable was studied for vacuum MIL-HS-SDME in the range between 25 and 55 $^{\circ}\text{C}$. When the temperature was increased at values higher than 55 $^{\circ}\text{C}$, the MIL microdroplet became unstable due to undesirable water microdroplets that deposited around the MIL.

The results obtained are represented in Figure S3 of the Annex Material. For most volatile analytes (from C_3 to $n\text{-C}_5$), the extraction efficiency increased with increasing temperature up to an optimum value, where the extraction efficiency was then observed to decrease. The optimal temperatures were 35 $^{\circ}\text{C}$ for $n\text{-C}_4$ and 45 $^{\circ}\text{C}$ for the rest of the FFAs. The initial increment is likely due to an increase in the sample temperature which favors mass transfer of the analyte to the HS as long as the vapor pressure of the analytes decrease. However, higher temperatures may coincide with a more pronounced decrease in the vapor pressure resulting in analytes that reside in the gas phase rather than in the MIL microdroplet prompting a decrease in the amount of analyte extracted.

A final decrease in the extraction efficiency at higher extraction temperatures was not observed for the less volatile analytes ($i\text{-C}_6$, $n\text{-C}_6$ and $n\text{-C}_7$). Thereby, $i\text{-C}_6$ did not achieve equilibration in the temperature range studied and the extraction efficiency

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

increased with higher temperature. Meanwhile, *n*-C₆ and *n*-C₇ achieved equilibrium at ~40 and 45 °C, respectively, and the extraction efficiency was kept constant at higher extraction temperatures. Therefore, 45 °C was selected as the optimum (and mild) extraction temperature for vacuum MIL-HS-SDME.

3.4.3. Influence of stirring rate

The mass transfer of analytes to the headspace in HS-SDME can be accelerated by the application of constant stirring [28,29]. The effect of stirring rate in vacuum MIL-HS-SDME was investigated by performing experiments between 200 and 600 rpm. The obtained results are shown in Figure S4 of the Annex Material. The results indicate that microdroplet stability was independent of the studied stirring rate. However, stirring rates higher than 600 rpm caused detachment of the MIL microdroplet. Based on these results, an optimum stir rate of 600 rpm was selected.

3.4.4. Ensuring a higher preconcentration in the entire method

After optimization of vacuum MIL-HS-SDME method, another parameter to consider is the phase ratio in the subsequent step of HSD step [20]. The HSD phase ratio is defined by the ratio between the volume of the gas phase (or HS volume) and the initial volume (or MIL microdroplet volume). An improvement in the preconcentration of the entire method should result by the reduction of the HSD phase ratio. Two strategies can be applied to achieve this goal: (1) increase the MIL microdroplet volume or (2) decrease the HS volume.

Increasing the MIL microdroplet volume is not possible because, as discussed in Section 3.4.1, this parameter also has an important influence in vacuum MIL-HS-SDME with 20 µL being the optimum MIL volume.

Thus, the effect of reducing the HS volume was investigated. Experiments were performed using optimum conditions for vacuum MIL-HS-SDME by varying the HS vial size during the HSD step. The smallest commercially available HS vials with a volume of 10 mL and a modified HS vial with a HS volume of 4.2 mL (see Section 2.3.2) were examined. Therefore, the HSD phase ratio was reduced from 500 (10 / 0.020) to 210 (4.2 / 0.02), respectively. As theory predicted, the reduction of the HS volume in the HSD

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(from 10 to 4.2 mL) ensured a higher overall method preconcentration. The extraction efficiency of FFAs increased from 39 to 62% using the modified 4.2 mL HS vials (see Table S5 of the Annex Material). Similar behavior was previously reported for the extraction of polychlorinated biphenyls (PCBs) using *in situ* IL-DLLME coupled to HSD-GC-electron capture detector (ECD) [20]. The response of PCBs was increased from 20 to 40% by employing similar 4.2 mL HS vials during the HDS step [20]. Based on this result, 4.2 mL was selected as optimum HS volume in the HSD step.

3.5. Analytical performance

Evaluation of the analytical performance for the vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS method was investigated in terms of the linearity ranges, correlation coefficients (R), sensitivities, limit of detections (LODs), and limit of quantifications (LOQs). The procedure for the determination of these parameters was described in Section 2.3.3. Table 2 summarizes the obtained results for the studied FFAs.

The calibration curves produced wide linearity ranges, from 0.1 to 13 mg·L⁻¹, and R ranged between 0.990 and 0.997. The sensitivity of the method, expressed as the slopes of the calibration curve, was between $(0.43 \pm 0.03) \cdot 10^{-4}$ for C₃ and $(7.9 \pm 0.2) \cdot 10^{-4}$ for *n*-C₆.

The LODs and LOQs were estimated and verified as described in Section 2.3.3. Low LODs were obtained, ranging between 14.5 µg·L⁻¹ for *i*-C₅ and 216 µg·L⁻¹ for C₃.

The reproducibility and extraction performance of the method were also evaluated and the results are shown in Table 3. The reproducibility was estimated as RSD of intra-day experiments, and at two different spiked levels of FFAs (n = 3). For the low spiked level 1, acceptable RDS values were reported and ranged from 2.5% for C₃ to 13% for *n*-C₄.

The extraction performance of the vacuum MIL-HS-SDME method was studied by determining the E_F values at two spiked levels of FFAs (Table 3), as described in Section 2.3.3. For the spiked level 1, the obtained E_F values ranged between 15 and 31.

The accuracy of the method was evaluated using the RR and using the calibration curves reported in Table 2. Results are presented in Table 3 for the two spiked levels. RR values between 79.5% and 94.4% were achieved for the spiked level 1.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/	
Identificador del documento: 909081	Código de verificación: iXUN5hdy
Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 2. Analytical performance of the vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS method (n = 9 calibration levels).

Analyte	Working range (mg·L ⁻¹)	(Slope ± SD ^a)·10 ⁻⁴	R ^b	S _{y/x} ^c ·10 ⁻⁴	LOD ^d (µg·L ⁻¹)	LOQ ^e (µg·L ⁻¹)
C ₃	0.8 - 7.6	0.43 ± 0.03	0.990	0.17	216	721
<i>i</i> -C ₄	0.2 - 8.7	2.8 ± 0.1	0.996	0.78	70.1	234
<i>n</i> -C ₄	0.8 - 8.7	2.5 ± 0.1	0.991	1.0	47.3	158
<i>i</i> -C ₅	0.3 - 10	7.7 ± 0.3	0.996	2.5	14.5	48.4
<i>n</i> -C ₅	0.3 - 5.2	4.9 ± 0.2	0.996	0.82	55.3	184
<i>i</i> -C ₆	0.3 - 11	3.5 ± 0.1	0.997	1.1	70.3	234
<i>n</i> -C ₆	0.1 - 11	7.9 ± 0.2	0.996	2.8	21.3	71.0
<i>n</i> -C ₇	0.1 - 13	6.5 ± 0.3	0.995	3.1	17.5	58.2

^a standard deviation of the slope^b correlation coefficient^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)^d limit of detection, calculated as 3 times the signal-to-noise ratio^e limit of quantification, calculated as 10 times the signal-to-noise ratio

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table 3. Analytical performance of the vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS method in terms of extraction efficiency and reproducibility.

Analyte	Spiked level 1				Spiked level 2			
	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	RR ^b (%)	E _F ^c	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^a (%)	RR ^b (%)	E _F ^c
C ₃	0.95	2.5	94.4	15	2.7	4.4	109	7.6
<i>i</i> -C ₄	1.1	7.7	79.5	17	3.1	4.9	97.5	13
<i>n</i> -C ₄	1.1	13	86.3	15	3.1	5.9	100	11
<i>i</i> -C ₅	1.3	6.5	88.6	18	3.6	7.4	97.4	20
<i>n</i> -C ₅	1.3	3.3	89.8	18	3.6	9.1	111	18
<i>i</i> -C ₆	1.4	5.6	93.7	24	4.0	11	104	33
<i>n</i> -C ₆	1.4	6.3	87.1	26	4.0	6.9	106	34
<i>n</i> -C ₇	1.6	8.5	93.9	31	4.6	6.8	107	37

^a relative standard deviation (n = 4)^b relative recovery^c enrichment factor

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

The developed method was also compared with other reported methods for the determination of FFAs (Table S6 and Table S7 of the Annex Material). Thus, if the proposed method is compared with conventional methods that utilize GC-MS [15], it can be highlighted that the proposed method does not require any derivatization of the analytes. Furthermore, the proposed method is solvent-free, contributing to a safer methodology [1]. On the other hand, the proposed vacuum MIL-HS-SDME represents an alternative to other HS-SPME methods such as multiple headspace (MHS)-SPME [24] and vacuum HS-SPME [7]. Compared to MHS-SPME, this technique is easier and requires shorter sampling time as long as MHS-SPME implies four successive HS-SPME extractions of the same extraction vial [24]. In addition, although shorter sampling times are required for vacuum HS-SPME, the possibility of performing parallel extractions in vacuum MIL-HS-SDME demonstrates its higher throughput. Thus, the proposed methodology can be included in the GAC [1,2].

3.6. Analysis of milk samples

The method was applied for the analysis of a low fat milk (with less than $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ of total fat) and an organic fat reduced milk (with a total content of $19 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ of fat). The primary component found in milk lipids is triacylglycerides, compounds consisting of a glycerol molecule linked to three fatty acid chains that yield a triester [13]. FFAs are formed in milk by the enzymatic breakdown of the triacylglycerides [13]. Thus, milk with different fat contents are suspected to contain different amounts of FFAs. Table 4 shows the estimated value of FFAs for both samples. In the case of the low fat milk, *i*-C₄ was not detected while C₃ was detected but not quantified. The remaining FFAs were quantified, with concentrations between $0.6 \pm 0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $0.7 \pm 0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. When the organic fat reduced milk was analyzed, *i*-C₅ could not be detected. For the rest of the FFAs, the estimated concentration was higher with respect to the low fat milk, and the concentration of FFA ranged from $0.7 \pm 0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to $5.5 \pm 0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The FFA values obtained are in accordance with the fat content reported for milk manufacturers, with low fat milk having the lowest amount. Similar amounts of short chain FFAs were detected with other reported procedures [7,15], with main features summarized in Table S6 and Table S7 of the Annex Material. The current method shows similar analytical performance but minimizes the extraction time while requiring low extractant (MIL) volumes and no derivatization of FFAs.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table 4. Analysis of milk samples using the vacuum MIL-HS-SDME-HSD-GC-MS method under optimum conditions.

Analyte	Concentration found \pm U ^a (mg·L ⁻¹)	
	Low fat milk	Organic fat reduced milk
C ₃	>LOD, <LOQ ^b	5.5 \pm 0.3
<i>i</i> -C ₄	n.d. ^c	0.7 \pm 0.2
<i>n</i> -C ₄	0.6 \pm 0.3	4.4 \pm 0.3
<i>i</i> -C ₅	0.7 \pm 0.3	n.d. ^c
<i>n</i> -C ₅	0.6 \pm 0.1	1.6 \pm 0.1
<i>i</i> -C ₆	0.7 \pm 0.2	0.8 \pm 0.2
<i>n</i> -C ₆	0.6 \pm 0.3	1.6 \pm 0.3
<i>n</i> -C ₇	0.6 \pm 0.4	1.1 \pm 0.4

^a calibration uncertainty

^b detected but non-quantified

^c non-detected

4. Conclusions

It has been successfully demonstrated the possibility of using vacuum HS-SDME for first time. The use of relatively large amounts of MILs suspended onto a rod magnet in the HS of a sample (i) while permitting the use of reduced pressure conditions (ii) are benefits derived from the magnetic characters of these solvents.

The proposed vacuum MIL-HS-SDME method provides a powerful approach for the determination of a group of short chain FFAs (from C₃ to *n*-C₇), responsible for the aroma of milk and other dairy products.

The advantages exploited by reduced pressure conditions are demonstrated using the P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃ MIL as extraction solvent. With the proposed method, analytes reach equilibrium faster than regular atmospheric pressure MIL-HS-SDME (thus supporting the need of a vacuum approach) and, in addition, an enhancement in the extraction efficiency for all analytes was demonstrated when vacuum MIL-HS-SDME was applied at any extraction time.

As additional advantages, the method does not require the derivatization of the FFAs to their methyl ester analogues and, combined with HSD, analytes are determined in an automated approach using GC-MS without any interferences coming from the MIL solvent. After proper optimization and validation of the entire method, a comparison with other reported methods for FFAs determination revealed similar throughput and

sensitivity. Furthermore, the applicability of the method is demonstrated with the analysis of milks containing different fat content.

Acknowledgements

MJT-R thanks the Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información (ACIISI), co-funded by the European Social Fund, for her FPI PhD fellowship. VP acknowledges funding from the Spanish Ministry of Economy (MINECO) project ref. MAT2014-57465-R. JLA acknowledges funding from Chemical Measurement and Imaging Program at the National Science Foundation (Grant number CHE-1413199). Stephen Pierson is acknowledged for synthesizing the MILs used in the study.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

References

- [1] S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, Trends Anal. Chem. 71 (2015) 2–8.
- [2] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 50 (2013) 78–84.
- [3] J.M. Kolosa, Trends Anal. Chem. 71 (2015) 194–204.
- [4] E. Psillakis, E. Yiantzi, L. Sanchez-Prado, N. Kalogerakis, Anal. Chim. Acta 742 (2012) 30–36.
- [5] E. Psillakis, E. Yiantzi, N. Kalogerakis, J. Chromatogr. A 1300 (2013) 119–126.
- [6] E. Yiantzi, N. Kalogerakis, E. Psillakis, Anal. Chim. Acta 927 (2016) 46–54.
- [7] M.J. Trujillo-Rodríguez, V. Pino, E. Psillakis, J.L. Anderson, J.H. Ayala, E. Yiantzi, A.M. Afonso, Anal. Chim. Acta (2017) 41–51.
- [8] K.D. Clark, O. Nacham, J.A. Purslow, S.A. Pierson, J.L. Anderson, Anal. Chim. Acta 934 (2016) 9–21.
- [9] H. Yu, J. Merib, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A 1463 (2016) 11–19.
- [10] M.J. Trujillo-Rodríguez, O. Nacham, K.D. Clark, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, Anal. Chim. Acta 934 (2016) 106–113.
- [11] T. Chatzimitakos, C. Binellas, K. Maidatsi, C. Stalikas, Anal. Chim. Acta 910 (2016) 53–59.
- [12] J. An, K.L. Rahn, J.L. Anderson, Talanta 167 (2017) 268–278.
- [13] D.T. Mannion, A. Furey, K.N. Kilcawley, Int. J. Dairy Technol. 69 (2016) 1–12.
- [14] T. Zhou, J. Leng, Y. Peng, L. Zhang, Y. Guo, J. Sep. Sci. 39 (2016) 873–879.
- [15] B. Amer, C. Nebel, H.C. Bertram, G. Mortensen, K. Hermansen, T.K. Dalsgaard, Int. Dairy J. 32 (2013) 199–203.
- [16] A.A. Rincón, V. Pino, M.R. Fresno, A.I. Jiménez-Abizanda, S. Álvarez, J.H. Ayala, A.M. Afonso, Food Sci. Technol. Int. 23 (2017) 254–264.
- [17] R.E. Del Sesto, T.M. McCleskey, A.K. Burrell, G.A. Baker, J.D. Thompson, B.L. Scott, J.S. Wilkes, P. Williams, Chem. Commun. (2008) 447–449.
- [18] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A.M. Afonso, A. Irabien, J. Chem. Technol. Biotechnol. 89 (2014) 866–871.
- [19] S.A. Pierson, O. Nacham, K.D. Clark, H. Nan, Y. Mudryk, J.L. Anderson, New J. Chem. (2017) Under review.
- [20] C. Zhang, C. Cagliero, S.A. Pierson, J.L. Anderson, J. Chromatogr. A 1481 (2017) 1–11.
- [21] International Organization for Standardization (ISO), Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM), Geneva, 1993.
- [22] P. Konieczka, J. Namieśnik, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 882–891.
- [23] M. Michulec, P. Konieczka, J. Namieśnik, Accred. Qual. Assur 12 (2007) 257–262.
- [24] A.A. Rincón, V. Pino, J.H. Ayala, A.M. Afonso, Talanta 129 (2014) 183–190.
- [25] M.J. Trujillo-Rodríguez, H. Yu, W.T.S. Cole, T.D. Ho, V. Pino, J.L. Anderson, A.M. Afonso, Talanta 121 (2014) 153–162.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- [26] Ł. Marcinkowski, F. Pena-Pereira, A. Kloskowski, J. Namieśnik, Trends Anal. Chem. 72 (2015) 153–168.
- [27] L. Vallecillos, E. Pocurull, F. Borrull, Talanta 99 (2012) 824–832.
- [28] N. Cabaleiro, I. de la Calle, C. Bendicho, I. Lavilla, Talanta 129 (2014) 113–118.
- [29] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, C. Bendicho, Anal. Chim. Acta 669 (2010) 1–16.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Annex material

Table S1. Physicochemical properties of the FFAs studied. Data was obtained from SciFinder® Scholar.

Analyte	MW ^a (g·mol ⁻¹)	Solubility ^b ·10 ³ (mg·L ⁻¹)	d ^c (g·cm ⁻³)	BP ^d (°C)	VP ^e (Pa)	pKa (25 °C)	Log Kow ^f	(K _H ^g)·10 ⁷ (atm·m ³ ·mol ⁻¹)
C ₃	74.08	174	0.993	141.1	4.23	4.79	0.188	1.8
<i>i</i> -C ₄	88.11	49	0.950	152.0	217	4.85	0.541	9.7
<i>n</i> -C ₄	88.11	66	0.958	165.5	180	4.76	0.697	5.3
<i>i</i> -C ₅	102.1	25	0.931	176.5	73.9	4.78	1.05	13
<i>n</i> -C ₅	102.1	19	0.939	186.0	60.3	4.78	1.21	4.5
<i>i</i> -C ₆	116.2	11	0.939	200.5	17.5	4.78	1.56	17
<i>n</i> -C ₆	116.2	5.9	0.929	205.8	21.1	4.78	1.72	7.1
<i>n</i> -C ₇	130.2	2.0	0.918	222.2	7.73	4.78	2.23	8.8

^a molecular weight^b water solubility at 25°C^c density^d boiling point^e vapor pressure at 25°C^f logarithm of the octanol-water partition coefficient^g Henry's law constant, predicted data generated using the US Environmental Protection Agency's EPISuite, HENRYWIN v3.10; BOND METHOD

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S2. Retention time, quantifier and qualifier ions utilized for the identification and quantification of the target analytes in the GC-MS system. The segment program utilized in the MS during the single ion monitoring (SIM) acquisition is also included.

Analyte	Retention time \pm SD ^a (min)	Quantifier ion (m/z)	Qualifier ion (m/z)	Segment	Time (min)	Plotted ions
				1: C ₃	17.50	43; 45; 73; 74
C ₃	18.079 \pm 0.009	74	73			
				2: <i>i</i> -C ₄	18.50	41; 43; 73; 74
<i>i</i> -C ₄	18.676 \pm 0.009	43	73			
				3: <i>n</i> -C ₄ , <i>i</i> -C ₅ , <i>n</i> -C ₅	19.40	41; 43; 60; 73
<i>n</i> -C ₄	20.047 \pm 0.008	60	73			
<i>i</i> -C ₅	20.963 \pm 0.009	60	41			
<i>n</i> -C ₅	22.49 \pm 0.01	60	73			
				4: <i>i</i> -C ₆	23.50	57; 73; 74
<i>i</i> -C ₆	23.93 \pm 0.01	74	73			
				5: <i>n</i> -C ₆ , <i>n</i> -C ₇	24.5	41; 60; 73
<i>n</i> -C ₆	24.84 \pm 0.01	60	73			
<i>n</i> -C ₇	27.106 \pm 0.007	60	73			

* grey rows denoted segments in the SIM acquisition program

^a standard deviation (n = 20)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S3. Analytical performance of the HSD-GC-MS (without any microextraction procedure), obtained using 20 μ L of standard solutions of FFAs in acetonitrile (n = 7 calibration levels).

Analyte	Working range (mg·L ⁻¹)	(Slope \pm SD ^a)·10 ⁻³	R ^b	S _{y/x} ^c ·10 ⁻³	LOD ^d (mg·L ⁻¹)	LOQ ^e (mg·L ⁻¹)	Spiked level (mg·L ⁻¹)	RSD ^f (%)
C ₃	15 - 114	1.44 \pm 0.05	0.9970	4.3	12.9	13.8	45	2.3
<i>i</i> -C ₄	17 - 130	3.0 \pm 0.1	0.9945	14	16.1	17.0	52	2.6
<i>n</i> -C ₄	17 - 130	3.3 \pm 0.1	0.9974	11	13.3	14.5	52	1.9
<i>i</i> -C ₅	21 -154	3.8 \pm 0.1	0.9978	13	15.2	16.5	61	1.7
<i>n</i> -C ₅	21 -154	3.3 \pm 0.1	0.9990	7.8	12.6	13.8	61	0.88
<i>i</i> -C ₆	23 -170	1.00 \pm 0.03	0.9983	3.4	13.6	14.3	68	1.7
<i>n</i> -C ₆	23 - 170	2.4 \pm 0.1	0.9977	9.5	13.5	16.5	68	2.6
<i>n</i> -C ₇	26 -194	1.8 \pm 0.1	0.9967	10	16.5	19.6	78	2.7

^a standard deviation of the slope

^b correlation coefficient

^c standard deviation of the residuals (or error of the estimate)

^d limit of detection, calculated as 3 times the signal-to-noise ratio

^e limit of quantification, calculated as 10 times the signal-to-noise ratio

^f relative standard deviation, obtained at the specified spiked level

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S4. Enhancement in the extraction efficiency of FFAs observed using reduced pressure conditions during MIL-HS-SDME at different extraction times. The enhancement in the extraction efficiency was estimated by the peak area ratio between experiments performed using vacuum MIL-HS-SDME and atmospheric pressure MIL-HS-SDME. Experimental conditions (n = 3): 20 μL of $\text{P}_{6,6,6,14}\text{-Mn}(\text{hfacac})_3$, 10 mL ultrapure water containing 30% (w/v) NaCl and 0.02 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of FFAs, 20–100 min extraction time, 35 $^\circ\text{C}$ extraction temperature, 400 rpm stirring speed, followed by HSD in 10 mL headspace vials, and GC-MS.

Analyte	Peak area ratio vacuum MIL-HS-SDME versus atmospheric pressure MIL-HS-SDME			
	20 min	40 min	60 min	100 min
C_3	1.3	2.1	2.0	1.2
<i>i</i> - C_4	1.9	4.8	4.2	2.0
<i>n</i> - C_4	1.8	3.6	4.8	2.8
<i>i</i> - C_5	6.0	9.1	7.7	3.1
<i>n</i> - C_5	2.5	4.8	5.0	2.8
<i>i</i> - C_6	14	10	11	5.0
<i>n</i> - C_6	2.6	4.7	5.2	3.3
<i>n</i> - C_7	4.7	9.3	11	5.0

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table S5. Enhancement in the extraction efficiency of FFAs observed by changing the HS volume (from 10 to 4.2 mL) during the HSD step. Experimental conditions (n = 3): 20 µL of P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃, vacuum (2 min), sample injection (10 mL ultrapure water, 30% (w/v) of NaCl, 0.02 mmol·L⁻¹ of FFAs), vacuum HS-SDME (45 °C, 60 min, 600 rpm), HSD in 10 mL or 4.2 mL headspace vials, and GC-MS.

Analyte	Ratio of peak areas ^a	Percentage of enhancement (%) ^b
C ₃	2.6	62
<i>i</i> -C ₄	2.0	50
<i>n</i> -C ₄	1.9	47
<i>i</i> -C ₅	1.8	45
<i>n</i> -C ₅	1.7	41
<i>i</i> -C ₆	1.7	43
<i>n</i> -C ₆	1.7	40
<i>n</i> -C ₇	1.6	39

^a ratio of peak areas of experiences performed with 10 mL headspace vials versus 4.2 mL headspace vials

^b calculated as $((PA_{4.2\text{ mL}} - PA_{10\text{ mL}})/PA_{4.2\text{ mL}}) \cdot 100$, being $PA_{4.2\text{ mL}}$ and $PA_{10\text{ mL}}$ the peak areas obtained using 4.2 mL and 10 mL headspace vials, respectively

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Table S6. Analytical performance of methods reported for the determination of FFAs in milk and milk derivatives.

FFAs ^a	Sample	Extraction method / Extraction time (min)	Analytical technique	LOD ^b ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD ^c (%)	RR ^d (%)	Ref.
C ₄ -C ₁₂	milk	Derivatization of analytes & LLE using chloroform / n.r. ^e	GC-MS	5–20	<4	94–103	[15]
C ₂ - <i>n</i> -C ₇	cheese	MHS-SPME / 40 × 4 ^f	GC-FID	18–43 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	<13	62–98	[24]
<i>i</i> -C ₄ - <i>n</i> -C ₇	milk & yogurt	Vacuum HS-SPME / 20	GC-FID	0.14–13	<10	-	[7]
C ₃ - <i>n</i> -C ₇	milk	Vacuum MIL-HS-SDME / 60 ^g	HSD-GC-MS	14.5–216	<13	79.5–111	current study

^a short chain free fatty acids^b limit of detection^c relative standard deviation^d relative recovery^e non-reported value^f 4 extractions of 40 min are required for the extraction^g possibility of performing parallel extractions, thus reducing the total analysis time

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Table S7. Advantages and disadvantages of the proposed study and other methodologies reported in the literature for FFAs determination.

Extraction technique	Advantages	Disadvantages
Derivatization of analytes & LLE using chloroform [15]	*Exhaustive extraction	*Large extraction times *Large consumption of organic solvents *Unsafe methodology
MHS-SPME [24]	*Exhaustive extraction *Automated methodology *The method does not need to obtain calibration curves of the entire method *Safe methodology	*Large extraction times *A study of the <i>carry over</i> effect is required *Needed of carrying out 4 extractions per sample
Vacuum HS-SPME [7]	*Short extraction times (20 min) *Mild extraction conditions of extraction temperature and stirring *No organic solvent is required *Safe methodology	*A study of the <i>carry over</i> effect is required
Vacuum MIL-HS-SDME (current study)	*Possibility of perform parallel extraction (2 or more extractions at the same time) *No organic solvent is required *Absence of <i>carry over</i> *Safe methodology	*MILs are not yet commercially available

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

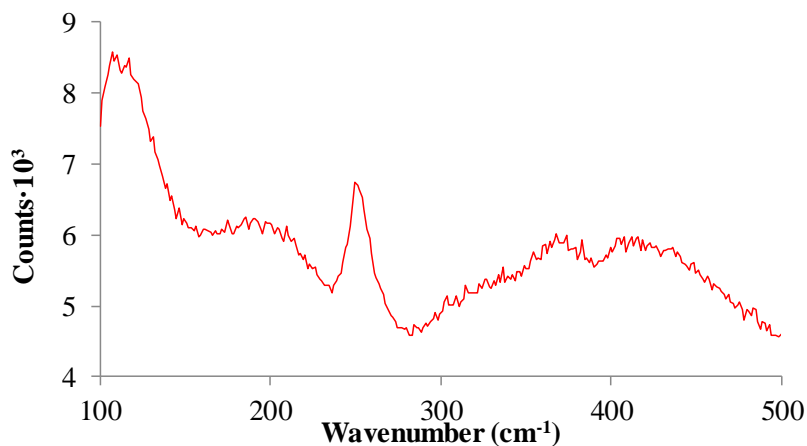
18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

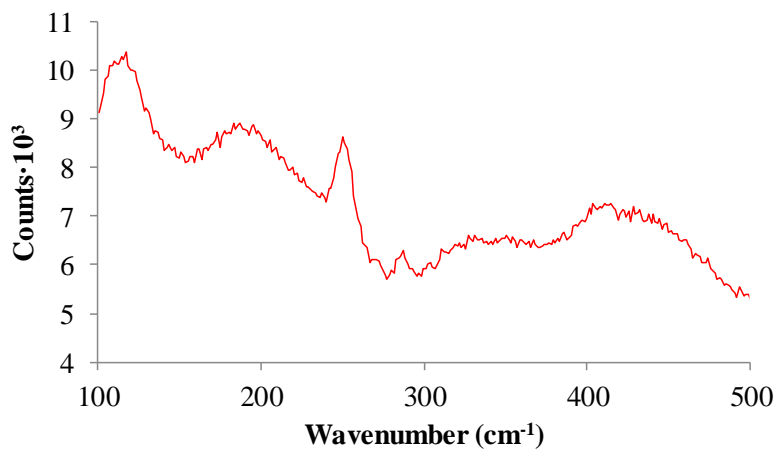
23/05/2017 14:48:09

Figure S1. Characterization of the synthesized MILs, being (A) Raman spectrum, of (aliquat)₂-MnCl₄, (B) Raman spectrum of (P_{6,6,6,14})₂-MnCl₄, (C) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄, and (D) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃.

(A) Raman spectrum of (aliquat)₂-MnCl₄



(B) Raman spectrum of (P_{6,6,6,14})₂-MnCl₄



551

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

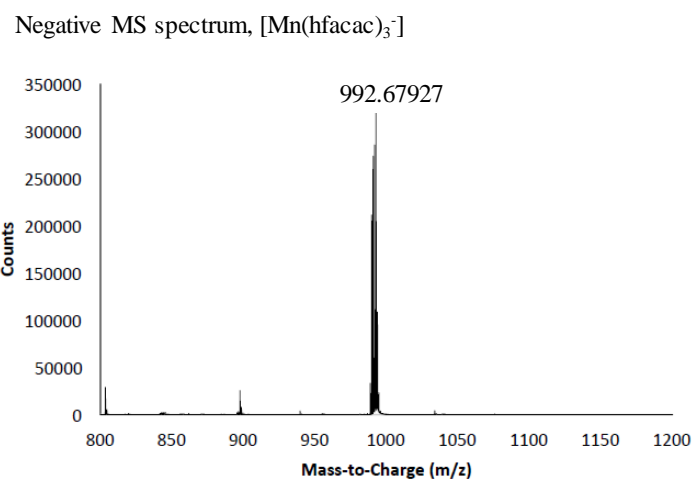
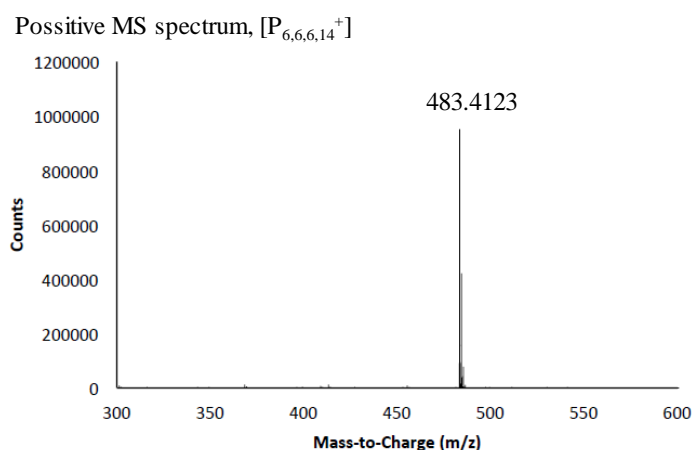
23/05/2017 14:48:09

Figure S1. (continued) Characterization of the synthesized MILs, being (A) Raman spectrum, of (aliquat)₂-MnCl₄, (B) Raman spectrum of (P_{6,6,6,14})₂-MnCl₄, (C) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄, and (D) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃.

(C) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄

Elem. anal. calcd (%) C₅₂H₇₂DyF₂₄O₈P · 2H₂O: C, 41.35; H, 5.07; N, 0.
 Found: C, 41.39; H, 4.74; N, 0.25

TOF LC/MS: m/z (+) 483.4; (-) 992.7.



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
 Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

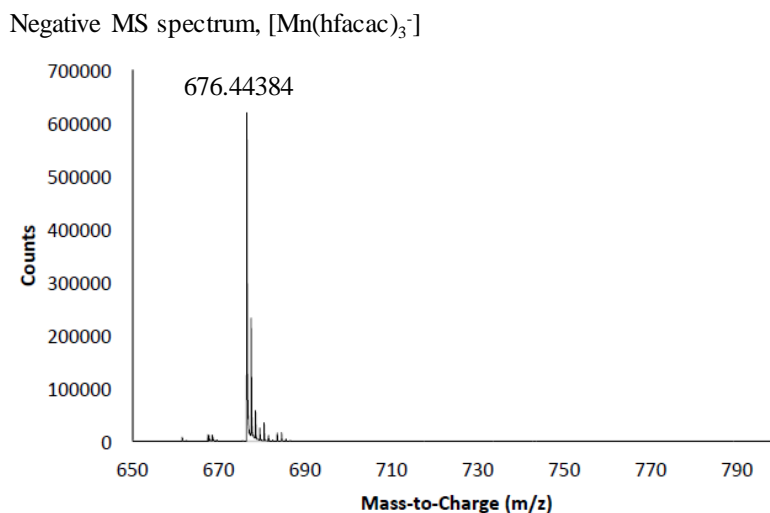
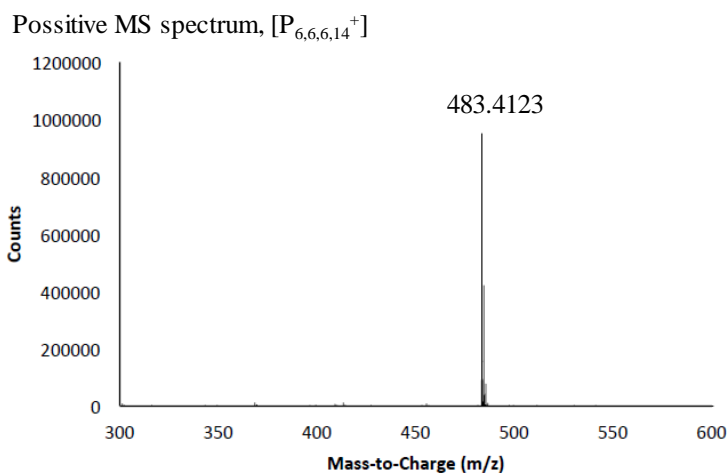
Figure S1. (continued) Characterization of the synthesized MILs, being (A) Raman spectrum, of (aliquat)₂-MnCl₄, (B) Raman spectrum of (P_{6,6,6,14})₂-MnCl₄, (C) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Dy(hfacac)₄, and (D) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃.

(D) Elemental analysis and TOF LC/MS spectra of (P_{6,6,6,14}-Mn(hfacac)₃)

Elem. anal. calcd (%) C₄₇H₇₁MnF₁₈O₆P: C, 48.67; H, 6.17; N, 0.

Found: C, 48.89; H, 6.22; N, 0.37.

TOF LC/MS: m/z (+) 483.4; (-) 676.4.



553

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 18/05/2017 09:16:38

VERONICA PINO ESTEVEZ
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:01:58

ANA MARIA AFONSO PERERA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

18/05/2017 13:57:35

ERNESTO PEREDA DE PABLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

23/05/2017 14:48:09

Figure S2. Influence of the MIL volume in vacuum MIL-HS-SDME. Experimental conditions (n = 3): 10–30 μL of $\text{P}_{6,6,6,14}\text{-Mn}(\text{hfacac})_3$, vacuum (2 min), sample injection (10 mL ultrapure water, 30% (w/v) of NaCl, 0.02 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of FFAs), vacuum HS-SDME (35°C, 40 min, 400 rpm), HSD in 10 mL headspace vials, and GC-MS.

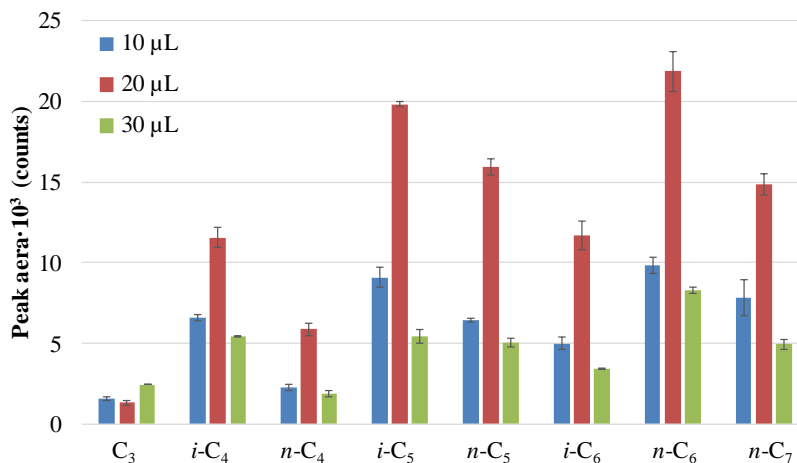
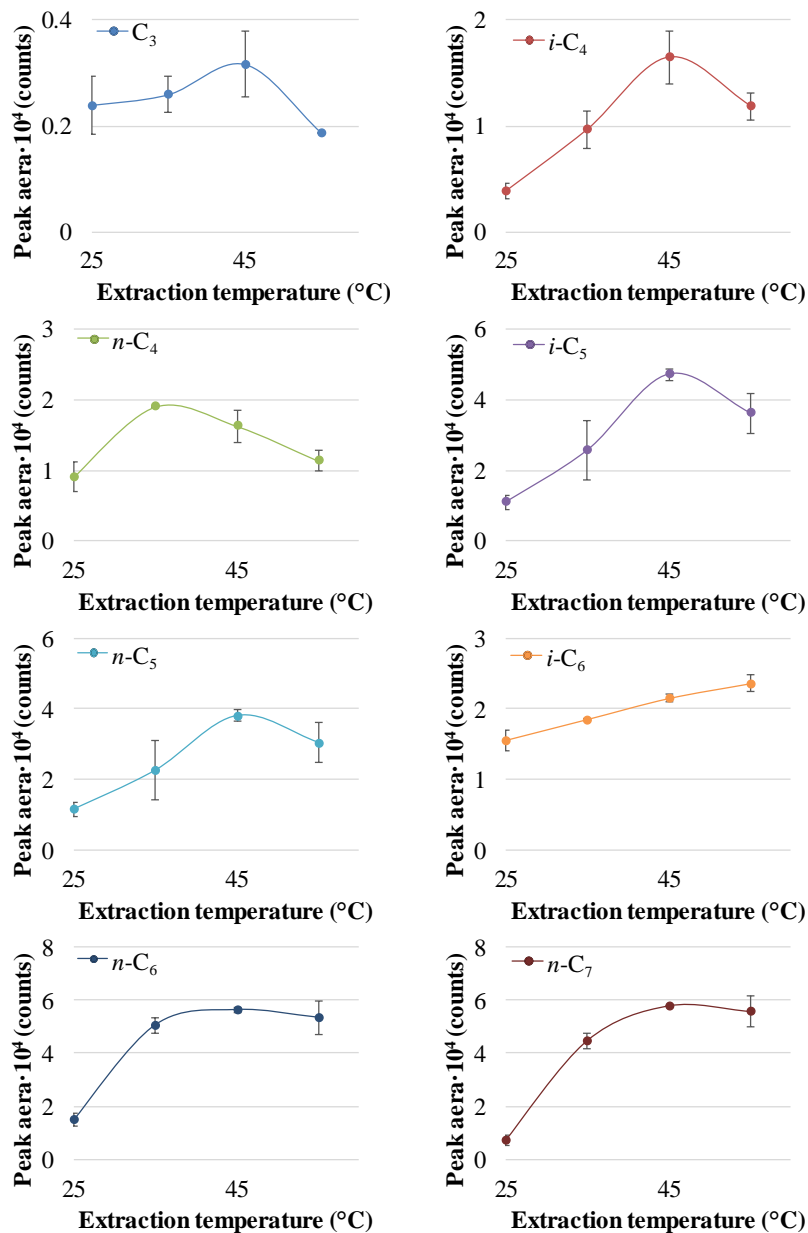


Figure S3. Influence of the extraction temperature in vacuum MIL-HS-SDME. Experimental conditions ($n = 3$): 20 μL of $\text{P}_{6,6,6,14}\text{-Mn}(\text{hfacac})_3$, vacuum (2 min), sample injection (10 mL ultrapure water, 30% (w/v) of NaCl, 0.02 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of FFAs), vacuum HS-SDME (35–55°C, 60 min, 400 rpm), HSD in 10 mL headspace vials, and GC-MS.



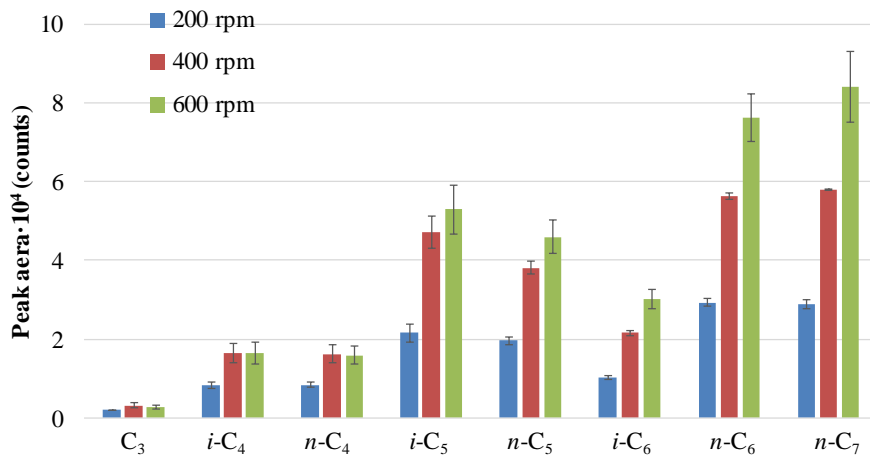
Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Figure S4. Influence of the agitation rate in vacuum MIL-HSSDME. Experimental conditions (n = 3): 20 μL of $\text{P}_{6,6,6,14}\text{-Mn}(\text{hfacac})_3$, vacuum (2 min), sample injection (10 mL ultrapure water, 30% (w/v) of NaCl, 0.02 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of FFAs), vacuum HS-SDME (45°C, 60 min, 200–600 rpm), HSD in 10 mL headspace vials, and GC-MS.



Conclusions

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

Ionic liquids (ILs) and derivatives, including polymeric ionic liquids (PILs), IL-based surfactants, double salts ionic liquid (DSIL)-based surfactants, and magnetic ionic liquids (MILs), have been designed, prepared and successfully used as extraction materials in microextraction methodologies. The interest of these novel materials is related directly to their outstanding properties, including low to negligible vapor pressure at room temperature, high chemical, thermal and electrochemical stability, and impressive solvation capabilities for a variety of compounds. Furthermore, in the case of IL derivatives: PILs, IL- and DSIL-based surfactants, and MILs, these unique properties are combined with those derived from their polymeric, surfactant or magnetic character, respectively. Thus, they have been used as neat materials in a number of microextraction approaches whereas several applications use hybrid materials composed by an IL (or IL derivative) together with another material (such as multi-walled carbon nanotubes, MWCNTs, or iron oxide magnetic nanoparticles, MNPs).

The developed methodologies, concerning the use of ILs and derivatives, and hybrid materials incorporating ILs, include: different modes of solid-phase based microextraction and liquid-phase based microextraction (LPME). The microextraction approaches proposed have intended the obtaining of simpler (even automated) procedures while decreasing the extraction time. Several of the proposed microextraction methods imply modifications with respect to more classical microextraction procedures, intending to improve the extraction capability of the method. The objective is to reduce or to eliminate the use of common organic solvents. All microextraction procedures have used in combination with chromatographic procedures or atomic absorption spectroscopy (AAS), depending on the nature of the compounds being monitored.

Herein, main conclusions derived from Chapters IV, V and VI (those related with the analytical methods proposed in this Thesis Doctoral) will be discussed. Chapter IV includes all applications of PILs in SPME; Chapter V focuses on methodologies involving the use of IL- and DSIL-based surfactants; and Chapter VI is devoted to MIL-based applications.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

CHAPTER IV: Polymeric ionic liquid-based applications

Section IV.1. Polymeric ionic liquid coatings versus commercial solid-phase microextraction coatings for the determination of volatile compounds in cheeses

- Four novel PIL-based SPME fibers were developed. Fiber A and Fiber B were linear polymers synthesized by thermal polymerization from IL monomers. Fiber C and Fiber D were crosslinker co-polymers developed by UV photoionitiated “on fiber” co-polymerization from a monocationic IL monomer and a dicationic IL crosslinker. All PILs were supported onto fused silica, being Fiber A and B physically retained onto the silica, whereas Fiber C and D were chemically attached to this support. Fibers were assembled onto a Hamilton micro-syringe, acting as the SPME holder.
- All PIL-based SPME fibers were for first time used as extraction material in a HS-SPME-GC-FID method for the determination of a group of volatile compounds, including FFAs, aldehydes, ketones and phenols. The procedure was applied to the analysis of cheeses.
- The *interest* of the study is related to exploit the use of these new PIL-based materials in the determination of volatiles in food samples. The *novelty* is linked to the preparation of these PILs for SPME.
- A screening study of commercial SPME fibers was carried out by extraction of volatile compounds from cheeses. The commercial CAR-PDMS fiber was selected due to its higher extraction capability for the volatile compounds being monitored.
- The microextraction procedure was adequately optimized using method one-factor-at a time optimization. The optimum extraction conditions selected for all tested fibers were 40 min and 45 °C. The optimum desorption time was 6 min for all fibers, and the selected desorption temperatures were 280 °C for CAR-PDMS, 250 °C for Fiber A and B, and 165 °C for Fiber C and D. No *carry over* was observed with these desorption conditions selected.
- Partition coefficients (K_{fs}) of the analytes between the sample and each SPME fiber were estimated, as a tool to compare the extraction efficiency of the fibers developed. Among all PIL-based fibers, best results were achieved with crosslinked fibers (Fiber C and Fiber D), presenting log K_{fs} values higher or

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

similar to CAR-PDMS for all analytes, with the exception of guaiacol. The obtained values correlated with their corresponding log octanol-water partition coefficients ($\log K_{ow}$). Determination coefficients (r^2) values of 0.74 and 0.50 were obtained for Fiber C and Fiber A, respectively, indicating that the extraction could take place by hydrophobic interactions between the studied analytes and the coatings. For the remaining fibers, r^2 values lower than 0.5 were obtained, pointing out for other extraction mechanism that needs further consideration.

- The entire method was validated using the best SPME fibers: Fiber C, Fiber D and CAR-PDMS. The obtained LOD values ranged between $1.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $24 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for CAR-PDMS; between $1.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $78 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ when Fiber C was used; and from $15.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to $379 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for Fiber D. The inter-day reproducibility at the lowest spiked level, expressed as RDS, ranged from 2.3 to 22% for CAR-PDMS, from 6.1 to 20% for Fiber C, and from 5.2 to 23% for Fiber D.
- The normalized calibration slopes (calculated by the ratio of each calibration slope and the film thickness of the SPME fiber) was used as a simple tool to compare the extraction efficiencies of Fiber C, Fiber D and CAR-PDMS with the group of analytes tested. The results showed that the highest normalized calibration slopes were obtained with Fiber C, being in agreement with the obtained $\log K_{fs}$. Based on these results, the crosslinked PIL Fiber C was clearly the most effective fiber for the extraction of the selected group of volatile compounds.
- The majority of the volatile compounds were detected in analyzed cheese samples using the optimized method and Fiber C, Fiber D and CAR-PDMS.

Section IV.2. Automated direct-immersion solid-phase microextraction using crosslinked polymeric ionic liquid sorbent coatings for the determination of water pollutants by gas chromatography

- Novel crosslinked PIL-based SPME fibers were synthesized by UV “on fiber” photo-polymerization of vinyl-alkylimidazolium- or vinylbenzyl-alkylimidazolium- IL monomers, and di-(vinylimidazolium)dodecane or di-(vinylbenzylimidazolium)dodecane- IL crosslinkers (PIL-0-1, PIL-0-0 and PIL-1-1). Furthermore, a SPME fiber based on a hybrid material was developed by thermal “on fiber” co-polymerization, using a mixture of an IL monomer and an

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

IL crosslinker that also contained MWCNTs (PIL-MWCNTs). All developed materials (PIL-based and the hybrid-based materials) were chemically immobilized onto derivatized nitinol wires, and assembled in the commercial Supelco holder.

- These PIL-based fibers acted as extraction materials in a totally automated DI-SPME-GC-FID method for the determination of a group of endocrine disrupting phenols (such as bisphenol A, nonylphenol, and PAHs) in the analysis of tap water. The results were compared with those obtained with commercial SPME fibers.
- The *interest* of the study is related to the development of a totally automated SPME procedure using homemade PIL-based fibers. The *novelty* is linked to the use of novel PILs in SPME and also hybrid PIL/MWCNTs fibers supported onto derivatized nitinol.
- The microextraction procedure was optimized for all tested fibers and using one-factor-at a time optimization. The selected optimum extraction conditions were 60 min and 35 °C for all fibers, while the optimum desorption time was 2 min. The selected desorption temperatures were 300 °C for PA and CAR-PDMS, 280 °C for PDMS, and 250 °C for PIL-based fibers. No *carry-over* was observed using these conditions.
- The extraction efficiencies of commercial fibers were evaluated by the comparison of chromatographic peak areas for analytes obtained under optimum conditions. Results indicated that PA and CAR-PDMS were useful to extract the overall group of analytes selected, although with complementary extraction efficiencies. PDMS poorly extracted the most polar compounds.
- The partition coefficients (K_{fs}) of analytes to the SPME coatings were estimated in DI-SPME for the best commercial fibers (PA and CAR-PDMS) and with all PIL-based fibers. The highest log K_{fs} values were achieved for PIL-1-1 and PIL-0-1, probably due to the presence of benzyl groups in their polymeric structures. In addition, the hybrid PIL-MWCNTs presented a nature useful for the extraction of both polar and hydrophobic analytes. The obtained log K_{fs} correlated with their corresponding log K_{ow} . Determination coefficients (r^2) values higher than 0.8 were achieved for all PIL-based fibers and commercial PA, indicating that the extraction was mainly due to hydrophobic interactions.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- The entire method was successfully validated for all PIL-based fibers, PA and CAR-PDMS. Low LOD values were achieved, ranging from 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to 30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for commercial fibers, from 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to 270 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ when using PIL-0-1, between 3.00 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 30.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ when utilizing PIL-0-0, between 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 135 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ when employing PIL-1-1, and between 0.75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 121 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ when using PIL-MWCNTs. The intra-day reproducibility, expressed as RSD, ranged from 0.8% to 11% for PA, from 2.9% to 7.4% for CAR-PDMS, from 1.1% to 7.1% for PIL-0-1, from 1.0% to 6.0% for PIL-0-0, from 1.3% to 5.6% for PIL-1-1, and from 2.2% to 5.9% for PIL-MWCNTs.
- The normalized calibration slopes were also estimated to compare the extraction efficiency of the different SPME fibers. The highest normalized calibration slopes were obtained with PIL-1-1, followed by PIL-0-1, being in agreement with conclusion derived from the estimation of K_{fs}
- Tap waters were analyzed using PIL-1-1 and PIL-0-1, and the studied group of contaminants were not detected. Spiked tap water was also analyzed, and average RR values were $85 \pm 14\%$ for PIL-1-1 and $87 \pm 15\%$ for PIL-0-1 (with the exception of 4-NP, which presented a lower RR), with RSD values lower than 4.9% and 7.6% for PIL-1-1 and PIL-0-1, respectively.

Section IV.3. Vacuum-assisted headspace-solid phase microextraction for determining volatile free fatty acids and phenols. Investigations on the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system

- A vacuum HS-SPME-GC-FID method was developed for first time to monitor FFAs and phenols in milk and milk derivatives.
- This new SPME mode requires the use of reduced pressure conditions during HS-SPME. To achieve these conditions, a modified extraction vial consisting of an in-house modified crimp-top Mininert® valve connected to a glass vial was developed. The device was connected to a vacuum pump prior the HS-SPME to evacuate the air inside the extraction vial, and ensuring leak-tight seal to the vial.
- Several SPME fibers were tested, including CAR-PDMS, DVB/CAR-PDMS, PDMS, PA, and two novel PIL-based fibers, specifically crosslinked PILs

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

synthesized using the spin-coating method, covalently attached to derivatized nitinol wires, and assembled onto the Supelco holder.

- The *interest* of the study was to expand the applications of vacuum HS-SPME (given the relatively low number of applications involving this simple and successful variant of SPME). The *novelty* is linked to the use of this methodology for flavor analysis, and to the use of the proposed modified extraction vials. To sum up, it was the first time that the behavior of PIL-based fibers was studied in this SPME mode.
- The extraction efficiency of all fibers was compared in vacuum HS-SPME and in regular HS-SPME. Results evidenced that reducing the sampling pressure (vacuum HS-SPME) generally improved the extraction kinetics. The best extraction efficiencies were achieved for CAR-PDMS, followed by DVB/CAR-PDMS. The results obtained for PIL-based fibers were higher than or comparable to those obtained for PDMS, despite differences in coating thicknesses.
- All parameters exerting an influence in the extraction were optimized for CAR-PDMS, and using both methodologies: vacuum HS-SPME and regular HS-SPME. For vacuum HS-SPME, the optimum extraction conditions were: 25% (w/v) of NaCl, 20 min, 35 °C and 400 rpm, while for regular HS-SPME the optimum extraction conditions were: 25% (w/v) of NaCl, 40 min, 45 °C and 400 rpm. The optimum desorption conditions for both methodologies were 2 min and 280 °C. These results demonstrated that vacuum HS-SPME required milder extraction conditions (lower extraction times and temperatures) than regular HS-SPME.
- A comparison of both extraction procedures at optimum / non-optimum conditions also revealed that the vacuum option implied highest extraction efficiencies for all analytes tested.
- Both methodologies of vacuum HS-SPME and regular HS-SPME were successfully validated. Low LOD values were achieved, between 0.14 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 13 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for vacuum HS-SPME, and between 0.15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 19 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for regular HS-SPME. The intra-day RSD ranged between 0.3% and 10%, and between 1.4% and 9.0% for vacuum HS-SPME and regular HS-SPME, respectively, and using a low spiked level.
- Milk and liquid yogurt were analyzed using the vacuum HS-SPME-GC-FID method developed, and the majority of studied volatile compounds were detected and/or quantified.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

CHAPTER V: Applications regarding the use of IL-based surfactants

Section V.1. Interfacial and aggregation behavior of dicationic and tricationic ionic liquid-based surfactants in aqueous solution

- Different dicationic and trigonal tricationic IL-based surfactants were synthesized and their interfacial and aggregation properties were examined for first time. Dicationic IL-based surfactants were $(C_n\text{Im})_2C_{12}\text{-2Br}$ (being $n = 4, 10, \text{ or } 16$). The tricationic IL-based surfactants were 3',3''-octyl-1,1',1''-(2-ethylamino)imidazolium bromide $((C_8\text{Im})_3\text{Am-3Br})$, and 3,3',3''-octyl-1,1',1''-(1,3,5)tris(methylene) benzene imidazolium bromide $((C_8\text{Im})_3\text{Bn-3Br})$.
- There is *interest* in understanding the behavior of these new materials. The *novelty* is related to the first description of tricationic IL-based surfactants. Furthermore, the interfacial and aggregation properties of both dicationic and tricationic IL-based surfactants were presented for the first time.
- The synthesis of the novel two classes of tricationic IL-based surfactants was based on the reaction of imidazole with the core molecule in 3:1 molar ratio (1,3,5-tris(bromomethyl)benzene or tris (2-chloroethyl)amine hydrochloride), followed by the reaction of the obtained intermediate product with the corresponding 1-bromoalkane (in excess) to generate the IL-based surfactant.
- The CMC of all proposed IL-based surfactants was determined by conductivity, fluorescence, and surface tension measurements. The obtained results with the different techniques were totally comparable among them. The CMC values of the tricationic surfactants were lower than those from analogous linear surfactants. An increase in the aromaticity and size of the core linker (Bn *versus* Am) was accompanied by a decrease in the CMC. The CMC values of the dicationic surfactants decreased as a function of the alkyl chain size when maintaining the same linker.
- Conductivity measurements were also used to estimate the degree of micelle dissociation (α) and the degree of counterion binding to micelles (β) of the surfactants. The influence of the acetonitrile content in the CMC, α and β was studied, pointing out that an increase in the acetonitrile content in solution was accompanied by an increase of the CMC and β , and a decrease in the α values.
- Fluorescence measurements were also employed for the determination of the N_{agg} , with obtained values between 4.7 ± 0.1 for $(C_{10}\text{Im})_2C_{12}\text{-2Br}$ and 547 ± 17 for

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

(C₄Im)₂C₁₂-2Br for dicationic IL-based surfactants. For tricationic IL-based surfactants, the obtained N_{agg} values were 24.7 ± 1.1 for (C₈Im)₃Am-3Br and 98.6 ± 3.2 (C₈Im)₃Bn-3Br. The higher aromaticity due to the Bn spacer implied higher intra-micelle repulsion and thus more monomers of surfactant were required for micelle formation.

- The surface activity of the surfactants was estimated by the determination of the effectiveness (γ_{CMC}), the maximum surface adsorption (Γ_{max}), the area occupied by a single surfactant molecule at the air-solution interface (A_{min}), and the adsorption efficiency of the surfactant at the air-water interface (pC_{20}). In addition, the effect of salt addition on solubility, CMC and interfacial adsorption was deeply studied for tricationic IL-based surfactants. Thus, the presence of sodium salts (at similar concentrations) decreased the CMC values in the order: NaI > sodium benzoate > NaBr. Furthermore, the pC_{20} and CMC/C₂₀ values increased significantly in the presence of sodium salts.

Section V.2. Double salts of ionic liquid-based surfactants in microextraction: application of their mixed hemimicelles as novel sorbents in magnetic-assisted micro-dispersive solid-phase extraction for the determination of phenols

- Novel hybrid materials based on mixed hemimicelles of IL- or DSIL- based surfactants supported onto Fe₃O₄ MNPs were developed (Fe₃O₄@IL MNPs and Fe₃O₄@DSIL MNPs). The IL-based surfactant studied was C₁₂C₁₂Im-Br. The DSIL-based surfactants were prepared by combining C₁₂C₁₂Im-Br with other IL-based surfactants, including non-symmetric monocationic and dicationic ILs at three different molar fractions ($x_I = 0.3, 0.2$ and 0.1 of C₁₂C₁₂Im-Br).
- These hybrid materials were successfully used in a m- μ -dSPE-HPLC-DAD procedure for the determination of a group of endocrine disrupting phenols (such as bisphenol A and nonylphenol) in waters.
- The *interest* of this study is to expand the applications of m- μ -dSPE approaches, thus simplifying analytical procedures while reducing the entire extraction time. The *novelty* of the work is linked to the developed hybrid materials: for first time mixed hemimicelles of DSIL-based surfactants onto MNPs were used in m- μ -dSPE.

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- The m- μ -dSPE method was optimized using C₁₂C₁₂Im-Br in a one-factor-at a time optimization. Optimum conditions required 100 mL of water, 10 mg of MNPs, 2.6 mg of C₁₂C₁₂Im-Br (corresponding to a concentration of CMC/2 in the extraction sample), pH 11, 2.5 min of sonication and 5 min of equilibration time with the aid of NdFeB magnets, followed by elution of phenols, evaporation and reconstitution with 0.5 mL of acetonitrile.
- All developed DSIL-based surfactants acted as extraction materials in a m- μ -dSPE procedure (using the optimum conditions achieved for C₁₂C₁₂Im-Br and assuming that DSIL-based surfactants require similar conditions for the extraction of phenols). The highest extraction efficiencies were achieved with the C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺ DSIL-based surfactant for the majority of phenols, except in the cases of 4-OP and 4-NP, for which the best results were obtained employing neat C₁₆C₄Im-Br.
- The method was successfully validated using neat C₁₆C₄Im-Br and C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺. The obtained LOD values were low, ranging between 0.12 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 0.55 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for neat C₁₂C₁₂Im-Br, and from 0.20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to 1.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺. The inter-day RSD at the low spiked level (15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) was lower than 17% for free C₁₂C₁₂Im-Br and lower than 11% for C₁₂C₁₂Im⁺ ($x_I = 0.5$) & C₁₆MIm⁺.
- Tap water and wastewater were analyzed to test the applicability of the developed method with the optimum DSIL-based surfactant. 4-*t*-BP and 4-CuP were detected in the wastewater. However, the results indicated that there was matrix effect in both samples. To overcome this inconvenience, matrix-matched calibrations were obtained in tap-water. A slight loss of sensitivity was observed if compared with ultrapure water, particularly for phenol, and RSD values lower than 16% were obtained.

Section V.3. Ionic liquids *versus* ionic liquid-based surfactants in dispersive liquid–liquid microextraction for determining copper in water by flame-atomic absorption spectrometry

- The hydrophobic C₄MIm-PF₆ IL and the C₁₆C₄Im-Br IL-based surfactant were successfully used as extraction solvents in DLLME for the determination of copper in waters in combination with FAAS. The most conventional DLLME

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

method was used with C₄MIm-PF₆ while the *in situ* DLLME mode was selected for the extraction of Cu²⁺ with C₁₆C₄Im-Br. Both methodologies require acetonitrile and dithiocarbamate (DDTC) as dispersive solvent and quelating reagent, respectively. Furthermore, Li-NTf₂ was required as anion exchange reagent in the *in situ* DLLME.

- There is *interest* in developing DLLME methods for metals using ILs and IL-based surfactants as extractant solvents, to expand the applicability of DLLME with ILs for determining metals. The *novelty* is directly associated to the use, for first time, of IL-based surfactants in DLLME for metals. Furthermore, a comparison between a conventional and a non-conventional (*in situ*) DLLME mode was carried out.
- The DLLME method with C₄MIm-PF₆ was optimized using an experimental design considering only the most important factors (extractant volume, dispersive solvent volume and DDTC concentration). The selected optimum conditions were 10 mL of sample, 23 g·L⁻¹ of NaCl, 0.115 mg of DDTC, 100 μL of IL, 900 μL of acetonitrile, centrifugation (3500 rpm, 5 min), cooling step to improve microdroplet separation, sampling of the microdroplet and dilution up to 70 μL before FAAS.
- The *in situ* DLLME method with C₁₆C₄Im-Br was also optimized. The optimum conditions were 10 mL of ample, 23 g·L⁻¹ of NaCl, 0.113 mg of DDTC, addition of the IL-based surfactant to achieve a concentration of 20 mmol·L⁻¹, 800 μL of acetonitrile, 63 mg of Li-NTf₂, vortex (2 min), centrifugation (3400 rpm, 4 min), cooling step, sampling of the microdroplet and dilution with 200 μL of acetonitrile.
- Both methods were validated, obtaining LOD values for Cu²⁺ of 3.3 μg·L⁻¹ using the DLLME with C₄MIm-PF₆ and of 5.1 μg·L⁻¹ using the *in situ* DLLME method with C₁₆C₄Im-Br, and RSD values down to 8.8% and 10%, respectively, for a spiked level of 60 μg·L⁻¹ of Cu²⁺.
- The accuracy of the DLLME method with C₄MIm-PF₆ was confirmed using a certified material (urban wastewater coming from an inter-laboratory exercise). Their robustness was also tested performing different calibration curves of the entire method.
- Tap water and wastewater were analyzed with the DLLME method with C₄MIm-PF₆, being Cu²⁺ detected and quantified in one of the samples analyzed.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- The impact of foreign ions was studied in presence of Cu^{2+} and using the DLLME method with $\text{C}_4\text{MIm-PF}_6$. The results demonstrated the absence of interferences of the foreign ions studied, even if their concentrations were 2000 times higher than the copper concentration, with the exception of Cr^{3+} .

CHAPTER VI: Magnetic ionic liquid-based applications

Section VI.1. Magnetic ionic liquids as non-conventional extraction solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons

- Three novel MILs were designed to exhibit paramagnetic and hydrophobic properties: benzyltrioctylammonium bromotrichloroferrate (III) (MIL A), methoxybenzyltrioctylammonium bromotrichloroferrate (III) (MIL B), and 1,12-di(3-benzylbenzimidazolium) dodecane bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]imide bromotrichloroferrate (III) (MIL C).
- The MILs were successfully used as extraction solvents in a magnet-assisted DLLME-HPLC-FD procedure for the determination of PAHs in water and tea.
- The *interest* of this study is devoted to the use of neat MILs as extraction materials in DLLME while exploiting their paramagnetic character in a magnetic-based microextraction method. The *novelty* of the study is its application for the first time to the analytical determination of hydrophobic compounds (PAHs). Furthermore, this application does not require any material such as MNPs neither iron powder to perform the magnetic separation.
- A comparison of the extraction efficiency of analytes, expressed as normalized peak areas, and using different MILs, revealed that MIL A is the most suitable material for the extraction of this group of PAHs.
- The entire procedure was optimized using MIL A. The selected optimum conditions were 10 mL of sample, 25% (w/v) NaCl, 10 mg of NaOH, 20 μL of MIL A, 500 μL of acetone (as dispersive solvent), vortex (5 min), magnetic separation, back-extraction (2 steps with n-hexane), evaporation and reconstitution in 300 μL of acetonitrile.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- After optimization, the method was successfully validated. The LOD values ranged from 5 ng·L⁻¹ to 20 ng·L⁻¹, and the inter-day RSD oscillated between 7.1% and 16% (spiked level of 0.4 µg·L⁻¹).
- Water samples, including tap water and wastewater, and a tea infusion, were successfully analyzed with the optimized method, but PAHs were not detected in any of the samples. RR and RSD studies were obtained from spiked wastewater and tea samples. The results showed matrix effect, concluding that matrix matched calibration are required to the analysis of real samples by this method.

Section VI.2. Magnetic ionic liquid as extraction solvents in vacuum headspace single-drop microextraction

- Four different MILs were studied as possible extraction solvents in vacuum HS-SDME for first time. The MILs were based on MnCl₄²⁻ or metal complexes anions (particularly, Mn²⁺ or Dy³⁺ coordinated with the ligand hexafluoroacetylacetonate), and paired with phosphonium or ammonium cations.
- The vacuum HS-SDME procedure requires the use of reduced pressure conditions during the extraction. To achieve these conditions, a modified extraction vial was developed. The vial was connected to a vacuum pump prior the HS-SDME to evacuate the air inside the extraction vial, mimicking the procedure employed for vacuum HS-SPME.
- Vacuum conditions during the extraction were possible only due to the use of MILs: the MIL was suspended to the HS to the sample with the help of a NdFeB rod magnet (instead of the common micro-syringe used for conventional extraction solvents). The stability of the MIL was maintained during the air evacuation step (common organic solvents always fell from the micro-syringe at vacuum conditions) thus permitting the set-up of a vacuum HS-SDME for first time.
- The vacuum MIL-HS-SDME procedure requires a step of headspace desorption (HSD)-GC-MS for the determination of FFAs in milk.
- There *interest* of this study is to expand the application of HS-SDME methods exploiting the versatility of MILs. The *novelty* is the development for first time of a vacuum HS-SDME method.

Firmado por:	Fecha:
MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09

- The compatibility of the tested MILs in the HSD-GC-MS system was carefully studied. The $P_{6,6,6,14}$ -Mn(hfacac)₃ MIL was selected to develop the vacuum HS-SDME procedure because its degradation in the desorption system was much lower (indeed negligible) than that of the remaining MILs tested.
- A HSD-GC-MS method was for first time developed for the separation of the FFAs in SIM mode, and in the presence of the optimum MIL.
- The extraction time profiles of vacuum MIL-HS-SDME and MIL-HS-SDME (performing the procedure without the air evacuation step) were compared. The results indicated that vacuum conditions allowed FFAs to achieve the equilibrium state faster (~60 min). Furthermore, vacuum MIL-HS-SDME always provides the highest extraction efficiencies at non-equilibrium conditions for all FFAs.
- The main parameters that influenced the vacuum MIL-HS-SDME procedure were optimized, and the selected optimum conditions were 20 μ L of MIL ($P_{6,6,6,14}$ -Mn(hfacac)₃), air removal inside the extraction vial during 2 min, 10 mL of sample, 30% (w/v) NaCl, and 45 °C, 60 min and 600 rpm for the extraction.
- A special device of HSD was designed to reduce the HS volume down to 4.2 mL during this step and thus to ensure increase in the preconcentration. The extraction efficiency of the entire method increased from 20% to 40% using these modified HSD vials.
- The vacuum MIL-HS-SDME was successfully validated. Low LOD values were obtained, ranging between 14.5 μ g·L⁻¹ and 216 μ g·L⁻¹, and intra-day RSD values between 2.5% and 13%.
- Milk samples with different fat content were analyzed with this novel method, and the majority of FFAs were detected and quantified in the samples.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 909081

Código de verificación: iXUN5hdy

Firmado por: MARIA JOSE TRUJILLO RODRIGUEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	Fecha: 18/05/2017 09:16:38
VERONICA PINO ESTEVEZ UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:01:58
ANA MARIA AFONSO PERERA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	18/05/2017 13:57:35
ERNESTO PEREDA DE PABLO UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA	23/05/2017 14:48:09