



Trabajo de Fin de Máster

**Determinación de migrantes de plásticos en muestras de
interés medioambiental**

Determination of plastic migrants in samples of environmental interest

Ruth Rodríguez Ramos

Máster en Química

Departamento de Química

Curso 2017/2018

Tutores:

Dr. Miguel Ángel Rodríguez Delgado

Dra. Bárbara Socas Rodríguez

D. MIGUEL ÁNGEL RODRÍGUEZ DELGADO, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD, Y DÑA. BÁRBARA SOCAS RODRÍGUEZ, CONTRATADA LABORAL INTERINA DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA,

AUTORIZAN:

La presentación y defensa del Trabajo de Fin de Máster titulado: “*Determinación de migrantes de plásticos en muestras de interés medioambiental*” realizado por la Graduada en Química Dña. Ruth Rodríguez Ramos, durante el curso académico 2017-2018 en los laboratorios del Departamento y del Servicio de Técnicas Agroalimentarias (STA) de los Servicios Generales de Apoyo a la Investigación (SEGAI) bajo nuestra tutorización.

Y para que así conste, firmamos la presente en San Cristóbal de La Laguna, a 2 de julio de 2018.

Fdo: Dr. Miguel Ángel Rodríguez Delgado

Fdo: Dra. Bárbara Socas Rodríguez

Resumen

En el presente trabajo se ha desarrollado una nueva metodología para la determinación de un grupo de quince ftalatos en suelos mediante cromatografía líquida de ultra-alta eficacia con detección por espectrometría de masas en tándem utilizando la dispersión de matriz en fase sólida como procedimiento de extracción.

Summary

In this work, a new analytical methodology was developed for the determination of fifteen phthalates in soils by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection using the matrix solid phase dispersion as extraction method

Índice

1.- Introducción	1
1.1.- Ftalatos	3
1.2.- Importancia del análisis de ftalatos en suelos	4
1.3.- Legislación	7
1.4.- Métodos de análisis de ftalatos en suelos	9
1.5.- Procedimientos de extracción de ftalatos en suelos	11
1.5.1.- Método de dispersión de matriz en fase sólida	14
1.6.- Redes metal-orgánicas en el análisis de ftalatos	18
2.- Objetivos	21
3.- Parte experimental	23
3.1.- Patrones, disolventes, reactivos y disoluciones	23
3.2.- Material	24
3.3.- Equipos	24
3.3.1.- Instrumentos.....	24
3.3.2.- Aparatos	25
3.3.3.- Programas informáticos	25
3.4.- Muestras analizadas	26
3.5.- Procedimientos experimentales	26
3.5.1.- Caracterización de las muestras de suelo.....	26
3.5.2.- Análisis mediante UHPLC-MS/MS.....	27
3.5.3.- Preparación de las muestras de suelo.....	28
3.5.4.- Procedimiento de MSPD.....	28
3.6.- Limpieza del material	29
4.- Resultados y discusión.....	31

4.1.- Características de los ftalatos estudiados	31
4.2.- Método UHPLC-MS/MS	35
4.3.- Calibrado instrumental.....	37
4.4.- Evaluación de distintos materiales como sorbentes para la MSPD	38
4.5.- Optimización de las condiciones de extracción	39
4.5.1.- Influencia de la cantidad de muestra.....	40
4.5.2.- Influencia del disolvente de elución	40
4.5.3.- Diseño experimental	42
4.6.- Aplicación de la metodología en muestras de suelo	45
4.6.1.- Evaluación del efecto matriz y calibrado en la matriz	45
4.6.2.- Estudio de recuperaciones.....	47
4.6.3.- Análisis de muestras reales	49
5.- Conclusiones	57
6.- Glosario.....	59
7.- Bibliografía	63

1.- Introducción

El término plástico deriva de la palabra griega *plastikos* que significa “capaz de ser moldeado”. Se utiliza para describir una gran variedad de materiales sintéticos y semi-sintéticos que poseen una amplia y creciente gama de aplicaciones (Plastics Europe, 2018). Pese a que la producción de materiales plásticos a escala industrial comenzó en la década de los 50, hoy en día, resulta difícil concebir una sociedad libre de este tipo de materiales. En el año 2016, la producción mundial de plásticos fue de 335 millones de toneladas, siendo China el principal productor con un 50 % del total, seguido por Europa, con un 19 %, y los países que forman el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (NAFTA, acrónimo del inglés *North American Free Trade Agreement*), Canadá, Estados Unidos y México, con un 18 % de la producción total (Plastics Europe, 2018). Los plásticos se obtienen mediante la polimerización de monómeros en cadenas macromoleculares (Lithner et al., 2011). Además de los monómeros, habitualmente se necesitan otras sustancias para que tenga lugar la reacción de polimerización, tales como iniciadores, catalizadores o disolventes (Lithner et al., 2011). Estos aditivos son compuestos químicos que proporcionan a los polímeros las propiedades requeridas para su aplicación específica, o bien, facilitan el proceso de fabricación (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), 2009). Así mismo, se utilizan para dar estabilidad frente a los procesos de degradación y mejorar la calidad y el rendimiento del producto (Ebewele, 2000). Dichos aditivos incluyen estabilizadores térmicos y de luz, antioxidantes, retardantes de llama, plastificantes o pigmentos, entre otros. Por lo general, estas sustancias se emplean en pequeñas cantidades, aunque a menudo se utilizan rellenos como carbonato de calcio, talco, sílice, arcilla o mica, entre otros, en grandes cantidades, con distintos fines como reducir los costes de producción, mejorar la capacidad de disipación de calor o modificar las propiedades eléctricas y el aislamiento térmico del polímero (Ebewele, 2000).

Durante la fabricación, el almacenamiento y el uso de los polímeros plásticos, estos pueden estar expuestos a altas temperaturas, radiación ultravioleta (UV), oxígeno u otros agentes oxidantes. Las condiciones ambientales favorecen los procesos de degradación de los plásticos, iniciados, en la mayoría de los casos, por la generación de radicales libres. Por esta razón, la adición de estabilizadores térmicos y UV, así como agentes antioxidantes permite minimizar el desarrollo de dichas reacciones de degradación (Ebewele, 2000). Algunos ejemplos de estabilizadores térmicos son sales metálicas (Ba-Cd y Ca-Zn), compuestos de órgano-estaño, órgano-antimonio, plomo, quelatos de fosfito y plastificantes epóxidos derivados de aceites vegetales. Como estabilizadores UV se utilizan sustancias que sean

Introducción

capaces de absorber esta radiación y convertirla en una forma de energía inocua, por ejemplo, fenoles y aminas estéricamente impedidas, compuestos de fósforo trivalentes o sales metálicas, entre otros (Ebewele, 2000).

Por otra parte, los retardantes de llama se incorporan para reducir la inflamabilidad de los materiales plásticos (Polymer Properties Database, 2018), minimizando el riesgo de ignición y la propagación de la llama (Ebewele, 2000). Se pueden dividir en compuestos inorgánicos y orgánicos. Los ignífugos inorgánicos más comunes son el hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, borato de zinc, los óxidos de antimonio y la hidromagnesita (mineral de carbonato de magnesio hidratado) (Polymer Properties Database, 2018). En lo que respecta a los retardantes de llama orgánicos, los más conocidos son los compuestos halogenados (bifenilos policlorados, éteres de difenilo y polibromados). Muchos de estos retardantes de llama son persistentes en el medioambiente, bioacumulables y potencialmente tóxicos, dando lugar a una creciente preocupación por sus posibles efectos adversos en la salud (Usenko et al., 2016).

En lo que respecta a los plastificantes, su función principal es mejorar la flexibilidad y la manipulación durante el procesado de los polímeros mediante la reducción de la temperatura de transición de segundo orden, es decir, la temperatura de transición vítrea (Brazel y Rosen, 1993). Se emplean en varios plásticos, sin embargo, casi el 90 % de todos los plastificantes se utilizan para la producción de cloruro de polivinilo flexible (PVC, del inglés *polyvinyl chloride*), ampliamente utilizado en la fabricación de tuberías de suministro y distribución de agua, sistemas de alcantarillado, conductos eléctricos y cableado telefónico, revestimientos de paredes, tapicería, calzado, textiles e incluso juguetes (Ebewele, 2000). Por su parte, el PVC no plastificado es un sólido duro, rígido y frágil con aplicación en tarjetas de crédito, tuberías de plástico y revestimientos para el hogar (Ebewele, 2000). Los plastificantes son esencialmente líquidos orgánicos con altos puntos de ebullición o sólidos con bajos puntos de fusión (Ebewele, 2000). Algunos de los requisitos que debe cumplir una sustancia para ser empleada con éxito como plastificante son la rentabilidad, estabilidad química, ausencia de color, compatibilidad con la matriz polimérica y baja toxicidad (Coaker, 2005). Entre los plastificantes comúnmente utilizados cabe destacar los ftalatos, compuestos organofosforados (trialquil fosfatos), diésteres alifáticos (adipatos, azelatos, oleatos y sebacatos), derivados glicólicos y trimetilatos (Ebewele, 2000).

1.1.- Ftalatos

Los ftalatos (PAEs, del inglés *phthalic acid esters*), constituyen el grupo más representativo de los plastificantes. Se introdujeron por primera vez en 1920 con el fin de evitar los problemas relacionados con la excesiva volatilidad y el indeseable olor del alcanfor, utilizado hasta ese momento (Graham, 1973; Rahman et al., 2004). Sin embargo, hoy en día, continúan siendo la clase más importante de plastificantes, representando el 65 % del consumo mundial de este tipo de aditivos en la industria de los plásticos en el año 2017 (IHS Markit, 2018).

Estos compuestos son ésteres del ácido orto-ftálico o ácido 1,2-benzenodicarboxílico que presentan en su estructura dos cadenas laterales de alquilo lineales o ramificadas, o de arilo, con longitudes entre 1 y 13 átomos de carbono (Figura 1.1) (Yang et al., 2015). Se obtienen a escala industrial por reacción del anhídrido ftálico con los correspondientes alcoholes (Benjamin et al., 2017) y a temperatura ambiente, presentándose generalmente ~~se presentan~~ como líquidos aceitosos incoloros e inodoros con elevados puntos de ebullición, baja volatilidad y limitada solubilidad en agua (Zaate et al., 2014; Gao et al., 2016).

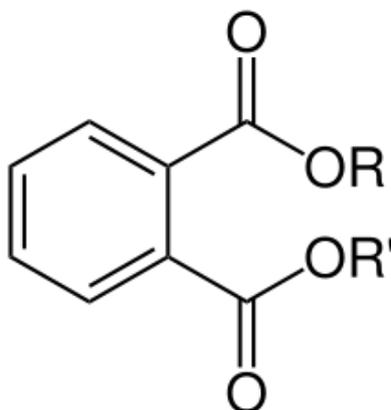


Figura 1.1.- Estructura química general de los ftalatos (R y R' pueden ser iguales o distintos sustituyentes).

Los ftalatos son extensamente utilizados en una amplia variedad de productos y aplicaciones industriales, incluyendo materiales de construcción (pinturas, adhesivos, revestimientos), productos de higiene personal y cosméticos (perfumes, maquillaje, cremas hidratantes, esmaltes de uñas, desodorantes, jabones), productos del hogar (artículos de cocina, productos de limpieza, detergentes, surfactantes, cortinas de baño), productos farmacéuticos y alimenticios, textiles, juguetes infantiles, embalajes y tintas de impresión, entre otros (Kimber

Introducción

y Dearman, 2010; Net et al., 2015a). El contenido de ftalatos en este tipo de productos puede ser de hasta un 10 – 60 % dependiendo del tipo de material y su aplicación (Lü et al., 2018).

En este contexto, los ftalatos de baja masa molecular como el ftalato de dimetilo (DMP), el ftalato de dietilo (DEP) y el ftalato de dibutilo (DBP) son componentes de disolventes industriales, adhesivos, ceras, productos farmacéuticos, así como perfumes y otros cosméticos. El DMP y DEP permiten que las fragancias de los perfumes se evaporen más lentamente, alargando la duración del aroma. El DBP, por su parte, se incorpora en pequeñas cantidades a los esmaltes de uñas con la finalidad de mejorar su resistencia (Net et al., 2015a). Otro de los ftalatos más empleados en aplicaciones industriales y domésticas es el ftalato de di-2-etilhexilo (DEHP), que puede encontrarse en textiles, calzado, cables, cortinas de baño, envoltorios de alimentos y juguetes infantiles (IARC, 2000). Así mismo, el DEHP también es utilizado en dispositivos médicos como bolsas para sangre o nutrición parenteral y tubos y catéteres para hemodiálisis (Sampson y de Korte, 2011). Otros usos pueden ser en detergentes líquidos, tintas, aceites, lubricantes e insecticidas (IARC, 2000). Sin embargo, en los últimos años, las evidencias de sus efectos negativos sobre la salud, debido a su capacidad para actuar como disruptores alterando las funciones desarrolladas en el sistema endocrino de mamíferos, han dado lugar a su sustitución por ftalatos de cadenas más largas como el ftalato de diisobutilo (DIBP), el ftalato de diisodecilo (DIDP) o el ftalato de diisononilo (DINP), pese a que estos también han mostrado actividad disruptora endocrina (Wittassek et al., 2007). En lo que respecta a otros ftalatos como el ftalato de butilbencilo (BBP) y el ftalato de dicitclohexilo (DCHP), ambos son ampliamente utilizados en la producción de PVC para suelos antideslizantes y, en el caso del DCHP, también se utiliza en la fabricación de juguetes infantiles (Plasticisers, 2018). Por otra parte, el ftalato de di-n-octilo (DNOP) se emplea junto con el DEHP en dispositivos médicos.

1.2.- Importancia del análisis de ftalatos en suelos

Los polímeros plásticos no se consideran peligrosos para la salud y el medioambiente ya que, debido a su gran tamaño molecular, son difícilmente absorbidos por los organismos vivos (Lithner et al., 2011). Sin embargo, los procesos de polimerización rara vez se completan, dando lugar a restos de monómeros sin reaccionar, algunos de los cuales pueden presentar efectos adversos en la salud y el medioambiente (Araújo et al., 2002). Además de estos monómeros residuales, también se pueden encontrar otras sustancias como oligómeros, fragmentos de polímeros de baja masa molecular, restos de catalizadores y disolventes de polimerización, así

Introducción

como una gran variedad de aditivos plásticos en el producto final que pueden ser fácilmente liberadas al medio generando efectos nocivos en el medioambiente y en la salud de la población (Crompton, 2007).

Los ftalatos no se encuentran químicamente unidos a la matriz polimérica, por lo que pueden migrar al entorno durante cualquier etapa, desde su síntesis hasta su transformación o degradación (Lü et al., 2018; González-Sálamo et al., 2018a). Por esta razón, y dado el uso extensivo de los ftalatos como plastificantes en la fabricación de productos de consumo e industriales, estos se han convertido en contaminantes ubicuos en el medioambiente (Heudorf et al., 2007). Dichos compuestos se han detectado en una amplia variedad de matrices medioambientales y agroalimentarias como agua potable (Liu et al., 2014; Liu et al., 2015a), aguas residuales (Sánchez-Ávila et al., 2009), sedimentos (Sun et al., 2013a), suelos (Liang et al., 2010; Škrbić et al., 2016), alimentos y bebidas (Fan et al., 2012; Socas-Rodríguez et al., 2018) en concentraciones variables.

La migración de ftalatos al entorno depende de numerosos factores, incluyendo las propiedades del polímero (por ejemplo, masa molecular), el proceso de plastificación, la homogeneidad del producto, la compatibilidad con el medio circundante y la temperatura, así como el grado de ramificación del propio compuesto, entre otros. En este sentido, los plastificantes ramificados son más persistentes que aquellos que presentan cadenas lineales, ya que las ramificaciones tienden a impedir el movimiento o enredarse en el interior de la matriz plástica, dificultando su migración o eliminación por volatilización, lixiviación o abrasión (Marcilla et al., 2004).

Hasta la fecha, la mayoría de las investigaciones llevadas a cabo en lo que respecta al análisis de suelos abordan la presencia de ftalatos en suelos agrícolas y la contaminación de suelos cultivables como resultado del uso de películas y acolchados plásticos, así como fertilizantes para aumentar el rendimiento de las cosechas, la modificación de los suelos con lodos de depuradora, el riego con aguas residuales y la deposición atmosférica que favorecen la contaminación por parte de este tipo de compuestos (Vikelsøe et al., 2002; Net et al., 2015a; Lü et al., 2018). La presencia de ftalatos en suelos depende en gran medida de las características del mismo, por ejemplo, del contenido de materia orgánica, pH, humedad y textura, entre otros (Correia-Sá et al., 2012). Los ftalatos más abundantes en los suelos son el DIBP, DBP y DEHP, representando un 74,2 – 99,8 % del contenido total, aunque también se han encontrado DMP, DEP y BBP en un rango de concentraciones variable del orden de $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco (Vikelsøe et al., 2002; Zeng et al., 2008a; Zorníková et al., 2011; Daňková et al., 2016). En las mismas

Introducción

condiciones ambientales, la vida media de estos compuestos en los suelos varía entre 1 – 75 días, siendo mucho menor que la encontrada para los bifenilos policlorados (7 – 25 años) (Net et al., 2015a).

En la actualidad, existe una creciente preocupación pública y científica debida a la posibilidad de que los residuos de ftalatos sean absorbidos por los cultivos comestibles y las aguas que se filtran a través de los suelos y, posteriormente, transferidos a la cadena alimenticia, aumentando el potencial de sus efectos nocivos en la salud y los ecosistemas (Tan et al., 2016).

La toxicidad de los ftalatos sigue siendo objeto de debate debido a por su importancia comercial y su impacto en la salud y el medioambiente. Pese a ello, existe una gran variedad de estudios que demuestran sus efectos nocivos en la reproducción incluso a muy bajas concentraciones, entre los que se incluyen problemas de fertilidad, desarrollo de los recién nacidos y carácter carcinogénico (Net et al., 2015a). La presencia de ftalatos en el organismo puede estar asociada a diferentes trastornos endocrinos como la obesidad y otras enfermedades metabólicas como las diabetes (Stojanoska et al., 2017), el desarrollo anormal genital masculino (Swan et al., 2015), daños espermáticos y niveles reducidos de hormonas reproductivas en adultos varones (Wang et al., 2016), endometriosis en las mujeres (Upson et al., 2013), parto prematuro (Huang et al., 2014), así como trastornos por déficit de atención e hiperactividad (Arbuckle et al., 2016). Así mismo, estos compuestos están relacionados con enfermedades respiratorias como el asma (Bertelsen et al., 2013) y cardiovasculares como la hipertensión (Trasande et al., 2015). Además, se ha encontrado que los ftalatos de baja masa molecular como el DEP pueden provocar irritación en los ojos, la nariz y la garganta (Benson et al., 2009).

Por todo ello, teniendo en cuenta la alta exposición de la población a estos compuestos y los importantes riesgos que los mismos pueden ocasionar en la población, es de vital importancia el desarrollo de metodologías que permitan su evaluación y monitorización en muestras de especial interés como son las muestras de suelos, ya que constituyen diferentes vías de exposición humana a los ftalatos mediante inhalación, contacto dérmico e ingestión accidental, así como una vía indirecta a través de la contaminación de cultivos y aguas (Figura 1.2) (Wang et al., 2015a).

Introducción

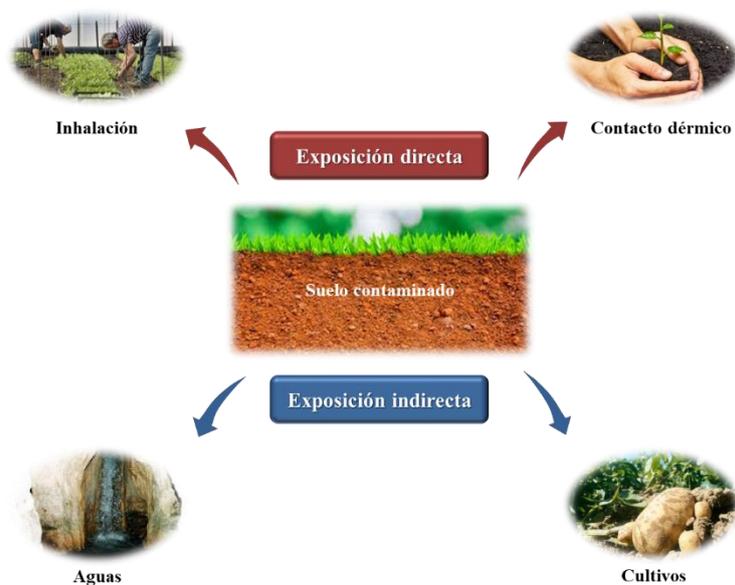


Figura 1.2- Esquema representativo de las principales vías de exposición humana a los ftalatos a través de un suelo contaminado.

1.3.- Legislación

Como se ha indicado anteriormente, los ftalatos son ampliamente utilizados en la fabricación y el procesado de una amplia variedad de productos plásticos, a pesar de que algunos de estos compuestos se reconocen como sustancias químicas capaces de alterar el funcionamiento del sistema endocrino, generando importantes efectos nocivos en la salud. Por ello, el Plan de Gestión actual de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA, del inglés *Environmental Protection Agency*) incluye los siguientes ftalatos: DEHP, DBP, BBP, DNOP, DINP, DIDP, DIBP y DNPP como sustancias cuya fabricación, distribución en el comercio y uso deben estar controlados. Este grupo de 8 ftalatos fue seleccionado teniendo en cuenta tanto su toxicidad para la salud pública y los ecosistemas, así como su presencia en el medioambiente (EPA, 2012).

En lo que respecta a la legislación europea, en el Reglamento (CE) N° 1272/2008 por el que se modificó el Reglamento (CE) N° 1907/2006, se incluyeron el ftalato de dialilo (DAP), el ftalato de di-2-metoxietilo (DMEP) y el DINP como sustancias tóxicas para la reproducción. En 2012, se incorporó el DIBP a esta lista en el Reglamento (CE) N° 109/2012 y posteriormente se clasificaron también el DNPP y el ftalato de dihexilo (DHP) como sustancias reprotóxicas. Además, recientemente se han incluido el ftalato de diisopentilo (DIPP) y el DCHP a la lista de compuestos tóxicos para la reproducción en el Reglamento (UE) 2017/999 y en la Decisión de Ejecución (UE) 2018/636, respectivamente.

Introducción

Por otra parte, la Unión Europea cuenta con diversas restricciones que limitan el uso de varios ftalatos en diferentes aplicaciones (juguetes infantiles, envases y materiales en contacto con alimentos, cosméticos, entre otros) y matrices medioambientales.

En 1999, la Comisión Europea publicó la Decisión 1999/815/CE, basada en la Directiva 92/59/CEE, mediante la que se prohibía temporalmente la comercialización de juguetes infantiles y artículos de puericultura destinados a ser introducidos en la boca por niños menores de 3 años y fabricados con PVC blando que contuvieran DEHP, DBP, BBP, DNOP, DINP y DIDP. Posteriormente, en 2005, se consolidó esta prohibición mediante la Directiva 2005/84/CE, siendo más restrictiva respecto al uso del DEHP, DBP y BBP, debido a su clasificación como sustancias reprotóxicas que afectan al desarrollo y funcionamiento de los órganos reproductivos. Además, se estableció que el contenido máximo de estos compuestos fuera inferior al 0,1 % en peso en los juguetes infantiles y artículos de puericultura.

En lo que se refiere a los alimentos, el Reglamento (UE) N°10/2011 permite el uso del DBP, BBP y DEHP en materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios siempre que se cumplan ciertas restricciones en cuanto a su uso. Por otro lado, con el objetivo de garantizar la salud de los consumidores, se han establecido límites de migración específicos (LMEs) para este grupo de ftalatos en distintas matrices alimentarias.

La industria cosmética también se ha visto afectada por las restricciones establecidas para la regulación del uso de ftalatos debido al alto consumo de este tipo de productos por parte de la población. De esta manera, en el Reglamento (CE) N° 1223/2009 se prohíbe el uso del DBP, DEHP, DMEP, DNPP, DIPP y BBP en productos cosméticos, destinados a ser puestos en contacto con las partes superficiales del cuerpo o la boca, entre los que cabe incluir cremas, emulsiones, lociones, geles, champús, cremas depilatorias, desodorantes y antitranspirantes, maquillaje o productos para cuidados bucales y dentales, entre otros.

En cuanto a las matrices medioambientales la legislación actual es bastante escasa. En el ámbito de la política de aguas, el DEHP es el único ftalato incluido en la lista de sustancias peligrosas prioritarias (Directiva 2013/39/UE). A pesar de ello, en la Directiva 2013/39/UE no se establece una concentración máxima admisible en aguas superficiales continentales, ni en otras aguas superficiales, aunque la concentración media anual no debe superar el valor de 1,3 µg/L en estas matrices. La Organización Mundial de la Salud (OMS), sin embargo, sí establece un valor referencia de 8 µg/L en agua potable, así como una ingesta diaria tolerable (IDT) de 25 µg/kg de peso corporal (OMS, 2003).

Introducción

En lo que respecta a otro tipo de matrices medioambientales como es el caso de los suelos, que puede suponer una importante vía de contaminación tanto para los cultivos, en el caso de los suelos agrícolas, como de las aguas subterráneas producto de la filtración del agua de lluvia, así como una vía directa de exposición de estos compuestos mediante inhalación o exposición cutánea por contacto directo, no existe legislación alguna al respecto. Este hecho es especialmente relevante teniendo en cuenta que, el propio Parlamento Europeo en la Resolución (2012/2066(INI)) resaltó los efectos nocivos que pueden producir las sustancias con carácter disruptor endocrino en la salud de la población en general y señaló que no existe una base científica suficiente para fijar un valor límite por debajo del cual estos compuestos no producen efectos adversos. Por lo tanto, se debe considerar que los ftalatos son sustancias “sin umbral” y que toda exposición a estos compuestos puede conllevar riesgos para la salud pública. Por esta razón, es necesario desarrollar metodologías analíticas altamente sensibles y selectivas, capaces de determinar estos analitos a niveles muy bajos de concentración (del orden de $\mu\text{g/L}$ o $\mu\text{g/kg}$) en matrices de interés como lo son las matrices medioambientales.

1.4.- Métodos de análisis de ftalatos en suelos

La separación y detección de ftalatos en suelos se han llevado a cabo mediante técnicas cromatográficas y, en menor medida, haciendo uso de técnicas electroforéticas (Net et al., 2015b). En este sentido, la cromatografía de gases (GC, del inglés *gas chromatography*) acoplada a distintos modos de detección, especialmente a la espectrometría de masas (MS, del inglés *mass spectrometry*), es la técnica más comúnmente empleada para la determinación de ftalatos, ya que estos compuestos son suficientemente volátiles y térmicamente estables (Kong et al., 2012; Meng et al., 2014; Swati et al., 2017; Liu et al., 2018).

Otro sistema de detección ampliamente utilizado es el detector de captura electrónica (ECD, del inglés *electronic capture detector*), establecido por la EPA como método estándar para el análisis de ftalatos ya que, a pesar de su restringida especificidad, es relativamente sensible a estos analitos (EPA, 1986). También se ha empleado el detector de ionización de llama (FID, del inglés *flame ionization detector*) debido a que su respuesta universal permite la determinación de una gran variedad de compuestos incluyendo los ftalatos (Martendal y Carasek, 2011). En lo que se refiere a la MS como sistema de detección, se han utilizado diferentes tipos de analizadores, principalmente el cuadrupolo simple (Tran et al., 2015; Sun et al., 2018) y, en menor medida, la trampa de iones (Laternus et al., 2007) y el triple cuadrupolo (Liao et al., 2010), siendo el sistema de ionización más empleado el de impacto electrónico (EI,

Introducción

del inglés *electron impact*) (Khosravi et al., 2015; Li et al., 2016; Sun et al., 2016) y, en algunos casos, la ionización química (Berset et al., 2001). En lo que respecta al tipo de columnas generalmente utilizadas en GC para la separación de ftalatos, destaca la aplicación de columnas capilares con fases estacionarias de polaridad intermedia o apolares como polimetilfenilsiloxanos y polidimetilsiloxanos, respectivamente (Pirogov et al., 2014).

Como se ha indicado anteriormente, la GC ha sido la técnica de separación más utilizada para el análisis de ftalatos, debido a su capacidad para proporcionar, generalmente, una mayor sensibilidad que la cromatografía líquida (LC, del inglés *liquid chromatography*). Sin embargo, y a pesar de ello, la LC se presenta como una alternativa fiable a la GC, especialmente para la separación de mezclas de isómeros de ftalatos en muestras complejas que no son separados adecuadamente por GC, proporcionando una mayor selectividad (González-Sálamo et al., 2018a). En este sentido, la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, del inglés *high performance liquid chromatography*) y, más recientemente, la cromatografía líquida de ultra-alta eficacia (UHPLC, del inglés *ultra-high performance liquid chromatography*), debido a sus ventajas en cuanto a la selectividad, sensibilidad y reducción de los tiempos de análisis, también han sido empleadas en el análisis de ftalatos (Masiá et al., 2013; Hayasaka, 2014; Esteve et al., 2016). En lo que respecta a los sistemas de detección, se han utilizado principalmente detectores de MS (Ma et al., 2010; González-Sálamo et al., 2018b) y de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) (Feng et al., 2015; Giovanoulis et al., 2016), aunque también se han utilizado detectores convencionales como UV-Visible (Daňková et al., 2016; Cheng et al., 2017) o diodo-array (DAD, del inglés *diode array detector*) (Sun et al., 2013b; Fernández-Amado et al., 2017). Entre los distintos analizadores empleados en MS destacan el cuadrupolo simple (Barciela-Alonso et al., 2017) y el triple cuadrupolo (Myridakis et al., 2015; Vavrouš et al., 2016a). Por otra parte, la ionización por electrospray (ESI) en modo positivo ha sido la fuente de ionización más comúnmente aplicada en el análisis de ftalatos por LC (Khedr et al., 2013; Vavrouš et al., 2016b). En cuanto a las columnas empleadas en este caso, dada la naturaleza apolar de estos compuestos, las más comunes han sido las de fase estacionaria C₁₈, aunque también se han seleccionado columnas con cadenas más cortas como C₈ para el análisis de algunos de estos compuestos (González-Sálamo et al., 2018a). Respecto a las fases móviles, las mezclas acetonitrilo (ACN)/H₂O y metanol (MeOH)/H₂O han sido las más aplicadas para la adecuada separación de los analitos, pudiendo o no contener pequeñas cantidades de ácidos, como ácido fórmico o acético, e incluso tampones como formiato o acetato de amonio, favoreciendo la ionización en espectrometría de masas y, con ello, mejorando la sensibilidad. Así mismo, las

columnas se pueden mantener termostatadas a temperaturas entre 25 y 80 °C con el fin de obtener separaciones con mejores sensibilidades y selectividades (Net et al., 2015b).

Además de la GC y la LC, la cromatografía electrocinética micelar (MEKC) también se ha utilizado para el análisis de ftalatos. Esta técnica de separación es una alternativa a las anteriores debido a su alta eficiencia, rapidez y bajo consumo de disolventes, sin embargo, su uso no es muy extendido (Isoo et al., 2001; Guo et al., 2005; Morales-Cid et al., 2009).

1.5.- Procedimientos de extracción de ftalatos en suelos

El pretratamiento de muestra constituye una de las etapas más importantes en cualquier proceso analítico. Por lo general, la determinación de ftalatos en matrices sólidas o semi-sólidas requiere de la extracción y preconcentración de los analitos de interés, dado que estos compuestos se encuentran a concentraciones muy bajas, del orden de $\mu\text{g}/\text{kg}$ en muestras sólidas, así como una etapa de limpieza, debido a la alta complejidad de las matrices, que permite la eliminación de compuestos co-extraídos que puedan actuar como interferencias impidiendo la adecuada determinación de los analitos de interés (Tienpont, 2004).

En cuanto a las técnicas de extracción empleadas en el análisis de ftalatos en matrices sólidas, incluidos sedimentos, lodos y suelos, se han utilizado diferentes métodos entre los que destaca especialmente la extracción Soxhlet por el alto número de aplicaciones. Este procedimiento fue establecido por la EPA como método de referencia para la extracción de contaminantes semi-volátiles en muestras sólidas en 1986 (EPA, 1986). En la extracción Soxhlet, el disolvente de extracción se calienta y los vapores condensados se filtran a través de la muestra contenida en un cartucho de filtración (Meng et al., 2014; Sun et al., 2013a; Sibali et al., 2013; Fatoki et al., 2010; Zeng et al., 2009; Zeng et al., 2008a; Zeng et al., 2008b; Huang et al., 2006; Gibson et al., 2005; Fromme et al., 2002; Webber y Lesage, 1989). Es una técnica lenta y tediosa, con tiempos de extracción que pueden prolongarse entre 4 y 72 horas, de manera que podría producirse la descomposición térmica de los analitos de interés. Además, se utilizan grandes cantidades de disolventes orgánicos nocivos para el medioambiente (100 – 500 mL) y a menudo se requiere una etapa posterior de evaporación del disolvente de extracción. Además de ello, la selectividad de la extracción, que está limitada al disolvente utilizado y el propio equipo Soxhlet, podría ser una fuente de contaminación de ftalatos debido al alto número de componentes plásticos que contiene este tipo de sistema (Luque de Castro y García-Ayuso, 1998).

Introducción

Debido a las desventajas que presenta la extracción Soxhlet y, siguiendo la actuales tendencias en el desarrollo de metodologías analíticas en las que se intenta reducir el tiempo de extracción, el consumo de disolventes y la manipulación de las muestras, principios fundamentales de la llamada “Química Verde” en la que se busca el desarrollo de procedimientos químicos respetuosos con el medioambiente, se han propuesto otras técnicas basadas en la extracción sólido-líquido, en las que se han incorporado una serie de modificaciones que permiten alcanzar estos objetivos. Entre los procedimientos más ampliamente utilizados destacan la extracción por ultrasonidos (USE, del inglés *ultrasonic-assisted extraction*), la extracción asistida por microondas (MAE, del inglés *microwave-assisted extraction*), la extracción con fluidos supercríticos (SFE, del inglés *supercritical fluid extraction*) y, sobre todo, la extracción acelerada con disolventes (ASE, del inglés *accelerated solvent extraction*) (Net et al., 2015b).

La USE utiliza la cavitación para extraer los analitos de la matriz de la muestra al disolvente de extracción. Este procedimiento es el más simple y económico y, además, conlleva tiempos de extracción relativamente cortos (2 – 120 minutos) consumiendo cantidades de disolvente orgánico del orden de mL (Lin et al., 2003; Gimeno et al., 2003; Xu et al., 2008; Wang et al., 2012; Shao et al., 2013; Fernández-González et al., 2017). En lo que se refiere a la MAE, su fundamento se basa en calentar el disolvente o la mezcla de disolventes de extracción, así como la muestra aplicando energía de microondas. Esta técnica también permite reducir drásticamente el tiempo de extracción (15 – 30 minutos) y el consumo de disolventes (10 – 30 mL) (Cortázar et al., 2005; Liang et al., 2010; Teo et al., 2013; Zheng et al., 2014). La SFE también constituye una de las técnicas de pretratamiento de muestra más respetuosas con el medioambiente. En este caso, la extracción de los analitos de interés depende de los fluidos supercríticos, cuyas propiedades son intermedias entre las características de los gases y los líquidos y están influenciadas por las condiciones de presión, temperatura y composición química (McDowell y Metcalfe, 2001; Sosa-Ferrera et al., 2013). Entre los diferentes disolventes utilizados como fluidos supercríticos, el CO₂ puro es el más popular debido a su inercia química, baja toxicidad y capacidad para disolver una amplia gama de compuestos orgánicos, sin embargo, su uso está restringido a la extracción de analitos apolares o de polaridad intermedia (Niu et al., 2018). Por su parte la ASE, también conocida como extracción con líquidos presurizados (PLE, del inglés *pressurized liquid extraction*), ha sido la técnica de preparación de muestra más empleada en el análisis de ftalatos en suelos después de la extracción Soxhlet (Huang et al., 2008; Reid et al., 2009; Chen et al., 2009; Blair et al., 2009;

Introducción

Lin et al., 2010; Chang et al., 2011; Rhind et al., 2013; Khosravi et al., 2015; Net et al., 2015c). En este caso el disolvente de extracción se bombea hacia una celda que contiene la muestra presurizada a una elevada temperatura (hasta 200 °C). El disolvente presurizado se mantiene en fase líquida por encima de su punto de ebullición, aumentando la cinética de desorción de los analitos de interés de la matriz de la muestra. La extracción puede llevarse a cabo en un tiempo inferior a 10 minutos requiriendo aproximadamente 30 mL de disolvente (Minhee et al., 2017). Además, en el mercado existen sistemas completamente automatizados para llevar a cabo esta técnica (Tienpont, 2004).

Además de las modificaciones previamente mencionadas, existe un gran interés por parte de la comunidad científica por la búsqueda de procedimientos de extracción automatizados y miniaturizados que permitan simplificar aún más los procesos analíticos, así como favorecer el desarrollo de métodos respetuosos con el medioambiente. Este tipo de técnicas han sido ampliamente aplicadas para el análisis de distintos contaminantes orgánicos en muestras de suelos. En este sentido se han aplicado tanto las llamadas técnicas de microextracción en fase líquida (LPME, del inglés *liquid-phase microextraction*) para la extracción de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs, del inglés *polycyclic aromatic hydrocarbon*), plaguicidas o alquilfenoles, entre otros (Daneshvand y Raofie, 2015; Mohammadi et al., 2015; Yazdanfar et al., 2018) como técnicas basadas en sorbentes. En este sentido cabe destacar la aplicación de la extracción en fase sólida (SPE, del inglés *solid-phase extraction*) y la SPE en su versión miniaturizada (μ -SPE, del inglés *micro solid-phase extraction*) para llevar a cabo el análisis de plaguicidas (Mohammadi et al., 2015; Mirikaram et al., 2017) fármacos (Mullen et al., 2017), PAHs (Yazdanfar et al., 2018) y bifenilos policlorados (PCBs, del inglés *polychlorinated biphenyls*) (Lun et al., 2016), entre otros. Por otro lado también se ha utilizado la microextracción en fase sólida (SPME, del inglés *solid-phase microextraction*) tanto en su modalidad directa (DI-SPME, del inglés *direct immersion-SPME*) (Zhang et al., 2013; Xie et al., 2016) como en espacio en cabeza (HS-SPME, del inglés *headspace-SPME*) (Đurović-Pejčev et al., 2016) y la extracción por adsorción con barra agitadora (SBSE, del inglés *stir bar sorptive extraction*) (Li et al., 2018) para el análisis de plaguicidas en distintas muestras de suelos, así como la dispersión de matriz en fase sólida (MSPD, del inglés *matrix solid phase dispersion*) empleando como sorbente de dispersión C₁₈ (Ipaguirre et al., 2014; Zhao et al., 2018) o materiales más novedosos como los nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs, del inglés *multi-walled carbon nanotubes*) (Ghadiri y Salemi, 2017), grafeno (Tan et al., 2017) o nanopartículas (Wang et al., 2018). Para la determinación de plaguicidas, PAHs,

así como clorofenoles y éteres bifenilos polibromados en suelos. Sin embargo, su aplicación al análisis de ftalatos en este tipo de matrices es muy reducida. En este sentido, hasta la actualidad, solo se han llevado a cabo dos estudios en los que se ha aplicado la SPME para la determinación simultánea de PAHs y PAEs (Martendal y Carasek, 2011) y en una única ocasión la MSPD para analizar un único ftalato (DEHP) en sedimentos (Muñoz-Ortuño et al., 2014).

1.5.1.- Método de dispersión de matriz en fase sólida

La MSPD fue introducida por primera vez por Barker et al. para la extracción de residuos de medicamentos de tejido animal (Barker et al., 1989). Desde entonces, ha demostrado ser una técnica de preparación de muestra eficiente y versátil, capaz de aislar diferentes sustancias como plaguicidas, drogas, agentes contaminantes e incluso compuestos naturales de una amplia variedad de matrices de origen medioambiental y agroalimentario (Capriotti et al., 2015). Aunque inicialmente esta técnica de preparación de muestra se desarrolló para resolver los problemas inherentes al procesamiento de matrices sólidas y semi-sólidas, hoy en día, pueden encontrarse trabajos utilizando la MSPD en muestras viscosas y líquidas (Guerra et al., 2017; León-Gómez y Rosales-Conrado, 2017).

La ventaja más relevante de la MSPD es la posibilidad de llevar a cabo la extracción y preconcentración de los analitos de interés y la limpieza de la muestra simultáneamente (Niu et al., 2018). Además, esta técnica se caracteriza por su simplicidad y bajo coste, puesto que no requiere instrumentación o equipos específicos, así como por su facilidad de operación y robustez en comparación con otros métodos como la extracción Soxhlet. Aunque no puede automatizarse por completo, la extracción basada en MSPD es bastante rápida (aproximadamente 10 minutos) y requiere un bajo consumo de disolventes (Barker, 2007; Capriotti et al., 2015; Guerra et al., 2017).

La técnica se basa en alterar o romper completamente la estructura de la muestra permitiendo que los componentes se dispersen en el sorbente sólido (Capriotti et al., 2010). El procedimiento consta de tres etapas como se muestra en la Figura 1.3. El primer paso consiste en colocar la muestra sólida o semi-sólida en un mortero de vidrio o ágata que contiene el material dispersante. A continuación, se mezclan ambos sólidos manualmente, utilizando una mano de mortero durante varios segundos o incluso algunos minutos (30 segundos – 5 minutos). En la siguiente etapa, el material mezclado se transfiere y se compacta en una columna. En la SPE convencional, la muestra se retiene en los primeros milímetros del sorbente sólido, sin embargo, en MSPD, se encuentra dispersada homogéneamente en toda la columna de

Introducción

extracción, constituyendo una nueva fase que exhibe un carácter único para el fraccionamiento de la muestra (Barker, 2007; Capriotti et al., 2015). Finalmente, se realiza la elución de los compuestos de interés empleando una pequeña cantidad de disolvente o mezcla de disolventes con la ayuda de una bomba de vacío, por presión o gravedad. El extracto obtenido se analiza en la mayoría de los casos mediante GC-MS o LC-MS (Capriotti et al., 2015).

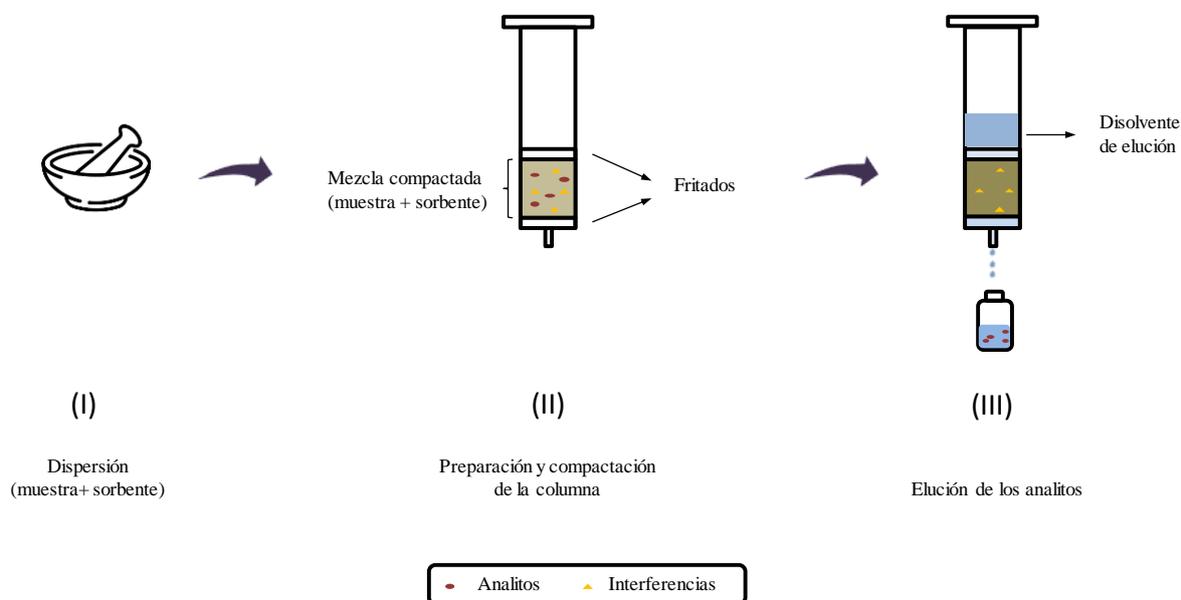


Figura 1.3.- Representación esquemática del procedimiento de MSPD. Etapa (I): la muestra se mezcla con el material dispersante en un mortero; Etapa (II): el polvo homogeneizado se transfiere a una columna de extracción y se comprime; Etapa (III): se realiza la elución de los analitos de interés con un disolvente o mezcla de disolventes adecuados.

Las condiciones en las que se realiza la extracción, normalmente a temperatura ambiente, constituyen otra de las claves para el éxito de la MSPD, dado que se reduce drásticamente la posibilidad de degradación o desnaturalización de los analitos de interés. En algunas ocasiones, sin embargo, se combina con la ASE para aumentar las recuperaciones de los compuestos que interactúan fuertemente con la matriz sólida (Shen et al., 2011; Liu et al., 2015b).

En lo que respecta al material dispersante y al disolvente o mezcla de disolventes utilizados en MSPD, estos constituyen los principales factores que determinan la eficacia y selectividad del proceso de extracción. En este sentido, cabe mencionar que en la mayoría de las aplicaciones de MSPD se han utilizado sorbentes sólidos típicos de SPE, destacando las fases estacionarias C₁₈ y C₈ en fase inversa y la alúmina, sílice y Florisil[®] en fase normal (Capriotti et al., 2015). Sin embargo, en los últimos años, se han propuesto nuevos sorbentes como los polímeros de impronta molecular (MIPs, del inglés *molecularly imprinted polymers*),

Introducción

que proporcionan procedimientos de extracción altamente selectivos debido a su capacidad de reconocimiento molecular (Wang et al., 2011a; Yan et al., 2012; Wang et al., 2017) y materiales basados en carbono como el carbón negro grafitizado (GCB, del inglés *graphitized carbon black*) (Rodríguez-González et al., 2017), así como nanomateriales incluyendo MWCNTs (Su et al., 2011; Cai et al., 2017), grafeno (Liu et al., 2011) o nanopartículas (Wang et al., 2018) que presentan un mayor área superficial permitiendo una mayor interacción con la matriz y los analitos de interés, favoreciendo la eficacia del procedimiento. Aunque estos sorbentes son menos específicos que los MIPs, permiten obtener buenas eficacias de extracción (Capriotti et al., 2013). En la MSPD es frecuente combinar los sorbentes de dispersión con agentes de secado como el Na₂SO₄ anhidro. Por otra parte, la elección del disolvente de elución depende de la fuerza de las interacciones entre el material dispersante y los analitos de interés. En este sentido, los disolventes orgánicos más ampliamente utilizados para la extracción de compuestos apolares han sido hexano, diclorometano y mezclas de ambos, mientras que para los analitos de polaridad intermedia o alta se han empleado esencialmente ACN, MeOH, acetona, acetato de etilo (EtOAc) y mezclas de estos disolventes (García-López et al., 2008).

Otro parámetro que debe optimizarse con el objetivo de obtener la máxima eficiencia en el procedimiento de extracción es la relación cantidad de muestra/sorbente, que depende fundamentalmente del tipo de matriz y las características fisicoquímicas del material dispersante (Capriotti et al., 2015).

Teniendo en cuenta las numerosas variables que influyen sobre la eficacia de la extracción en MSPD, la optimización podría resultar una tarea larga y tediosa. Para resolver este problema, a menudo se lleva a cabo el proceso de optimización desde un enfoque quimiométrico utilizando un diseño experimental adecuado (Álvarez-Rivera et al., 2012; Llompart et al., 2013; Rajabi et al., 2015).

Como se puede observar en la Tabla 1.1, en la bibliografía existen muy pocos trabajos en los que se haya utilizado la MSPD para el análisis de ftalatos. Estos han sido aplicados, fundamentalmente, a muestras alimentarias y cosméticos (Wang et al., 2011b; Muñoz-Ortuño et al., 2012; Llompart et al., 2013; Munshi et al., 2013) y sólo en una ocasión a muestras medioambientales (Muñoz-Ortuño et al., 2014) analizando en este caso un único ftalato en muestras de sedimentos. Por lo general, el número de compuestos determinados es muy reducido, excepto en un caso en el que se lleva a cabo la determinación de 15 ftalatos en cosméticos y productos de higiene personal (Llompart et al., 2013). En la mayoría de las aplicaciones se utilizan sorbentes como el C₁₈ (Muñoz-Ortuño et al., 2014), Florisil® (Llompart

Tabla 1.1.- Trabajos presentes en la bibliografía en los que se utiliza la MSPD para el análisis de ftalatos en diferentes matrices.

Analitos	Muestra (cantidad)	Sorbente (cantidad)	Elución	Técnica de terminación	Recuperación (%)	LOD (µg/kg)	Comentarios	Referencia
DEHP	Sedimentos (0,1 – 0,3 g)	C ₁₈ (0,4 g)	ACN (1,2 mL)	IT-SPME-CLC-DAD	80	90 – 270		Muñoz-Ortuño et al., 2014
DMP, DEP, DBP y DEHP	Marisco (0,5 g)	C ₁₈ , Florisil® (-)	MeOH/CH ₂ Cl ₂ 50-50 (v/v) (15 mL)	GC-MS	42 – 96	20 – 50		Munshi et al., 2013
DMP, DEP, DIBP, DBP, DMEP, DIPP, DPP, BBP, DIHP, DEHP, DCHP, DPhP, DOP, DINP, DIDP	Cosméticos (0,1 g)	Florisil® (0,4 g), Na ₂ SO ₄ anhidro (0,2 g)	EtOAc (1 mL)	GC-MS	85 – 105	1,4 – 300	Además del análisis de ftalatos también se llevó a cabo el análisis de compuestos volátiles.	Llompart et al., 2013
DEHP	Moluscos (0,1 g)	C ₁₈ (0,4 g), Florisil® (0,1 g)	ACN/Agua 1/3,25 (v/v) (3,8 mL)	IT-SPME-CapLC-DAD	91	170		Muñoz-Ortuño et al., 2012
DMP, DEP, DBP, DEHP	Marisco (1,0 g)	Florisil (2,0 g), GCB, (0,1 g) Na ₂ SO ₄ anhidro (4,0 g)	EtOAc (20 mL)	HPLC-UV	85 – 106	0,7 – 1,9		Wang et al., 2011b

CLC: cromatografía líquida capilar; DIHP: ftalato de diisooheptilo; DPhD: ftalato de difenilo; DPP: ftalato de dipentilo; IT-SPME: microextracción en fase sólida en tubo.

et al., 2013) o la combinación de ambos (Muñoz-Ortuño et al., 2012; Munshi et al., 2013) aunque también se ha utilizado el GCB en alguno de los casos (Wang et al., 2011b), haciendo uso en la mayoría de las ocasiones del Na₂SO₄ anhidro como agente de secado (Wang et al., 2011b; Llompart et al., 2013). Sin embargo, la aplicación de nanomateriales con altas relaciones área-volumen que proporcionen una mayor superficie de contacto, favoreciendo la eficacia del proceso de extracción y limpieza para la determinación de ftalatos, no ha sido descrita hasta la actualidad en esta técnica de extracción.

1.6.- Redes metal-orgánicas en el análisis de ftalatos

Las redes metal-orgánicas (MOFs, del inglés *metal-organic frameworks*) constituyen una nueva clase de materiales porosos construidos a partir de iones o grupos de iones metálicos que se encuentran unidos mediante enlaces de coordinación a ligandos orgánicos (Chen et al., 2014). En los últimos años, los MOFs han despertado un gran interés en la comunidad científica debido a las particulares características que presentan como son su gran área superficial o buena estabilidad térmica, entre otras (Chen et al., 2014; Dargahi et al., 2018). Estas características han hecho posible su aplicación en el almacenamiento/separación de gases, catálisis, sensores y liberación controlada de fármacos (Liu et al., 2015c). En lo que respecta a su aplicación como sorbente en procedimientos de extracción, los MOFs han sido ampliamente utilizados debido a su gran diversidad estructural y excelentes propiedades como una alta porosidad, la posibilidad de funcionalización de la superficie interna y un gran área superficial (González-Sálamo et al., 2016).

Estos materiales han sido aplicados en diversas ocasiones en el análisis de ftalatos. En este sentido se han utilizado en la preparación de fases estacionarias en columnas para LC (Shu et al., 2016) y más recientemente en la preparación de inmunosensores colorimétricos basados en MOFs de cobre y peroxidasa de rábano para la detección de DBP en muestras medioambientales y agroalimentarias (Zhu et al., 2018).

En lo que respecta a su uso como sorbente en procedimientos de extracción para el análisis de este tipo de compuestos, cabe mencionar que la mayoría de las aplicaciones que se encuentran en la bibliografía se refieren a la determinación de estos compuestos en muestras líquidas como agua embotellada, bebidas refrescantes, aceites vegetales e incluso plasma sanguíneo, empleando SPE (Liu et al., 2015c), μ -SPE (Wang et al., 2015b) y SPE en su modalidad dispersiva utilizando sorbentes magnéticos (m-dSPE, del inglés *magnetic dispersive solid-phase extraction*) (Dargahi et al., 2018), así como SPME (Liang et al., 2016; Zhang et al.,

Introducción

2018). Sin embargo, su aplicación como sorbente en MSPD para el análisis de ftalatos no ha sido descrito aún en la bibliografía.

2.- Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Máster es el desarrollo de una nueva metodología analítica para la determinación de un grupo de migrantes de plásticos, concretamente 15 ftalatos (DMEP, DMP, ftalato de di-2-etoxietilo (DEEP), DEP, DPP, BBP, DIBP, DBP, ftalato de di-2-n-butoxietilo (DBEP), DIPP, DNPP, DCHP, DNOP, DINP y DIDP) en suelos, utilizando como técnica de extracción la MSPD. Para lograr este objetivo principal, se han establecido otros objetivos específicos:

- Realizar una búsqueda bibliográfica de las diferentes metodologías analíticas aplicadas a la determinación de ftalatos en suelos, así como los distintos procedimientos de extracción propuestos, haciendo especial hincapié en aquellos relacionados con el uso de la MSPD.
- Seleccionar un grupo de ftalatos teniendo en cuenta sus posibles efectos nocivos en la salud humana y en el medioambiente, así como su posible presencia en muestras de suelos.
- Hacer uso de la UHPLC acoplada a un espectrómetro de masas en tándem para llevar a cabo la separación y cuantificación de los analitos de interés.
- Estudiar la influencia de las diferentes variables experimentales en la extracción de los ftalatos seleccionados, además de optimizar dichos parámetros para obtener las mayores eficacias de extracción haciendo uso de un diseño experimental.
- Validar el procedimiento analítico desarrollado a partir de los correspondientes estudios de calibración y recuperaciones, así como obtener los LOQs del método con el fin de demostrar la capacidad de la metodología para determinar los analitos seleccionados a los niveles que estos se encuentran en la matriz de estudio y proporcionar información analítica útil y fiable.
- Aplicar la metodología analítica desarrollada al análisis de muestras reales de diferente procedencia con el objetivo de demostrar su aplicabilidad en el análisis de este tipo de matrices, además de determinar la posible existencia de residuos de ftalatos en las muestras seleccionadas.

3.- Parte experimental

3.1.- Patrones, disolventes, reactivos y disoluciones

- DMEP, DMP, DEEP, DEP, DPP, BBP, DIBP, DBP, DBEP, DIPP, DNPP, DCHP, DNOP, DINP, DIDP y DBP-d₄ de pureza superior al 97 % (Sigma-Aldrich Chemie y Dr. Ehrenstorfer). Las disoluciones estándar se prepararon en ACN y se conservaron en ausencia de luz a -18 °C. Las disoluciones de trabajo se prepararon diariamente a las concentraciones adecuadas mediante dilución con la composición inicial de la fase móvil utilizada en el sistema cromatográfico (50/50 ACN/H₂O (v/v), 0,1 % ácido fórmico).
- MOFs Basolite[®] F300 (Fe-BTC, BTC: 1,3,5-bencenotricarboxilato) (Sigma-Aldrich Chemie).
- Óxido de grafeno (GO, acrónimo del inglés *graphene oxide*) (Sigma-Aldrich Chemie).
- MWCNTs (longitud: 5 – 9 µm; diámetro interno (d.i.):110 – 170 nm) (Sigma-Aldrich Chemie).
- ACN grado LC-MS (Merck).
- MeOH grado LC-MS (Merck).
- Acetona grado LC (Merck).
- EtOAc grado HPLC (Sigma-Aldrich Chemie).
- Hexano grado HPLC (Sigma-Aldrich Chemie).
- Ácido fórmico, grado reactivo y pureza superior al 95 % (Honeywell Fluka).
- Ácido sulfúrico, calidad p.a. y pureza del 96 % p/p (Panreac Química).
- Etanol absoluto (EtOH) para síntesis (Scharlau).
- Agua Milli-Q (conductividad 18,2 µS/cm a 25 °C) obtenida a partir de un equipo Milli-Q Gradient A10 (Millipore).
- Cloruro potásico (KCl), calidad p.a. y pureza superior al 99,5 % (Merck).
- Disolución electrolítica CRISOLYT A de KCl 3 M para el correcto mantenimiento de la membrana del pH-metro (Crison).
- Disoluciones tampón de pH 4,0 y 7,0 para la calibración del pH-metro (Crison).
- Disoluciones patrón de conductividad 147 µS/cm, 12,88 mS/cm y 1416 µS/cm para la calibración del conductímetro (Crison y Panreac Química).
- Disolución de NOCHROMIX[®] para la limpieza del material de vidrio (Sigma-Aldrich Chemie).

3.2.- Material

- Vasos de precipitados de 10, 50, 100, 250 y 400 mL (DURAN).
- Matraces aforados de 5, 10, 250 y 500 mL clase A con tapa de vidrio (VWR International).
- Matraces Erlenmeyer de 50 mL (Lenz Laborglas GmbH & Co. KG).
- Columnas de vidrio para SPE de 6 mL, 7,5 cm de largo, 1,5 cm de diámetro externo (d.e.) y 1,2 cm de d.i. (Supelco).
- Viales de vidrio ámbar de 22 mL con tapa de rosca de politetrafluoroetileno (PTFE) (Supelco).
- Viales de 2 mL para LC-MS (12 x 32 mm) con tapa de rosca de PTFE y septum de silicona preperforado (Waters Chromatography).
- Viales de inserción con fondo cónico de 300 µL para viales de 2 mL (Sigma Aldrich Chemie).
- Botellas de vidrio para la fase móvil de 0,5 L (VWR International).
- Embudos de vidrio de 50 mm de d.i. (Labbox).
- Varillas de vidrio (Labbox).
- Fritados de PTFE de 20 µm de tamaño de poro, 11,5 mm de diámetro y 3 mm de espesor (Supelco).
- Filtros de membrana Durapore[®] de polifluoruro de vinilideno (PVDF) de 0,22 µm de tamaño de poro y 47 mm de diámetro (Merck).
- Filtros de tubo de centrifuga de acetato de celulosa Corning[®] Costar[®] Spin-X[®] de 0,22 µm de tamaño de poro (Sigma-Aldrich Chemie).
- Tamiz de 1 mm de malla, 200 mm de diámetro y 32 mm de altura (VWR International).
- Puntas desechables para pipetas automáticas de distintos volúmenes, libres de ftalatos (Gilson).
- Guantes de nitrilo desechables libres de ftalatos Semperguard[®] Nitrile Xpert powder-free (Sempermed).

3.3.- Equipos

3.3.1.- Instrumentos

- Balanza analítica Quintix 124-1S de precisión 0,1 mg y capacidad máxima de pesada de 120 g (Sartorius).
- Micropipetas de volumen variable de 2 – 20, 20 – 200, 100 – 1000 y 500 – 5000 µL (Brand y Eppendorf).

Parte experimental

- pH-metro GLP 22 con sensor de temperatura (Crison).
- Conductímetro CM 35 con medida de salinidad y control de temperatura en la célula (Crison).
- Cromatógrafo de líquidos. Para llevar a cabo la separación y determinación del grupo de ftalatos seleccionado se ha utilizado un UHPLC Acquity UPLC[®] H-class (Waters Chromatography), equipado con una bomba cuaternaria y un automuestreador de flujo continuo. El sistema de UHPLC está acoplado a un detector MS Xevo QqQ (Waters Chromatography). Las separaciones se llevaron a cabo en una columna Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm) usando una precolumna (5 mm x 2,1 mm, 1,7 µm), ambas de Waters Chromatography.

3.3.2.- Aparatos

- Sistema de vacío para SPE Visiprep[™]-DL con capacidad para la extracción simultánea de 12 muestras (Supelco).
- Rotavapor R-210 con baño termostático B-491, bomba de vacío V-700 y controlador de vacío V-850 (BÜCHI Labortechnik).
- Centrífuga 5415 D con controlador de tiempo y velocidad máxima de 13200 r.p.m. (Eppendorf).
- Estufa UN110 de 108 L de capacidad y temperatura máxima de 300 °C (Memmert GmbH & Co. KG).
- Mufla CWF 11/13 de 13 L de capacidad y temperatura máxima de 1100 °C (Carbolite).
- Agitador magnético Asincro 7000379 con velocidad máxima de 1600 r.p.m. (Selecta).
- Baño de ultrasonidos USC-TH (VWR International).
- Sistema de purificación de agua Milli-Q gradient A10 (Millipore).

3.3.3.- Programas informáticos

- Masslynx[™] de Waters Chromatography para el manejo de la bomba cuaternaria y el muestreador automático, así como para el control del espectrómetro de masas y la recolección y el procesamiento de datos.
- STATGRAPHICS Centurion XVI para la elaboración y el análisis del diseño experimental.
- Microsoft[®] Office Excel 2016 para la elaboración de hojas de cálculo y el tratamiento de datos.
- Microsoft[®] Office PowerPoint 2016 para la presentación de los cromatogramas obtenidos.
- Microsoft[®] Office Word 2016 para la elaboración de la presente memoria.

3.4.- Muestras analizadas

Durante el desarrollo de este Trabajo de Fin de Máster, se han analizado suelos agrícolas procedentes de zonas de cultivo ubicadas en diferentes municipios de la isla de Tenerife: San Juan de La Rambla, San Cristóbal de La Laguna, Candelaria y Güímar. Todas las muestras fueron tomadas a 20 cm de profundidad siguiendo las directrices indicadas por el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) (ICIA, 2018).

3.5.- Procedimientos experimentales

3.5.1.- Caracterización de las muestras de suelo

Las muestras de suelo fueron caracterizadas mediante la determinación de parámetros fisicoquímicos de especial interés, debido a su influencia en la actividad y movilidad de los contaminantes presentes en dichas matrices, como el pH, la conductividad y la humedad (Tabla 3.1).

– Determinación del pH en agua (Método Oficiales de Análisis (MAPA), 1994)

Se suspendieron 10,0 g de suelo en 25 mL de agua Milli-Q (relación 1:2,5 (p/v)) y se agitó utilizando un agitador magnético a 1000 r.p.m. durante 10 minutos. A continuación, la mezcla se dejó en reposo durante 30 minutos y se agitó de nuevo inmediatamente antes de realizar la medida de pH del sobrenadante durante unos segundos.

– Determinación del pH en KCl (MAPA, 1994)

Se suspendieron 10,0 g de suelo en 25 mL de una disolución de KCl 0,1 N (relación 1:2,5 (p/v)) y se agitó utilizando un agitador magnético a 1000 r.p.m. durante 10 minutos. A continuación, la mezcla se dejó en reposo durante 30 minutos y se agitó de nuevo inmediatamente antes de realizar la medida de pH del sobrenadante durante unos segundos.

– Determinación de la conductividad (MAPA, 1994)

Se suspendieron 10,0 g de suelo en 50 mL de agua Milli-Q (relación 1/5 (p/v)) y se agitó utilizando un agitador magnético a 1000 r.p.m. durante 30 minutos. La mezcla se dejó en reposo el tiempo suficiente para la deposición de los sólidos y, a continuación, el sobrenadante se filtró a través de un papel de filtro y se midió la conductividad del filtrado.

– Determinación del porcentaje de humedad (MAPA, 1994)

Parte experimental

Se pesaron 25,0 g de suelo homogeneizado y secado al aire a temperatura ambiente en un crisol y, a continuación, se secaron en la estufa a 105 °C durante 24 horas. Posteriormente, la muestra se colocó en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y se pesó de nuevo.

Tabla 3.1.- Parámetros fisicoquímicos medidos en las muestras de suelo.

Municipio	pH en agua	pH en KCl	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	Humedad (%)
San Juan de La Rambla	4,1	3,7	2040	6,3
San Cristóbal de La Laguna	7,3	7,2	1502	4,7
Candelaria	6,3	6,1	1585	8,3
Güímar	6,5	5,9	957	6,9

3.5.2.- Análisis mediante UHPLC-MS/MS

La mejor separación del grupo de ftalatos seleccionado se obtuvo aplicando el gradiente de elución descrito en la Tabla 3.2, previamente optimizado en nuestro laboratorio para un grupo similar de analitos (Santana-Mayor et al., 2018). Se empleó como fase móvil una mezcla ACN/H₂O, conteniendo ambos ácido fórmico al 0,1 % (v/v). El flujo de la fase móvil y el volumen de inyección fueron de 0,3 mL/min y 5 μL , respectivamente. El compartimento del automuestreador se mantuvo termostataado a 10 °C, mientras que la columna y precolumna se mantuvieron a 40 °C. El tiempo de análisis fue inferior a 11 minutos.

Tabla 3.2.- Gradiente empleado en la separación de los ftalatos mediante UHPLC-MS/MS.

Tiempo (min)	ACN (%)	H ₂ O (%)
0	50	50
4	70	30
7	100	0
8	100	0
9	50	50
11	50	50

La detección y cuantificación de los analitos se llevó a cabo mediante MS, empleando un analizador de triple cuadrupolo, trabajando en modo de monitorización de reacción múltiple (MRM, del inglés *multiple reaction monitoring*) e ionización ESI en modo positivo utilizando un ion precursor y dos iones productos. La presión del gas de colisión (Ar) fue de 0,5 bar. En la Tabla 3.3 se muestran las condiciones que dieron lugar a la máxima intensidad de los iones precursores.

Parte experimental

Tabla 3.3.- Condiciones de trabajo de los diferentes parámetros de la fuente.

Parámetro	Valor
Voltaje del capilar	3,50 kV
Temperatura de la fuente	150 °C
Temperatura de desolvatación	500 °C
Flujo del gas del cono (N ₂)	50 L/h
Flujo del gas de desolvatación (N ₂)	900 L/h

La obtención de los espectros de MS/MS se llevó a cabo mediante la fragmentación de la molécula protonada $[M-H]^+$, seleccionada como ion precursor. Las transiciones de MRM, así como los valores de voltaje de cono y energía de colisión de los analitos de interés, fueron previamente optimizados mediante la perfusión directa en el espectrómetro de masas de cada uno de los estándares de los ftalatos a una concentración de 2 mg/L en la composición inicial de la fase móvil (50/50 ACN/H₂O (v/v), 0,1 % ácido fórmico).

3.5.3.- Preparación de las muestras de suelo

Las muestras de suelo se tamizaron a través de una malla de 1 mm y se dejaron secar al aire a temperatura ambiente durante 3 días, luego se almacenaron en recipientes de vidrio.

3.5.4.- Procedimiento de MSPD

A continuación, se describe el procedimiento de MSPD utilizado para llevar a cabo la extracción de los analitos seleccionados de las muestras de suelo (Figura 3.1). Se pesó 1,0 g de muestra en un vaso de precipitados de 10 mL, seguidamente, se añadieron 30 mg del sorbente de dispersión (MOF Fe-BTC) y se agitó manualmente durante 3,7 minutos con una varilla de vidrio haciendo movimientos circulares. La mezcla se trasvasó a una columna de vidrio que contenía 3 fritados de PTFE con ayuda de un embudo de vidrio y se colocó otro fritado para sellar la parte superior de la columna. Los analitos se eluyeron utilizando 5 mL de ACN a vacío de -20 mmHg. El eluato fue, posteriormente, evaporado hasta sequedad en el rotavapor a 40 °C y 165 mbar. El residuo obtenido se reconstituyó en 500 µL de la composición inicial de la fase móvil (50/50 ACN/H₂O (v/v), 0,1 % ácido fórmico), se filtró a través de un filtro de acetato de celulosa de 0,22 µm a 13000 r.p.m. durante 7 minutos y finalmente se inyectaron 5 µL en el sistema de UHPLC.

Parte experimental

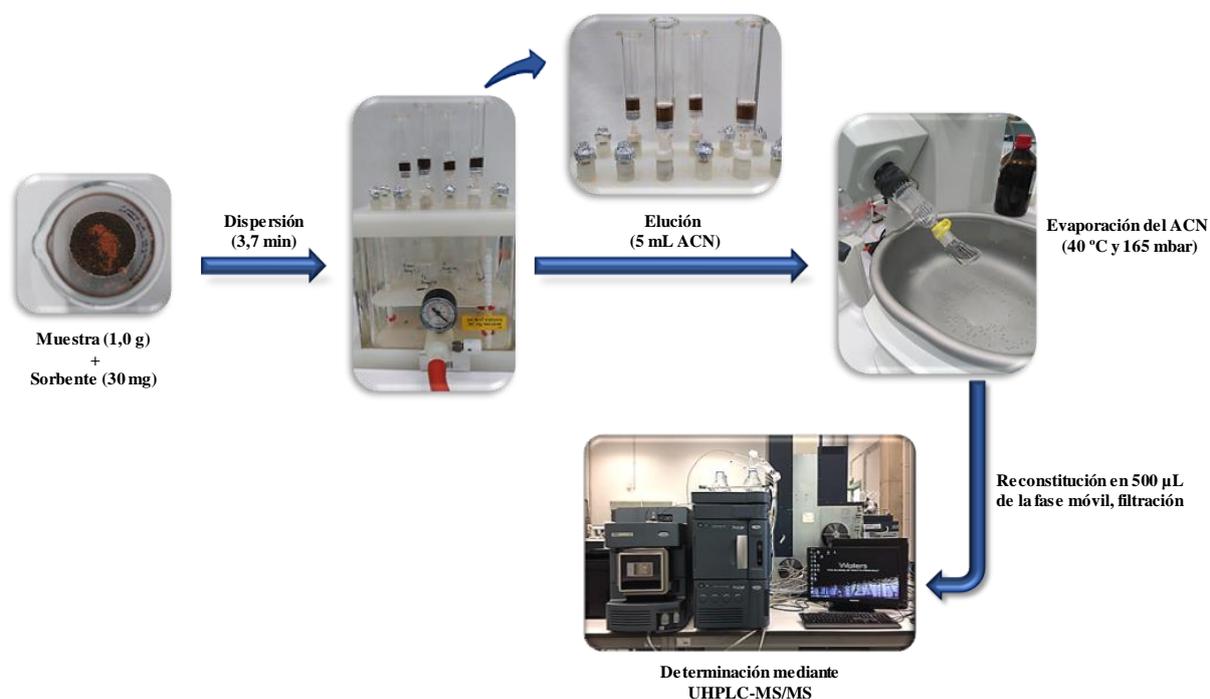


Figura 3.1.- Representación esquemática del tratamiento de muestra optimizado en este estudio.

3.6.- Limpieza del material

La limpieza del material de vidrio volumétrico consistió en un enjuague inicial con agua del grifo y jabón, a continuación, se sumergió en una disolución de NOCHROMIX[®] en ácido sulfúrico durante 24 horas y, por último, se lavó con abundante agua Milli-Q, seguido de varios lavados con MeOH grado LC-MS y secado a temperatura ambiente.

Por otra parte, el material de vidrio no volumétrico se enjuagó con agua del grifo y jabón, se lavó con agua Milli-Q y se introdujo en la estufa a 100 °C hasta completa sequedad para finalmente llevarlo a la mufla donde se sometió a un programa de 550 °C durante 5 horas, con el objetivo del calcinar la totalidad de la materia orgánica residual.

El material de teflón se enjuagó con agua del grifo y jabón, seguidamente, se sumergió en una mezcla 50/50 EtOH/H₂O (v/v) y se introdujo en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos. Este procedimiento se repitió tres veces y, finalmente, se realizó un lavado con MeOH grado LC-MS y secado a temperatura ambiente.

Por último, en lo que respecta a la limpieza de los viales de vidrio e inserción, consistió en una primera etapa siguiendo del procedimiento descrito en el párrafo anterior y, a continuación, se introdujeron en la estufa a 100 °C hasta completa sequedad y posteriormente en la mufla programada a 550 °C durante 5 horas.

4.- Resultados y discusión

4.1.- Características de los ftalatos estudiados

Para la realización del presente trabajo, se han seleccionado un total de 15 ftalatos (DMEP, DMP, DEEP, DEP, DPP, BBP, DIBP, DBP, DBEP, DIPP, DNPP, DCHP, DNOP, DINP y DIDP), los cuales se reconocen como sustancias químicas capaces de generar efectos nocivos en la salud de la población y los ecosistemas.

Como se ha indicado anteriormente, la migración de estos aditivos al medio es relativamente fácil dado que no se encuentran enlazados covalentemente a los polímeros plásticos. En lo que respecta a la presencia de ftalatos en muestras de suelo, una intensa actividad agrícola puede ser la principal fuente de contaminación por parte de este tipo de compuestos. El riesgo potencial que supone que los residuos de ftalatos sean adsorbidos por los cultivos y las aguas que se filtran a través de los suelos hace que sea una cuestión de vital importancia conocer las características y propiedades de estos compuestos con el fin de poder conocer los efectos adversos que pueden causar en función de su contenido en las muestras de estudio y que medidas pueden tomarse para evitarlos y evitar su presencia en muestras de este tipo.

En la Tabla 4.1 se muestran las principales características fisicoquímicas del grupo de ftalatos estudiado. Estos compuestos son ésteres derivados del ácido orto-ftálico o ácido 1,2-benzenodicarboxílico, por lo que presentan una estructura común modificada por cadenas laterales de alquilo lineales o ramificadas, o de arilo, con longitudes entre 1 y 13 átomos de carbono. Sus puntos de fusión se encuentran por debajo de $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, excepto para el DMP ($5,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), DEEP ($34\text{ }^{\circ}\text{C}$) y DCHP ($66\text{ }^{\circ}\text{C}$), indicando que a temperatura ambiente generalmente son líquidos aceitosos incoloros e inodoros (Zaate et al., 2014). En lo que respecta a sus puntos de ebullición, estos son relativamente altos encontrándose en el intervalo de $220 - 370\text{ }^{\circ}\text{C}$. Estas características hacen posible su aplicación como plastificantes en una amplia variedad de productos industriales (Yang et al., 2015).

En cuanto a la solubilidad en agua, esta es una propiedad que se evalúa mediante el coeficiente de reparto octanol-agua (K_{ow}), definido como las concentraciones en equilibrio de un compuesto en una mezcla octanol/agua. En otras palabras, es una medida del carácter lipofílico o hidrofóbico de una sustancia. En este sentido, cabe mencionar que los ftalatos de baja masa molecular como, por ejemplo, DMP, DEP y DPP son relativamente solubles en agua,

Tabla 4.1.- Principales características fisicoquímicas del grupo de ftalatos estudiado.

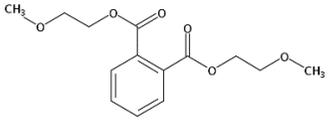
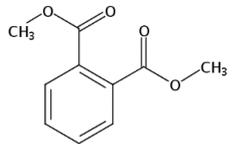
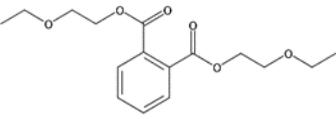
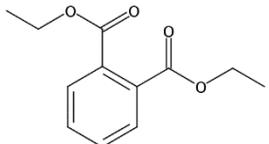
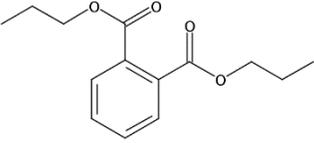
Nombre	Abreviatura	Estructura	Fórmula	PM ^(a) (g/mol)	Solubilidad en agua ^(b) (mg/L, 25 °C)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	log K _{OW}	Punto de fusión ^(a) (°C)	Punto de ebullición ^(a) (°C)
Ftalato de di- 2-metoxietilo	DMEP		C ₁₄ H ₁₈ O ₆	282,29	-	2,28·10 ⁻⁴ ^(a)	1,11 ^(a)	-45	340
Ftalato de dimetilo	DMP		C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,19	< 100	3,08·10 ⁻³ ^(a)	1,64 ^(b)	5,5	284
Ftalato de di- 2-etoxietilo	DEEP		C ₁₆ H ₂₂ O ₆	310,35	-	6,34·10 ⁻⁵ ^(d)	2,48 ^(a)	34 ^(e)	-
Ftalato de dietilo	DEP		C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222,24	1,0	2,10·10 ⁻³	2,47 ^(a)	-40,5	295
Ftalato de dipropilo	DPP		C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250,29	60	3,89·10 ⁻⁴ ^(d)	3,57 ^(b)	-	305

Tabla 4.1.- (Continuación).

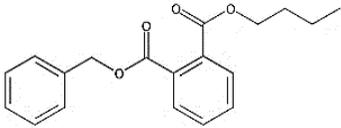
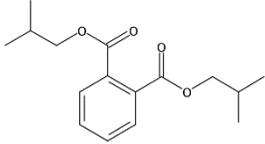
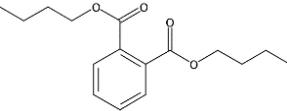
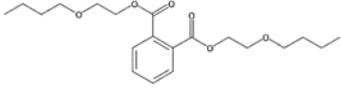
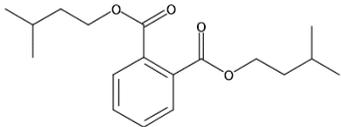
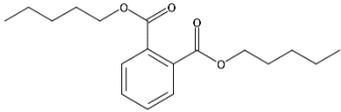
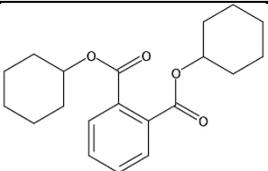
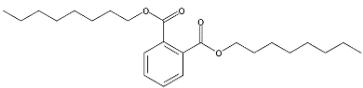
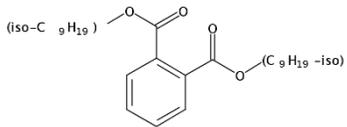
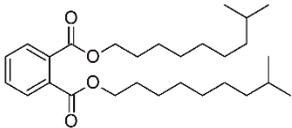
Nombre	Abreviatura	Estructura	Fórmula	MM ^(a) (g/mol)	Solubilidad en agua ^(b) (mg/L, 25 °C)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	log K _{OW}	Punto de fusión ^(a) (°C)	Punto de ebullición ^(a) (°C)
Ftalato de butilbencilo	BBP		C ₁₉ H ₂₀ O ₄	312,37	< 2,0	8,25·10 ⁻⁶ ^(a)	5,00 ^(b)	-35	370
Ftalato de diisobutilo	DIBP		C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278,35	11	4,76·10 ⁻⁵ ^(a)	4,46 ^(b)	-64	320
Ftalato de dibutilo	DBP		C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278,35	15	2,01·10 ⁻⁵ ^(a)	4,83 ^(b)	-35	340
Ftalato de di- 2-n- butoxietilo	DBEP		C ₂₀ H ₃₀ O ₆	366,45	-	2,17·10 ⁻³ ^(a)	4,06 ^(a)	-55	270
Ftalato de diisopentilo	DIPP		C ₁₈ H ₂₆ O ₄	306,40	-	3,54·10 ⁻⁴ ^(d)	5,46 ^(c)	-	335-337 ^(e)

Tabla 4.1.- (Continuación).

Nombre	Abreviatura	Estructura	Fórmula	MM ^(a) (g/mol)	Solubilidad en agua ^(b) (mg/L, 25 °C)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	log K _{OW}	Punto de fusión ^(a) (°C)	Punto de ebullición ^(a) (°C)
Ftalato de di-n-pentilo	DNPP		C ₁₈ H ₂₆ O ₄	306,40	< 1,0	2,80·10 ⁻⁵ (d)	5,89 ^(b)	< -55	342
Ftalato de dicitclohexilo	DCHP		C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330,42	< 2,0	8,69·10 ⁻⁷ (a)	5,76 ^(b)	66	222-228 ^(f)
Ftalato de di-n-octilo	DNOP		C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390,56	< 1,0	1,0·10 ⁻⁷ (a)	9,08 ^(b)	-25	220
Ftalato de diisononilo	DINP		C ₂₆ H ₄₂ O ₄	418,62	< 1,0	5,4·10 ⁻⁷ (a)	9,77 ^(b)	-43	244-252 ^(g)
Ftalato de diisodocilo	DIDP		C ₂₈ H ₄₆ O ₄	446,67	< 1,0	5,28·10 ⁻⁷ (a)	10,47 ^(b)	-50	250-257 ^(f)

^a Obtenido de la base de datos Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>); ^b Obtenido de (Abdel daiem et al., 2012); ^c Obtenido de la base de datos de la European Chemicals Agency; ^d Obtenido de la base de datos SciFinder predicted properties (<https://scifinder.cas.org>); ^e Obtenido de la base de datos SciFinder experimental properties (<https://scifinder.cas.org>); ^f Punto de ebullición a 4 mm Hg; ^g Punto de ebullición a 5 mm Hg.

mientras que los ftalatos de masas moleculares más grandes como, por ejemplo, DNOP, DINP y DIDP presentan solubilidades muy bajas. Este hecho implica que la solubilidad en agua disminuya a medida que aumenta el número de átomos de carbono de las cadenas laterales de la estructura básica que comparten este tipo de compuestos. Así mismo, la tendencia a la acumulación aumentará con el contenido orgánico en matrices de origen medioambiental y agroalimentario.

Las presiones de vapor, por su parte, disminuyen a medida que aumenta la longitud de las cadenas laterales. Por lo tanto, aquellos ftalatos que tienen las cadenas más cortas son los que presentan presiones de vapor más pequeñas y, en consecuencia, son relativamente volátiles y más fácilmente liberados al medio. Sin embargo, los ftalatos con cadenas laterales más largas o ramificadas presentan una menor volatilidad.

4.2.- Método UHPLC-MS/MS

La separación y determinación de los 15 ftalatos seleccionados se llevó a cabo mediante un sistema UHPLC-MS/MS empleando las condiciones previamente optimizadas en nuestro laboratorio para un grupo de analitos similar a los estudiados en este caso (Santana-Mayor et al., 2018). Utilizando el gradiente descrito en la Tabla 3.2, se obtuvo una adecuada separación en términos de eficacias y resolución de picos, ya que fue posible la separación de los isómeros DBP y DIBP, así como DIPP y DNPP. En este sentido, cabe mencionar que es muy importante la separación de estos isómeros, ya que tienen espectros de masas idénticos y, por lo tanto, sin una separación previa no sería posible la identificación y cuantificación individual de estos analitos en las muestras reales. El tiempo de análisis fue inferior a 11 minutos.

Siguiendo las directrices de Decisión 2002/657/CE de la Comisión Europea, la detección y cuantificación de los analitos de interés se realizó utilizando cuatro puntos de identificación, la molécula protonada como ion precursor y dos iones productos, así como el tiempo de retención para cada compuesto. Además, se estableció una tolerancia máxima permitida de un $\pm 20\%$ para la relación relativa entre el ión precursor y los iones productos con el fin de asegurar la correcta identificación de los compuestos estudiados. En la Tabla 4.2, se recogen las transiciones seleccionadas para la identificación de los picos y los valores de voltaje de cono y energía de colisión utilizados.

Tabla 4.2.- Parámetros de transición QqQ-MS/MS de los analitos seleccionados y el estándar interno.

Analito	MM (g/mol)	MRM (m/z)	Voltaje de cono (V)	Energía de colisión (V)	Analito	MM (g/mol)	MRM (m/z)	Voltaje de cono (V)	Energía de colisión (V)
DMEP	282,29	283,08 > 58,92	14	16	DBP	278,35	279,06 > 148,93	14	12
		283,08 > 206,96	14	6			279,06 > 204,95	14	6
DMP	194,19	195,03 > 76,93	16	32	DBEP	366,45	367,23 > 44,88	18	24
		195,03 > 162,2	16	8			367,23 > 54,57	18	16
DEEP	310,35	311,17 > 72,96	16	12	DIPP	306,4	307,22 > 42,94	22	28
		311,17 > 221,01	16	6			307,22 > 70,95	22	14
DEP	222,24	223,06 > 148,89	16	18	DNPP	306,4	307,22 > 148,93	22	14
		223,06 > 176,91	16	8			307,22 > 219	22	8
DPP	250,29	251,09 > 148,89	18	16	DCHP	330,42	331,22 > 148,94	22	26
		251,09 > 190,95	18	6			331,22 > 166,94	22	12
BBP	312,37	313,36 > 90,9	22	16	DNOP	390,56	391,37 > 148,92	22	22
		313,36 > 204,98	22	8			391,37 > 92,91	22	24
DIBP	278,35	279,12 > 148,93	22	16	DINP	418,62	419,4 > 70,95	28	16
		279,12 > 204,95	22	6			419,4 > 127,03	28	12
DBP-d4	282,37	283,15 > 152,96	20	12	DIDP	446,67	447,44 > 84,98	28	16
		283,15 > 208,98	20	8			447,44 > 148,93	28	28

4.3.- Calibrado instrumental

Con objeto de comprobar la linealidad instrumental, se llevó a cabo un calibrado en el disolvente inyectando siete niveles de concentración diferentes ($n = 7$), cada uno por triplicado, y utilizando DBP-d₄ como estándar interno (IS, acrónimo del inglés *internal standard*). El análisis de regresión por el método de los mínimos cuadrados dio lugar a los gráficos de los residuales de los ftalatos estudiados, que mostraron una distribución aleatoria de los residuos alrededor de cero, sin apreciarse ninguna tendencia. En la Tabla 4.3 se muestran los parámetros de calidad del calibrado, incluyendo el rango lineal de trabajo, los intervalos de confianza asociados a los parámetros de la ecuación de la recta para un nivel de confianza del 95 %, el coeficiente de determinación (R^2), superior a 0,9973 en todos los casos, lo que demuestra una buena linealidad a nivel instrumental en el rango de concentraciones estudiado, y la desviación estándar de los residuales ($S_{y/x}$). Por otra parte, dada la alta sensibilidad del sistema de detección utilizado, el nivel de calibración más bajo (LCL, del inglés *lowest calibration level*) fue de 0,25 $\mu\text{g/L}$ para la mayoría de los analitos.

Tabla 4.3.- Parámetros de calidad de las rectas de calibrado de los ftalatos seleccionados en las condiciones de separación UHPLC-MS/MS empleadas.

Analito	t_R (min)	Rango lineal ($\mu\text{g/L}$)	Datos del calibrado ($n = 7$)		R^2	$S_{y/x}$
			$b \pm S_b \cdot t_{(0,05;5)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05;5)}$		
DMEP	0,84	0,25 – 250	$6,82 \cdot 10^{-3} \pm 1,84 \cdot 10^{-4}$	$4,26 \cdot 10^{-3} \pm 2,42 \cdot 10^{-2}$	0,9994	0,0178
DMP	0,85	0,25 – 250	$4,33 \cdot 10^{-3} \pm 9,12 \cdot 10^{-5}$	$2,54 \cdot 10^{-3} \pm 9,91 \cdot 10^{-3}$	0,9997	0,0079
DEEP	1,37	0,25 – 250	$8,00 \cdot 10^{-3} \pm 7,57 \cdot 10^{-5}$	$2,76 \cdot 10^{-3} \pm 9,98 \cdot 10^{-3}$	0,9999	0,0071
DEP	1,41	0,50 – 250	$8,65 \cdot 10^{-3} \pm 9,62 \cdot 10^{-5}$	$8,48 \cdot 10^{-3} \pm 1,27 \cdot 10^{-2}$	0,9999	0,0090
DPP	2,70	0,25 – 250	$8,75 \cdot 10^{-3} \pm 1,19 \cdot 10^{-4}$	$-3,36 \cdot 10^{-3} \pm 1,52 \cdot 10^{-2}$	0,9999	0,0116
BBP	4,15	0,25 – 250	$8,27 \cdot 10^{-3} \pm 2,09 \cdot 10^{-4}$	$-2,04 \cdot 10^{-2} \pm 2,77 \cdot 10^{-2}$	0,9995	0,0196
DIBP	4,30	0,50 – 250	$6,06 \cdot 10^{-3} \pm 7,24 \cdot 10^{-5}$	$-6,85 \cdot 10^{-3} \pm 9,32 \cdot 10^{-3}$	0,9999	0,0067
DBP	4,39	0,50 – 250	$1,23 \cdot 10^{-2} \pm 2,13 \cdot 10^{-4}$	$-2,11 \cdot 10^{-2} \pm 2,75 \cdot 10^{-2}$	0,9998	0,0198
DBEP	4,48	0,50 – 250	$4,36 \cdot 10^{-3} \pm 1,08 \cdot 10^{-4}$	$-4,45 \cdot 10^{-3} \pm 1,44 \cdot 10^{-2}$	0,9995	0,0099
DIPP	5,85	0,25 – 250	$7,33 \cdot 10^{-3} \pm 1,13 \cdot 10^{-4}$	$-1,37 \cdot 10^{-2} \pm 1,44 \cdot 10^{-2}$	0,9998	0,0110
DNPP	6,06	0,25 – 250	$1,17 \cdot 10^{-2} \pm 1,82 \cdot 10^{-4}$	$-1,51 \cdot 10^{-2} \pm 2,35 \cdot 10^{-2}$	0,9998	0,0169
DCHP	6,13	0,25 – 250	$8,92 \cdot 10^{-3} \pm 7,34 \cdot 10^{-5}$	$-9,56 \cdot 10^{-3} \pm 9,22 \cdot 10^{-3}$	0,9999	0,0071
DNOP	8,67	0,50 – 250	$7,62 \cdot 10^{-3} \pm 4,52 \cdot 10^{-4}$	$5,70 \cdot 10^{-2} \pm 5,82 \cdot 10^{-2}$	0,9973	0,0418
DINP	9,06	0,50 – 250	$2,07 \cdot 10^{-3} \pm 1,12 \cdot 10^{-4}$	$1,11 \cdot 10^{-2} \pm 1,44 \cdot 10^{-2}$	0,9978	0,0104
DIDP	9,66	2,50 – 250	$2,27 \cdot 10^{-3} \pm 7,63 \cdot 10^{-5}$	$-5,69 \cdot 10^{-3} \pm 1,02 \cdot 10^{-2}$	0,9991	0,0070

b: pendiente; S_b : desviación estándar de la pendiente; a: ordenada en el origen; S_a : desviación estándar de la ordenada en el origen; R^2 : coeficiente de determinación; $S_{y/x}$: desviación estándar de los residuales.

4.4.- Evaluación de distintos materiales como sorbentes para la MSPD

Como se ha indicado anteriormente los nanomateriales han sido ampliamente utilizados como sorbentes en distintos procedimientos de extracción debido a sus particulares características, entre las que destacan su gran área superficial y su capacidad para ser funcionalizados, que favorecen la obtención de altas eficacias de extracción utilizando pequeñas cantidad de material, así como una alta selectividad (Socas-Rodríguez et al., 2017). A pesar de ello, su aplicación como sorbentes de extracción en el análisis de ftalatos en muestras de suelos no ha sido evaluada hasta la actualidad. Teniendo en cuenta este hecho, inicialmente, se llevó a cabo un estudio empleando distintos nanomateriales como sorbentes de dispersión para la MSPD con la finalidad de evaluar cuál de estos proporcionaba las mejores eficiencias de extracción para el grupo de ftalatos seleccionado, así como una mayor limpieza de la muestra. Para ello, se realizaron tres experimentos por duplicado partiendo de muestras de suelo enriquecidas previamente con los analitos de interés a una concentración de 107 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco, utilizando 20 mg del sorbente y 5 mL de ACN como volumen de elución. Los sorbentes estudiados fueron GO, MWCNTs y el MOF Fe-BTC.

Como se puede observar en la Figura 4.1, el GO proporcionaba las recuperaciones más bajas para los compuestos estudiados, especialmente para los analitos de cadena larga, DNOP, DINP y DIDP, que no se extrajeron cuantitativamente. En cuanto a los MWCNTs, las recuperaciones aumentaron con respecto a la obtenidas utilizando GO, incluso para los analitos más apolares se encontraron en torno al 60 %. Sin embargo, los mejores resultados se obtuvieron empleando el MOF Fe-BTC, dado que las recuperaciones fueron superiores al 80 % para todos los analitos. En este sentido, cabe mencionar que este sorbente presentó la mayor capacidad de limpieza de la muestra minimizando el efecto matriz. Por estas razones, se eligió el MOF Fe-BTC como sorbente de dispersión para la MSPD del grupo de ftalatos estudiados.

Resultados y discusión

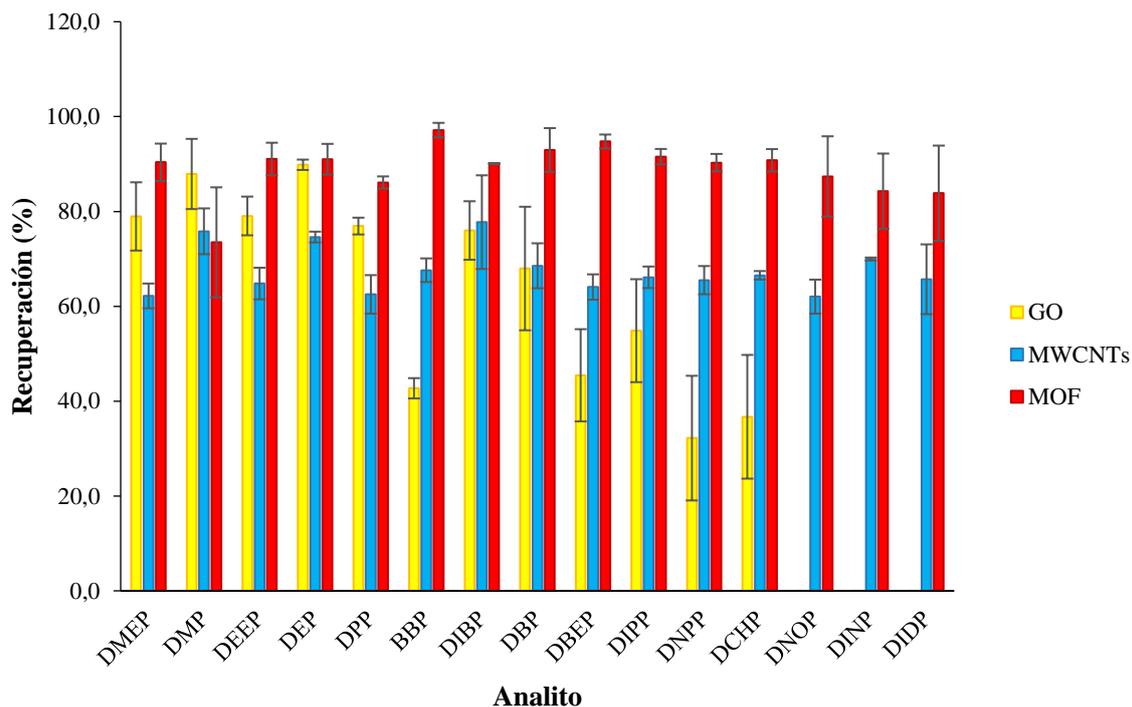


Figura 4.1.- Resultados del estudio de evaluación de diferentes nanomateriales como sorbentes para la extracción del grupo de ftalatos seleccionado mediante MSPD ($n = 2$). Concentración de los analitos en la muestra: $107 \mu\text{g}/\text{kg}$.

4.5.- Optimización de las condiciones de extracción

A continuación, con el fin de obtener las mejores condiciones de extracción para el grupo de ftalatos seleccionado, se llevó a cabo un proceso de optimización de las variables que podían tener influencia en el procedimiento. Teniendo en cuenta la escasa aplicación de la MSPD para la extracción de ftalatos en muestras medioambientales (Muñoz-Ortuño et al., 2014) inicialmente se llevó a cabo la evaluación paso a paso de las variables cantidad de muestra y tipo de disolvente de elución, estudiando cada factor individualmente para tener una visión clara del efecto de cada uno de ellos. A continuación, se utilizó un diseño experimental para optimizar la cantidad de sorbente, el tiempo de dispersión, molido y mezcla y el volumen de disolvente de elución, evaluando tanto el efecto individual de cada factor como el efecto que surge de sus interacciones.

Todos los experimentos de la optimización se realizaron por duplicado partiendo de muestras de suelo enriquecidas previamente con los analitos de interés a una concentración de $107 \mu\text{g}/\text{kg}$. Además, inicialmente se utilizaron 20 mg de sorbente de dispersión y 5 mL de ACN como volumen de elución.

4.5.1.- Influencia de la cantidad de muestra

A partir de las condiciones anteriormente mencionadas, se estudió la influencia de la cantidad de muestra sobre el procedimiento de extracción. Para ello, se utilizaron cinco cantidades de muestra diferentes (0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 g), manteniendo el resto de factores sin modificar. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.2.

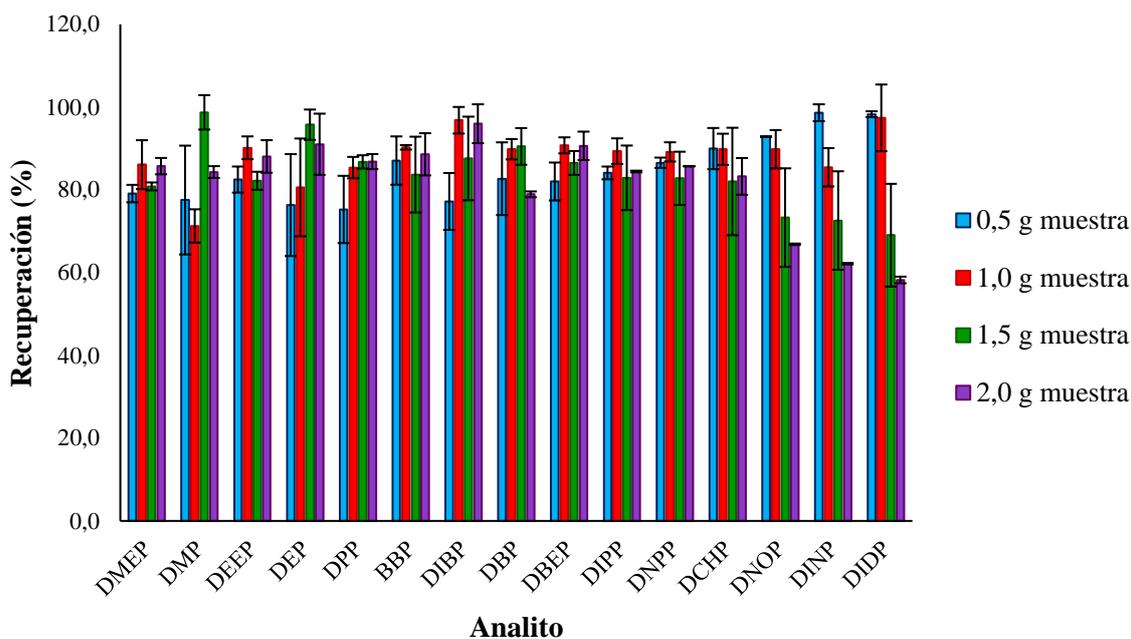


Figura 4.2.- Efecto de la variación de la cantidad de muestra en las recuperaciones de los analitos de interés (n = 2). Condiciones de extracción: 20 mg de sorbente y 5 mL de ACN como disolvente de elución. Concentración de los analitos en la muestra: 107 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Como se puede observar, en general no existe una clara influencia de la cantidad de muestra en la eficacia de la extracción en el rango 0,5 – 1,0 g. Sin embargo, cuando dicha cantidad es superior a 1,0 g se produce una ligera disminución de las recuperaciones para algunos de los analitos, especialmente para DNOP, DINP y DIDP encontrándose valores en torno al 60 %, para estos analitos. Este hecho podría estar asociado a una distribución no homogénea del sorbente sólido utilizando las condiciones de partida. Por esta razón, se eligió una cantidad de muestra de 1,0 g como la más adecuada para continuar con el estudio.

4.5.2.- Influencia del disolvente de elución

Como se indicó en la introducción del presente trabajo, la naturaleza del disolvente utilizado es un factor determinante para lograr una eficaz y selectiva elución de los analitos de

Resultados y discusión

interés de la mezcla sorbente-matriz. En este caso, teniendo en cuenta las distintas polaridades del grupo de ftalatos seleccionados, se estudió el efecto de cinco disolventes y mezclas de ellos (ACN, MeOH, acetona, EtOAc, hexano y una mezcla ACN/acetona 50/50 (v/v)) sobre la reproducibilidad y eficiencia de la extracción, manteniendo constantes el resto de los parámetros (1,0 g de muestra, 20 mg de sorbente y 5 mL de disolvente de elución). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.3.

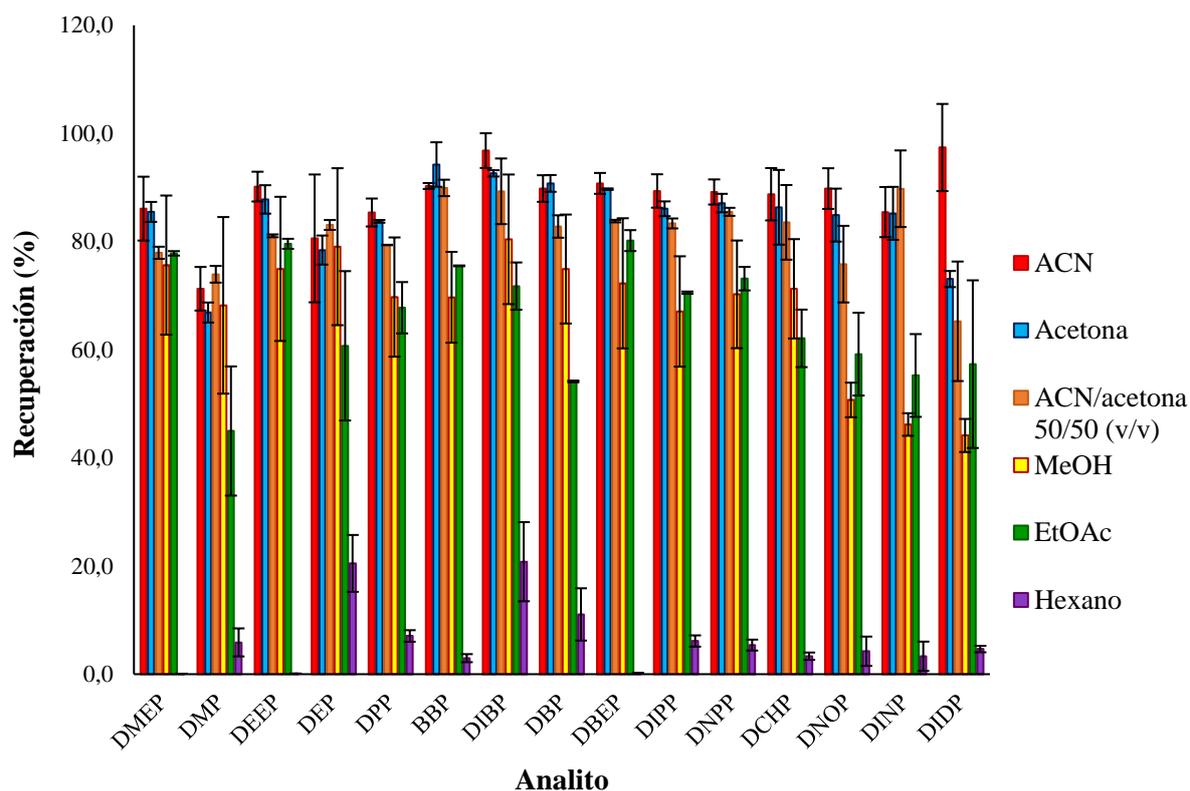


Figura 4.3.- Efecto de la variación del disolvente de elución en la recuperación de los analitos de interés (n = 2). Condiciones de extracción: 1,0 g de muestra, 20 mg de sorbente y 5 mL de disolvente de elución. Concentración de los analitos en la muestra: 107 µg/kg.

Como se puede observar, los peores resultados se obtuvieron utilizando hexano ya que este disolvente no es capaz de extraer cuantitativamente los ftalatos seleccionados. El MeOH, por su parte, proporciona recuperaciones muy bajas para la mayoría de los analitos de interés y especialmente para los ftalatos de cadena larga, al igual que en el caso del EtOAc, debido fundamentalmente a la naturaleza polar de dichos disolventes. El ACN, en cambio, muestra resultados muy buenos para la mayoría de los analitos, en el rango 71 – 97 %. Especialmente relevantes son los resultados obtenidos para DNOP, DINP y DIDP para los que las recuperaciones utilizando hexano, MeOH o EtOAc no superaban el 60 %, mientras que en este caso fueron superiores al 80 %. La acetona, por su parte, proporcionaba recuperaciones

similares a las del ACN. Sin embargo, se descartó porque, además de que la recuperación obtenida para el DIDP era inferior al 80 %, su elevada volatilidad podría generar problemas de irreproducibilidad en la extracción de los analitos de interés. Teniendo en cuenta estos resultados, se decidió probar una mezcla ACN/acetona 50/50 (v/v) para comprobar si la combinación de ambos disolventes proporcionaba mejores resultados. Sin embargo, las recuperaciones fueron inferiores a las obtenidas utilizando ACN. Por estos motivos, se seleccionó finalmente este disolvente para llevar a cabo la elución en el procedimiento de extracción.

4.5.3.- Diseño experimental

La optimización de la cantidad de sorbente, el tiempo de dispersión, molido y mezcla y el volumen de disolvente de elución se llevó a cabo mediante un diseño experimental central compuesto (CCD, del inglés *central composite design*), que consiste a su vez en la combinación de un experimento factorial completo y un diseño en estrella. El estudio constó de 17 experimentos que se realizaron en tres bloques por duplicado con tres réplicas del punto central y teniendo en cuenta una distancia axial de 1,67. En la Tabla 4.4 se muestran los niveles de los factores seleccionados en este diseño. Para llevar a cabo estas experiencias, las muestras de suelo se enriquecieron previamente con los analitos de interés a una concentración de 107 µg/kg. Se consideró como variable de respuesta la relación entre las áreas de pico del analito y el IS.

Tabla 4.4.- Diseño experimental utilizado para la optimización de las condiciones de extracción.

Factor	Diseño compuesto central (CCD)			
	Diseño factorial completo		Diseño en estrella	
	Nivel bajo	Nivel alto	Nivel bajo	Nivel alto
Cantidad de sorbente (mg)	10	30	3,3	36,7
Tiempo de dispersión, molido y mezcla (min)	1	3	0,3	3,7
Volumen de ACN (mL)	1	5	0	6,3

En la Figura 4.4 se muestran los efectos individuales de los factores sobre la respuesta para el DPP, elegido como analito representativo del resto de ftalatos estudiados de polaridad intermedia-alta. Como se puede observar, al estudiar cada factor por separado resulta evidente que los volúmenes más altos de ACN aumentaban la eficiencia de la extracción, sin embargo, no se observó una clara influencia de los factores cantidad de sorbente y tiempo de dispersión molido y mezcla sobre la respuesta.

Resultados y discusión

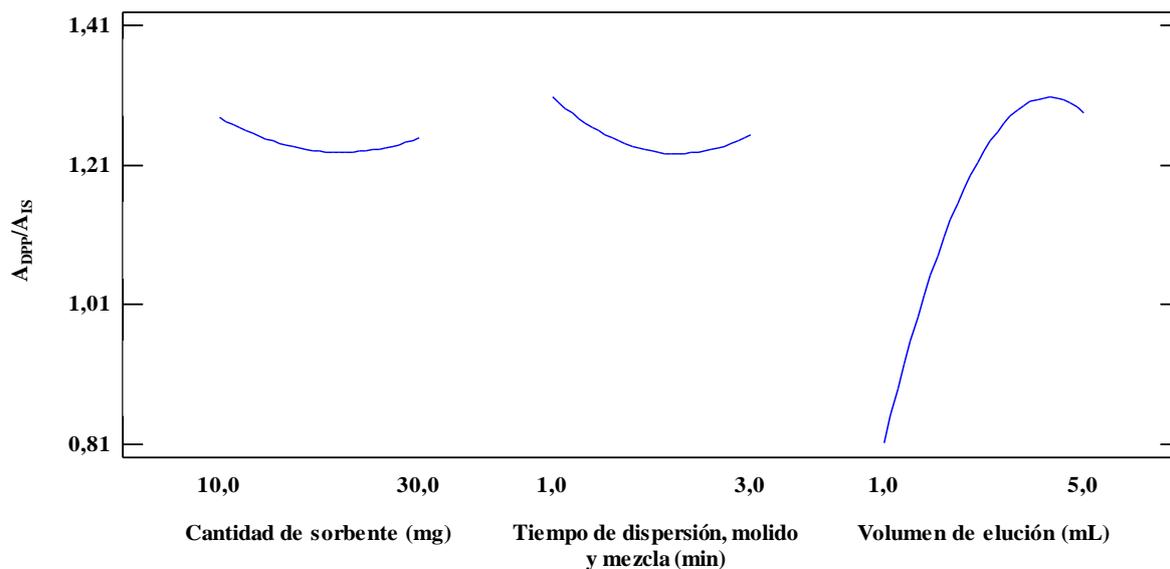


Figura 4.4.- Efectos principales de los factores evaluados para la respuesta del DPP.

Por el contrario, en la gráfica de efectos principales para los analitos de cadena larga (DNOP, DINP y DIDP), se observa que a medida que se aumentaba tanto la cantidad de sorbente como el tiempo de extracción la eficacia de la extracción mejora de forma significativa para este grupo de analitos. En la Figura 4.5 se muestra la gráfica para el caso del DINP a modo de ejemplo, obteniendo resultados análogos para los otros dos analitos.

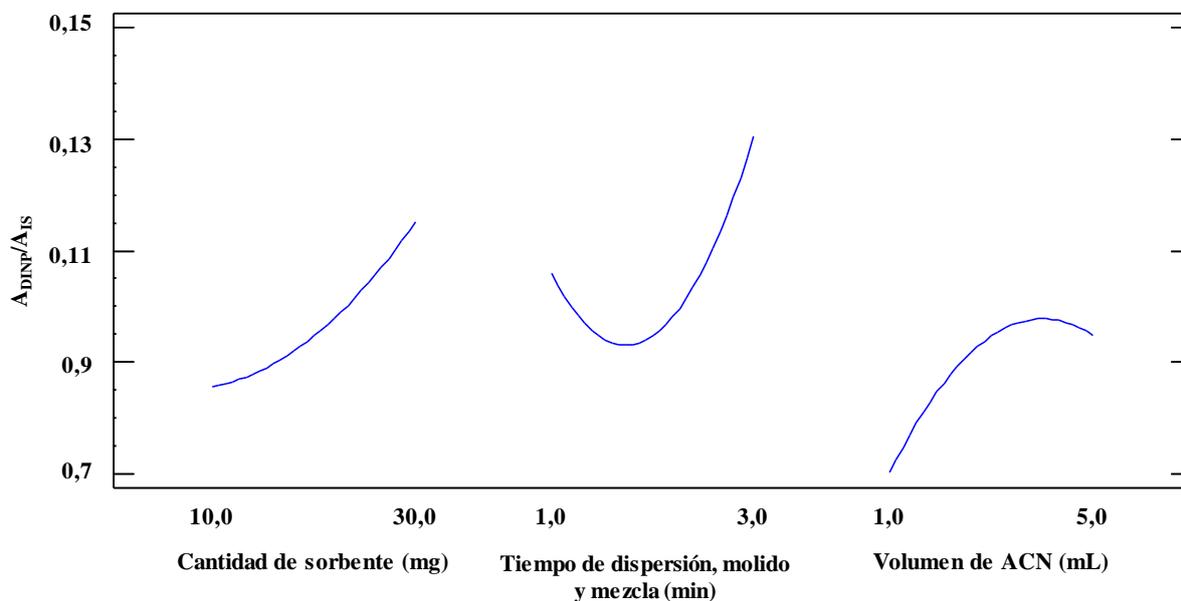


Figura 4.5.- Efectos principales de los factores evaluados para la respuesta del DINP.

Resultados y discusión

En lo que respecta a las superficies de respuesta obtenidas al representar la relación de áreas de pico analito/IS para el DPP y DINP frente a la cantidad de sorbente y el volumen de ACN considerando un tiempo de dispersión, molido y mezcla de 2 min (Figura 4.6), se confirma que, tanto para los analitos de polaridad intermedia-alta como para los menos polares, la eficiencia de la extracción aumentaba utilizando los volúmenes más altos de ACN. Además, en lo que se refiere a la cantidad de sorbente, se observa que la eficiencia de la extracción mejoró para los ftalatos de cadena larga, empleando las mayores cantidades del material de Fe-BTC.

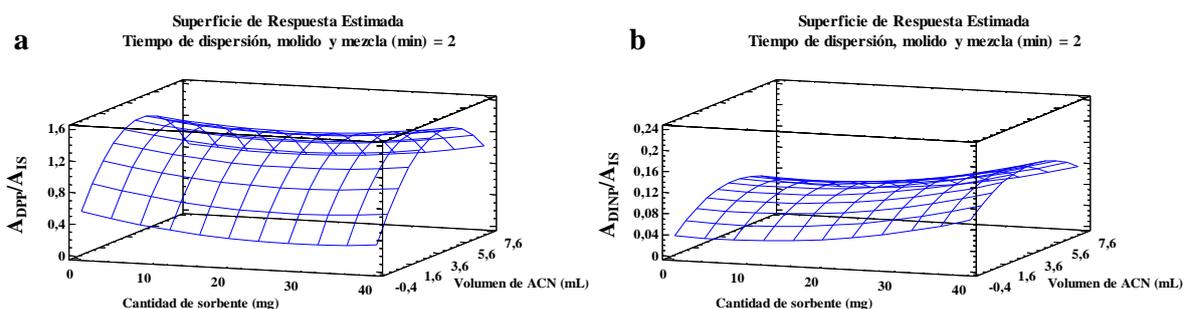


Figura 4.6.- Superficies de respuesta estimadas para el CCD. Relación de áreas de pico a) DPP/IS y b) DINP/IS frente a la cantidad de sorbente y al volumen de ACN (considerando un tiempo de dispersión, molido y mezcla de 2 min).

Finalmente, se llevaron a cabo cinco extracciones bajo las condiciones óptimas obtenidas a partir del diseño experimental CCD (Tabla 4.5) con el fin de comprobar que efectivamente estas condiciones eran las que proporcionaban las relaciones área de pico analito/IS más altas del total de experimentos.

Tabla 4.5.- Condiciones óptimas sugeridas por el CCD.

Factor	Condiciones óptimas
Cantidad de sorbente (mg)	30
Tiempo de dispersión, molido y mezcla (min)	3,7
Volumen de ACN (mL)	5

4.6.- Aplicación de la metodología en muestras de suelo

4.6.1.- Evaluación del efecto matriz y calibrado en la matriz

Una vez optimizados los distintos factores que podían tener una mayor influencia en la eficiencia de la extracción. La metodología fue validada para la determinación del grupo de ftalatos seleccionados en muestras de suelo agrícola.

Como se ha indicado anteriormente, los suelos son matrices muy complejas con un gran número de componentes (Correia-Sá et al., 2012) que pueden interferir en la correcta determinación de los analitos dando lugar efectos de supresión o incremento de las señales obtenidas, afectando a la sensibilidad, precisión y exactitud de la metodología (Correia-Sá et al., 2012). Teniendo en cuenta este aspecto, así como el hecho de que este estudio constituye la primera aplicación de un MOF como sorbente para la evaluación de ftalatos en muestras de suelo mediante MSPD, se llevó a cabo la evaluación de la eficacia de la etapa de limpieza de la muestra, utilizando el sorbente seleccionado. Para ello, se determinó el efecto matriz (EM) para cada uno de los analitos seleccionados siguiendo el método desarrollado por Matuszewski et al. (Matuszewski et al., 2003). En este caso los valores de EM se calcularon como el porcentaje de la relación del área del pico del analito en las muestras enriquecidas en la matriz y el área para los estándares preparados en la composición inicial de la fase móvil. Como se puede observar en la Tabla 4.6, excepto DNOP, DINP y DIDP, para los que se muestra un moderado efecto con valores entre el 65,6 – 76,9 %, los valores obtenidos para el resto de los analitos fueron superiores al 80 % en todos los casos, lo que demuestra la gran eficacia del procedimiento aplicado para la eliminación de componentes co-extraídos que puedan influir en la correcta determinación de los analitos seleccionados.

Por otro lado, en base a los estudios previos en los que se ha demostrado la presencia de este tipo de compuestos en muestras de suelo (Net et al., 2015a), se llevó a cabo la extracción y análisis de los blancos de la matriz seleccionada aplicando el procedimiento descrito, encontrando la presencia de BBP, DIBP y DBP. En vista de los resultados obtenidos y con el objetivo de llevar a cabo la correcta validación de la metodología, las áreas de pico de estos compuestos se restaron en los casos necesarios, durante la aplicación de la metodología. Adicionalmente, debido a la reconocida ubicua presencia de los ftalatos en el medioambiente diariamente se realizó el análisis de blancos de laboratorio con la finalidad de evaluar la influencia de la contaminación del entorno en los resultados obtenidos. Estos análisis se llevaron a cabo aplicando la metodología completa en ausencia de muestra. En este caso no se

Resultados y discusión

observó la presencia de ninguno de los analitos de interés a concentraciones superiores al LCL obtenido para cada uno de los analitos.

Tabla 4.6.- Resultados promedio (n = 10) del estudio de efecto matriz al aplicar el método MSPD-UHPLC-MS/MS para la determinación de los analitos seleccionados en la muestra de suelo agrícola.

Analito	Efecto matriz^a	RSD (%)
DMEP	99,9	4,1
DMP	82,6	6,8
DEEP	97,7	2,3
DEP	85,1	3,6
DPP	85,1	12,4
BBP	95,1	9,8
DIBP	103,1	6,8
DBP	96,4	8,7
DBEP	100,8	10,7
DIPP	88,5	6,2
DNPP	91,5	13,5
DCHP	95,5	12,8
DNOP	65,6	3,3
DINP	77,1	2,9
DIDP	76,9	2,6

^a Resultados obtenidos como un promedio de cada analito a dos niveles de concentración (nivel 1: 2,7 µg/kg, excepto para el DINP que fue de 16 µg/kg; nivel 2: 107 µg/kg).

En vista de estos resultados, y con el objetivo de validar correctamente la metodología, se decidió hacer uso de una calibración en la matriz para la adecuada cuantificación del grupo de ftalatos estudiados. Para ello, se llevaron a cabo siete extracciones utilizando 1,0 g de muestra siguiendo el procedimiento de extracción optimizado, se enriquecieron al final del proceso con los analitos de interés a siete niveles de concentración diferentes y se inyectaron cada uno por triplicado. Las rectas de calibrado se obtuvieron representando la relación entre las áreas de pico del analito y del IS frente a la concentración del analito. Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 4.7, donde se observa que el valor de R^2 es superior a 0,9906 en todos los casos, demostrando la linealidad de la metodología en el rango de concentraciones estudiado.

Resultados y discusión

Tabla 4.7.- Datos del calibrado en la matriz para el grupo de ftalatos seleccionado en el suelo.

Analito	Rango lineal (µg/L)	Datos del calibrado (n = 7)		R ²	S _{y/x}
		$b \pm S_b \cdot t_{(0,05;5)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05;5)}$		
DMEP	0,25 – 250	$5,17 \cdot 10^{-3} \pm 3,49 \cdot 10^{-5}$	$-1,25 \cdot 10^{-3} \pm 3,62 \cdot 10^{-3}$	1,0000	0,0030
DMP	0,25 – 250	$3,37 \cdot 10^{-3} \pm 3,63 \cdot 10^{-5}$	$-2,86 \cdot 10^{-3} \pm 4,63 \cdot 10^{-3}$	0,9999	0,0034
DEEP	0,25 – 250	$6,69 \cdot 10^{-3} \pm 1,41 \cdot 10^{-4}$	$7,21 \cdot 10^{-3} \pm 1,51 \cdot 10^{-2}$	0,9997	0,0124
DEP	1,00 – 250	$6,85 \cdot 10^{-3} \pm 2,99 \cdot 10^{-4}$	$2,97 \cdot 10^{-2} \pm 3,93 \cdot 10^{-2}$	0,9986	0,0285
DPP	0,25 – 250	$7,78 \cdot 10^{-3} \pm 9,89 \cdot 10^{-5}$	$1,08 \cdot 10^{-2} \pm 1,25 \cdot 10^{-2}$	0,9999	0,0098
BBP	1,00 – 250	$1,11 \cdot 10^{-2} \pm 3,94 \cdot 10^{-4}$	$-2,13 \cdot 10^{-2} \pm 5,05 \cdot 10^{-2}$	0,9993	0,0226
DIBP	2,50 – 250	$5,81 \cdot 10^{-3} \pm 6,51 \cdot 10^{-4}$	$-3,12 \cdot 10^{-2} \pm 8,55 \cdot 10^{-2}$	0,9906	0,0616
DBP	2,50 – 250	$1,11 \cdot 10^{-2} \pm 3,94 \cdot 10^{-4}$	$-2,13 \cdot 10^{-2} \pm 5,05 \cdot 10^{-2}$	0,9991	0,0370
DBEP	1,00 – 250	$3,79 \cdot 10^{-3} \pm 1,75 \cdot 10^{-4}$	$6,61 \cdot 10^{-3} \pm 2,33 \cdot 10^{-2}$	0,9984	0,0165
DIPP	0,25 – 250	$6,24 \cdot 10^{-3} \pm 9,37 \cdot 10^{-5}$	$-5,61 \cdot 10^{-3} \pm 1,16 \cdot 10^{-2}$	0,9998	0,0092
DNPP	0,25 – 250	$1,10 \cdot 10^{-2} \pm 2,54 \cdot 10^{-4}$	$2,01 \cdot 10^{-3} \pm 3,16 \cdot 10^{-2}$	0,9996	0,0248
DCHP	0,25 – 250	$9,54 \cdot 10^{-3} \pm 1,35 \cdot 10^{-4}$	$1,17 \cdot 10^{-2} \pm 1,68 \cdot 10^{-2}$	0,9998	0,0134
DNOP	1,00 – 250	$3,89 \cdot 10^{-3} \pm 2,39 \cdot 10^{-4}$	$-9,75 \cdot 10^{-3} \pm 3,0 \cdot 10^{-2}$	0,9971	0,0225
DINP	5,00 – 250	$9,00 \cdot 10^{-4} \pm 9,23 \cdot 10^{-5}$	$-7,50 \cdot 10^{-3} \pm 9,93 \cdot 10^{-3}$	0,9921	0,0075
DIDP	2,50 – 250	$9,01 \cdot 10^{-4} \pm 7,31 \cdot 10^{-5}$	$-4,12 \cdot 10^{-3} \pm 7,37 \cdot 10^{-3}$	0,9950	0,0061

b: pendiente. S_b: desviación estándar de la pendiente. a: ordenada en el origen. S_a: desviación estándar de la ordenada en el origen. R²: coeficiente de determinación. S_{y/x}: desviación estándar de los residuales.

4.6.2.- Estudio de recuperaciones

Posteriormente, para completar la validación de la metodología, así como para evaluar la reproducibilidad y eficacia de la extracción, se llevó a cabo el correspondiente estudio de recuperaciones. Para ello, las muestras de suelo se enriquecieron previamente a dos niveles de concentración diferentes (2,7 µg/kg, excepto para el DINP que fue de 16 µg/kg, y 107 µg/kg) y se realizaron cinco extracciones consecutivas para cada nivel. Los valores de las recuperaciones relativas se obtuvieron comparando las relaciones de áreas de pico de los analitos con las áreas del IS en las muestras enriquecidas al principio y al final de la metodología. Los resultados obtenidos, recogidos en la Tabla 4.8, demuestran una excelente reproducibilidad y, además, una buena eficacia de extracción (Figura 4.7), puesto que los valores de las recuperaciones se encontraron en el rango de 78 – 120 % con valores de desviaciones estándar relativas (RSDs, del inglés *relative standard deviation*) inferiores al 17 % en todos los casos.

Los límites de cuantificación del método (LOQ, del inglés *limit of quantification*), definidos como la concentración más baja del calibrado en la matriz capaz de proporcionar una relación señal/ruido (S/R) superior a 10 para la transición de cuantificación y superior a 3 para

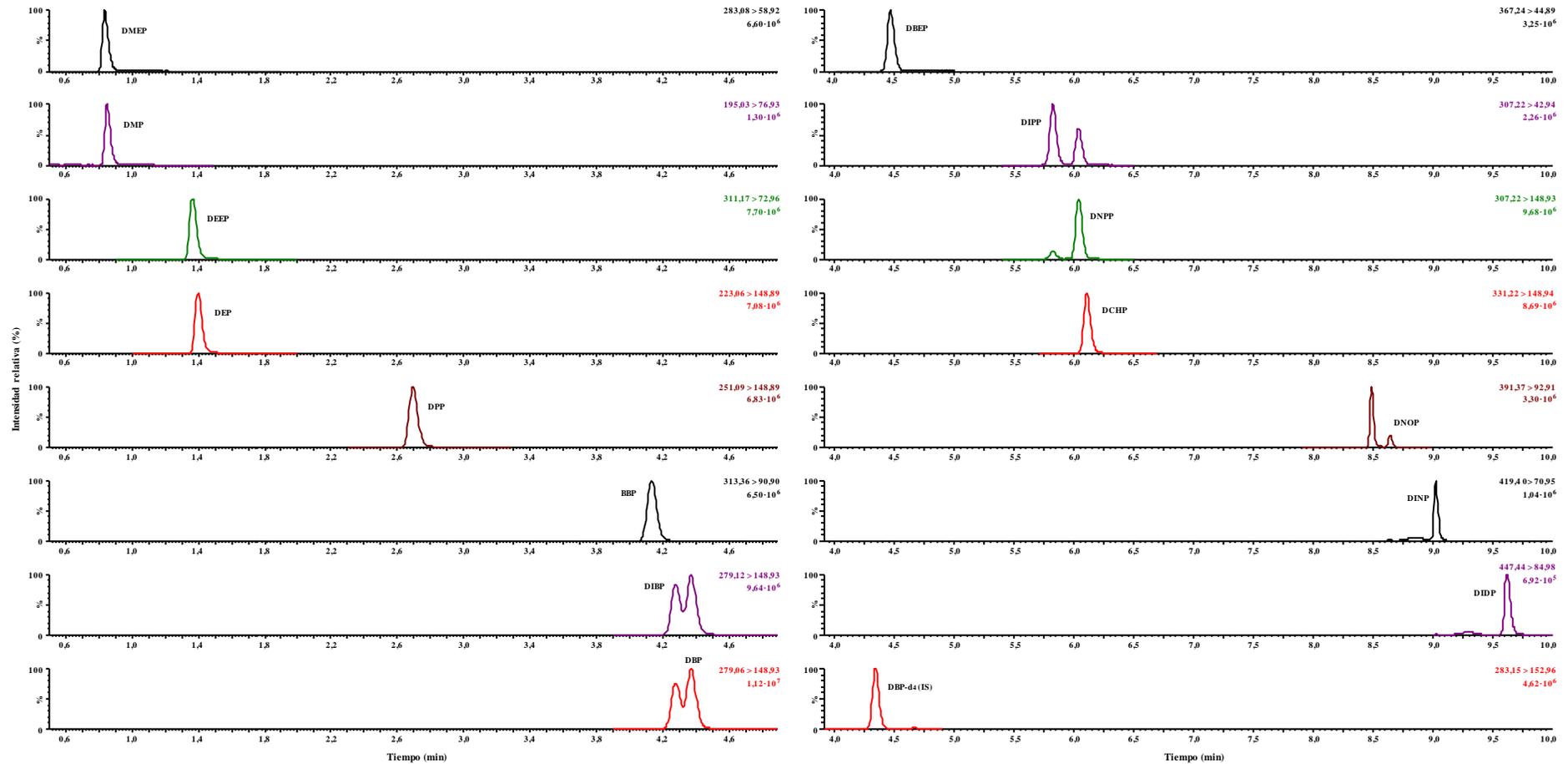


Figura 4.7- Cromatograma de la separación obtenida tras aplicar la metodología MSPD-UHPLC-MS/MS desarrollada a una muestra de suelo enriquecida con los analitos de estudio. Concentración de los analitos en la muestra: 107 µg/kg. Concentración del IS: 107 µg/kg. Volumen de inyección: 5 µL. Flujo de fase móvil: 0,3 mL/min. Reconstitución de la muestra en 500 µL de la composición inicial de la fase móvil (50/50 ACN/H₂O (v/v), 0,1 % ácido fórmico). Temperatura de la columna: 40 °C.

Resultados y discusión

la transición de confirmación, después de aplicar el factor de dilución y teniendo en cuenta las recuperaciones, se encontraron en el rango de 0,129 – 2,486 µg/kg.

Tabla 4.8.- Resultados del estudio de recuperaciones (n = 5) del método MSPD-UHPLC-MS/MS para el grupo de ftalatos seleccionado en la muestra de suelo a dos niveles de concentración.

Analito	Recuperaciones relativas		LOQ _{método} ^c (µg/kg)
	Nivel 1 ^a (n = 5) (RSD, %)	Nivel 2 ^b (n = 5) (RSD, %)	
DMEP	101 (10)	97 (4)	0,146
DMP	120 (3)	94 (11)	0,134
DEEP	102 (9)	99 (4)	0,143
DEP	100 (8)	96 (11)	0,589
DPP	120 (10)	98 (6)	0,132
BBP	116 (8)	103 (4)	0,530
DIBP	117 (5)	105 (5)	1,291
DBP	110 (7)	103 (9)	1,346
DBEP	107 (10)	99 (5)	0,140
DIPP	105 (10)	100 (4)	0,140
DNPP	100 (11)	101 (3)	0,143
DCHP	115 (4)	99 (4)	0,129
DNOP	78 (17)	97 (10)	0,692
DINP	113 (5)	101 (12)	2,486
DIDP	83 (10)	105 (15)	1,542

^a Concentración de los analitos en la muestra: 2,7 µg/kg, excepto para el DINP que fue de 16 µg/kg;

^b Concentración de los analitos en la muestra: 107 µg/kg; ^c Definido como la concentración más baja del calibrado en la matriz capaz de proporcionar una S/R superior a 10 para la transición de cuantificación y superior a 3 para la transición de confirmación, después de aplicar el factor de dilución y teniendo en cuenta los valores de recuperación.

4.6.3.- Análisis de muestras reales

Una vez completada la validación de la metodología, y teniendo en cuenta los buenos resultados obtenidos, se aplicó al análisis de un total de cuatro muestras de suelos agrícolas procedentes de zonas de cultivo ubicadas en diferentes municipios de la isla de Tenerife.

Como se puede observar en la Tabla 4.9, BBP, DIBP y DBP fueron encontrados en dos de las muestras analizadas a concentraciones de 5, 15-46 y 9-11 µg/kg, respectivamente (Figura 4.8). La presencia de estos tres compuestos es especialmente relevante teniendo en cuenta que son sustancias incluidas tanto por la EPA (EPA, 2012) como por la Unión Europea (Reglamento (CE) N° 1907/2006) como sustancias peligrosas prioritarias que deben monitorearse debido a sus efectos tóxicos sobre el desarrollo y funcionamiento de los órganos reproductivos. También se encontraron residuos de DMP, DEP, DNPP y DCHP en la mayoría de las muestras evaluadas,

Resultados y discusión

aunque en todos los casos los niveles encontrados fueron inferiores a los LOQs del método, mientras que el resto de los analitos seleccionados para este estudio no se detectaron en ninguna de las muestras analizadas.

Tabla 4.9.- Resultados del análisis de diferentes muestras de suelo usando la metodología MSPD-UHPLC-MS/MS desarrollada.

Analitos	Concentración \pm intervalo de confianza ($\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco)			
	M1	M2	M3	M4
DMP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
DEP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BBP	5 \pm 2	<LOQ	<LOQ	5 \pm 2
DIBP	46 \pm 8	<LOQ	<LOQ	15 \pm 8
DBP	11 \pm 3	<LOQ	<LOQ	9 \pm 3
DNPP	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ
DCHP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Las muestras de suelos agrícolas proceden de M1: San Juan de la Rambla; M2: San Cristóbal de La Laguna; M3: Candelaria; M4: Güímar; n.d.: no detectado.

Como se ha indicado en la introducción del presente trabajo, la presencia de estos compuestos en las muestras analizadas puede relacionarse con las actividades agrícolas desarrolladas en las zonas de cultivo donde se recogieron, incluyendo el uso de películas o acolchados plásticos y fertilizantes, la modificación del suelo con lodos de depuradora y el riego con aguas residuales. Aunque dicha contaminación también puede ser atribuida a la deposición atmosférica de los compuestos sobre las matrices evaluadas (Vikelsøe et al., 2002; Net et al., 2015a; Lü et al., 2018).

Como se muestra en la Tabla 4.10 en la que se recogen estudios previos en los que se ha llevado a cabo la evaluación de estos analitos en muestras de suelo, tanto el BBP como el DBP y DIBP habían sido encontrados previamente en otras ocasiones en muestras de suelos (Vikelsøe et al., 2002; Zeng et al., 2008a; Zorníková et al., 2011; Kong et al., 2012; Chao et al., 2014; Daňková et al., 2016; Sun et al., 2016; Li et al., 2016; Sun et al., 2018; Liu et al., 2018). En estos casos, las concentraciones encontradas para estos ftalatos variaron en un amplio rango de concentraciones de 0,3 – 2,7·10³ $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco, llegando a ser considerablemente superiores a las encontradas en el presente estudio, en el rango de 5 – 46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco. Especialmente llamativos son los contenidos de DIBP y DBP en suelos de China (Chao et al., 2014) y República Checa (Daňková et al., 2016), superando considerablemente los niveles encontrados en este caso para los suelos de Tenerife. Por otro lado, en lo que respecta al resto

Tabla 4.10.- Resultados obtenidos en otros estudios en el análisis de diferentes muestras de suelos agrícolas.

Localización	Muestra (cantidad)	Concentración (µg/kg peso seco)	Procedimiento de extracción	Técnica de determinación	Observaciones	Ref.
Roskilde, Dinamarca	8 suelos agrícolas cultivados y fertilizados de forma diferente (50 g)	DMP	n.a.	SLE	GC-MS	También se evaluó la presencia de DPP, DEHP, DNOP, DnNP y DINP
		DEP	n.a.			
		BBP	(0,01 – 32)			
		DIBP	n.a.			
		DBP	(0,3 – 453)			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	n.a.			
Guangzhou, China	5 suelos agrícolas (200 g)	DMP	(1,0 – 157)	Soxhlet	GC-MS	También se evaluó la presencia de DMGP, DMPP, DEEP, DAP, DHP, HEHP, DBEP, DEHP y DNOP
		DEP	(1,0 – 178)			
		BBP	(n.d. – 1580)			
		DIBP	(17 – 1630)			
		DBP	(9,0 – 2740)			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	(n.d. – 122)			
Brno, República Checa	4 suelos agrícolas	DMP	n.a.	SLE	HPLC-UV	También se evaluó la presencia de DEHP
		DEP	n.a.			
		BBP	n.a.			
		DIBP	n.a.			
		DBP	(280 – 1590)			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	n.a.			

Tabla 4.10- (Continuación).

Localización	Muestra (cantidad)	Concentración (µg/kg peso seco)	Procedimiento de extracción	Técnica de determinación	Observaciones	Ref.
Tianjin, China	Suelos de cultivo, vegetales, huertas y terrenos baldíos (5,0 g)	DMP	(2 – 101)	SLE	GC-MS	También se evaluó la presencia de DEHP y DNOP
		DEP	(2 – 114)			
		BBP	(0 – 1790)			
		DIBP	n.a.			
		DBP	(7 – 285)			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	n.a.			
Península de Shandong, China	4 suelos de invernadero (5,0 g)	DMP	364	USE	GC-MS	También se evaluó la presencia de DMGP, DMPP, DEHP, DEEP, DPP, DHXP, DBEP, DNOP, DPhP y DnNP
		DEP	108			
		BBP	194			
		DIBP	1118			
		DBP	1471			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	35			
Brno, República Checa	Suelo agrícola (10 g)	DMP	n.a.	SLE	HPLC-UV	También se evaluó la presencia de DEHP
		DEP	n.a.			
		BBP	n.a.			
		DIBP	n.a.			
		DBP	(10 – 2480)			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	n.a.			

Tabla 4.10- (Continuación).

Localización	Muestra (cantidad)	Concentración (µg/kg peso seco)	Procedimiento de extracción	Técnica de determinación	Observaciones	Ref.
Delta del río Yangtsé, China	Suelo agrícola (5,0 g)	DMP	23	USE	GC-MS	También se evaluó la presencia de DMEP, DEEP, DPP, DHP, DBEP, DEHP y DnNP
		DEP	3,8			
		BBP	1,0			
		DIBP	86			
		DBP	95			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	35			
Beijing, China	Suelo de invernadero (5,0 g)	DMP	8,0	USE	GC-MS	También se evaluó la presencia de DMEP, DEEP, DAP, DHXP, DBEP, DEHP, DPhP y DNOP
		DEP	20			
		BBP	4,0			
		DIBP	130			
		DBP	440			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	n.d.			
Shangai, China	Suelo agrícola (5,0 g)	DMP	28	USE	GC-MS	También se evaluó la presencia de DEHP y DNOP
		DEP	20			
		BBP	78			
		DIBP	n.a.			
		DBP	659			
		DNPP	n.a.			
		DCHP	n.a.			

Tabla 4.10- (Continuación).

Localización	Muestra (cantidad)	Concentración (µg/kg peso seco)	Procedimiento de extracción	Técnica de determinación	Observaciones	Ref.
Guangzhou, China	Suelo agrícola (5,0 g)	DMP	(75 – 164)	QuEChERS	GC-MS	También se evaluó la presencia de DMGP, DMPP, DEEP, DAP y DHP.
		DEP	(20 – 177)			
		BBP	(81 – 301)			
		DIBP	(22 – 199)			
		DBP	(160 – 256)			
		DNPP	n.a.			
DCHP	n.a.					

DHXP: ftalato de di-n-hexilo; DMGP: ftalato de dimetilglicol; DMPP: ftalato de bis-(4-metil-2-pentilo); DnNP: ftalato de di-n-nonilo; DPhP: ftalato de difenilo; HEHP: ftalato de bis-(hexil-2-etilhexilo); n.a.: no analizado; n.d.: no detectado; QuEChERS: acrónimo en inglés de *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged* y *Safe*. SLE: extracción sólido líquido.

Resultados y discusión

de analitos evaluados, tanto DMP como DEP han sido encontrados en un rango de concentraciones de 1,0 – 178 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco, mientras que en este estudio sus valores fueron inferiores a los LOQs del método para cada uno de ellos (0,134 y 0,589 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente). En lo que respecta al DNPP y DCHP, el primero no se analizó en ninguno de los trabajos previos, mientras que el segundo se determinó en algunos de estos estudios encontrándose en un rango de 7 – 122 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco (Zeng et al., 2008a; Chao et al., 2014; Sun et al., 2016; Li et al., 2016; Liu et al., 2018).

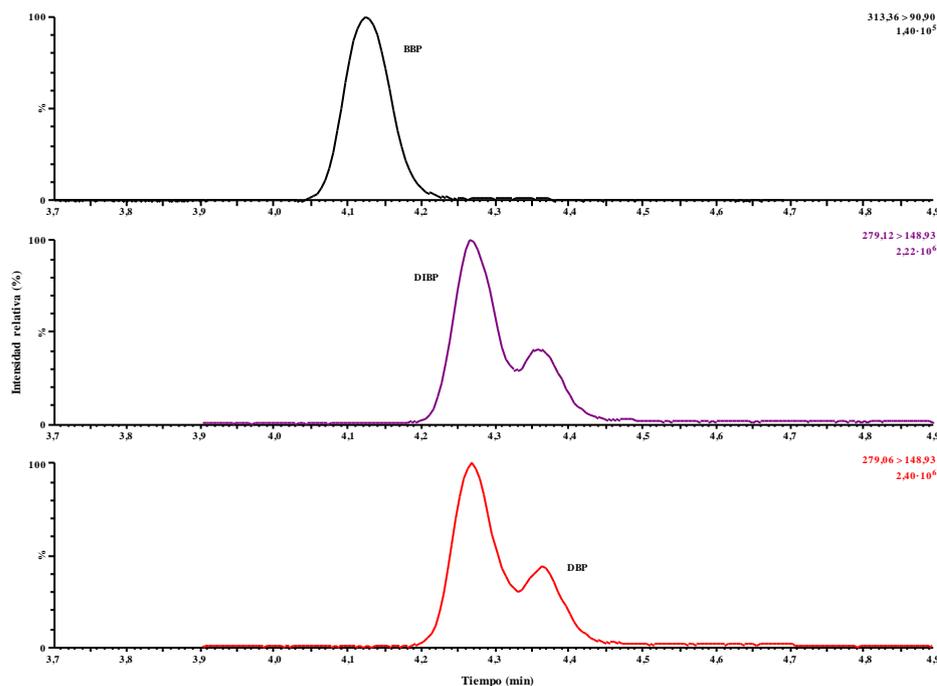


Figura 4.8- Cromatograma de los analitos encontrados en una muestra real de suelo agrícola procedente del municipio de San Juan de la Rambla (Tenerife) tras aplicar la metodología MSPD-UHPLC-MS/MS desarrollada. Volumen de inyección: 5 μL . Flujo de fase móvil: 0,3 mL/min. Reconstitución de la muestra en 500 μL de la composición inicial de la fase móvil (50/50 ACN/ H_2O (v/v), 0,1 % ácido fórmico). Temperatura de la columna: 40 °C.

5.- Conclusiones

De los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Fin de Máster se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- Se ha desarrollado y optimizado una nueva metodología analítica para la determinación de 15 ftalatos (DMEP, DMP, DEEP, DEP, DPP, BBP, DIBP, DBP, DBEP, DIPP, DNPP, DCHP, DNOP, DINP, DIDP) en suelos, utilizando la MSPD como técnica de extracción, preconcentración y limpieza, previa a la separación y determinación analítica mediante UHPLC-MS/MS.
- Se ha empleado con éxito la UHPLC-MS/MS para separar y determinar el grupo de ftalatos seleccionado con un tiempo de análisis inferior a 11 minutos, utilizando como fase móvil una mezcla ACN/H₂O, 0,1 % en ácido fórmico. La determinación se ha llevado a cabo utilizando una interfaz ESI, trabajando en modo positivo, y un analizador de QqQ.
- El estudio de calibración instrumental ha demostrado una buena linealidad en el rango de concentraciones estudiado, con valores de R² superiores a 0,9973 para todos los analitos.
- Distintos tipos de materiales han sido evaluados como sorbentes para la MSPD de este grupo de ftalatos. De todos ellos, el MOF Fe-BTC mostró los mejores resultados en términos de recuperaciones y eliminación de efecto matriz.
- La optimización del procedimiento de extracción se llevó a cabo mediante un diseño experimental central compuesto. Las mejores condiciones de extracción se obtuvieron empleando 1,0 g de muestra de suelo, 30 mg de MOF Fe-BTC como sorbente, un tiempo de dispersión, molido y mezcla de 3,7 minutos y 5 mL de ACN como disolvente de elución.
- La metodología analítica desarrollada se validó mediante los correspondientes calibrados en la matriz, así como realizando un estudio de recuperaciones a dos niveles de concentración. Los R² obtenidos fueron superiores a 0,9906 para todos los analitos, mostrando la buena linealidad de la metodología en el rango de concentraciones estudiado. Así mismo, el estudio de recuperaciones demostró una excelente reproducibilidad y eficiencia de extracción del procedimiento MSPD con valores de recuperación comprendidos en el intervalo 78 – 120 % y valores de RSDs inferiores al 17 % en todos los casos. Además, los LOQs del método se encontraron en el rango de 0,129 – 2,486 µg/kg, demostrando la alta sensibilidad de la metodología desarrollada.

Conclusiones

- Esta metodología constituye la primera aplicación del MOF Fe-BTC como sorbente para la extracción del grupo de ftalatos seleccionado en muestras de suelo.
- El procedimiento de extracción es simple, rápido, sencillo y económico. Por otra parte, se trata de un procedimiento respetuoso con el medioambiente, debido al bajo consumo de disolventes orgánicos y bajo requerimiento de sorbente, cumpliendo con las tendencias actuales en el desarrollo de métodos de separación, basadas en los principios de la llamada Química Verde.
- La metodología ha sido aplicada para la evaluación de suelos agrícolas de distintas zonas de la isla de Tenerife, encontrando la presencia de BBP, DIBP y DBP, en dos de las muestras analizadas en el rango de 5 – 46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en peso seco.
- La metodología desarrollada presenta una alternativa a los procedimientos convencionales comúnmente aplicados para la determinación de ftalatos en suelos. Además, teniendo en cuenta los buenos resultados obtenidos en el presente estudio, el método podría hacerse extensible para el análisis de este tipo de compuestos a otras muestras medioambientales complejas.

6.- Glosario

ACN	Acetonitrilo
ASE	Extracción acelerada con disolventes
BBP	Ftalato de butilbencilo
CCD	Diseño central compuesto
CLC	Cromatografía líquida capilar
d.e.	Diámetro externo
d.i.	Diámetro interno
DAD	Detector de diodo-array
DAP	Ftalato de dialilo
DBEP	Ftalato de di-2-n-butoxietilo
DBP	Ftalato de di-n-butilo
DBP-d ₄	Ftalato de dibutilo-3,4,5,6-d ₄
DCHP	Ftalato de dicitclohexilo
DEEP	Ftalato de di-2-etoxietilo
DEHP	Ftalato de di-2-etilhexilo
DEP	Ftalato de dietilo
DHP	Ftalato de dihexilo
DHXP	Ftalato de di-n-hexilo
DIBP	Ftalato de diisobutilo
DIDP	Ftalato de diisodecilo
DIHP	Ftalato de diisoheptilo
DINP	Ftalato de diisononilo
DIPP	Ftalato de diisopentilo
DI-SPME	Microextracción en fase sólida de inmersión directa
DMEP	Ftalato de di-2-metoxietilo

Glosario

DMGP	Ftalato de dimetilglicol
DMP	Ftalato de dimetilo
DMPP	Ftalato de bis-(4-metil-2-pentilo)
DnNP	Ftalato de di-n-nonilo
DNOP	Ftalato de di-n-octilo
DNPP	Ftalato de di-n-pentilo
DPhD	Ftalato de difenilo
DPP	Ftalato de dipropilo
ECD	Detector de captura electrónica
EI	Impacto electrónico
EM	Efecto matriz
EPA	Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos
ESI	Ionización por electrospray
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
Fe-BTC	Fe-1,3,5-bencenotricarboxilato
FID	Detector de ionización de llama
GC	Cromatografía de gases
GCB	Carbón negro grafitizado
GO	Óxido de grafeno
HEHP	Ftalato de bis-(hexil-2-etilhexilo)
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza
ICIA	Instituto Canario de Investigaciones Agrarias
IDT	Ingesta diaria tolerable
IS	Estándar interno

Glosario

IT-SPME	Microextracción en fase sólida en tubo
LC	Cromatografía líquida
LCL	Nivel de calibración más bajo
LME	Límite de migración específico
LOQ	Límite de cuantificación
LPME	Microextracción en fase líquida
MAE	Extracción asistida por microondas
m-dSPE	Extracción en fase sólida dispersiva magnética
MEKC	Cromatografía electrocinética micelar
MeOH	Metanol
MIP	Polímero de impronta molecular
MOF	Red metal-orgánica
MRM	Monitorización de reacción múltiple
MS	Espectrometría de masas
MS/MS	Espectrometría de masas en tándem
MSPD	Dispersión de matriz en fase sólida
MWCNT	Nanotubo de carbono de pared múltiple
NAFTA	Tratado de Libre Comercio de América del Norte
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAE	Éster del ácido ftálico
PAH	Hidrocarburo aromático policíclico
PCB	Bifenilo policlorado
PLE	Extracción con líquidos presurizados
PTFE	Politetrafluoroetileno
PVC	Cloruro de polivinilo

Glosario

PVDF	Polifluoruro de vinilideno
QqQ	Triple cuadrupolo
RSD	Desviación estándar relativa
S/R	Relación señal/ruido
SBSE	Extracción por adsorción con barra agitadora
SFE	Extracción con fluidos supercríticos
SPE	Extracción en fase sólida
μ -SPE	Extracción en fase sólida miniaturizada
SPME	Microextracción en fase sólida
t_R	Tiempo de retención
UHPLC	Cromatografía líquida de ultra-alta eficacia
USE	Extracción por ultrasonidos
UV	Ultravioleta

7.- Bibliografía

A

- Abdel daiem, M. M.; Rivera-Utrilla, J.; Ocampo-Pérez, R.; Méndez-Díaz, J. D.; Sánchez-Polo, M. Environmental impact of phthalic acid esters and their removal from water and sediments by different technologies -a review, *J. Environ. Manage.* **2012**, *109*, 164-178.
- Álvarez-Rivera, G.; Dagnac, T.; Lores, M.; García-Jares, C.; Sánchez-Prado, L.; Lamas, J. P.; Llompart, M. Determination of isothiazolinone preservatives in cosmetics and household products by matrix solid-phase dispersion followed by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1270*, 41-50.
- Araújo, P. H. H.; Sayer, C.; Giudici, R.; Poço, J. G. R. Techniques for reducing residual monomer content in polymers: a review. *Polym. Eng. Sci.* **2002**, *42*, 1442-1468.
- Arbuckle, T. E.; Davis, K.; Boylan, K.; Fisher, M.; Fu, J. Bisphenol A, phthalates and lead and learning and behavioral problems in Canadian children 6–11 years of age: CHMS 2007–2009. *NeuroToxicology* **2016**, *54*, 89-98.

B

- Barciela-Alonso, M-C.; Otero-Lavandeira, N.; Bermejo-Barrera, P. Solid phase extraction using molecular imprinted polymers for phthalate determination in water and wine samples by HPLC-ESI-MS. *Microchem. J.* **2017**, *132*, 233-237.
- Barker, S. A. Matrix solid phase dispersion (MSPD). *J. Biochem. Biophys. Methods* **2007**, *70*, 151-162.
- Barker, S. A.; Long, A. R.; Short, C. R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. *J. Chromatogr. A* **1989**, *475* (2), 353-361.
- Benjamin, S.; Masai, E.; Kamimura, N.; Takahashi, K.; Anderson, R. C.; Faisal, P. A. Phthalates impact human health: epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *J. Hazard. Mater.* *340*, **2017**, 360-383.

Bibliografia

- Benson, R. Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters—dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Regul. Toxicol. Pharm.* **2009**, *53*, 90-101.
- Berset, J-D.; Etter-Holzer, R. Determination of phthalates in crude extracts of sewage sludges by high-resolution capillary gas chromatography with mass spectrometric detection. *J. AOAC Int.* **2001**, *84*, 383-391.
- Bertelsen, R. J.; Lødrup Carlsen, K. C.; Calafat, A. M.; Hoppin, J. A.; Håland, G.; Mowinckel, P.; Carlsen, K-H.; Løvik, M. Urinary biomarkers for phthalates associated with asthma in Norwegian children. *Environ. Health Perspect.* **2013**, *121*, 251-256.
- Blair, J. D.; Ikononou, M. G.; Kelly, B. C.; Surridge, B.; Gobas, F. A. P. C. Ultra-trace determination of phthalate ester metabolites in seawater, sediments, and biota from an urbanized marine inlet by LC/ESI-MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 6262-6268.
- Brazel, C. S.; Rosen, S. L. *Fundamental Principles of Polymeric Materials*; 3^a ed.; Wiley: Nueva York, 1993.

C

- Cai, H.; Ji, S.; Zhang, J.; Shang, G.; Tao, G.; Peng, C.; Chen, G.; Hou, R.; Zhang, L.; Wan, X. Determination of 11 photoinitiators and their migration into tea and milk by gas chromatography-tandem mass spectrometry (MSPD-GC-MS/MS). *Anal. Methods* **2017**, *9*, 2957-2963.
- Capriotti, A. L.; Cavaliere, C.; Foglia, P.; Samperi, R.; Stampachiachiere, S.; Ventura, S.; Laganà, A. Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2015**, *71*, 186-193.
- Capriotti, A. L.; Cavaliere, C.; Gubbiotti, R.; Samperi, R.; Laganà, A. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 2521-2532.
- Capriotti, A. L.; Cavaliere, C.; Laganà, A.; Piovesana, S.; Samperi, R. Recent trends in matrix solid-phase dispersion. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2013**, *43*, 53-66.

Bibliografia

- Chang, M. S.; Shen, J. Y.; Yang, S-H.; Wu, G. J. Subcritical water extraction for the remediation of phthalate ester-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *192*, 1203-1209.
- Chao, C.; Cheng, H.; Ge, W.; Ma, D.; Shi, Y. Phthalic acid esters in soils from vegetable greenhouses in Shandong Peninsula, East China. *PLoS ONE* **2014**, *9*, 1-9.
- Chen, X.; Bester, K. Determination of organic micro-pollutants such as personal care products, plasticizers and flame retardants in sludge. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *395*, 1877-1884.
- Chen, Y.; Chen, L.; Li, J.; Liu, D.; Chen, L. Recent advances in solid-phase sorbents for sample preparation prior to chromatographic analysis *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2014**, *59*, 26-41.
- Cheng, L.; Pan, S.; Ding, C.; He, J.; Wang, C. Dispersive solid-phase microextraction with graphene oxide based molecularly imprinted polymers for determining bis(2-ethylhexyl)phthalate in environmental water. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1511*, 85-91.
- Coaker, W. Flexible PVC. En *PVC Handbook*; Wilkes, C. E.; Daniels, C. A.; Summers, J. W., Eds; 1^a ed.; Hanser: Munich, 2005; Cap.10, 315-360.
- Correia-Sá, L.; Fernandes, V. C.; Carvalho, M.; Calhau, C.; Domingues, V. F.; Delerue-Matos, C. Optimization of QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in soils with diverse organic matter. *J. Sep. Sci.* **2012**, *35*, 1521-1530.
- Cortázar, E.; Bartolomé, L.; Delgado, A.; Etxebarria, N.; Fernández, L. A.; Usobiaga, A.; Zuloaga, O. Optimisation of microwave-assisted extraction for the determination of nonylphenols and phthalate esters in sediment samples and comparison with pressurised solvent extraction. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *534*, 247-254.
- Crompton, T. R. *Additive Migration from Plastics into Food. A Guide for Analytical Chemists*, 1^a ed.; Smithers Rapra Technology Ltd.: Shawbury, 2007; Cap.1, pp 5-8.

D

- Daneshvand B.; Raofie F. Ultra-preconcentration and determination of organophosphorus pesticides in soil samples by a combination of ultrasound assisted leaching-solid phase extraction and low-density solvent based dispersive liquid-liquid microextraction. *J Iran Chem. Soc.* **2015**, *12*, 1287-1292.

Bibliografía

- Daňková, R.; Jarošová, A.; Poláková, S. Analysis of phthalate presence in agricultural soils in the Czech Republic. *Pol. J. Environ. Stud.* **2016**, *25* (1), 443-446.
- Dargahi, R.; Ebrahimzadeh, H.; Asgharinezhad, A. A.; Hashemzadeh, A.; Amini, M. M. Dispersive magnetic solid-phase extraction of phthalate esters from water samples and human plasma based on a nanosorbent composed of MIL-101(Cr) metal–organic framework and magnetite nanoparticles before their determination by GC–MS. *J. Sep. Sci.* **2018**, *41*, 948-957.
- Decisión 1999/815/CE de la Comisión de 5 de marzo de 2001 por la que se prolonga por quinta vez la validez de la Decisión 1999/815/CE sobre medidas relativas a la prohibición de la comercialización de determinados juguetes y artículos de puericultura destinados a ser introducidos en la boca por niños menores de tres años y fabricados con PVC blando que contenga ciertos ftalatos. Diario Oficial de las Comunidades Europeas. L 69/37 de 10.03.2001.
- Decisión 2002/657/CE de la Comisión de 12 de agosto de 2002 por la que se aplica la Directiva 96/23/CE del Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados. Diario Oficial de la Unión Europea. L 221/8 de 17.08.2002.
- Decisión de Ejecución (UE) 2018/636 de la Comisión de 17 de abril de 2018 relativa a la identificación del ftalato de dicitclohexilo (DCHP) como sustancia extremadamente preocupante con arreglo al artículo 57, letras c) y f), del Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario Oficial de la Unión Europea. L 105/25 de 25.04.2018.
- Directiva 92/59/CEE del Consejo de 29 de junio de 1992 relativa a la seguridad general de los productos. Diario Oficial de las Comunidades Europeas. L 228/24 de 11.08.1992.
- Directiva 2005/84/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 14 de diciembre de 2005 por la que se modifica por vigesimosegunda vez la Directiva 76/769/CEE del Consejo relativa a la aproximación y las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros que limitan la comercialización y el uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos (ftalatos en los juguetes y artículos de puericultura). Diario Oficial de la Unión Europea. L 344/40 de 27.12.2005.
- Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de agosto de 2013 por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las

Bibliografía

sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas. Diario Oficial de la Unión Europea. L 226/1 de 24.08.2013.

- Đurović-Pejčev, R.; Đorđević, T.; Bursić, V. Determination of multi-class herbicides in soil by liquid–solid extraction coupled with headspace solid phase microextraction method. *J. Serb. Chem. Soc.* **2016**, *81* (8), 923-934.

E

- EPA. *Method 8060-Phthalate Esters*;1986.
- EPA. *Phthalate esters by gas chromatography with electron capture detection (GC/ECD). Method 8061a*; 1996 (Rev. 1).
- EPA. *Phthalates Action Plan*; 2012 (Rev. 1).
- Esteve, C.; Herrero, L.; Gómara, B.; Quintanilla-López, J. E. Fast and simultaneous determination of endocrine disrupting compounds by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta* **2016**, *146*, 326-334.

F

- Fan, J-C.; Wu, L.; Wang, X-F.; Huang, X-B.; Jin, Q.; Wang, S-T. Determination of the migration of 20 phthalate esters in fatty food packaged with different materials by solid-phase extraction and UHPLC–MS/MS. *Anal. Methods* **2012**, *4*, 4168-4175.
- Fatoki, O. S.; Bornman, M.; Ravandhalala, L.; Chimuka, L.; Genthe, B.; Adeniyi, A. Phthalate ester plasticizers in freshwater systems of Venda, South Africa and potential health effects. *Water SA* **2010**, *36*, 117-126.
- Feng, Y-L.; Liao, X.; Grenier, G.; Nguyen, N.; Chan, P. Determination of 18 phthalate metabolites in human urine using a liquid chromatography tandem mass spectrometer equipped with a core–shell column for rapid separation. *Anal. Methods* **2015**, *7*, 8048-8059.
- Fernández-Amado, M.; Prieto-Blanco, M. C.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S.; Prada-Rodríguez, D. Ion-pair in-tube solid phase microextraction for the

Bibliografía

simultaneous determination of phthalates and their degradation products in atmospheric particulate matter. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1520*, 35-47.

- Fernández-González, V.; Moscoso-Pérez, C.; Muniategui-Lorenzo, S.; López-Mahía, P.; Prada-Rodríguez, D. Reliable, rapid and simple method for the analysis of phthalates in sediments by ultrasonic solvent extraction followed by head space-solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry determination. *Talanta* **2017**, *162*, 648-653.
- Fromme, H.; Kuchler, T.; Otto, T.; Pilz, K.; Müller, J.; Wenzel, A. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Res.* **2002**, *36*, 1429-1438.

G

- Gao, D-W.; Wen, Z-D. Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. *Sci. Total Environ.* **2016**, *541*, 986-1001.
- García-López, M.; Canosa, P.; Rodríguez, I. Trends and recent applications of matrix solid-phase dispersion. *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *391*, 963-974.
- Ghadiri, A.; Salemi, A. Matrix solid-phase dispersion based on carbon nanotube coupled with dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organochlorine pesticides in soil. *J. Chromatogr. Sci.* **2017**, *55*, 578-585.
- Gibson, R.; Wang, M-J.; Padgett, E.; Beck, A. J. Analysis of 4-nonylphenols, phthalates, and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. *Chemosphere* **2005**, *61*, 1336-1344.
- Gimeno, R. A.; Marcé, R. M.; Borrull, F. Determination of plasticizers by high-performance liquid chromatography and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry in water and sediment samples. *Chromatographia* **2003**, *58*, 37-41.
- Giovanoulis, G.; Alves, A.; Papadopoulou, E.; Cousins, A. P.; Schütze, A.; Koch, H. M.; Haug, L. S.; Covaci, A.; Magnér, J.; Voorspoels, S. Evaluation of exposure to phthalate esters and DINCH in urine and nails from a Norwegian study population. *Environ. Res.* **2016**, *151*, 80-90.
- González-Sálamo, J.; Hernández-Borges, J.; Afonso, M. M.; Rodríguez-Delgado, M. A. Determination of phthalates in beverages using multiwalled carbon nanotubes

Bibliografía

- dispersive solid-phase extraction before HPLC–MS. *J. Sep. Sci.* **2018b**, *41* (12), 2613-2622.
- González-Sálamo, J.; Socas-Rodríguez, B.; Hernández-Borges, J. Analytical methods for the determination of phthalates in food. *Curr. Opin. Food. Sci.* **2018a**, *22*, 122-136.
 - González-Sálamo, J.; Socas-Rodríguez, B.; Hernández-Borges, J.; Rodríguez-Delgado, M. A. Nanomaterials as sorbents for food sample analysis. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2016**, *85*, 203-220.
 - Graham, P. R. Phthalate ester plasticizers-why and how they are used. *Environ. Health Perspect.* **1973**, *3*, 3-12.
 - Guerra, E.; Llompart, M.; García-Jares, C. Miniaturized matrix solid-phase dispersion followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quantification of synthetic dyes in cosmetics and foodstuffs used or consumed by children. *J. Chromatogr. A* **2017**, *152*, 29-38.
 - Guo, B-Y.; Wen, B.; Shan, X-Q.; Zhang, S-Z.; Lin, J-M. Separation and determination of phthalates by micelar electrokinetic chromatography. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1095*, 189-192.

H

- Hayasaka, Y. Analysis of phthalates in wine using liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with a hold-back column: chromatographic strategy to avoid the influence of pre-existing phthalate contamination in a liquid chromatography system *J. Chromatogr. A* **2014**, *1372*, 120-127.
- Heudorf, U.; Mersch-Sundermann, V.; Angerer, J. Phthalates: toxicology and exposure. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2007**, *210*, 623-634.
- Huang, H.; Ou, W-H.; Wang, L-S. Semivolatile organic compounds, organochlorine pesticides and heavy metals in sediments and risk assessment in Huaihe River of China. *J. Environ. Sci. (China)* **2006**, *18*, 236-241.
- Huang, P-C.; Tien, C-J.; Sun, Y-M.; Hsieh, C-Y.; Lee, C-C. Occurrence of phthalates in sediment and biota: relationship to aquatic factors and the biota-sediment accumulation factor. *Chemosphere* **2008**, *73*, 539-544.

Bibliografía

- Huang, Y.; Li, J.; García, J. M.; Lin, H.; Wang, Y.; Yan, P.; Wang, L.; Tan, Y.; Luo, J.; Qiu, Z.; Chen, J.; Shu, W. Phthalate levels in cord blood are associated with preterm delivery and fetal growth parameters in Chinese women. *PLoS ONE* **2014**, *9* (2), 1-8.

I

- ICIA. Toma de muestras (suelos). https://www.icia.es/icia/index.php?option=com_content&view=article&id=3065&Itemid=420#Suelos (último acceso junio 2018).
- IHS Markit. Plasticizers. <https://ihsmarkit.com/products/plasticizers-chemical-economics-handbook.html> (último acceso junio 2018).
- International Agency for Research on Cancer (IARC). *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Industrial Chemicals*, IARC Press: Lyon, 2000; vol. 77, pp 41-44.
- Iparraguirre, A.; Rodil, R.; Quintana, J. B.; Bizkarguenaga, E.; Prieto, A.; Zuloaga, O.; Cela, R.; Fernández, L. A. Matrix solid-phase dispersion of polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated and methoxylated analogues in lettuce, carrot and soil. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1360*, 57-65.
- Isoo, K.; Otsuka, K.; Terabe, S. Application of sweeping to micellar electrokinetic chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometric analysis of environmental pollutants. *Electrophoresis* **2001**, *22*, 3426-3432.

K

- Khedr, A. Optimized extraction method for LC–MS determination of bisphenol A, melamine and di(2-ethylhexyl) phthalate in selected soft drinks, syringes, and milk powder. *J. Chromatogr. B* **2013**, *930*, 98-103.
- Khosravi, K.; Price, G. W. Determination of phthalates in soils and biosolids using accelerated solvent extraction coupled with SPE cleanup and GC–MS quantification. *Microchem. J.* **2015**, *121*, 205-212.

Bibliografia

- Kimber, I.; Dearman, R. J. An assessment of the ability of phthalates to influence immune and allergic responses. *Toxicology* **2010**, *271*, 73-82.
- Kong, S.; Ji, Y.; Liu, L.; Chen, L.; Zhao, X.; Wang, J.; Bai, Z.; Sun, Z. Diversities of phthalate esters in suburban agricultural soils and wasteland soil appeared with urbanization in China. *Environ. Pollut.* **2012**, *170*, 161-168.

L

- Laturnus, F.; Grøn, C. Organic waste products in agriculture - monitoring the waste constituents phthalate esters in soil-crop system by gas chromatography and ion trap tandem mass spectrometry. *J. Environ. Eng. Landsc.* **2007**, *15*, 253-260.
- León-Gómez, M. E.; Rosales-Conrado, N. Determination of ibuprofen enantiomers in breast milk using vortex-assisted matrix solid-phase dispersion and direct chiral liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2017**, *1514*, 88-94.
- Li, C.; Chen, J.; Wang, J.; Han, P.; Luan, Y.; Ma, X.; Lu, A. Phthalate esters in soil, plastic film, and vegetable from greenhouse vegetable production bases in Beijing, China: Concentrations, sources, and risk assessment. *Sci. Total Environ.* **2016**, *568*, 1037-1043.
- Li, J.; Li, H.; Zhang, W-J.; Wang, Y-B.; Su, Q.; Wu, L. Hollow fiber–stir bar sorptive extraction and gas chromatography–mass spectrometry for determination of organochlorine pesticide residues in environmental and food matrices. *Food Anal. Method.* **2018**, *11*, 883-891.
- Liang, P.; Zhang, L.; Peng, L. Determination of phthalate esters in soil samples by microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2010**, *85*, 147-151.
- Liang, W.; Wang, J.; Zang, X.; Wang, C.; Wang, Z. A porous carbon derived from amino-functionalized material of Institut Lavoisier as a solid-phase microextraction fiber coating for the extraction of phthalate esters from tea. *J. Sep. Sci.* **2016**, *39*, 1331-1338.
- Liao, C.; Yang, P.; Xie, Z.; Zhao, Y.; Cheng, X.; Zhang, Y.; Ren, Z.; Guo, Z.; Liao, J. Application of GC–triple quadrupole MS in the quantitative confirmation of polycyclic

Bibliografia

- aromatic hydrocarbons and phthalic acid esters in soil. *J. Chromatogr. Sci.* **2010**, *48*, 161-166.
- Lin, Z. P.; Ikonomou, M. G.; Jing, H.; Mackintosh, C.; Gobas, F. A. P. C. Determination of phthalate ester congeners and mixtures by LC/ESI-MS in sediments and biota of an urbanized marine inlet. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 2100-2108.
 - Lin, Z.; Zhang, J.; Cui, H.; Zhang, L.; Chen, G. Determination of phthalate esters in soil by microemulsion electrokinetic chromatography coupled with accelerated solvent extraction. *J. Sep. Sci.* **2010**, *33*, 3717-3725.
 - Lithner, D.; Larsson, Å.; Dave, G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. *Sci. Total Environ.* **2011**, *409*, 3309-3324.
 - Liu, H.; Kong, W.; Gong, B.; Miao, Q.; Yang, M. Rapid analysis of multi-pesticides in *Morinda officinalis* by GC–ECD with accelerated solvent extraction assisted matrix solid phasedispersion and positive confirmation by GC-MS. *J. Chromatogr. B* **2015b**, *974*, 65-74.
 - Liu, Q.; Chen, D.; Wu, J.; Yin, G.; Lin, Q.; Zhang, M.; Hu, H. Determination of phthalate esters in soil using a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method followed by GC–MS. *J. Sep. Sci.* **2018**, *41*, 1812-1820.
 - Liu, Q.; Shi, J.; Sun, J.; Wang, T.; Zeng, L.; Zhu, N.; Jiang, G. Graphene-assisted matrix solid-phase dispersion for extraction of polybrominated diphenyl ethers and their methoxylated and hydroxylated analogs from environmental samples. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *708*, 61-68.
 - Liu, X.; Shi, J.; Bo, T.; Zhang, H.; Wu, W.; Chen, Q. Occurrence of phthalic acid esters in source waters: a nationwide survey in China during the period of 2009 – 2012. *Environ. Pollut.* **2014**, *184*, 262-270.
 - Liu, X.; Sun, Z.; Chen, G.; Zhang, W.; Cai, Y.; Kong, R.; Wang, X.; Suo, Y.; You, J. Determination of phthalate esters in environmental water by magnetic Zeolitic Imidazolate Framework-8 solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2015a**, *1409*, 46-52.
 - Liu, X.; Wang, C.; Wu, Q.; Wang, Z. Porous carbon derived from a metal–organic framework as an efficient adsorbent for the solid-phase extraction of phthalate esters. *J. Sep. Sci.* **2015c**, *38*, 3928-3935.

Bibliografía

- Llompart, M.; Celeiro, M.; Lamas, J. P.; Sánchez-Prado, L.; Lores, M.; García-Jares, C. Analysis of plasticizers and synthetic musks in cosmetic and personal care products by matrix solid-phase dispersion gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1293*, 10-19.
- Lü, H.; Mo, C-H.; Zhao, H-M.; Xiang, L.; Katsoyiannis, A.; Li, Y-W.; Cai, Q-Y.; Wong, M-H. Soil contamination and sources of phthalates and its health risk in China: a review. *Environ. Res.* **2018**, *164*, 417-429.
- Lun, S.; Gan, N.; Cao, Y.; Chen, Y.; Jiang, Q. Selective dispersive solid phase extraction-chromatography tandem mass spectrometry based on aptamer-functionalized UiO-66-NH₂ for determination of polychlorinated biphenyls. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1446*, 34-40.
- Luque de Castro, M. D.; García-Ayuso, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Anal. Chim. Acta* **1998**, *369*, 1-10.

M

- Ma, Y.; Hashi, Y.; Ji, F.; Lin, J-M. Determination of phthalates in fruit jellies by dispersive SPE coupled with HPLC-MS. *J. Sep. Sci.* **2010**, *33*, 251–257.
- Marcilla, A.; García, S.; García-Quesada, J. C. Study of the migration of PVC plasticizers. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2004**, *71*, 457-463.
- Martendal, E.; Carasek, E. A new approach based on a combination of direct and headspace cold-fiber solid-phase microextraction modes in the same procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalate esters in soil samples. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 1707-1714.
- Masiá, A.; Moliner-Martinez, Y.; Muñoz-Ortuño, M.; Pico, Y.; Campíns-Falcó, P. Multiresidue analysis of organic pollutants by in-tube solid phase microextraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography–electrospray-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1306*, 1-11.
- Matuszewski, B. K.; Constanzer, M. L.; Chavez-Eng, C. M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3019-3030.

Bibliografía

- McDowell, D. C.; Metcalfe, C. D. Phthalate esters in sediments near a sewage treatment plant outflow in Hamilton harbour, Ontario: SFE extraction and environmental distribution. *J. Great Lakes Res.* **2001**, *27* (1), 3-9.
- Meng, X-Z.; Wang, Y.; Xiang, N.; Chen, L.; Liu, Z.; Wu, B.; Dai, X.; Zhang, Y-H.; Xie, Z.; Ebinghaus, R. Flow of sewage sludge-borne phthalate esters (PAEs) from human release to human intake: implication for risk assessment of sludge applied to soil. *Sci. Total Environ.* **2014**, *476-477*, 242-249.
- *Métodos Oficiales de Análisis*; Secretaría General Técnica. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación: Madrid, 1994; Tomo III, pp 223-225.
- Minhee, K.; Loretta, Y. L.; Gorgy, T.; Grace, J. R. Review of contamination of sewage sludge and amended soils by polybrominated diphenyl ethers based on meta-analysis. *Environ. Pollut.* **2017**, *220*, 753-765.
- Mirikaram, N.; Salemi, A.; Vosough, M. Optimization of membrane-protected micro-solid-phase extraction coupled with dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organochlorine pesticides in soil media. *Chromatographia* **2017**, *80*, 157-164.
- Mohammadi, M.; Tavakoli, H.; Abdollahzadeh, Y.; Khosravi, A.; Torkaman, R.; Mashayekhi, A. Ultra-preconcentration and determination of organophosphorus pesticides in soil samples by a combination of ultrasound assisted leaching-solid phase extraction and low-density solvent based dispersive liquid-liquid microextraction. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 75174-75181.
- Morales-Cid, G.; Cárdenas, S.; Simonet, B. M.; Valcárcel, M. Comparison of aromatic and alkyl micelles for the electrokinetic determination of phthalates in virgin olive oil. *Electrophoresis* **2009**, *30*, 618-623.
- Mullen, R. A.; Wigginton, K. R.; Noe-Hays, A.; Nace, K.; Love, N. G.; Bott, C. B.; Aga, D. S. Optimizing extraction and analysis of pharmaceuticals in human urine, struvite, food crops, soil, and lysimeter water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Methods* **2017**, *9*, 5952-5962.
- Muñoz-Ortuño, M.; Argente-García, A.; Moliner-Martínez, Y.; Verdú-Andrés, J.; Herráez-Hernández, R.; Pitcher, M. T.; Falcó-Campíns, P. A cost-effective method for estimating di(2-ethylhexyl)phthalate in coastal sediments. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1324*, 57-62.

Bibliografía

- Muñoz-Ortuño, M.; Moliner-Martínez, Y.; Cogollos-Costa, S.; Herráez-Hernández, R.; Falcó-Campíns, P. A miniaturized method for estimating di(2-ethylhexyl) phthalate in bivalves as bioindicators. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1260*, 169-173.
- Munshi, A. B.; Karim, N.; Shaukat, S.; Hashmi, D.; Boardman, G. D.; Flick, G. J. toxicity of phthalate esters in fish and shellfish from virginia beach using matrix solid phase dispersion (MSPD) and GC-MS. *J. Chem. Soc. Pak.* **2013**, *35*, 1463-1471.
- Myridakis, A.; Balaska, E.; Gkaitatzi, C.; Kouvarakis, A.; Stephanou, E. G. Determination and separation of bisphenol A, phthalate metabolites and structural isomers of parabens in human urine with conventional high-pressure liquid chromatography combined with electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2015**, *407*, 2509-2518.

N

- Net, S.; Delmont, A.; Sempéré, R.; Paluselli, A.; Ouddane, B. Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): a review. *Sci. Total Environ.* **2015b**, *515-516*, 162-180.
- Net, S.; Rabodonirina, S.; Sghaier, R. B.; Dumoulin, D.; Chbib, C.; Tlili, I.; Ouddane, B. Distribution of phthalates, pesticides and drug residues in the dissolved, particulate and sedimentary phases from transboundary rivers (France–Belgium). *Sci. Total Environ.* **2015c**, *521-522*, 152-159.
- Net, S.; Sempéré, R.; Delmont, A.; Paluselli, A.; Ouddane, B. Occurrence, fate, behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices. *Environ. Sci. Technol.* **2015a**, *49*, 4019–4035.
- Niu, Z.; Zhang, W.; Yu, C.; Zhang, J.; Wen, Y. Recent advances in biological sample preparation methods coupled with chromatography, spectrometry and electrochemistry analysis techniques. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2018**, *102*, 123-146.

Bibliografía

O

- OCDE. *Emission Scenario Document On Plastics Additive*; No. 3; Paris, 2009.
- OMS. *Guidelines for drinking-water quality. Di(2-ethylhexyl)phthalate in drinking-water*; 2003.

P

- Pirogov, A. V.; Tolmacheva, N. G.; Shpigun, O. A. Extraction and subsequent determination of dialkyl phthalates in the soil using gas chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Moscow University Chemistry Bulletin* **2014**, 69 (4), 158-162.
- Plasticisers. Orthophthalates. <https://www.plasticisers.org/plasticisers/orthophthalates/> (último acceso junio 2018).
- Plastics Europe. Plastics – The Facts 2017. <https://www.plasticseurope.org/en/resources/market-data> (último acceso junio 2018).
- Plastics Europe. What are plastics. <https://www.plasticseurope.org/en/about-plastics/what-are-plastics> (último acceso junio 2018).
- [Polymer Properties Database. Plastics Additives. http://polymerdatabase.com/Additives/Polymer%20Additives.html](http://polymerdatabase.com/Additives/Polymer%20Additives.html) (último acceso junio 2018).

R

- Rahman, M.; Brazel, C. S. The plasticizer market: an assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges. *Prog. Polym. Sci.* **2004**, 29, 1223-1248.

Bibliografía

- Rajabi, M.; Sabzalian, S.; Barfi, B.; Arghavani-Beydokhti, S.; Asghari, A. In-line micro-matrix solid-phase dispersion extraction for simultaneous separation and extraction of Sudan dyes in different spices. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1425*, 42-50.
- Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 18 de diciembre de 2006 relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) N° 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) N° 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión. Diario Oficial de la Unión Europea. L 396 de 30.12.2006.
- Reglamento (CE) N° 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, y por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) N° 1907/2006. Diario Oficial de la Unión Europea. L 353/1 de 31.12.2008.
- Reglamento (CE) N° 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009 sobre los productos cosméticos. Diario Oficial de la Unión Europea. L342/59 de 22.12.2009.
- Reglamento (UE) N°10/2011 de la Comisión de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea. L12/1 de 15.02.2011.
- Reglamento (CE) N° 109/2012 de la Comisión de 9 de febrero de 2012 por el que se modifica el Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH) en lo que respecta a su anexo XVII (sustancias CMR). Diario Oficial de la Unión Europea. L 37/1 de 10.02.2012.
- Reglamento (UE) 2017/999 de la Comisión de 13 de junio de 2017 por el que se modifica el anexo XIV del Reglamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH). Diario Oficial de la Unión Europea. L 150/7 de 14.06.2017.

Bibliografía

- Reid, A. M.; Brougham, C. A.; Fogarty, A. M.; Roche, J. J. Accelerated solvent-based extraction and enrichment of selected plasticisers and 4-nonylphenol, and extraction of tin from organotin sources in sediments, sludges and leachate soils. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *634*, 197-204.
- Resolución (2012/2066(INI)) del Parlamento Europeo de 14 de marzo de 2013 sobre la protección de la salud pública contra los alteradores endocrinos. Diario de la Unión Europea. C 36/85 de 29.01.2016.
- Rhind, S. M.; Kyle, C. E.; Kerr, C.; Osprey, M.; Zhang, Z. L.; Duff, E. I.; Lilly, A.; Nolan, A.; Hudson, G.; Towers, W.; Bell, J. et al. Concentrations and geographic distribution of selected organic pollutants in Scottish surface soils. *Environ. Pollut.* **2013**, *182*, 15-27.
- Rodríguez-González, N.; González-Castro, M-J.; Beceiro-González, E.; Muniategui-Lorenzo, S. Development of a matrix solid phase dispersion methodology for the determination of triazine herbicides in marine sediments. *Microchem. J.* **2017**, *133*, 137-143.

S

- Sampson, J.; de Korte, D. DEHP-plasticised PVC: relevance to blood services. *Transfus. Med.* **2011**, *21*, 73-83.
- Sánchez-Ávila, J.; Bonet, J.; Velasco, G.; Lacorte, S. Determination and occurrence of phthalates, alkylphenols, bisphenol A, PBDEs, PCBs and PAHs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant. *Sci. Total Environ.* **2009**, *407*, 4157-4167.
- Santana-Mayor, A.; Socas-Rodríguez, B.; Afonso, M^a del M.; Palenzuela-López J. A.; Rodríguez-Delgado M. Á. Reduced graphene oxide-coated magnetic-nanoparticles as sorbent for the determination of phthalates in environmental samples by micro-dispersive solid-phase extraction followed by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2018** (en prensa).
- Shao, X. L.; Zou, Y. M.; Wang, F. X.; Zhang, Z.; Wang, S. M.; Han, S. L.; Wang, S. S.; Chen, Y.; Wu, X. Y.; Chen, Z. L. Determination of phthalate acid esters in water and sediment samples by GC-MS. *Adv. Mat. Res.* **2013**, *610-613*, 157-162.

Bibliografía

- Shen, Z-L.; Yuan, D.; Zhang, H.; Zhu, J-H.; Zhang, X-Q.; Su, Q-D. Matrix solid phase dispersion-accelerated solvent extraction for determination of OCP residues in fish muscles. *J. Chin. Chem. Soc.* **2011**, *58*, 494-502.
- Shu, L.; Chen, S.; Zhao, W-W.; Bai, Y.; Ma, X-C.; Li, X-X.; Li, J-R.; Somsundaran, P. High-performance liquid chromatography separation of phthalate acid esters with a MIL-53(Al)-packed column. *J. Sep. Sci.* **2016**, *39*, 3163-3170.
- Sibali, L. L.; Okonkwo, J. O.; McCrindle, R. I. Determination of selected phthalate esters compounds in water and sediments by capillary gas chromatography and flame ionization detector. *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* **2013**, *48*, 1365-1377.
- Škrbić, B.; Ji, Y.; Đurišić-Mladenović, N.; Zhao, J. Occurrence of the phthalate esters in soil and street dust samples from the Novi Sad city area, Serbia, and the influence on the children's and adult's exposure. *J. Hazard. Mater.* **2016**, *312*, 272-279.
- Socas-Rodríguez, B.; González-Sálamo, J.; Hernández-Borges, J.; Rodríguez-Delgado, M. A. Recent applications of nanomaterials in food safety. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2017**, *96*, 172-200.
- Socas-Rodríguez, B.; González-Sálamo, J.; Herrera-Herrera, A. V.; Santana-Mayor, A.; Hernández-Borges, J. Determination of phthalic acid esters in different baby food samples by gas chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, (en prensa).
- Sosa-Ferrara, Z.; Mahugo-Santana, C.; Santana-Rodríguez, J. J. Analytical methodologies for the determination of endocrine disrupting compounds in biological and environmental samples. *Biomed. Res. Int.* **2013**, *2013*, 1-23.
- Stojanoska, M. M.; Milosevic, N.; Milic, N.; Abenavoli, L. The influence of phthalates and bisphenol A on the obesity development and glucose metabolism disorders. *Endocrine* **2017**, *55*, 666-681.
- Su, R.; Wang, X.; Xu, X.; Wang, Z.; Li, D.; Zhao, X.; Li, X.; Zhang, H.; Yu, A. Application of multiwall carbon nanotubes-based matrix solid phase dispersion extraction for determination of hormones in butter by gas chromatography mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 5047-5054.
- Sun, J.; Huang, J.; Zhang, A.; Liu, W.; Cheng, W. Occurrence of phthalate esters in sediments in Qiantang River, China and inference with urbanization and river flow regime. *J. Hazard. Mater.* **2013a**, *248-249*, 142-149.

Bibliografia

- Sun, J.; Pan, L.; Tsang, D. C. W.; Li, Z.; Zhu, L.; Li, X. Phthalate esters and organochlorine pesticides in agricultural soils and vegetables from fast-growing regions: a case study from eastern China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2018**, *25*, 34-42.
- Sun, J.; Pan, L.; Zhan, Y.; Lu, H.; Tsang, D. C. W.; Liu, W.; Wang, X.; Li, X.; Zhu, L. Contamination of phthalate esters, organochlorine pesticides and polybrominated diphenyl ethers in agricultural soils from the Yangtze River Delta of China. *Sci. Total Environ.* **2016**, *544*, 670-676.
- Sun, J-N.; Shi, Y-P.; Chen, J. Simultaneous determination of plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate and its metabolite in human urine by temperature controlled ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography. *Anal. Methods* **2013b**, *5*, 1427-1434.
- Swan, S. H.; Sathyanarayana, S.; Barrett, E. S.; Janssen, S.; Liu, F.; Nguyen, R. H. N.; Redmon, J. B. First trimester phthalate exposure and anogenital distance in newborns. *Hum. Reprod.* **2015**, *30*, 963-972.
- Swati; Ghosh, P.; Thakur, I. S. An integrated approach to study the risk from landfill soil of Delhi: chemical analyses, in vitro assays and human risk assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2017**, *143*, 120-128.

T

- Tan, D.; Jin, J.; Sun, X.; Dhanjai, Ni, Y.; Chen J. Phenyltrichlorosilane-functionalized magnesium oxide microspheres: Preparation, characterization and application for the selective extraction of dioxin-like polycyclic aromatic hydrocarbons in soils with matrix solid-phase dispersion. *Anal. Chim. Acta* **2017**, *956*, 14-23.
- Tan, W.; Zhang, Y.; He, X.; Xi, B.; Gao, R.; Mao, X.; Huang, C.; Zhang, H.; Li, D.; Liang, Q.; et al. Distribution patterns of phthalic acid esters in soil particle-size fractions determine biouptake in soil-cereal crop systems. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 1-15.
- Teo, C. C.; Chong, W. P. K.; Ho, Y. S. Development and application of microwave-assisted extraction technique in biological sample preparation for small molecule analysis. *Metabolomics* **2013**, *9*, 1109-1128.

Bibliografia

- Tienpont, B. Determination of phthalates in environmental, food and biomatrices: an analytical challenge. Ph. D. Thesis. Department of Organic Chemistry. Ghent University, 2004.
- Tran, B. C.; Teil, M-J.; Blanchard, M.; Alliot, F.; Chevreuil, M. Fate of phthalates and BPA in agricultural and non-agricultural soils of the Paris area (France). *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22*, 11118-11126.
- Trasande, L.; Attina, T. M. Association of exposure to di-2-Ethylhexylphthalate replacements with increased blood pressure in children and adolescents. *Hypertension* **2015**, *66* (2), 301-308.

U

- Upson, K.; Sathyanarayana, S.; De Roos, A. J.; Thompson, M. L.; Scholes, D.; Dills, R.; Holt, V. L. Phthalates and risk of endometriosis. *Environ. Res.* **2013**, *126*, 91-97.
- Usenko, C. Y.; Abel, E. L.; Hopkins, A.; Martinez, G.; Tijerina, J.; Kudela, M.; Norris, N.; Joudeh, L.; Bruce, E. D. Evaluation of common use brominated flame retardant (BFR) toxicity using a zebrafish embryo model. *Toxics* **2016**, *4* (21), 1-13.

V

- Vavrouš, A.; Pavloušková, J.; Ševčík, V.; Vrbík, K.; Čabala, R. Solution for blank and matrix difficulties encountered during phthalate analysis of edible oils by high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2016b**, *1456*, 196-204.
- Vavrouš, A.; Vánpenka, L.; Sosnovcová, J.; Kejlová, K.; Vrbík, K.; Jírová, D. Method for analysis of 68 organic contaminants in food contact paper using gas and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Food Control* **2016a**, *60*, 221-229.
- Vikelsøe, J.; Thomsen, M.; Carlsen, L. Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. *Sci. Total Environ.* **2002**, *296*, 105-116.

W

- Wang, A.; Cai, X.; Chi, J. Determination of trace phthalic acid monoesters in sediments and soils by GC-MS. *Soil Sediment. Contam.* **2012**, *21* (8), 996-1005.
- Wang, J.; Chen, G.; Christie, P.; Zhang, M.; Luo, Y.; Teng, Y. Occurrence and risk assessment of phthalate esters (PAEs) in vegetables and soils of suburban plastic film greenhouses. *Sci. Total Environ.* **2015a**, *523*, 129-137.
- Wang, L.; Zhao, H.; Yu, G.; Shao, L. Study on contents of phthalates in seafood by liquid chromatography spectrometry with matrix solid phase dispersion. 2011 5th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering. China, 10 – 12 mayo, 2011. IEEE: **2011b**.
- Wang, T.; Tong, J.; Sun, M.; Chen, L. Fast and selective extraction of chloramphenicol from soil by matrix solid phase dispersion using molecularly imprinted polymer as dispersant. *J. Sep. Sci.* **2011a**, *34*, 1886-1892.
- Wang, T.; Wang, J.; Zhang, C.; Yang, Z.; Dai, X.; Cheng, M.; Hou, X. Metal–organic framework MIL-101(Cr) as a sorbent of porous membrane-protected micro-solid-phase extraction for the analysis of six phthalate esters from drinking water: a combination of experimental and computational study. *Analyst* **2015b**, *140*, 5308-5316.
- Wang, X.; Du, T.; Wang, J.; Kou, H.; Du, X.; Lu, X. Assessment of graphene aerogel matrix solid-phase dispersion as sample preparation for the determination of chlorophenols in soil. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 6778-6784.
- Wang, Y.; Gao, L.; Qin, D.; Chen, L. Analysis of melamine in milk powder by CNT-MIP with matrix solid phase dispersion and LC-MS/MS. *Food Anal. Method.* **2017**, *10*, 1386-1396.
- Wang, Y-X.; Zeng, Q.; Sun, Y.; Yang, P.; Wang, P.; Li, J.; Huang, Z.; You, L.; Huang, Y-H.; Wang, C.; et al. Semen phthalate metabolites, semen quality parameters and serum reproductive hormones: a cross-sectional study in China. *Environ. Pollut* **2016**, *211*, 173-182.
- Webber, M. D.; Lesage, S. Organic contaminants in Canadian municipal sludges. *Waste Manag. Res.* **1989**, *7*, 63-82.

Bibliografia

- Wittassek, M.; Wiesmüller, G. A.; Koch, H. M.; Eckard, R.; Dobler, L.; Müller, J.; Angerer, J.; Schülter, C. Internal phthalate exposure over the last two decades – A retrospective human biomonitoring study. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2007**, *210*, 319-333.

X

- Xie, H.; Du, X. Analysis of chlorpyrifos in water, soil and cabbage samples by solid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Asian J. Chem.* **2016**, *28*, 1992-1996.
- Xu, G.; Li, F.; Wang, Q. Occurrence and degradation characteristics of dibutylphthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in typical agricultural soils of China. *Sci. Total Environ.* **2008**, *393*, 333-340.

Y

- Yan, H.; Wang, F.; Wang, H.; Yang, G. Miniaturized molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion coupled with high performance liquid chromatography for rapid determination of auxins in orange samples. *J. Chromatogr. A* **2012**, *1256*, 1-8.
- Yang, J.; Li, Y.; Wang, Y.; Ruan, J.; Zhang, J.; Sun, C. Recent advances in analysis of phthalate esters in foods. *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2015**, *72*, 10-26.
- Yazdanfar, N.; Shamsipur, M.; Ghambarian, M.; Esrafil, A. A highly sensitive dispersive microextraction method with magnetic carbon nanocomposites coupled with dispersive liquid–liquid microextraction and two miscible stripping solvents followed by GC–MS for quantification of 16 PAHs in environmental samples. *Chromatographia* **2018**, *81*, 487-499.

Z

- Zaate, M. F.; Tahboub, Y. R.; Al Sayyed, A. N. Determination of phthalates in Jordanian bottled water using GC–MS and HPLC–UV: environmental study. *J Chromatogr. Sci.* **2014**, *52*, 447-452.
- Zeng, F.; Cui, K.; Xie, Z.; Liu, M.; Li, Y.; Lin, Y.; Zeng, Z.; Li, F. Occurrence of phthalate esters in water and sediment of urban lakes in a subtropical city, Guangzhou, South China. *Environ. Int.* **2008b**, *34*, 372-380.
- Zeng, F.; Cui, K.; Xie, Z.; Wu, L.; Liu, M.; Sun, G.; Lin, Y.; Luo, D.; Zeng, Z. Phthalate esters (PAEs): emerging organic contaminants in agricultural soils in peri-urban areas around Guangzhou, China. *Environ. Pollut.* **2008a**, *156*, 425-434.
- Zeng, F.; Cui, K.; Xie, Z.; Wu, Z.; Luo, D.; Chen, L.; Lin, Y.; Sun, G. Distribution of phthalate esters in urban soils of subtropical city, Guangzhou, China. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *164*, 1171-1178.
- Zhang, S.; Du, Z.; Li, G. Metal-organic framework-199/graphite oxide hybrid composites coated solid-phase microextraction fibers coupled with gas chromatography for determination of organochlorine pesticides from complicated samples. *Talanta* **2013**, *115*, 32-39.
- Zhang, S.; Yang, Q.; Li, Z.; Wang, W.; Zang, X.; Wang, C.; Wang, Z. Solid phase microextraction of phthalic acid esters from vegetable oils using iron (III)-based metal-organic framework/graphene oxide coating. *Food Chem.* **2018**, *263*, 258-264.
- Zhao, P.; Zhao, J.; Lei, S.; Guo, X.; Zhao, L. Simultaneous enantiomeric analysis of eight pesticides in soils and river sediments by chiral liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* **2018**, *204*, 210-219.
- Zheng, X.; Zhang, B-T.; Teng, Y. Distribution of phthalate acid esters in lakes of Beijing and its relationship with anthropogenic activities. *Sci. Total Environ.* **2014**, *476-477*, 107-113.
- Zhu, N.; Zou, Y.; Huang, M.; Dong, S.; Wu, X.; Liang, G.; Han, Z.; Zhang, Z. A sensitive, colorimetric immunosensor based on Cu-MOFs and HRP for detection of dibutyl phthalate in environmental and food samples. *Talanta* **2018**, *186*, 104-109.

Bibliografía

- Zorníková, A.; Jarošova, A.; Hřivna, L. Distribution of phthalic acid esters in agricultural plants and soil. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis* **2011**, *31*, 233-238.

–

