

# **Trabajo Fin de Máster**

## **Dispositivos de película delgada miniaturizados basados en redes metal-orgánicas para el pretratamiento analítico de muestra**

**Irina Guerra Martín**

**Tutores: Ana Isabel Jiménez Abizanda y Adrián Gutiérrez Serpa**





**ANA ISABEL JIMÉNEZ ABIZANDA, CATEDRÁTICA DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Y ADRIÁN GUTIÉRREZ SERPA, DOCTOR EN QUÍMICA E INGENIERÍA QUÍMICA**

**AUTORIZAN:**

La presentación del trabajo de Fin de Máster titulado "DISPOSITIVOS DE PELÍCULA DELGADA MINIATURIZADOS BASADOS EN REDES METAL-ORGÁNICAS PARA EL PRETRATAMIENTO ANALÍTICO DE MUESTRA", que ha sido desarrollado por Dña. Irina Guerra Martín bajo nuestra dirección en los laboratorios de la Unidad Departamental de Química Analítica del Departamento de Química, ya que consideramos que reúne los requisitos para ser presentado y defendido ante el Tribunal designado al efecto.

La Laguna, a 29 de junio de 2022

Fdo.: Ana Isabel Jiménez Abizanda

Fdo. : Adrián Gutiérrez Serpa

C/ Padre Herrera s/n  
38207 La Laguna  
Santa Cruz de Tenerife. España

T: 900 43 25 26

[ull.es](http://ull.es)

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

Identificador del documento: 4600338 Código de verificación: 10egsXej

Firmado por: Ana Isabel Jiménez Abizanda  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 01/07/2022 09:16:30

Adrián Gutiérrez Serpa  
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

01/07/2022 09:34:22



## ***AGRADECIMIENTOS***

En primer lugar, quería agradecer a las Dras. Anabel y Verónica por toda su atención y dedicación no solo por este Trabajo Fin de Máster, sino también en su trabajo como docentes, me he sentido arropada y querida desde el primer minuto. En general a todos y cada uno de los integrantes del equipo de investigación MAT4LL, todo lo que he aprendido estos dos años no tiene ningún sentido. Nunca me imaginé que podría aprender tanto de personas tan increíbles. En especial, quería agradecer al Dr. Adrián porque desde el primer momento que lo conocí hasta día de hoy, lo miro con ojos de admiración y respeto. Gracias por enseñarme tanto y por ser el primero en dejarme formar parte de esta gran familia. A Montse, Isaac, Patri, Sara, Diego, Santi y Ale, porque detrás de grandes resultados solo puede haber grandes compañeros que te den su mano cuando tropieces. Gracias.

A mi familia, porque una vida se me hace insuficiente para agradecerles todo lo que han hecho por mí. Los quiero, gracias por apoyarme y siempre criarme desde el cariño. Especialmente a mi madre, Urma, por nunca ponerme barreras, siempre apoyarme y enseñarme lo que significa luchar por tus sueños. Te quiero mami, gracias por ser esa mujer fuerte y luchadora que siempre he admirado.

A mi pareja, Tomás, porque nadie más que él me soporta en el día a día. En estos 5 años ha tenido que escuchar cosas de química que ni entendía y, aun así, siempre me escuchaba con orgullo y atención. Gracias.

Finalmente, quería terminar con una frase muy especial para mí, que mi abuela Cora me recuerda cada vez que paso esos ratitos únicos con ella, en donde me comparte de su vida y sus anécdotas:

“Estudia mi niña, para que no dependas de nadie y seas la dueña de tu propia vida”



## **RESUMEN**

En este Trabajo Fin de Máster se ha preparado, caracterizado y empleado en microextracción un dispositivo *thin-film* basado en la red metal-orgánica MIL-100(Fe) formando parte de un composite con poliestireno (PS). La preparación del dispositivo hace uso de papel de celulosa como soporte, que es recubierto mediante la técnica *dip-coating* por el composite PS@MIL-100(Fe). La determinación analítica se centró en 8 productos de cuidado personal (PCPs), entre los que se encuentran conservantes, filtros UV y un desinfectante. El dispositivo se ha aplicado a un procedimiento de microextracción en película delgada (TF-SPME), en combinación con cromatografía líquida de alta resolución y un detector de fotodiodos, que ha sido optimizado en términos del disolvente de desorción, modo de extracción, tiempo de extracción, volumen del disolvente de desorción y tiempo de desorción, con el objetivo de alcanzar adecuadas eficacias de extracción para los analitos estudiados.

## **ABSTRACT**

In this Master Thesis, a thin-film device based on the metal-organic framework, MIL-100(Fe) incorporated in a composite with polystyrene (PS), has been prepared, characterized, and used in microextraction. The preparation of this devices utilized cellulose paper as a support, which is coated by the dip-coating technique with the PS@MIL-100(Fe) composite. The analytical determination focused on 8 personal care products (PCPs), including preservatives, UV filters and a disinfectant. The device has been applied to a thin film microextraction procedure (TF-SPME), combined with high-performance liquid chromatography and PDA detection, which has been optimized in terms of desorption solvent, extraction mode, extraction time, desorption solvent volume and desorption time, to achieve adequate extraction efficiencies for the analytes studied.





# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Técnicas de microextracción y química analítica verde .....	1
1.2 Microextracción en película delgada (TF-SPME) .....	6
1.3 Nuevos materiales .....	9
1.3.1 <i>Redes orgánicas covalentes (COFs)</i> .....	10
1.3.2 <i>Materiales basados en el carbono</i> .....	10
1.3.3 <i>Polímeros de impronta molecular (MIPs)</i> .....	11
1.4 Redes metal-orgánicas (MOFs) y síntesis sostenibles .....	11
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
<b>3. EXPERIMENTAL.....</b>	<b>19</b>
3.1 Reactivos, disoluciones y material .....	19
3.2 Limpieza.....	21
3.3 Aparatos e instrumentación.....	21
3.4 Software .....	22
3.5 Procedimiento experimental .....	22
3.5.1 <i>Síntesis y caracterización del MIL-100(Fe)</i> .....	22
3.5.2 <i>Preparación y caracterización de los dispositivos de película delgada</i> ...	23
3.5.3 <i>Método cromatográfico</i> .....	24
3.5.4 <i>Procedimiento de microextracción empleando los dispositivos</i> .....	25
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>27</b>
4.1 Método cromatográfico.....	27
4.1.1 <i>Optimización de la separación cromatográfica</i> .....	27
4.1.2 <i>Optimización de la resolución de los picos cromatográficos</i> .....	31
4.1.3 <i>Calibración y validación del método cromatográfico</i> .....	32
4.2 Preparación y caracterización de los dispositivos de TF-SPME.....	34
4.3 Optimización del procedimiento de microextracción .....	36
4.3.1 <i>Selección del disolvente de desorción</i> .....	36
4.3.2 <i>Procedimiento de extracción</i> .....	37
4.3.3 <i>Número de desorciones</i> .....	40

4.4 Optimización mediante diseño experimental.....	42
4.4.1 Estudio considerando el conjunto de PCPs .....	44
4.4.2 Estudio considerando las familias de PCPs.....	47
4.4.3 Estudio global del diseño .....	49
<b>5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS .....</b>	<b>53</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>59</b>

## ***1. INTRODUCCIÓN***

---

### ***1.1 Técnicas de microextracción y química analítica verde***

La preparación de muestra es el paso del procedimiento analítico que tiene como objetivo minimizar la complejidad del análisis, separando los analitos de la matriz de la muestra y eliminando agentes interferentes (1). Los métodos de preparación de muestra pueden clasificarse de varias formas, una de las cuales utiliza como criterio la naturaleza de la muestra y el material extractante, pudiendo por tanto distinguirse entre extracción líquido-líquido (muestra líquida y material extractante también líquido) (2) y extracción líquido-sólido (muestra líquida y material extractante de naturaleza sólida) (3).

Los métodos convencionales de extracción no siguen los principios de la Química Analítica Verde (QAV), debido al uso excesivo de disolventes orgánicos tóxicos, volátiles y peligrosos para el medio ambiente y la salud humana. Con el fin de mejorar la sostenibilidad de las metodologías convencionales citadas, se han desarrollado una amplia variedad de técnicas miniaturizadas que, además, mejoran su desempeño reduciendo la cantidad de material extractante, el tiempo de análisis y la calidad de los resultados obtenidos (1). Estas técnicas miniaturizadas o de microextracción se clasifican también según la naturaleza del material extractante en líquidas o sólidas.

Algunas de las variantes de la microextracción en fase líquida incluyen la microextracción en gota única (4), la microextracción líquido-líquido dispersiva (5) y la microextracción en fase líquida con fibra hueca (6). Estas técnicas son sencillas y no requieren de aparatos costosos ni de grandes volúmenes de disolvente orgánico. Sin embargo, demandan de mucha mano de obra y su automatización es mucho más compleja si las comparamos con las técnicas miniaturizadas basadas en sorbentes, que tienen muchas más ventajas desde el punto de vista operativo, en términos de sencillez y rapidez (7).

Las técnicas de microextracción han tenido un gran auge desde la instauración de los 12 principios de la QAV en 2013, con un incremento sustancial de estudios que abogan por el desarrollo de técnicas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente. Estos artículos recogen aspectos no solo relacionados con minimizar el tamaño de la muestra (propios de la microextracción), sino otros como la sustitución de reactivos tóxicos y

minimización del uso de la energía, entre otros. A continuación, se señalan los 12 principios de la QAV desarrollados por Agnieszka Gałuszka en 2013 (8):

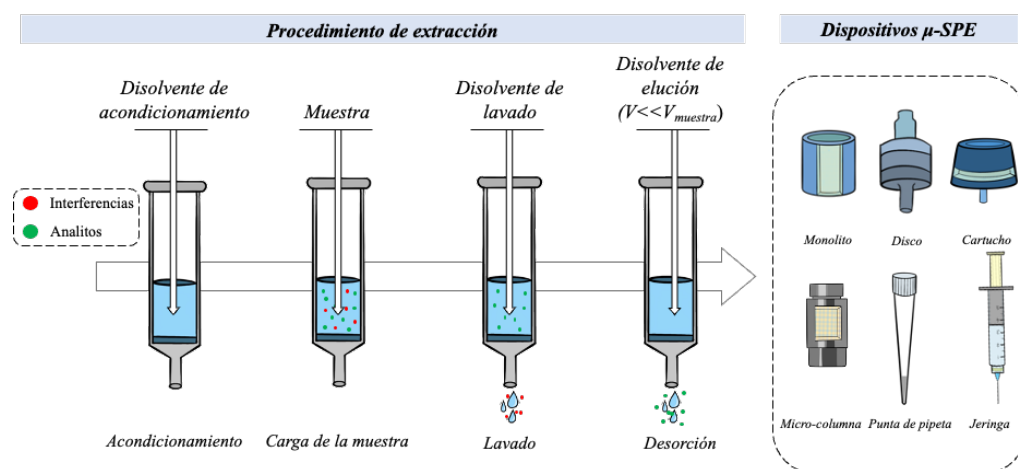
1. Emplear técnicas analíticas directas para evitar el tratamiento de muestras
2. Minimizar el tamaño de la muestra y el número mínimo de muestras objetivo
3. Realizar medidas *in situ*
4. Integrar los procesos y operaciones, reducir reactivos y ahorrar energía
5. Utilizar métodos automatizados y miniaturizados
6. Evitar la derivatización
7. Evitar la generación de residuos y gestionarlos de manera adecuada
8. Utilizar métodos multianálisis o multiparamétricos
9. Minimizar el uso de energía
10. Priorizar reactivos renovables
11. Sustituir los reactivos tóxicos
12. Aumentar la seguridad del operador

En cualquier caso, no solo resulta de interés la aplicación de los 12 principios de la QAV, sino que resulta crítico el realizar un análisis minucioso, a través de métricas, para verificar y cuantificar de alguna manera su carácter sostenible. Existen diferentes métricas en la actualidad para llevar a cabo estos estudios, incluyendo la eco-escala, el índice de procedimientos analíticos verdes (GAPI) y el índice nacional de métodos medioambientales (NEMI) (9). Además del interés por mejorar la aplicabilidad de estas métricas, existe en paralelo un nuevo movimiento en el que no solo se evalúa la sostenibilidad del método, sino también la calidad de los resultados analíticos obtenidos y los aspectos económicos. Esta filosofía viene recogida en lo que se conoce como la Química Analítica Blanca (QAB), desarrollada por Paweł Mateusz en 2021, pretendiendo por tanto no solo métodos de bajo impacto ambiental sino completamente eficaces desde un punto de vista práctico y analítico. Los 12 principios de la QAB que se exponen a continuación no solo cumplen con términos de sostenibilidad, sino también con términos de eficacia analítica, sencillez operativa y económica (10):

1. Ámbito de aplicación lo más amplio posible
2. Límites de detección y cuantificación lo más bajos posibles
3. Métodos analíticos con la mejor precisión posible

4. Métodos analíticos con el menor error relativo posible y recuperaciones próximas al 100 %
5. Baja toxicidad de los reactivos y gran uso de reactivos y materiales biodegradables
6. Menor consumo de reactivos y producción de residuos posibles
7. Bajo uso de la energía y otros medios mediante medidas *in situ*, automatizadas y de alto rendimiento
8. Métodos analíticos sin impacto directo negativo sobre los seres vivos
9. Rentabilidad económica
10. Eficacia en el menor tiempo posible
11. Requisitos prácticos mínimos
12. Simplicidad operativa mediante la miniaturización, integración y automatización

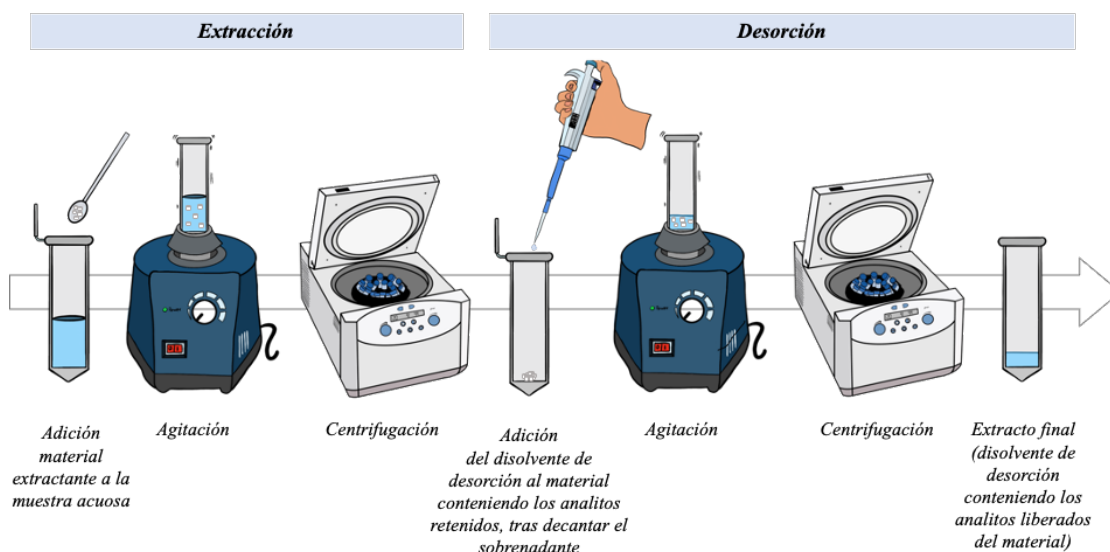
La implementación de la QAV y la QAB en el caso de la SPE convencional se observa en la variante miniaturizada, la extracción en fase sólida miniaturizada ( $\mu$ -SPE), que implica no solo una reducción de la cantidad del material sorbente usando micro o nanomateriales empaquetados o reduciendo el tamaño del dispositivo, sino, en consecuencia, una reducción en el consumo de muestra y disolventes de elución/desorción asociados al método. Para ello, pueden emplearse microcolumnas, jeringas, monolitos y puntas de pipeta entre otros (11). La **Figura 1** muestra el procedimiento para una  $\mu$ -SPE, que comprende las mismas etapas que la SPE, y los dispositivos más frecuentes utilizados en  $\mu$ -SPE.



**Figura 1.** Procedimiento de una extracción en fase sólida miniaturizada junto a los dispositivos más comunes empleados en la técnica

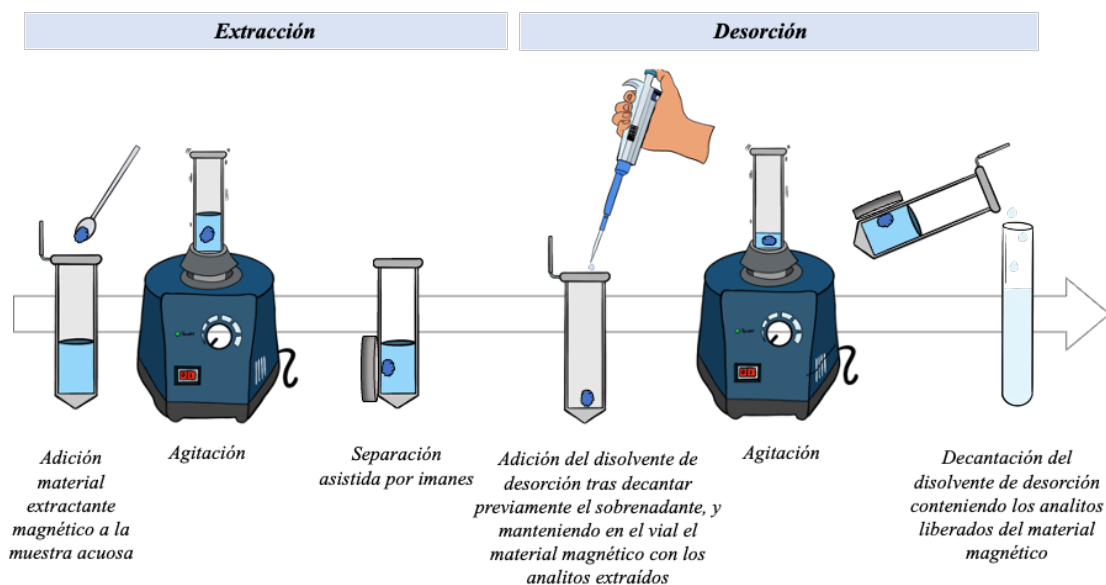
En primer lugar, se acondiciona el dispositivo miniaturizado con un disolvente adecuado y, una vez el material extractante ha sido activado, se carga la muestra. Posteriormente, se realiza un lavado para eliminar las posibles interferencias que hayan podido quedar retenidas en el material extractante y, finalmente, tiene lugar la elución de los analitos con un disolvente adecuado. Los materiales empleados en esta técnica pueden ser sorbentes tradicionales, como la sílice o el carbón activo, o nuevos materiales como los materiales carbonosos o redes metal-orgánicas (12).

Una de las principales desventajas de la  $\mu$ -SPE es el elevado número de pasos que hay que realizar, la dificultad para su automatización y el alto tiempo de preparación de muestra necesario. En base a esto, se han planteado alternativas como la extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva ( $\mu$ -dSPE), ya que es una técnica rápida, con altas recuperaciones y bajo consumo de muestra. El proceso de extracción de una  $\mu$ -dSPE se recoge en la **Figura 2**, en donde se puede observar que, en primer lugar, se dispersa el material extractante directamente en la muestra aplicando agitación, vórtex o ultrasonidos, para lograr una buena interacción entre el material sorbente y la muestra, mejorando así la extracción de los analitos. A continuación, para separar el material de la muestra, es necesaria una centrifugación o decantación. Finalmente, se realiza una desorción de los analitos retenidos en el material de extracción mediante el empleo de un disolvente adecuado y dispersando el material en él para posteriormente separarlo y efectuar en el mismo la detección de los analitos (13).



**Figura 2.** Procedimiento de una extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva

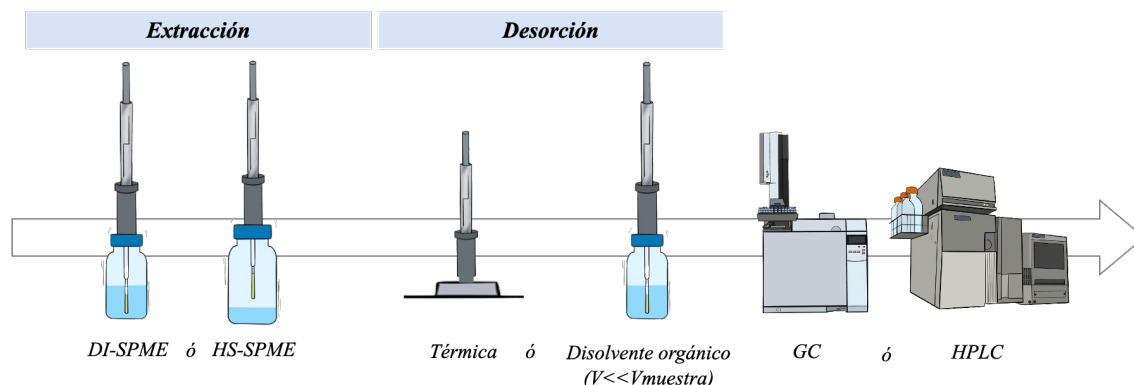
A pesar de todas las ventajas que presenta la  $\mu$ -dSPE, existen algunos inconvenientes, como la necesidad de llevar a cabo la separación del material extractante de la muestra, necesariamente implicando tediosos procesos de centrifugación, filtración o decantación. Por este motivo, se ha propuesto el uso de nuevos materiales magnéticos, que permiten separar el extractante mediante la acción de un imán, dando lugar a la extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva asistida por imanes ( $\mu$ -dSPE magnética). En la **Figura 3** se muestra este tipo de procedimiento de extracción de una  $\mu$ -dSPE magnética (14).



**Figura 3.** Separación de un material extractante magnético mediante la acción de un imán en la  $\mu$ -dSPE magnética

Durante el desarrollo e implantación de estas metodologías de microextracción, surge una variante de enorme interés en el año 1990, desarrollada por Janusz Pawliszyn y denominada microextracción en fase sólida (SPME). Esta técnica se desarrolla a partir del diseño de una fibra que tiene en su extremo 1 cm de longitud recubierto de un material extractante (15). La SPME es una técnica no exhaustiva que consta de dos etapas principales reflejadas en la **Figura 4**: i) extracción y ii) desorción. La extracción puede darse en dos modos de trabajo diferentes: modalidad de inmersión directa (DI-SPME) y de espacio en cabeza (HS-SPME), pudiendo en esta última utilizar altas temperatura y vacío para promover el paso de los analitos de la muestra al espacio en cabeza, y posteriormente a la fibra, fomentando la selectividad hacia los analitos volátiles. La etapa de desorción suele realizarse en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases,

aplicando calor, o bien, empleando un disolvente orgánico, en este último caso cuando se llevan a cabo acoplamientos con cromatografía líquida o electroforesis capilar (16).



**Figura 4.** Procedimiento de microextracción en fase sólida

Una de las principales limitaciones de la SPME es la pequeña área superficial de fase extractante que es expuesta a la muestra. Para superar estas limitaciones, se desarrollaron nuevas técnicas que permitieron aumentar la cantidad de superficie (pudiendo así extraer una mayor cantidad de analito y por tanto mejorando la sensibilidad), sin requerir de incrementos en consecuencia en lo que respecta a los tiempos de extracción (17). Algunas de estas variantes que surgen a partir de la SPME incluyen la extracción con barritas agitadoras (SBSE), la SPME *in-tube*, la SPME en punta de flecha (*arrow SPME*), la microextracción en pastilla con agitación (SCSE) y la microextracción en película delgada (TF-SPME) (18).

### 1.2 Microextracción en película delgada (TF-SPME)

La microextracción en película delgada (TF-SPME) se basa en la utilización de un dispositivo donde el material extractante se extiende formando películas de escaso grosor, obteniendo de esta manera una alta área superficial de contacto y un aumento del material extractante. Estos dispositivos se pueden clasificar atendiendo a si se encuentran soportados sobre una superficie de anclaje o libres. El primer dispositivo se describió en 2003 y consistía en una lámina prefabricada de polidimetilsiloxano (PDMS) unida a una varilla de acero que actuaba como soporte.

El proceso de extracción se produce por un equilibrio de reparto de los analitos entre la muestra y la fase extractiva siguiendo la *Ecuación (1)*, donde  $n^{eq}$  es la cantidad total del analito extraído en el equilibrio,  $K_{es}$  la constante de distribución del analito entre la matriz



y la fase de extracción,  $V_e$  el volumen de la fase de extracción,  $V_s$  el volumen de la muestra y  $C_s$  la concentración inicial del analito en la muestra (19).

$$n^{eq} = \frac{K_{es} \cdot V_e \cdot V_s}{K_{es} \cdot V_e + V_s} \cdot C_s \quad (1)$$

Como se observa en la *Ecuación (1)*, un aumento del volumen de la fase de extracción permite una mayor eficacia extractiva. Sin embargo, hay que tener presente que este aumento en la cantidad de material extractante no debe ser en grosor de recubrimiento sino en mayor área superficial, dado que un aumento en el grosor está relacionado con mayores tiempos, como se puede observar en la *Ecuación (2)*. En este sentido, la TF-SPME es una técnica que consigue solventar este problema, dado que no implica un incremento en los grosores de recubrimiento.

$$t_e = t_{95\%} = \frac{3 \cdot \delta \cdot (b-a)}{D_s} \quad (2)$$

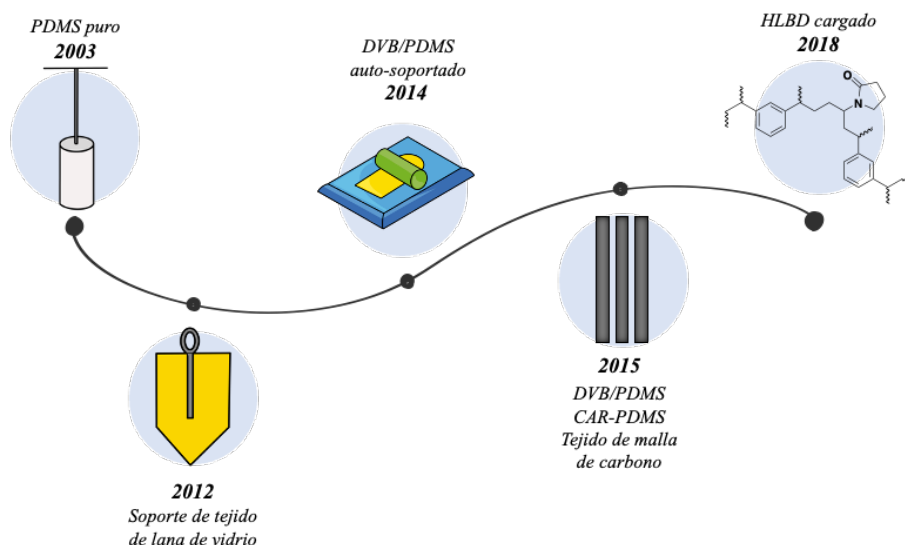
En la *Ecuación (2)*,  $t_e$  es el tiempo necesario para que el analito alcance el equilibrio con la fase extractiva,  $t_{95\%}$  el tiempo necesario para extraer el 95 % del analito,  $\delta$  el espesor de la capa límite,  $(b-a)$  el espesor de la fase extractiva y  $D_s$  la constante de difusión de los analitos en la matriz de la muestra (19).

Los dispositivos de TF-SPME pueden ser preparados por distintos procedimientos:

- Recubrimiento por rotación (*sping coating*): Se basa en el depósito del material extractante sobre una superficie plana por la fuerza centrípeta de la rotación de un disco. Es un método muy utilizado para controlar el grosor de las películas ya que se basa en un equilibrio entre la fuerza, viscosidad y tensión superficial, que permite superficies con grosores específicos. Consta de 4 pasos: *i)* deposición del material *ii)* centrifugación *iii)* aumento de la velocidad de centrifugación para eliminar el exceso de material *iv)* evaporación del disolvente volátil (20).
- Recubrimiento por barra (*bar coating*): Su fundamento principal consiste en depositar el material extractante sobre una superficie inerte y extenderlo con la ayuda de una barra para distribuirlo de manera longitudinal. Posteriormente, para la separación de la lámina de la superficie, se emplea un disolvente orgánico si se quiere conseguir una película auto-soportada, o si se utiliza un soporte se repite el proceso por la cara opuesta (21).

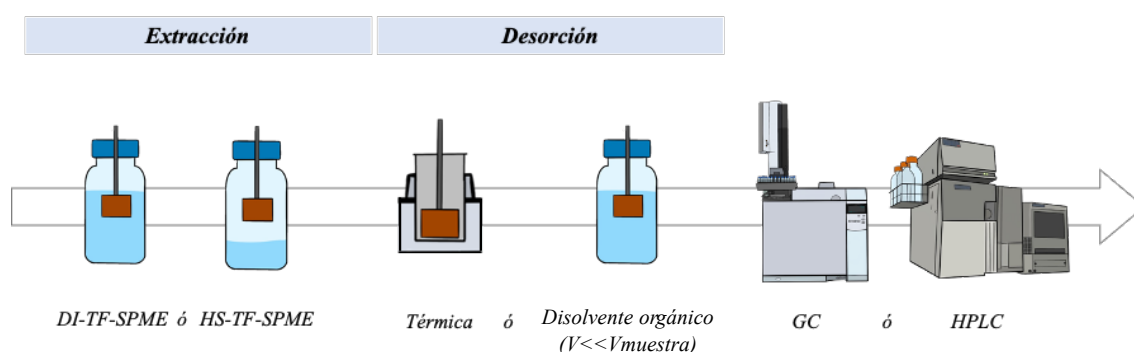
- Recubrimiento por electrohilado (*electrospinning coating*): Se basa en la aplicación de un campo eléctrico a una suspensión coloidal para formar una película delgada. Es una de las técnicas de depósito menos utilizadas en TF-SPME debido a la necesidad de equipos más sofisticados y, además, otro de sus inconvenientes es que es una técnica incompatible con muchos de los materiales sorbentes empleados en microextracción (22).
- Recubrimiento por pulverización (*spray coating*): Se lleva a cabo mediante la pulverización del material extractante sobre una superficie formando láminas delgadas heterogéneas. Puede realizarse mediante diferentes procedimientos de pulverización: térmica, fría o eléctrica (23).
- Recubrimiento por inmersión (*dip coating*): Es una de las técnicas más utilizadas en TF-SPME) debido a su sencillez y logro de recubrimientos homogéneos. Consiste en sumergir el soporte en una disolución que contiene el material extractante y posteriormente evaporar el disolvente volátil dando lugar a la deposición del material en el soporte (24).

Tras el desarrollo del primer dispositivo de película delgada, se han planteado nuevas geometrías y soportes para paliar las limitaciones e inconvenientes que han presentado los diferentes dispositivos desarrollados a lo largo de los años. En la **Figura 5** se muestran las distintas configuraciones de TF-SPME que se han descrito. El primer dispositivo fue desarrollado en 2003 por Bruheim. Este consistía en una lámina prefabricada de 25,4  $\mu\text{m}$  de PDMS como fase de extracción que estaba unida a una varilla de acero inoxidable como soporte (25). Posteriormente, en 2012 se desarrolló un dispositivo utilizando tejido de lana de vidrio y realizando la técnica *spin coating* (26). Seguidamente, en 2014 se estableció el primer dispositivo auto-soportado mediante la técnica *bar coating* (21). Finalmente, en 2015 y 2018 se propusieron dispositivos con soporte de tejido de malla de carbono y con equilibrios hidrofílicos-lipofílicos, respectivamente (27,28). Actualmente, existe un gran interés en el desarrollo de soportes de anclaje basados en papel, debido a su bajo coste económico, su alta disponibilidad y su mayor sostenibilidad comparada con otros soportes. Aunque el papel sin ningún tipo de tratamiento puede utilizarse en microextracción, este suele modificarse mediante la deposición de capas finas de un material extractante para mejorar las eficacias extractivas y recuperaciones (29).



**Figura 5.** Evolución de la TF-SPME desde el primer dispositivo en 2003 hasta 2018

El procedimiento de extracción en la técnica de TF-SPME sigue los mismos pasos que para la SPME. En primer lugar, se produce una etapa de extracción y posteriormente una de desorción. De manera análoga, los modos de trabajo en la etapa de extracción pueden ser mediante inmersión directa (DI-TF-SPME) o en el espacio superior del vial (HS-TF-SPME) favoreciendo así la extracción de los analitos volátiles. La desorción puede ser térmica, en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases, o mediante el empleo de un disolvente orgánico y su posterior determinación analítica por cromatografía líquida o electroforesis capilar, entre otras. Las modalidades de trabajo y las etapas metodológicas se encuentran recogidos en la **Figura 6** (19).



**Figura 6.** Procedimiento de microextracción en película delgada

### 1.3 Nuevos materiales

Junto al desarrollo de las nuevas técnicas de microextracción han ido surgiendo nuevos materiales con el objetivo de mejorar la selectividad, eficacia extractiva, recuperaciones

y sensibilidad en estos nuevos métodos. Entre ellos, destacan las redes orgánicas covalentes (COFs), los materiales basados en el carbono, los polímeros de impronta molecular (MIPs) y las redes metal-orgánicas (MOFs) (30).

### 1.3.1 *Redes orgánicas covalentes (COFs)*

Las redes orgánicas covalentes (COFs) son una novedosa clase de polímero orgánico cristalino, preparado a partir de monómeros orgánicos mediante enlaces covalentes. Se caracterizan por tener baja densidad, ya que están constituidos principalmente por C, O, N, e H. Además, tienen una elevada superficie, gran estabilidad, porosidad permanente y diseño predecible a nivel atómico (31). Para su síntesis, se han señalado diferentes métodos, incluyendo los solvotérmicos, ionotérmicos y mecanoquímicos (32). Algunos COFs se han utilizado con éxito como sorbentes en SPE. Además, se han preparado composites magnéticos para aplicarlos a la técnica de  $\mu$ -dSPE magnética y recubrimientos para aplicaciones en SPME muy prometedores para el pretratamiento analítico de muestra (31).

### 1.3.2 *Materiales basados en el carbono*

Los materiales carbonosos son aquellos materiales basados en el carbono en sus distintas formas alotrópicas. Estos presentan una gran variedad de propiedades que hacen interesante su aplicación en técnicas de microextracción en fase sólida debido a su elevada superficie específica, alta estabilidad química y buena conductividad, con estructuras de poros internos bien desarrolladas. Algunos materiales basados en el carbono son el grafeno (G), óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reducido (r-GO) y nanotubos de carbono (CNTs) (33). El G es un material derivado del grafito que se obtiene mediante el aislamiento de una sola capa de átomos de carbono formando una red hexagonal o de panal de abeja bidimensional. Dicha estructura proporciona una fuerte resistencia mecánica debido a los enlaces  $\sigma$  y una alta conductividad electrónica y térmica debido a los electrones  $\pi$  deslocalizados. Sin embargo, uno de los principales inconvenientes que presenta es la difícil dispersión de este material en cualquier disolvente, ya que no es soluble (34). Para solventar este problema, surge el GO por la deslaminación del grafito oxidado (35).

Por otra parte, el R-GO se obtiene a partir de la reducción del GO y aunque es similar al G, sus propiedades no son exactamente las mismas ya que su estructura contiene

defectos como consecuencia de la liberación de CO y CO<sub>2</sub> durante la reacción de reducción (34). Otros materiales carbonosos de interés en química analítica son los CNTs, con formas de cilindros huecos, estando básicamente formados por láminas de G. Entre sus principales propiedades cabe señalar sus elevadas área superficiales, su estructura altamente porosa, su capacidad para establecer interacciones  $\pi$ - $\pi$  y su facilidad de funcionalización (36).

### 1.3.3 Polímeros de impronta molecular (MIPs)

Los polímeros de impronta molecular (MIPs) son polímeros estables con capacidad de reconocimiento molecular debido al uso de un “analito plantilla” durante la síntesis, logrando de esta manera una estructura final con capacidad de reconocimiento selectivo hacia los analitos en estudio (con características estructurales iguales o similares a las del “analito plantilla”). Entre sus principales propiedades cabe señalar una gran estabilidad, robustez y resistencia en un amplio rango de pH, disolventes y temperaturas. Son sintetizados mediante la polimerización de monómeros funcionales y reticulados alrededor de una molécula plantilla, dando lugar a un polímero de red tridimensional. La aplicación de los MIPs más avanzada hasta la fecha es en SPE. Sin embargo, el creciente interés en la combinación de estos materiales con otras técnicas de extracción ha hecho que se aplique a otras técnicas como la SPME (37).

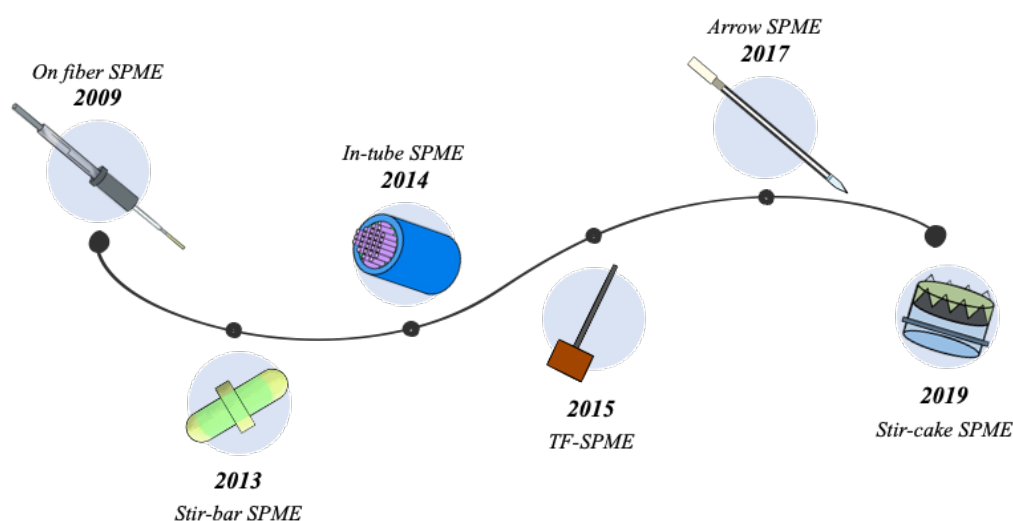
### 1.4 Redes metal-orgánicas (MOFs) y síntesis sostenibles

Las redes metal-orgánicas (MOFs) son sólidos cristalinos, constituidos por iones metálicos o clústeres metálicos unidos a ligandos orgánicos mediante enlaces de coordinación (**Figura 7**). Los iones metálicos actúan como nodos o centros y los ligandos orgánicos como puente entre ellos formando una red bidimensional o tridimensional (18).



**Figura 7.** Componentes de una red metal-orgánica

Actualmente, los principales usos de los MOFs en el área de la Química Analítica son como sorbentes en la preparación de muestra, como novedosas fases estacionarias en cromatografía o como materiales para nuevos sensores (38). Los MOFs han sido aplicados en técnicas de microextracción en fase sólida con el objetivo de lograr excelentes selectividades, recuperaciones y separaciones cromatográficas. En la **Figura 8** se ilustra una línea de tiempo que describe tanto la introducción de los MOFs como sorbentes en los diferentes dispositivos de SPME desde el 2009, hasta el año 2019 en que se incluyeron en aplicaciones de SCSE (18).



**Figura 8.** Introducción de los MOFs como sorbentes en los diferentes dispositivos desde el 2009 donde se implementó por primera vez en SPME, hasta el 2019 que se desarrolló en *stir-cake* SPME

Las propiedades de los MOFs dependen del ligando orgánico seleccionado y su conectividad en la red, definiendo de esta manera la geometría, disposición, tamaño de poro, morfología y distribución de los canales. Además, el centro metálico también juega un papel determinante en la estructura del material. Asimismo, las condiciones de síntesis, el uso o no de moduladores, y las posibles modificaciones post-síntesis, marcan también las propiedades de estos materiales. Su éxito actual en la Química Analítica está directamente relacionado con sus impresionantes áreas superficiales y su versatilidad sintética. Los MOFs tienen la mayor superficie conocida, con valores que van desde 150 hasta  $7.000 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  (39). Sin embargo, uno de los principales inconvenientes de los MOFs es su limpieza y activación. Esto se refiere a cualquier procedimiento de limpieza de los productos químicos que no reaccionan y se encuentran en la superficie de los poros del

material, así como el proceso de vaciado de los poros para que queden accesibles a las moléculas de interés en su futura aplicación. Este procedimiento puede llevarse a cabo mediante diferentes estrategias, como el calentamiento, el empleo de vacío o el intercambio con otro tipo de disolvente orgánico de polaridad diferente al disolvente de síntesis que ha quedado atrapado en los poros del MOF. La activación puede ser un procedimiento complejo y delicado para algunos MOFs, debido al posible colapso de la estructura tras la eliminación del disolvente (40).

Otro aspecto de gran importancia en Química Analítica es la estabilidad de los MOFs en las muestras, por lo que es importante diseñarlos para que sean estables en agua, y en un amplio rango de pH y fuerzas iónicas (41).

La forma más común de sintetizar los MOFs es mediante una síntesis solvo(hidro)termal. Esta consiste en la mezcla de la disolución de la sal metálica y del ligando orgánico en un reactor de teflón, que se coloca dentro de un autoclave de acero inoxidable, seguido de un calentamiento a la temperatura adecuada y por un tiempo determinado. Con la temperatura idónea y manteniendo un volumen constante en el reactor, se genera una presión autógena que facilita la formación de los cristales. Sin embargo, esta síntesis requiere de un alto consumo de energía y de disolventes tóxicos en muchos casos. Por ello, se han desarrollado otras metodologías más sostenibles como son la síntesis electroquímica, la cristalización asistida por microondas, la síntesis mecanoquímica, la sonoquímica o metodologías por precipitación (42).

Un ejemplo de este tipo de síntesis sostenibles es la del MOF MIL-100(Fe), que puede obtenerse mediante la adición de la disolución del ligando orgánico gota a gota sobre la disolución de la sal metálica y posterior agitación durante 24 horas, produciéndose así, la precipitación del MOF (43). El MIL-100(Fe) es un MOF con una gran estabilidad química y térmica y con grandes propiedades adsorbentes debido a su gran volumen de poro y área superficial. Ha sido aplicado a numerosas técnicas de extracción como la  $\mu$ -dSPE magnética o la SBSE, consiguiendo muy buenas recuperaciones para diferentes grupos de compuestos. En la **Tabla 1** se resumen algunos detalles de estas aplicaciones analíticas, incluyendo el tiempo de extracción que fue necesario, las recuperaciones obtenidas, el tipo de técnica concreta de microextracción utilizada, los analitos en estudio, tipo de muestra, técnica posterior de determinación analítica, así como los parámetros de validación del método cromatográfico, de todas las publicaciones recogidas en la

bibliografía científica donde se ha empleado el MIL-100(Fe) en técnicas de microextracción.

Con el objetivo de aplicar los MOFs en métodos eficaces de tratamiento de muestras siguiendo la QAV, se han desarrollado metodologías verdes que consideran aspectos importantes como el diseño y síntesis de los MOFs, la evaluación de la toxicidad del material preparado, así como su incorporación en métodos miniaturizados. alguna de las consideraciones que deben tenerse en cuenta durante la preparación de los MOFs es la posible degeneración y descomposición, ya que el metal empleado puede ser liberado en altas cantidades al medio ambiente. Por este motivo se recomienda el empleo de metales con baja toxicidad como el magnesio, calcio, aluminio, zirconio, manganeso o hierro (50). Además, también es aconsejable el empleo de ligandos simples y biodegradables como aminoácidos o ciclodextrinas.

Con respecto a los estudios de evaluación de la toxicidad de los MOFs, se han llevado a cabo no solo aproximaciones *in vitro* de los efectos de los diferentes MOFs en las células para posibles aplicaciones terapéuticas (38, 51) sino también, más recientemente estudios *in vivo* (52).

Finalmente, es importante resaltar que, con el propósito de implementar los MOFs en técnicas de microextracción, intentando al mismo tiempo mejorar sus propiedades en términos de funcionalidad, estabilidad, facilidad de preparación y selectividad, se han desarrollado diferentes composites basados en MOFs. Para ello, se han combinado los MOFs con otros materiales, como nanopartículas magnéticas, materiales carbonosos, sílice o polímeros. Entre todos ellos, cabe destacar el éxito cuando se combinan con polímeros. Estos composites pueden clasificarse en: *i*) Membranas de matriz mixta: en las que se incorporan micro o nanopartículas de MOFs en una matriz polimérica. *ii*) PolyMOFs: en los que los polímeros pre-sintetizados forman parte del ligando de la red del MOF o que se unen a sitios funcionales de los ligandos. *iii*) MOFs de plantilla de polímero: en los que los polímeros orgánicos pueden controlar el carácter cristalino de los MOFs a través de interacciones electrostáticas. *iv*) Polymer@MOFs: en donde el MOF actúa como anfitrión para el polímero pudiendo controlar su peso molecular y carga. Un ejemplo es la inmersión de un MOF en una disolución polimérica para su posterior deposición sobre un soporte mediante la técnica *dip coating* (53).



**Tabla 1.** Aplicaciones del MIL-100(Fe) como material extractante en diferentes técnicas de microextracción.

Material o composite	Micro-extracción	Tiempo extracción (min)	R(%) <sup>a</sup>	Analitos (número total)	Muestra	Técnica analítica	LOD <sup>b</sup>	RSD <sup>c</sup> (%)	Ref.
MIL-100(Fe)	Extracción en	5	-	pesticidas	aire	GC-ECD	<1,82	<11	(44)
@NTD	punta de jeringa			organoclorados (6)			$\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$		
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	M-D-uSPE	13	<103	fungicidas (4)	frutas y vegetales	HPLC-UV	<3,04	<7	(45)
@MIL-100(Fe)/PEI							$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		
MIL-100	Extracción en	65	<91	BTEXs (6)	orina	GC-FID <sup>d</sup>	0,00055	<7	(46)
@Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>3</sub>	punta de jeringa						$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$		
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	M-D-uSPE	5,5	<100	herbicidas de	agua y	HPLC-	0,254	-	(47)
@MIL-100(Fe)				fenilurea (4)	arroz	DAD <sup>e</sup>	$\text{nm}\cdot\text{mL}^{-1}$		
PDMS/	SBSE	70	<51	triazinas (6)	agua	HPLC-UV	0,079	<6	(48)
MIL-100(Fe)							$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	M-D-uSPE	10	<126	HAPs (13)	agua	HPLC-UV	2110	<17	(49)
@MIL-100(Fe)							$\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$		

<sup>a</sup>recuperaciones

<sup>b</sup>límite de detección

<sup>c</sup>desviación estándar relativa

<sup>d</sup>detector de ionización en llama

<sup>e</sup>detector de diodos en línea



## 2. OBJETIVOS

---

En el presente Trabajo Fin de Máster se pretende desarrollar como objetivo principal un dispositivo *thin-film* a partir de soportes de celulosa y recubierto mediante la técnica *dip-coating* por un composite formado por poliestireno y el MOF MIL-100(Fe) - PS@MIL-100(Fe) - para la determinación de productos de cuidado personal mediante su incorporación en un método TF-SPME-HPLC-PDA. Para asimismo asegurar una adecuada eficacia de extracción ( $E_R$ ) para los analitos objetos de estudio así como una preconcentración significativa ( $E_F$ ) con la metodología indicada y el dispositivo *thin-film*, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Asegurar una adecuada separación cromatográfica de un alto número de PCPs, incluyendo una maximización de la resolución de los picos cromatográficos en términos de simetría y ancho de pico
- Obtener los parámetros de calidad analíticos y validar consecuentemente un método cromatográfico para la determinación de los PCPs
- Preparar y caracterizar con las técnicas adecuadas los dispositivos *thin-film* empleando, asegurando su estabilidad para poder ser integrados en el procedimiento de TF-SPME-HPLC-PDA
- Seleccionar el mejor disolvente de desorción para el dispositivo en TF-SPME
- Evaluar y seleccionar el mejor modo de microextracción así como el número de etapas de desorción para evitar el efecto memoria en los microdispositivos
- Optimizar, mediante un diseño experimental, las variables más significativas que afectan al método TF-SPME con estos dispositivos, evaluando variables como el tiempo de extracción, volumen de desorción y tiempo de desorción, a partir de dos variables respuestas ( $E_F$  y  $E_R$ )
- Estudiar el efecto de la naturaleza de los analitos en las condiciones óptimas a seleccionar

Además, se propone alcanzar los siguientes objetivos, en términos generales, acordes a las competencias de la titulación del Máster Universitario en Química:

- Manejar y emplear las principales bases de datos para la búsqueda de las diferentes fuentes bibliográficas

- Desarrollar y aplicar las ideas y conocimientos adquiridos en el contexto de la investigación multidisciplinar
- Trabajar con autonomía, en equipo y con pensamiento autocrítico para conseguir con éxito los objetivos específicos
- Aplicar las diferentes técnicas experimentales para la identificación, cuantificación, separación y caracterización
- Saber aplicar los conocimientos teóricos en la práctica
- Adquirir experiencia investigadora para iniciar las labores propias de dicha profesión

### 3. EXPERIMENTAL

---

El desarrollo experimental del presente Trabajo Fin de Máster ha sido posible gracias al empleo de numerosos reactivos, disoluciones y materiales. En esta sección se describen los equipos, procedimientos y reactivos para la preparación y aplicación de los dispositivos de película delgada basados en el MOF MIL-100(Fe).

#### 3.1 Reactivos, disoluciones y material

Todos los estudios se realizaron con agua ultrapura Milli-Q ( $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ ) obtenida mediante un sistema de purificación con gradiente A10 MilliPore (Watford, UK). La síntesis del MIL-100(Fe) se llevó a cabo con  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (99 %), ácido trimésico (TMA) (95 %) y NaOH (98 %) suministrados por Panreac Química S.A.<sup>®</sup> (Madrid, España). Para la limpieza y purificación del MOF fue necesario emplear etanol absoluto (EtOH) ( $\geq 99,9$  %) de Supelco<sup>®</sup> Analytical Products (Darmstadt, Alemania).

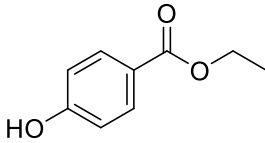
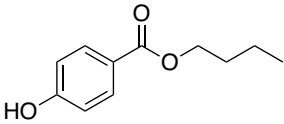
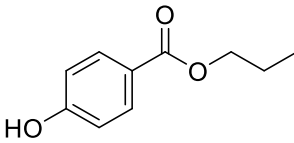
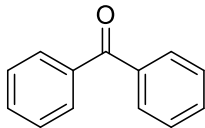
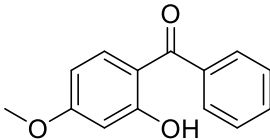
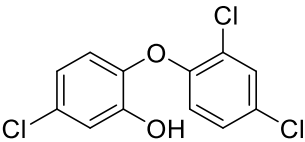
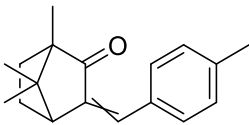
Una vez sintetizado el MIL-100(Fe) se prepararon los diferentes dispositivos empleando papel de celulosa, acetona de Panreac Química<sup>®</sup> (Madrid, España) y cloroformo suministrado por Scharlab<sup>®</sup> (Barcelona, España). Para el desarrollo del composite MIL-100(Fe)@PS fue necesario obtener el poliestireno (PS) de envases plásticos de yogures de la marca Hacendando.

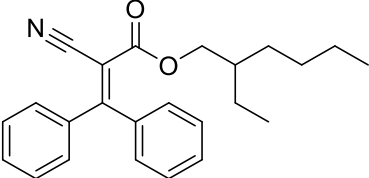
Se estudió la separación cromatográfica de 8 productos del cuidado personal (PCPs) mediante el empleo de agua ultrapura Milli-Q acidificada con ácido acético de Honeywell (Charlotte, Carolina del Norte, Estados Unidos) y acetonitrilo (ACN) HiperSolv CHROMANORM  $\geq 99$  % de pureza suministrado por la empresa VWR International (Radnor, Pensilvania, Estados Unidos) como fases móviles.

Las características principales de los 8 analitos en estudio se muestran en la **Tabla 2**, entre los que se encuentran el etilparabeno (EPB), propilparabeno (PPB) y triclosán (TCS) obtenidos de Dr Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemania) y butilparabeno (BuPB), benzofenona (BP), benzofenona 3 (BP3), metilbenzacameno (MBC) y octocrileno (OCR), suministrados por Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Además, se hicieron estudios previos de optimización mediante el empleo del isopropilparabeno (IsoPPB) y benzilparabeno (BzPB) suministrados por Sigma-Aldrich. A partir de los estándares individuales se preparó una disolución estándar de trabajo con una concentración de  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  en ACN de cada uno de los analitos.

Para los estudios de screening y optimización de la naturaleza del disolvente de desorción, fue necesario el empleo de etanol (EtOH) y metanol (MeOH) de Honeywell (Charlotte, Carolina del Norte, Estados Unidos) y ACN.

**Tabla 1.** Características de los 8 PCPs en estudio junto a sus estructura y propiedades fisico-químicas

Analito	Peso molecular (g·mol <sup>-1</sup> )	Estructura	pKa <sup>a</sup>	Log K <sub>ow</sub> <sup>a,b</sup>
EPB	166,17		8,31	2,39
BuPB	194,22		8,47	3,57
PPB	180,20		8,23	2,90
BP	182,22		-	3,21
BP3	228,24		7,56	3,99
TCS	289,54		7,80	5,34
MBC	254,37		-	3,38

OCR	361,48		-	6,89
-----	--------	--	---	------

<sup>a</sup>Extraído de CAS SciFinder copyright © 2022 American Chemical Society

<sup>b</sup>Logaritmo del coeficiente de reparto octanol-agua.

### 3.2 Limpieza

El material de vidrio se lavó en primera instancia con abundante agua del grifo para posteriormente, con ayuda de una esponja, enjabonarlo. Se enjuagó tres veces y se sumergió en una mezcla ácida HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O (1:10) por un mínimo de 24 horas. Pasado este tiempo, se enjuagó tres veces con agua del grifo y otras tres con agua desionizada. Para terminar, el material volumétrico se dejó secando al aire y el no volumétrico se sometió a una etapa de tratamiento térmico en mufla a 550 °C durante un mínimo de 3 horas.

Las tapas de cualquier índole tienen un proceso de lavado diferente, sometiéndolas a cuatro lavados sucesivos asistidos por ultrasonidos con agua y jabón, mezcla MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1), agua del grifo y agua desionizada.

### 3.3 Aparatos e instrumentación

Para la síntesis del MIL-100(Fe) fue necesario el empleo de una balanza analítica Mettler Toledo (Columbus, Ohio, Estados Unidos), un agitador magnético J.P. Selecta (Barcelona, España), una centrífuga Eppendorf<sup>TM</sup> 5702/R A-4-38 con un rotor de 13,7 cm de diámetro (Hamburgo, Alemania) y una estufa J.P. Selecta.

Para la preparación de los diferentes dispositivos de película delgada y los estudios de optimización del proceso de microextracción fue indispensable un secador Grace de 220/230 VLTS, micropipetas Eppendorf Research<sup>®</sup> Family (100-1000 µL y 500-5000 µL) con puntas de plástico desechables, un baño de ultrasonidos Branson Ultrasonic S.A. 3510 (Cauroge, Suiza), un vórtex de Velp<sup>®</sup> Scientifica (Usmate Velate, Italia), un vórtex multi reax de Heidolph (Schwabach, Alemania) y un agitador de incubación de IKA<sup>®</sup> (Staufen, Alemania).

Para la caracterización del MIL-100(Fe) y los diferentes dispositivos se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL 6400 JSM (Tokio, Japón) y un difractómetro de Rayos X de PANalytical (Eindhoven, Países Bajos) del Servicio General de Apoyo a la Investigación de la Universidad de La Laguna (SEGAI).

La separación y validación cromatográfica se realizó con un equipo HPLC Varian Prostar 320 equipado con un detector de fotodiodos (PDA) Varian 330, una precolumna Pelliguard™ de 2 cm de Supelco® Analytical Products, columna Poroshell 120 EC-C18 (4,6 × 100 mm, 4 µm) y un sistema de inyección manual con una válvula Rheodyen 7725i y un *loop* de inyección de 20 µL.

### 3.4 Software

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizó como procesador de texto Microsoft® Word para Microsoft 365 MSO (16.0.14026.20202) 32 bits, para el análisis de los datos, Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO (16.0.14026.20202) 32 bits y para la unión de las ilustraciones Microsoft® PowerPoint® para Microsoft 365 MSO (16.0.14026.20202) 32 bits.

Las ilustraciones y figuras fueron realizadas con Procreate 3.1 para iOS. El patrón teórico de difracción de Rayos X del MOF se obtuvo a partir de los datos del Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) y el estudio del diseño experimental, superficies de respuestas y optimización uni y multivariante se realizó mediante el programa Statgraphics Centurion XV.I.

### 3.5 Procedimiento experimental

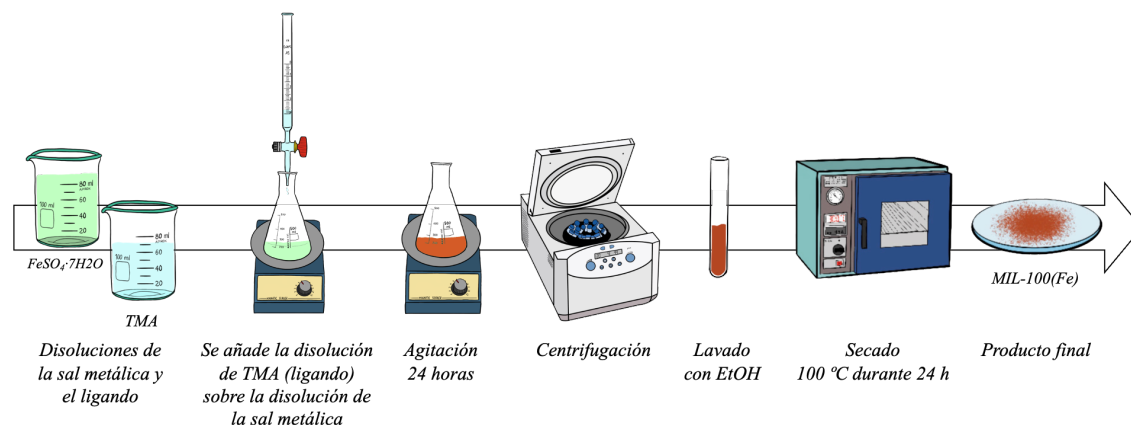
#### 3.5.1 Síntesis y caracterización del MIL-100(Fe)

Con el objetivo de desarrollar una síntesis sostenible a temperatura ambiente, sin disolventes orgánicos y altas temperaturas, se decidió sintetizar el MIL-100(Fe) por precipitación y agitación 24 horas (43).

El MIL-100(Fe) fue sintetizado como se muestra en la **Figura 9**. Para ello se tomaron 3,168 g de FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O y se disolvieron en 98 mL de agua desionizada. Aparte, se disolvió 1,6 g de TMA en 23 mL de NaOH 1 M y se agitó vigorosamente. La disolución de TMA se agregó gota a gota mediante una bureta a la disolución de color verde de



$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Posteriormente, se agitó vigorosamente durante 24 horas a temperatura ambiente observando un cambio de color de verde amarillento a pardo anaranjado.



**Figura 9.** Procedimiento experimental de síntesis del MIL-100(Fe) por precipitación

### 3.5.2 Preparación y caracterización de los dispositivos de película delgada

Los dispositivos de película delgada fueron desarrollados a partir del MIL-100(Fe), con el propósito de que este MOF sea el material de extracción, y el PS, que actúa como agente aglutinante. Se obtiene como resultado un composite denotado como MIL-100(Fe)@PS, que se ancla sobre una superficie de celulosa, obteniendo así un dispositivo con gran resistencia, fácilmente manipulable y flexible (54, 55).

Para el pretratamiento previo del papel y la preparación de la suspensión polimérica es necesario recortar un papel de filtro con dimensiones de  $1,5 \times 2,5$  cm y sumergirlo en agua desionizada para abrir los poros que han sido industrialmente sellados. A continuación, secar al aire un mínimo de 30 minutos. Paralelamente, se cortan pequeños trozos de 0,2 g del recipiente plástico previamente lavado, se añaden 10 mL de cloroformo y se agita vigorosamente hasta su total disolución. A continuación, se agregan 0,3 g de MOF y se agita hasta que se asegure su completa dispersión del modo más uniforme posible.

Para la preparación de los dispositivos de película delgada, se toma el papel previamente tratado y se sumerge en la mezcla PS/MOF. A continuación, se retira de la disolución y se seca suministrando calor mediante un secador, hasta que se observa la total adherencia de la mezcla sobre el soporte. Posteriormente, se sumerge en acetona para producir la precipitación del PS y se vuelve a secar. Esto se repite un número total de 6 veces, con el objetivo de ir desarrollando diferentes capas. La **Figura 10** muestra el

procedimiento de preparación, desde el pretratamiento del papel y la preparación de la suspensión polimérica, hasta el desarrollo de las diferentes capas de los dispositivos de película delgada.



**Figura 10.** Procedimiento experimental para el pretratamiento del papel, preparación de la suspensión polimérica y los dispositivos de película delgada

### 3.5.3 Método cromatográfico

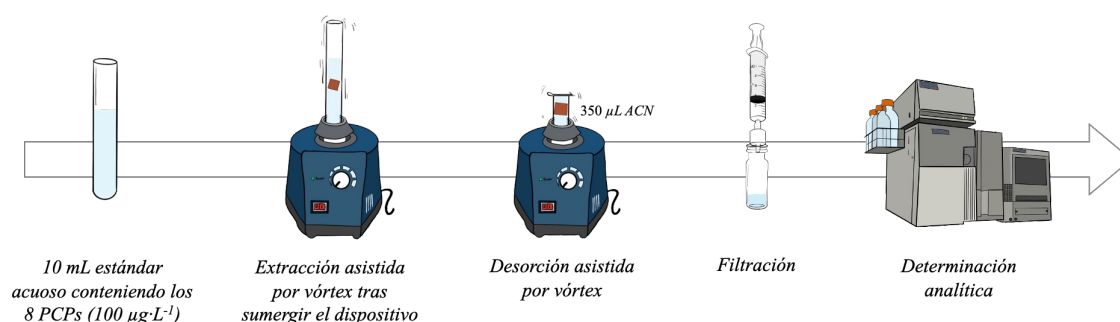
Los 8 PCPs en estudio fueron separados cromatográficamente mediante el empleo de ACN y H<sub>2</sub>O acidificada al 0,1 % con ácido acético como fases móviles a un flujo de 1 mL·min<sup>-1</sup>. Se estudiaron 10 gradientes de elución lineal con el objetivo de obtener una correcta separación cromatográfica abarcando separaciones desde los 18 hasta los 31 minutos y empezando con un porcentaje de ACN del 30-35 % y terminando en un 100 %. Las longitudes de onda de detección fueron de 254 nm para EPB, PPB, BuPB, BP y de 289 nm para la BP3, TCS, MBC y OCR.

El rango de trabajo de la recta de calibrado fue desde 30 hasta 3500 µg·L<sup>-1</sup> y los límites de detección y cuantificación fueron determinados mediante la relación señal ruido del cromatograma y verificados experimentalmente mediante preparación de estándares a 150 y 1000 µg·L<sup>-1</sup> y verificación del mantenimiento de la relación señal/ruido en los mismos. La validación del método cromatográfico asimismo incluyó estudios de

reproducibilidad intra e interdía a dos niveles de concentración incluidos en el intervalo de trabajo antes señalado.

### 3.5.4 Procedimiento de microextracción empleando los dispositivos de TF-SPME

Se realizaron múltiples estudios para la optimización de las condiciones de extracción, utilizando 10 mL de un estándar acuoso (agua desionizada) con una concentración de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para los 8 PCPs en estudio. Las condiciones de trabajo elegidas se ilustran en la **Figura 11**. A modo de resumen, se utiliza el dispositivo de membrana previamente preparado y se sumerge en una disolución estándar acuosa, sometiéndose a continuación a 20 minutos de extracción asistida por vórtex. Una vez finalizado el tiempo, se extrae la membrana cuidadosamente con unas pinzas (limpias) y se lleva a un tubo Eppendorf. En ese momento, se añaden 350  $\mu\text{L}$  ACN y se procede con la etapa de desorción, durante 20 minutos mediante agitación asistida por vórtex. Se separa entonces nuevamente el dispositivo y la disolución de ACN (conteniendo los analitos liberados) se filtra a través de un filtro de  $0,2 \mu\text{m}$  de PVDF y se inyecta en el HPLC descrito en la *Sección 3.3*.



**Figura 11.** Procedimiento experimental del proceso microextracción/desorción empleando los dispositivos de película delgada basados en el MIL-100(Fe) en las condiciones óptimas



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 4.1 Método cromatográfico

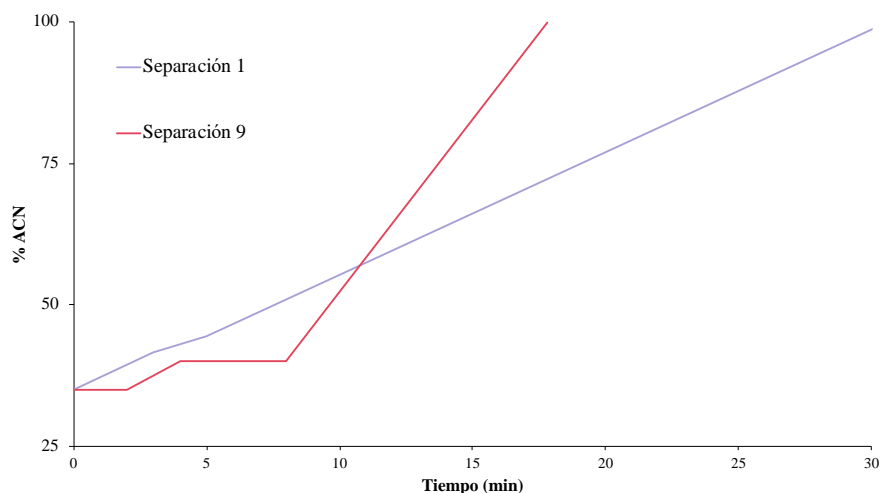
Para optimizar el procedimiento de TF-SPME es necesario, en primer lugar, desarrollar un método cromatográfico (seleccionándose HPLC con detección por PDA) que permita evaluar la eficacia extractiva alcanzada con la microextracción para el conjunto de analitos seleccionado (un conjunto de 10 PCPs). Para ello, se optimizó la separación cromatográfica por HPLC asegurando la correcta resolución en el menor tiempo posible y, posteriormente, se realizó una validación del citado método cromatográfico.

#### 4.1.1 Optimización de la separación cromatográfica

La separación cromatográfica mediante HPLC se llevó a cabo para un grupo de 10 PCPs (EPB, PPB, IsoPPB, BuPB, BzPB, BP, BP3, TCS, MBC, OCR), entre los que se encuentran conservantes, filtros UV y desinfectantes. Estos compuestos se encuentran en productos cosméticos de uso diario como pueden ser aguas micelares, cremas o protectores solares. El principal interés en su determinación se debe a que son considerados disruptores endocrinos, que pueden bioacumularse en el organismo y ser perjudiciales para la salud humana (56).

Como condiciones iniciales para evaluar la separación de estos 10 PCPs se partió un estudio descrito en la bibliografía (57). Concretamente, se utilizó un flujo de  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  de fase móvil, fase móvil constituida por un 35 % de ACN durante los 2 min iniciales, para a continuación aplicar un gradiente de elución lineal hasta alcanzar el 100 % de ACN en 21 minutos, manteniendo esta composición hasta los 30 min de análisis. Las longitudes de onda de detección utilizadas fueron 254 nm (útiles para detectar y posteriormente cuantificar el EPB, PPB, BuPB, BP) y 289 nm para el resto de analitos.

Los resultados alcanzados con estas condiciones se recogen en la **Figura 12** como *Separación 1*. Con esas condiciones, se separan 9 PCPs (MePB, EPB, PPB, BzPB, BP, BP3, TCS, MBC, OCR). Sin embargo, el objetivo principal es separar los 10 PCPs descritos al principio de la presente sección, en donde se optó por eliminar el MePB porque se observaron problemas para su correcta determinación en estudios previos y se añadió el BuPB e IsoPPB.



**Figura 12.** Gradientes de elución utilizados para la separación cromatográfica de los PCPs en estudio

Con el objetivo de optimizar la separación, tomando como punto de partida las condiciones anteriores, se varió el porcentaje de la fase móvil para mejorar la resolución del PPB-IsoPPB y el BuPB-BzPB, puesto que en dichas condiciones los valores de la resolución son inferiores a 0,5. Para ello, se aplicó la *Ecuación (3)*.

$$ACN\%_{final} = Gradiente \cdot (t_f - t_i) + ACN\%_{inicial} \quad (3)$$

En esta ecuación *Gradiente* es el gradiente de elución correspondiente al tiempo final,  $t_f$  y  $t_i$ , el tiempo final e inicial, respectivamente, y  $ACN\%_{final}$  el porcentaje final de acetonitrilo.

Se plantearon por tanto 10 separaciones cromatográficas descritas en la **Tabla 3** variando el gradiente de elución y trabajando en alguna de las regiones en régimen isocrático.

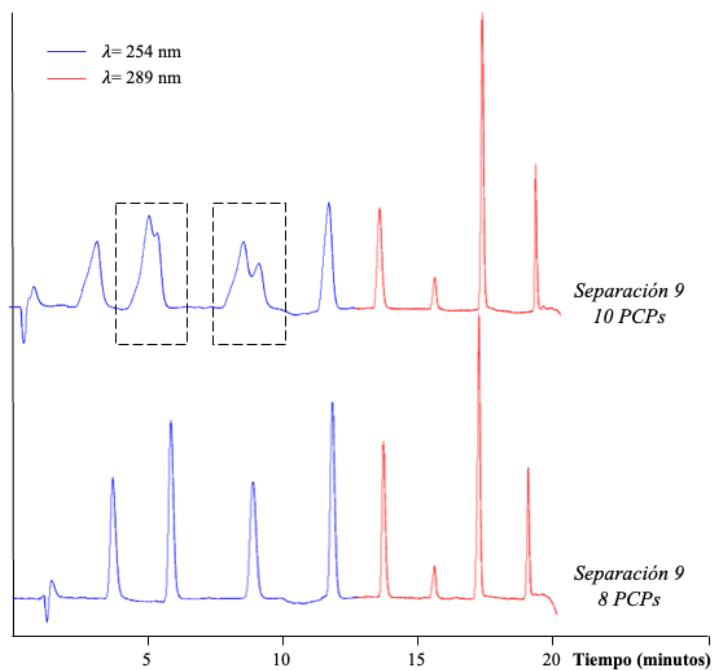
**Tabla 3.** Las 10 separaciones cromatográficas planteadas junto al tiempo el porcentaje de acetonitrilo y el gradiente de elución

Separación	Tiempo (min)	% ACN	%ACN/min
1	0	35	-
	3	42	2,2
	5	45	1,5
	31	100	2,2
2	0	35	-
	30	100	2,17
3	0	35	-
	2	39	2,2
	5	42	1
	18	100	4,3
4	0	35	-
	2	39	2,2
	8	40	0,4
	21	100	4,3
5	0	35	-
	2	39	2,2
	8	40	0,1
	22	100	4,3
6	0	35	-
	2	39	2,2
	8	39	0
	22	100	4,3
7	0	35	-
	8	35	0
	23	100	4,3
8	0	35	-
	4	35	0
	19	100	4,3

Tabla 3. Continuación

Separación	Tiempo (min)	% ACN	%ACN/min
9	0	35	-
	2	35	0
	4	40	5
	8	40	0
	18	100	4,3
10	0	30	-
	2	30	0
	4	40	5
	8	40	0
	18	100	4,3

Como se observa en la **Figura 13**, debido a la semejanza entre las estructuras del PPB-IsoPPB y el BuPB-BzPB, no se consiguió la separación de estos analitos. Por este motivo, se decidió prescindir de los PCPs IsoPPB y el BzPB, ya que actualmente han sido regulados y no se utilizan en cosmética en la EU.



**Figura 13.** Separación cromatográfica óptima (*Separación 9*) para los 10 PCPs iniciales vs 8 PCPs definitivos

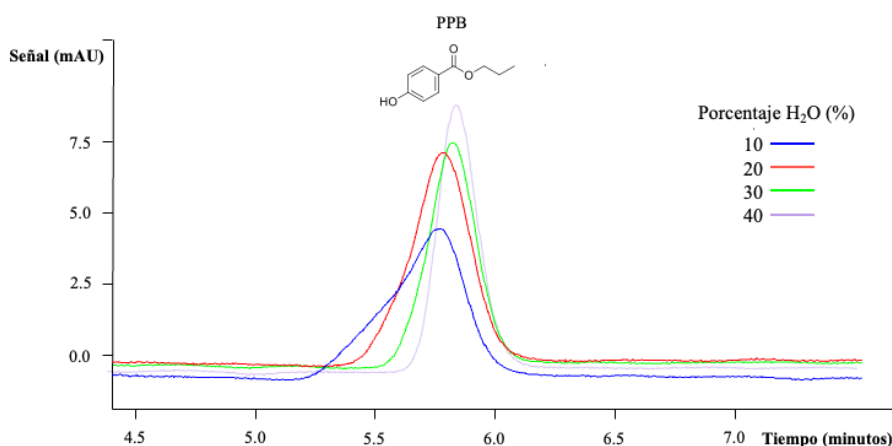


Por tanto, se decidió trabajar con 8 PCPs, que representan en su totalidad a diferentes familias de PCPs: *i)* desinfectantes, *ii)* filtros UV y *iii)* conservantes. Además, se consideró la *Separación 9* como óptima con un flujo de  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , con un gradiente de elución lineal de 35 % de ACN durante 4 min, que sube a 40% de ACN durante otros 4 min, finalmente alcanzando 100% de ACN en 18 minutos.

#### 4.1.2 Optimización de la resolución de los picos cromatográficos

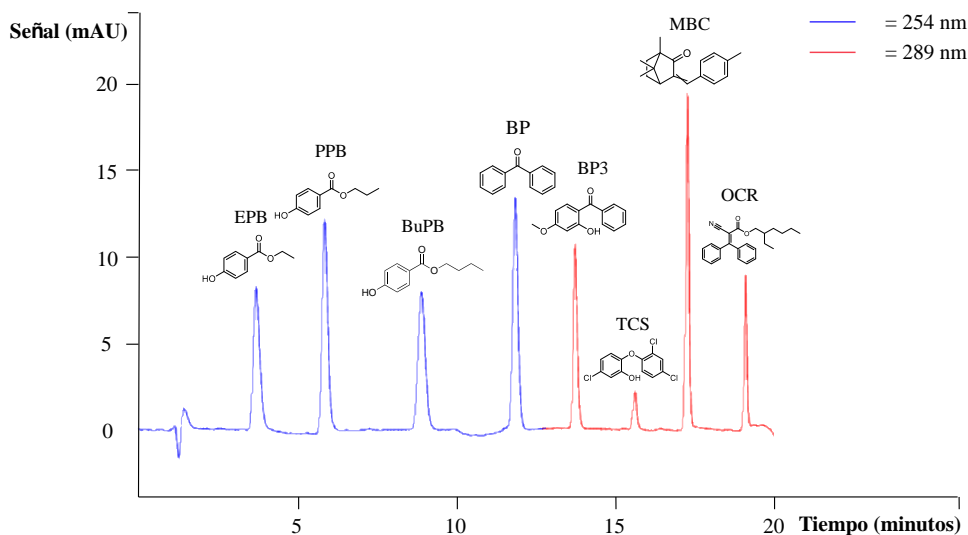
Con el objetivo de mejorar la resolución de los picos cromatográficos en términos de simetría y ancho de pico, se estudiaron diferentes mezclas de  $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$  para los estándares acuosos que se inyectaban en el HPLC, conteniendo desde el 10 hasta el 40 % de agua. Para ello, se prepararon 4 disoluciones de 5 mL, con una concentración de  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para cada uno de los analitos utilizando como disolventes mezclas  $\text{H}_2\text{O}:\text{ACN}$  con cada uno de los porcentajes de agua en estudio citados.

Como se puede observar en la **Figura 14**, el porcentaje más bajo de agua da lugar a picos con cola, asimétricos y anchos. Esto es debido a la forma en la que interaccionan los analitos solvatados en esas condiciones tanto con la fase móvil como con la fase estacionaria. Por ello y debido a las mejoras sustanciales que se pueden observar en la **Figura 14**, se selecciona como óptima el uso de PCPs disueltos en un 60% de ACN y un 40 % de agua.



**Figura 14.** Estudio de la resolución de los picos cromatográficos de los PCPs cuando se inyectan en el HPLC disueltos en agua:ACN, variando el contenido de agua desde el 10 hasta el 40 %

La **Figura 15** muestra un cromatograma representativo con los 8 PCPs en estudio, con una concentración de  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y disueltos en la relación óptima agua:ACN. Esta separación fue adecuada y requirió de 18 minutos en total.



**Figura 15.** Cromatograma representativo para los 8 PCPs obtenidos en condiciones óptimas (estándar de PCPs con una concentración de  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y disueltos en agua:ACN en el ratio óptimo de agua, 40%)

#### 4.1.3 Calibración y validación del método cromatográfico

La calibración del método cromatográfico se realizó empleando 11 niveles de concentración, con estándares de los PCPs en un rango de  $50$  a  $3500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  y disueltos en una relación H<sub>2</sub>O:ACN de 4:6, tal y como se optimizó para mejorar la resolución. Los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) se estimaron como tres y diez veces la relación señal/ruido, obteniéndose valores de LOD comprendidos entre  $9$  y  $30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para el MBC, OCR y TCS, respectivamente. Asimismo, el LOD y LOQ fueron experimentalmente verificados y comprobados, mediante preparación de estándares a esos niveles de concentración y verificación, mediante inyección en el HPLC-PDA, del mantenimiento de las relaciones señal/ruido antes señaladas.

En la **Tabla 4** se muestran los principales parámetros analíticos de calidad del método cromatográfico, así como los resultados obtenidos en los estudios de reproducibilidad y repetibilidad realizados con estándares de PCPs a dos niveles de concentración no incluidos como puntos en la calibración, de  $0,15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , realizando tales experimentos durante el mismo día y en 3 días consecutivos

Tabla 4. Parámetros analíticos de calidad del método HPLC-PDA para los 8 PCPs en estudio

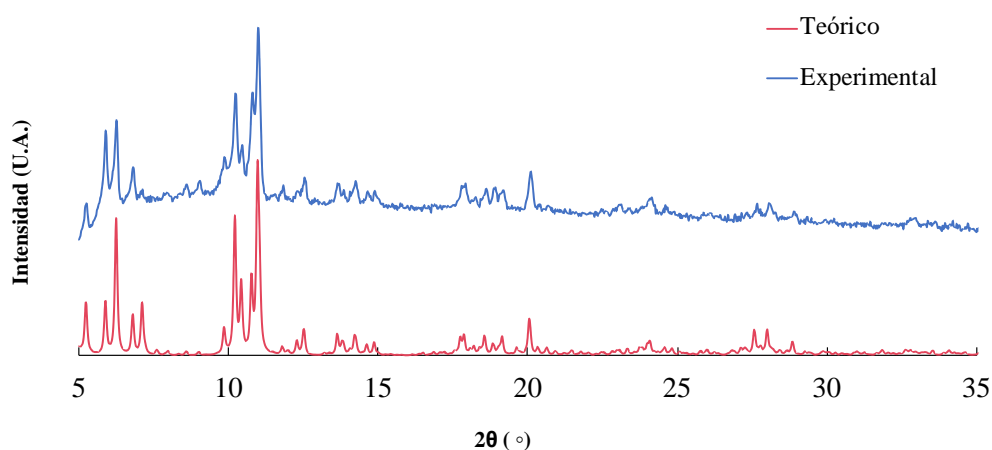
Analito	Intervalo de trabajo ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Pendiente $\pm$ SD <sup>a</sup>	R <sup>b</sup>	S <sub>y/x</sub> <sup>c</sup>	LOD <sup>d</sup> ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	150 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
						RSD intra-día (%)	RSD inter-día (%)	RSD intra-día (%)	RSD inter-día (%)
EPB	50-3500	493 $\pm$ 2	0,9999	6933	15	8,14	0,94	1,04	2,40
PPB	50-3500	659 $\pm$ 3	0,9999	8940	15	6,54	1,71	0,78	2,30
BuPB	50-3500	533 $\pm$ 1	0,9999	4519	15	1,74	7,71	1,38	1,21
BP	50-3500	672 $\pm$ 3	0,9998	10250	15	1,62	3,35	2,67	2,72
BP3	50-3500	387 $\pm$ 1	0,9998	4510	15	5,26	1,30	1,01	2,62
TCS	100-3500	79 $\pm$ 1	0,9992	2548	30	13,90	3,06	2,01	1,30
MBC	30-3500	607 $\pm$ 2	0,9999	5801	9	5,02	3,88	2,55	2,86
OCR	30-3500	218 $\pm$ 1	0,9999	2457	9	7,13	1,94	1,33	2,46

<sup>a</sup>Error asociado a la pendiente de la recta<sup>b</sup>Coefficientes de correlación<sup>c</sup>Error de la estima o desviación estándar de los residuales<sup>d</sup>Límites de detección

Así, se obtuvieron valores de desviaciones estándar relativas (RSD) intradía desde el 1,01 % para la BP3 hasta el 13,90 % para el TCS, e inter-día desde 0,94 % para EPB y 7,71% para el BuPB. Además, todos los valores de los coeficientes de correlación fueron mayores que 0,9992, reflejando la buena linealidad de las diferentes rectas de calibración para los PCPs.

#### 4.2 Preparación y caracterización de los dispositivos de TF-SPME

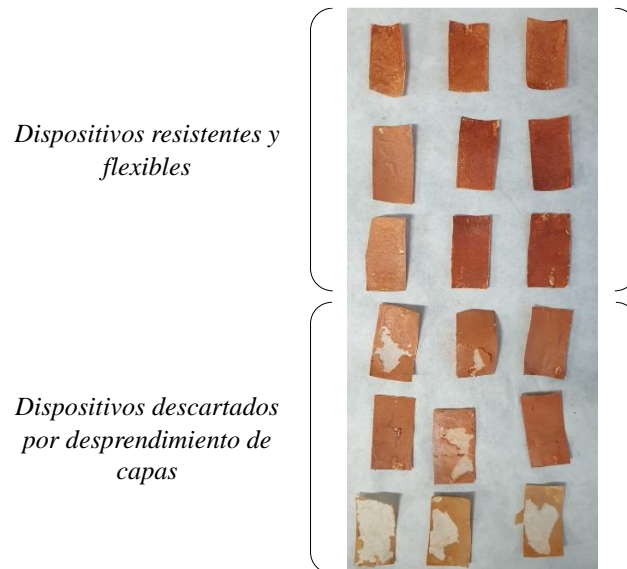
Para la preparación de los dispositivos de película delgada basados en MOFs, fue necesario sintetizar y caracterizar el MOF MIL-100(Fe), mediante difracción de rayos X en polvo (PDRX). La comparación del patrón de difracción del MOF experimental y teórico mostrados en la **Figura 16** muestra que el producto obtenido corresponde al MIL-100(Fe).



**Figura 16.** Patrones de difracción de rayos X en polvo del MIL-100(Fe): experimental y teórico

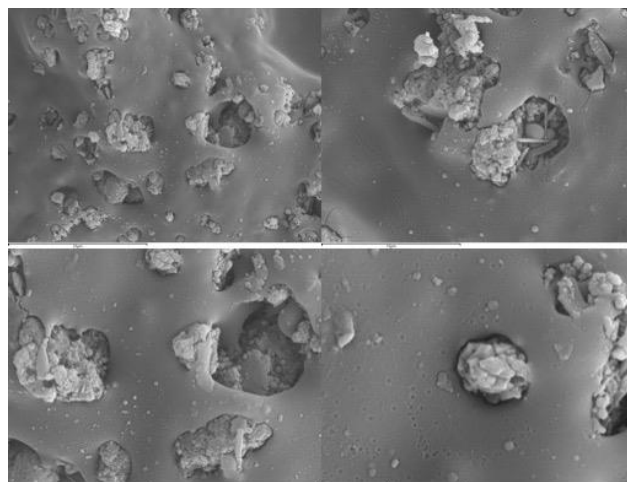
Una vez sintetizado y caracterizado el MOF, se prepararon los dispositivos *thin-film* basados en MOFs siguiendo el procedimiento descrito en la *Sección 3.1.2.*, que, de un modo genérico, implican la preparación de una suspensión del MOF en un polímero como aglutinante y con ayuda de un disolvente para la deposición en papel. Las condiciones óptimas para obtener las *thin-film* se basaron en estudios previos realizados por el grupo de investigación, e implicaron el uso de 0,2 g de PS, un 30 % en carga de MOF en el polímero y 10 mL de cloroformo como disolvente.

Una vez preparadas las *films*, se comprobó el correcto anclaje del composite PS@MIL-100(Fe) sometiendo las membranas a un test de estabilidad. En la **Figura 17** se puede observar como el procedimiento de preparación de la *thin-films* es un punto crítico. Por ello, en estudio anteriores se optimizaron las condiciones para la obtención de dispositivos uniformes, reproducibles y resistentes.



**Figura 17.** Aspecto de los dispositivos óptimos después de las pruebas de resistencia vs dispositivos no óptimos con desprendimiento de membrana e imperfecciones

En la **Figura 18** se muestra una imagen SEM del dispositivo, donde se puede comprobar la correcta deposición del material sobre la superficie de celulosa, y el gran poder aglutinante que tiene el PS sobre el MIL-100(Fe).



**Figura 18.** Imágenes SEM de un dispositivos *thin-film* basado en el MIL-100(Fe)

### 4.3 Optimización del procedimiento de microextracción

Para llevar a cabo la optimización de las condiciones de microextracción, se han empleado el factor de enriquecimiento ( $E_F$ ) y el factor de recuperación ( $E_R$ ) como herramientas de evaluación de la efectividad.

El  $E_F$  hace referencia a la capacidad de preconcentración o enriquecimiento, en términos de sensibilidad analítica, de la técnica de microextracción. Este se calcula siguiendo la *Ecuación (4)* y por tanto requiere determinar / conocer la concentración final ( $C_f$ ) y la concentración inicial ( $C_i$ ) del analito. El valor máximo que puede tomar el  $E_F$  viene determinado por el  $E_{F\text{máximo}}$  y para calcularlo se necesita conocer el  $V_i$  y el  $V_f$ , tal como se recoge en la *Ecuación (5)*, asumiendo un 100% de eficacia extractiva (todos los moles iniciales de analito se consiguen extraer).

$$E_F = \frac{[C_f]}{[C_i]} \rightarrow \frac{\left[ \frac{\text{moles}_f}{V_f} \right]}{\left[ \frac{\text{moles}_i}{V_i} \right]} \rightarrow \text{moles}_f = \text{moles}_i \quad (4)$$

$$E_{F\text{máximo}} = \frac{V_i}{V_f} \quad (5)$$

Por otra parte, el  $E_R$  o eficacia de extracción se puede calcular mediante la *Ecuación (6)* y determina, en porcentaje, cuánto se ha logrado preconcentrar con respecto al máximo posible o, en otras palabras, la eficacia de extracción.

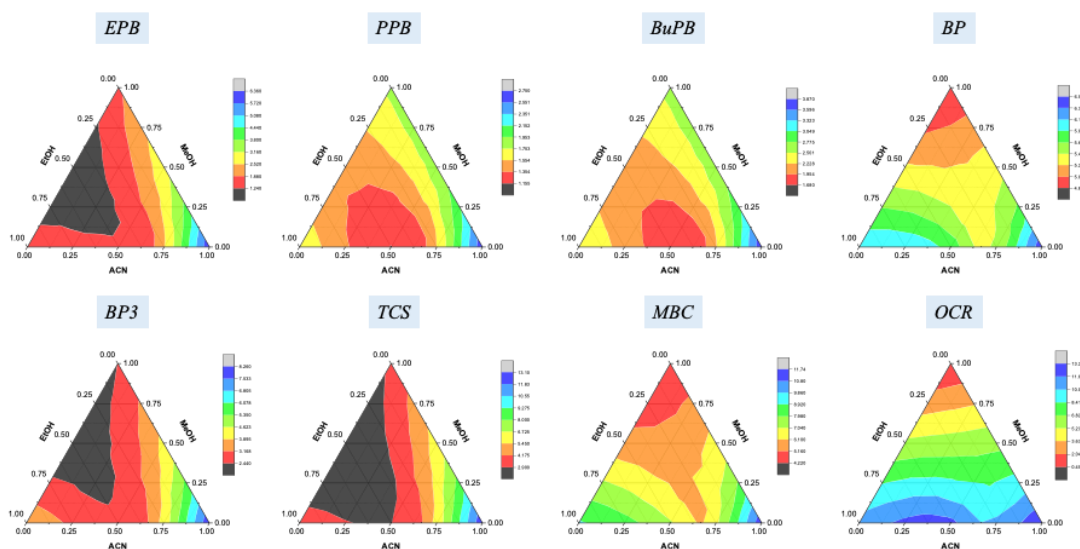
$$E_R(\%) = \frac{E_F}{E_{F\text{máximo}}} \cdot 100 \quad (6)$$

#### 4.3.1 Selección del disolvente de desorción

Uno de los parámetros más importantes a estudiar en la TF-SPME, y particularmente cuando se emplean MOFs como material extractante, es el tipo de disolvente de desorción. Si se emplea un material con una fuerte interacción con el analito objeto de estudio, es importante encontrar un disolvente que, posteriormente, sea capaz de romper esta afinidad, para así conseguir liberar al analito para su posterior determinación analítica y, asimismo, permitir que el MOF quede libre para poder ser reutilizado sin efecto memoria. En este sentido, para poder tener una buena desorción, los analitos deben tener mayor afinidad por el disolvente seleccionado que por el material extractante. Para seleccionar el disolvente de desorción, se realizó un estudio del  $E_F$  y  $E_R$  utilizando

diferentes disolventes orgánicos como disolventes de desorción: ACN, MeOH y EtOH. También se utilizaron mezclas de los mismos, concretamente mezclas de ACN-EtOH (1:1) y ACN-EtOH (3:1).

La **Tabla 5** muestra los resultados obtenidos para este estudio. Además, en aras de obtener más información a partir de los experimentos, se representaron los resultados en un diagrama trigonal con contorno. Como se puede observar en la **Figura 19**, los peores  $E_F$  se encuentran para el caso del PPB, con valores menores de 1,24 en la zona central izquierda del diagrama ternario. En cambio, los mejores resultados corresponden, para todos los analitos con un 100 % de ACN, teniendo unos  $E_F$  desde 2,7 para el PPB hasta 13,2 para el OCR. Por este motivo, para las siguientes experiencias se selecciona ACN como disolvente de desorción.



**Figura 19.** Estudio de la naturaleza del disolvente de desorción mediante la representación de diagramas ternarios, tomando como respuesta el factor de enriquecimiento ( $E_F$ )

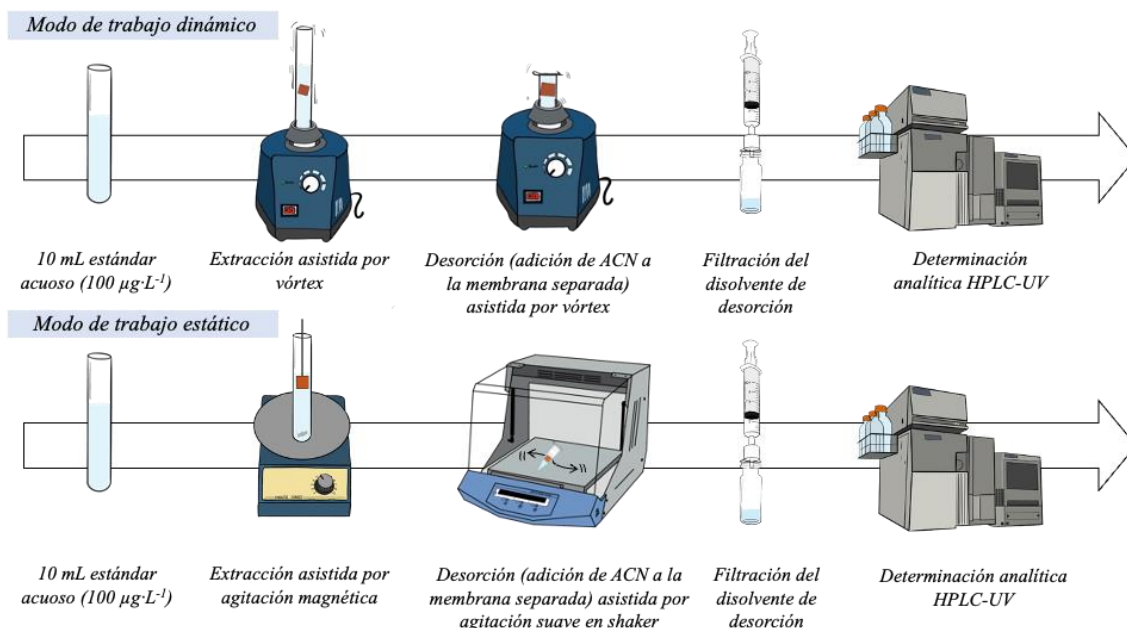
#### 4.3.2 Procedimiento de extracción

Con el objetivo de mejorar las eficacias extractivas se estudiaron diferentes métodos de extracción: *i*) extracción asistida por vórtex seguido de desorción asistida por vórtex y *ii*) extracción con agitación magnética seguido de desorción con agitación suave en *shaker*. La **Figura 20** muestra un esquema de los modos de extracción ensayados.

**Tabla 5.** Factor de enriquecimiento ( $E_F$ ) y de recuperación ( $E_R$ ) mediante TF-SPME según el tipo de disolvente de desorción (puros o mezclas)

Análito	ACN		MeOH		EtOH		ACN:EtOH 1:1		ACN:EtOH 3:1	
	$E_F$	$E_R$ (%)	$E_F$	$E_R$ (%)	$E_F$	$E_R$ (%)	$E_F$	$E_R$ (%)	$E_F$	$E_R$ (%)
EPB	6,4	21,0	1,8	5,8	1,6	5,2	1,4	4,7	1,2	4,1
PPB	2,7	9,1	1,8	6,0	1,7	5,7	1,2	3,8	1,2	3,9
BuPB	3,9	12,8	2,6	8,5	2,5	8,3	1,8	6,0	1,7	5,6
BP	6,6	21,6	4,8	15,9	6,1	20,0	5,9	19,6	5,2	17,2
BP3	8,2	27,2	2,4	8,1	3,7	12,4	2,7	8,8	2,9	9,7
TCS	13,1	43,2	3,2	10,5	3,6	11,8	2,9	9,6	3,7	12,2
MBC	11,7	38,7	4,2	13,9	9,1	29,9	7,4	24,6	5,3	17,6
OCR	13,2	43,5	0,5	1,5	10,6	35,1	12,6	41,4	9,4	31,0





**Figura 20.** Procedimiento de TF-SPME en los diferentes modos de trabajo

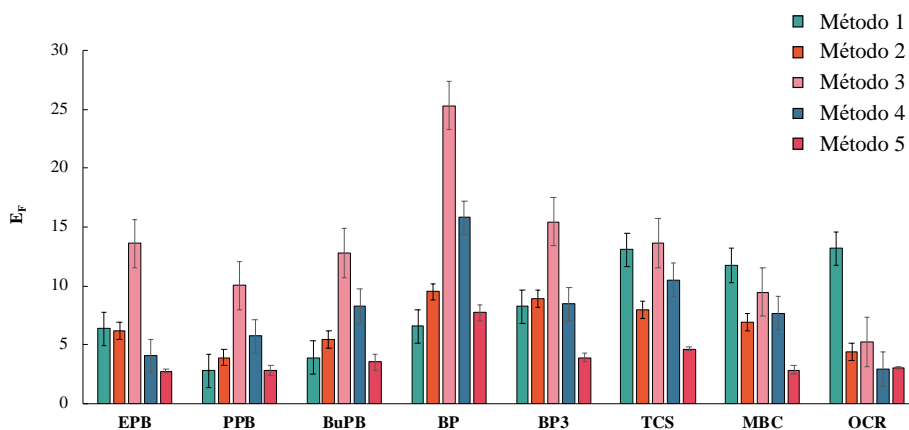
Todos estos estudios se realizaron con un estándar acuoso de 10 mL con una concentración de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  para todos PCPs y se sumergió el dispositivo (dimensiones de la membrana  $1,5 \times 2,5$  cm) previamente preparado en este estándar acuoso. Dependiendo del modo de microextracción, se sometía a agitación asistida por vórtex o se suspendía de manera estática y se agitaba mediante una placa agitadora. Una vez finalizado el tiempo, se llevó a cabo la desorción de los analitos. Para ello, el dispositivo se introdujo en un *eppendorf* con  $150 \mu\text{L}$  de ACN y se aplicó agitación por vórtex o suave, dependiendo una vez más del experimento concreto.

En este desarrollo, se estudiaron un total de 5 métodos de extracción combinando extracciones y desorciones estáticas y dinámicas. Se variaron los tiempos de extracción desde 5 hasta 60 minutos y los de desorción desde 5 hasta 40 minutos (**Tabla 6**). Como se puede observar en la **Figura 21**, los mejores  $E_F$  se alcanzaron con el *Método 3 de extracción*, con valores de preconcentración desde 5,2 para el OCR hasta 25,4 para la BP. Sin embargo, este es el método de extracción que conlleva más tiempo, con un total de 90 min, siendo un tiempo excesivo para una técnica de microextracción, ya que se busca la mayor rapidez posible sin comprometer buenos resultados.

**Tabla 6.** Condiciones de extracción y desorción de los 5 métodos de extracción-desorción en estudio

Método	Modo de extracción	Tiempo de extracción (min)	Modo de desorción	Tiempo de desorción (min)
1	dispersivo	5	dispersivo	5
2	estático	60	dispersivo	5
3	estático	60	estático	30
4	dispersivo	15	dispersivo	15
5	estático	30	estático	40

Por este motivo, se optó por encontrar los mejores resultados en el menor tiempo posible. En la **Figura 21** se puede observar que los resultados obtenidos para los *Métodos de extracción 1, 2 y 4* son muy similares, por lo que se optó por el procedimiento de extracción 4 ya que es más simple, y combina adecuadamente preconcentración y tiempos razonables.



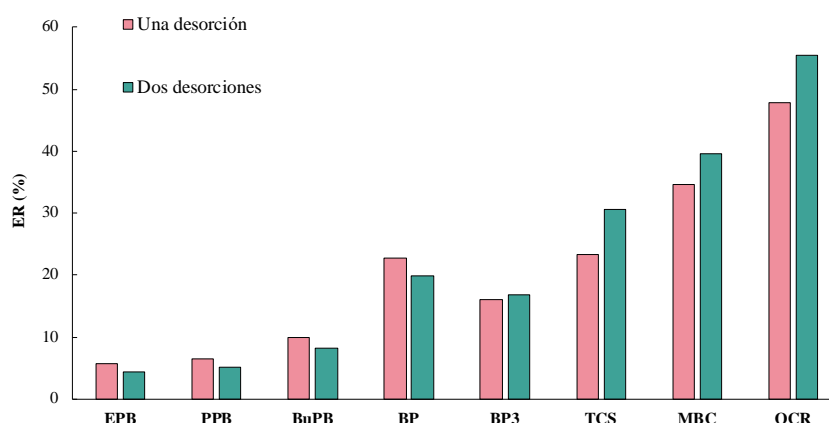
**Figura 21.** Estudio del mejor modo de extracción, evaluando el  $E_F$  alcanzando con el método para los analitos en los 5 modos de extracción. Todos los experimentos se realizaron por triplicado

#### 4.3.3 Número de desorciones

El efecto memoria o *carry over* es de enorme importancia en las técnicas de microextracción, y debe ser prácticamente nulo para asegurar una posible reusabilidad de

los dispositivos preparados sin distorsionar los resultados obtenidos. Por este motivo, se estudió el número de desorciones necesarias para la completa desorción de los analitos y que las membranas queden libres de los mismos.

Para ello, se realizaron dos estudios diferentes, uno empleando como desorción 150  $\mu\text{L}$  de ACN y otro empleando dos desorciones consecutivas con 150  $\mu\text{L}$  de ACN trasladando el dispositivo a otro *ependorf* teniendo un volumen final de 300  $\mu\text{L}$ . Estos dos extractos se inyectaron en el HPLC y se compararon sus  $E_R$ , y no otro tipo de herramienta, para evitar errores derivados de la diferente sensibilidad por la dilución (doble) que tiene lugar en el estudio de las desorciones consecutivas. Ambos experimentos se realizaron manteniendo constantes las condiciones y modos de extracción y desorción, de modo que la única variable diferente fuera el volumen de disolvente de desorción. Como se puede apreciar en la **Figura 22**, los resultados con una y con dos extracciones dan resultados muy similares, siendo la mayor diferencia para el OCR con un 7 % de mejora respecto a una desorción. Por este motivo, se considera como óptimo con menor cantidad de disolvente, utilizando 150  $\mu\text{L}$  en lugar de 300  $\mu\text{L}$ . Se realizó un estudio, a modo de blanco, tras efectuar una desorción con 150  $\mu\text{L}$  de ACN, y no se detectaron analitos, por lo que puede considerarse como prácticamente nulo el posible efecto memoria.

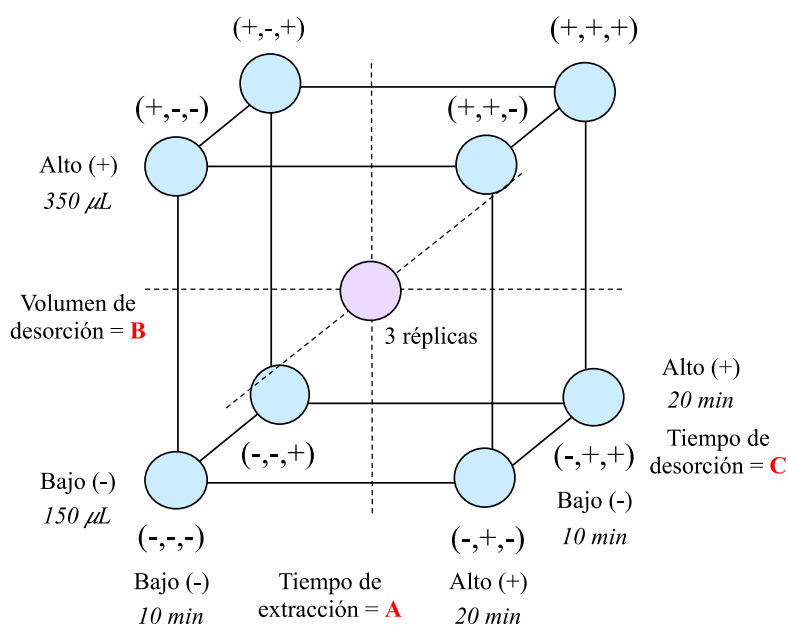


**Figura 22.** Estudio del efecto del número de desorciones en TF-SPME

#### 4.4 Optimización mediante diseño experimental

Para la optimización del resto de variables que pueden influir en la eficacia de extracción en TF-SPME, se aplicó un diseño experimental utilizando superficies de respuesta. Entre estas variables se incluyen el tiempo de extracción, el volumen de desorción en una etapa única y el tiempo de desorción. El diseño experimental es un método, que mediante la introducción de cambios deliberados en las diferentes variables, permite identificar aquellas que originan los mayores cambios en las respuestas, y por tanto pueden seleccionarse dada su mayor influencia.

En el presente trabajo se ha utilizado un diseño de  $2^3$  con dos niveles (alto y bajo) y 3 factores: tiempo de extracción, volumen de desorción y tiempo de desorción. La **Figura 23** muestra las combinaciones resultantes de los niveles y las variables, que pueden ser representadas gráficamente como un cubo.



**Figura 23.** Diseño experimental  $2^3$  con 3 réplicas en el centroide

Además, se añadieron tres réplicas del centroide, obteniendo así un total de 11 experiencias diferentes, recogidas en la **Tabla 7**.

Con el objetivo de tener mayor conocimiento de nuestro modelo, se llevó a cabo el análisis de datos tanto para los  $E_{Fs}$  y  $E_{Rs}$  de todos los analitos, obteniendo las tablas de Pareto, las superficies de respuesta, y, con estos resultados, las condiciones óptimas para cada uno.

**Tabla 7.** Matriz del diseño experimental con las 11 experiencias, y las condiciones concretas dictadas para el tiempo de extracción, volumen de desorción (utilizando ACN) y tiempo de desorción, y haciendo uso de los modos de extracción y desorción anteriormente seleccionados

<b>Experiencia</b>	<b>Tiempo de extracción (min)</b>	<b>Volumen de desorción (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Tiempo de desorción (min)</b>
1	10	150	10
2	10	350	10
3	10	150	20
4	10	350	20
5	20	150	10
6	20	150	20
7	20	350	10
8	20	350	20
9	15	250	15
10	15	250	15
11	15	250	15

Las tablas de Pareto muestran, mediante un estudio estadístico t y el rechazo o aceptación de la hipótesis nula ( $H_0$ ), si los efectos de las diferentes variables en estudio son o no significativos. Con esto, se consigue conocer qué variables son importantes y si existe o no interacción entre ellas. Además, el software *Statgraphics* nos proporciona las condiciones de trabajo óptimas y las superficies de respuestas necesarias para refinar el modelo en estudio mediante un modelo empírico.

En esta sección se discuten las tablas de Pareto, condiciones óptimas y superficies de respuestas atendiendo a la totalidad de los analitos, seguido de un estudio más individualizado por grupos de familias.

#### 4.4.1 Estudio considerando el conjunto de PCPs

En primer lugar, se estudió la contribución (significativa, +, no significativa, -) de cada una de las variables estudiadas (tiempo de extracción, volumen de desorción y tiempo de desorción) en función del analito.

La **Tabla 8** recoge las contribuciones positivas y negativas de cada una de las variables en función del analito en estudio. En ella, se puede observar cómo no existe ninguna variable que tenga una influencia negativa en todos los analitos, siendo la que tiene menor importancia el volumen de desorción, ya que tiene efectos significativos únicamente para el BuPB, BP y MBC. Por otra parte, la variable más influyente es el tiempo de desorción, siendo determinante para todos los analitos menos para la BP. Además, en la **Tabla 8** también se recogen las posibles interacciones entre las diferentes variables del diseño, observando como existe o no interacción dependiendo del analito.

**Tabla 8.** Tabla Pareto con los efectos significativos (+) o no significativos (-) de las diferentes variables en estudio obteniendo como variable respuesta el factor de enriquecimiento ( $E_F$ )

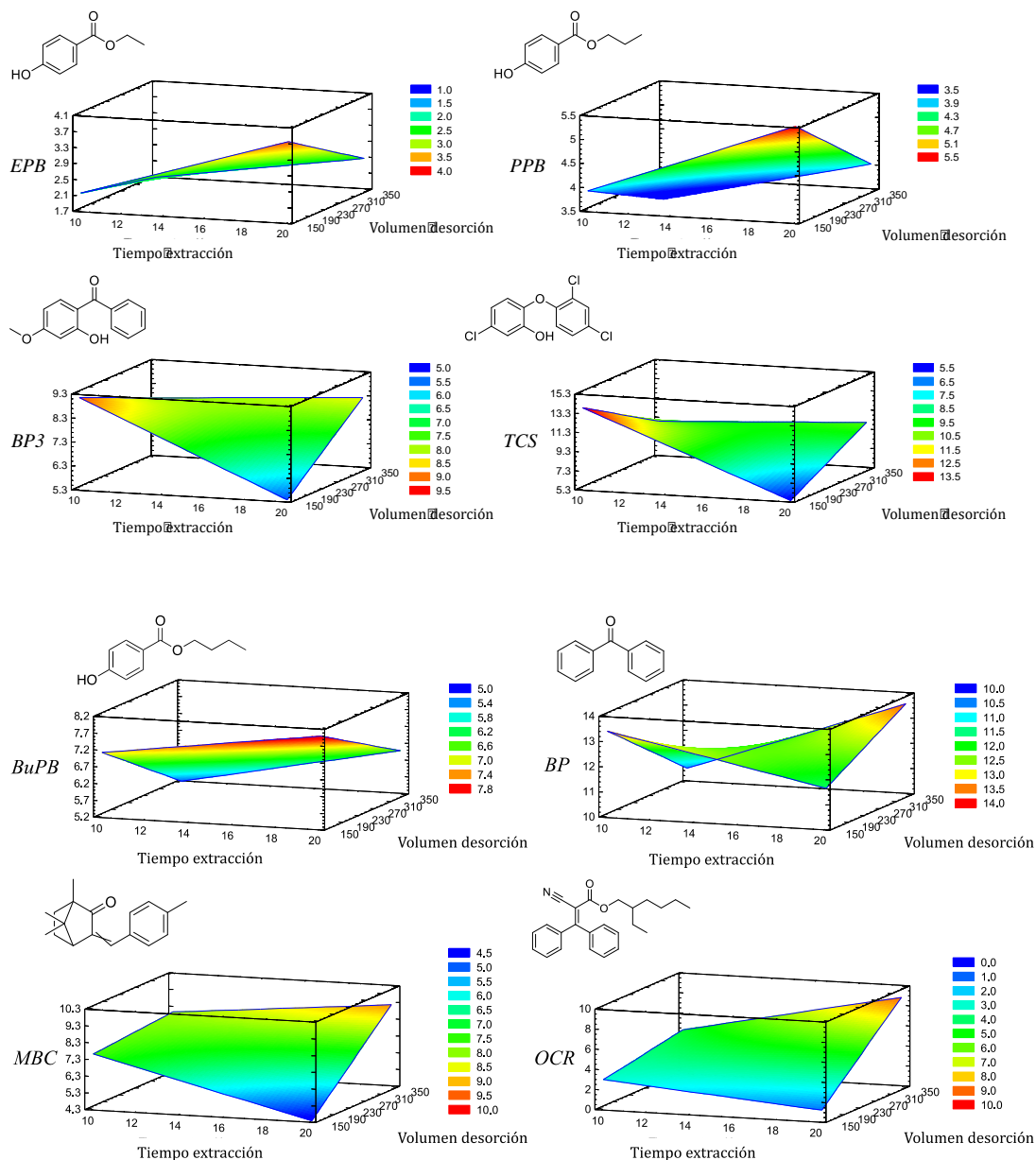
PCP	Tiempo de extracción (A)	Volumen de desorción (B)	Tiempo de desorción (C)	AB	AC	BC
EPB	+	-	+	-	+	-
PPB	+	-	+	-	+	-
BuPB	-	+	+	-	+	+
BP	+	+	-	+	+	-
BP3	+	-	+	-	+	+
TCS	+	-	+	+	-	-
MBC	-	+	+	+	-	-
OCR	+	-	+	-	+	-

En cuanto a la respuesta en función del  $E_R$  recogidos en la **Tabla 9**, la variable que más contribuye es el tiempo de extracción, siendo significativa en todos los analitos. Al contrario que lo observado para el  $E_F$ , el volumen de desorción sería una variable con menor importancia, ya que solo afecta de forma significativa al BuPB, BP y BP3. De esta manera y solo discutiendo las tablas de Pareto, se pueden observar las notables diferencias de los resultados en función de la variable respuesta seleccionada, abriendo un futuro debate entre si se quieren obtener unas buenas preconcentraciones o eficacias de extracción.

**Tabla 9.** Tabla de Pareto con los efectos significativos (+) o no significativos (-) de las diferentes variables en estudio obteniendo como variable respuesta el factor de enriquecimiento ( $E_R$ )

PCP	Tiempo de extracción (A)	Volumen de desorción (B)	Tiempo de desorción (C)	AB	AC	BC
EPB	+	+	+	+	+	+
PPB	+	+	+	+	+	+
BuB	+	+	+	+	+	+
BP	+	+	+	+	+	+
BP3	+	+	+	-	-	+
TCS	+	+	-	+	+	-
MBC	+	-	+	+	-	-
OCR	+	-	+	-	-	+

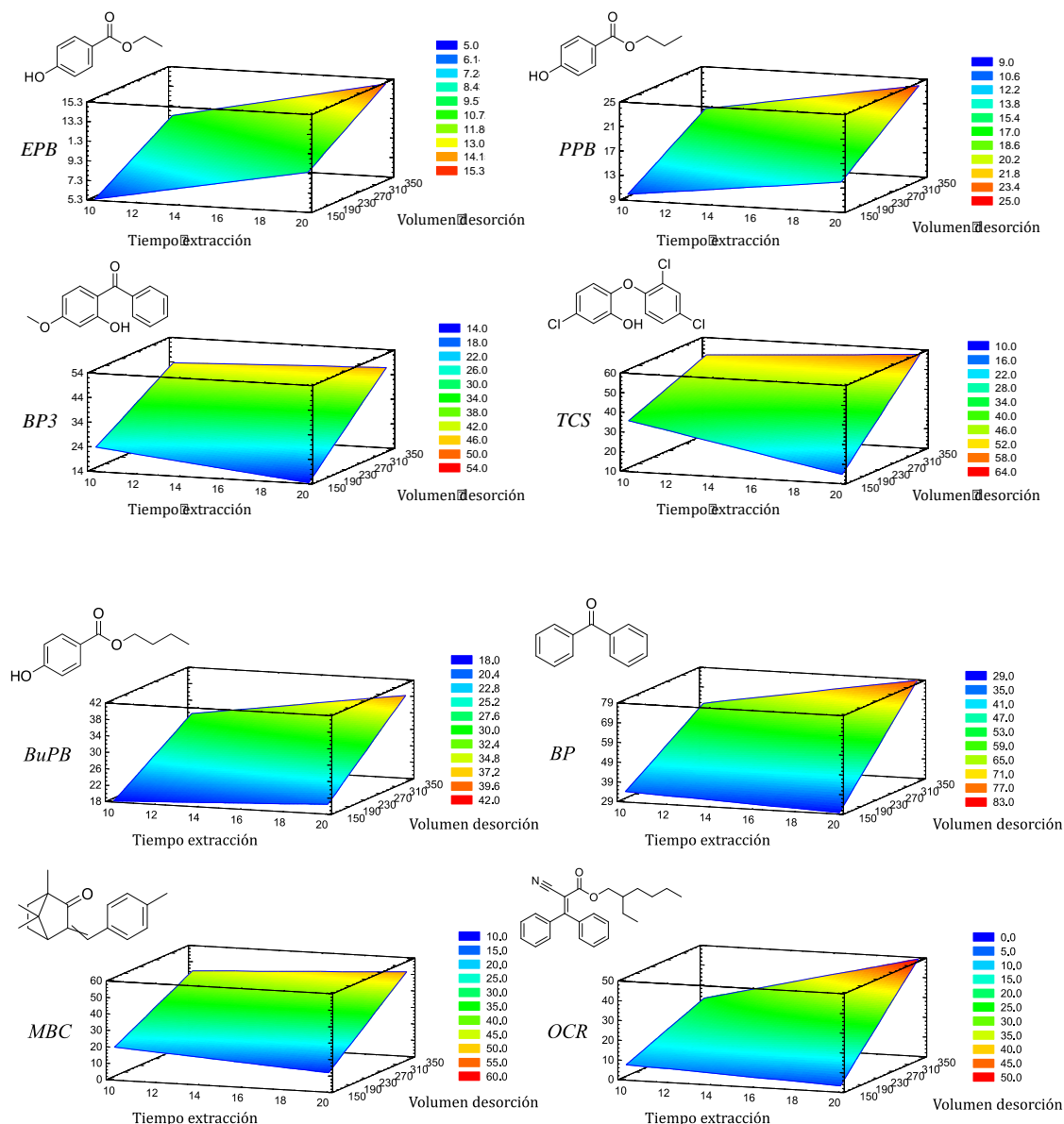
A continuación, se estudiaron las superficies de respuesta y las condiciones óptimas de los 8 PCPs. En la **Figura 24** se observan diferencias en las superficies de respuesta en función de la naturaleza de los analitos. Así, por ejemplo, para EPB, PPB, BuPB y OCR, el tiempo de extracción óptimo es de 20 min, al contrario que para BP, BP3, TCS y MBC, que es de 10 min.



**Figura 24.** Superficies de respuesta de los 8 PCPs en estudios tomando como variable el  $E_F$

Sin embargo, y como se puede observar en la **Figura 25**, las condiciones óptimas utilizando como variable de respuesta el  $E_R$  son completamente diferentes de las correspondientes a las obtenidas con  $E_F$ . Un ejemplo es el volumen óptimo de desorción, utilizando como respuesta  $E_F$  este volumen óptimo es de 150  $\mu\text{L}$  para la mayoría de los analitos y si se utiliza como respuesta el  $E_R$  este volumen pasa a ser de 350  $\mu\text{L}$ .





**Figura 25.** Superficies de respuesta de los 8 PCPs en estudios tomando como variable el ER

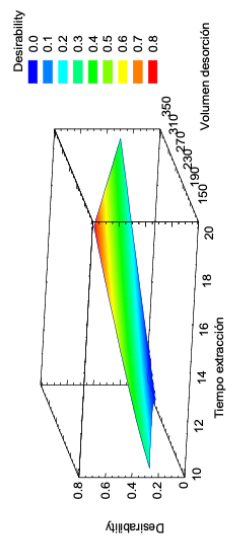
#### 4.4.2 Estudio considerando las familias de PCPs

Con objeto de solventar las grandes diferencias que existen entre todos los analitos en términos de condiciones óptimas, se plantea un estudio por familias de los diferentes PCPs recogiendo la respuesta multivariante de los conservantes (EPB, PPB, BuPB), filtros UV (BP, BP3, OCR, MBC) y desinfectante (TCS). En la **Figura 26** se recogen las diferentes superficies de respuesta junto a las condiciones óptimas, donde se puede observar que para todos los casos el tiempo de desorción óptimo se encuentra en 20 min, aproximadamente.

**Respuesta:  $E_F$**

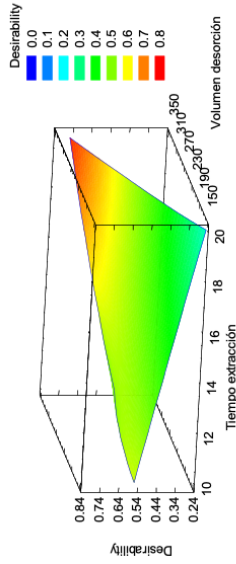
**Conservantes**

Tiempo de extracción 20 min  
 Volumen de desorción 150  $\mu\text{L}$   
 Tiempo de desorción 20 min



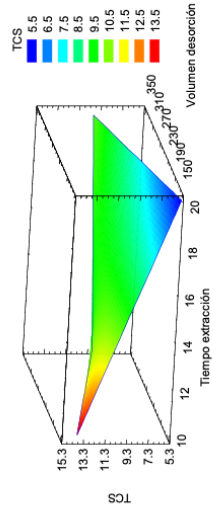
**Filtros UV**

Tiempo de extracción 10 min  
 Volumen de desorción 350  $\mu\text{L}$   
 Tiempo de desorción 20 min



**Desinfectante**

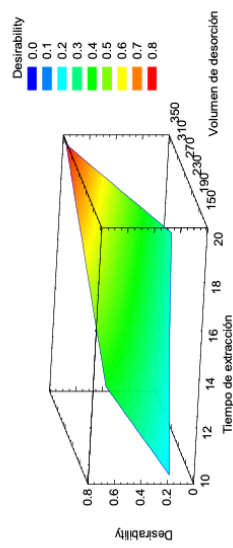
Tiempo de extracción 10 min  
 Volumen de desorción 150  $\mu\text{L}$   
 Tiempo de desorción 18 min



**Respuesta:  $E_R$**

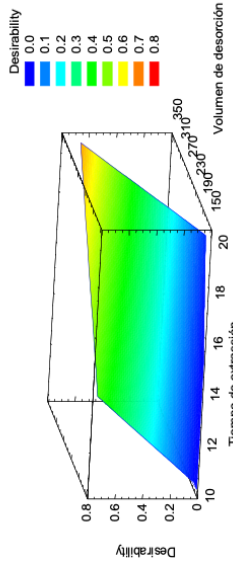
**Conservantes**

Tiempo de extracción 20 min  
 Volumen de desorción 350  $\mu\text{L}$   
 Tiempo de desorción 20 min



**Filtros UV**

Tiempo de extracción 10 min  
 Volumen de desorción 350  $\mu\text{L}$   
 Tiempo de desorción 20 min



**Desinfectante**

Tiempo de extracción 20 min  
 Volumen de desorción 350  $\mu\text{L}$   
 Tiempo de desorción 20 min

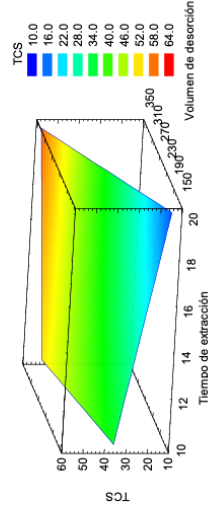


Figura 26. Condiciones óptimas por familias

Las respuestas en función del  $E_F$  muestran la diferencia entre las familias en estudio. Así, para los filtros UV y el desinfectante, el tiempo de extracción necesario es de 10 min, mientras que para los conservantes es de 20 min. En cuanto el volumen de desorción, el volumen óptimo para los conservantes y el desinfectante es de 150  $\mu\text{L}$  mientras que para los filtros UV es 350  $\mu\text{L}$ .

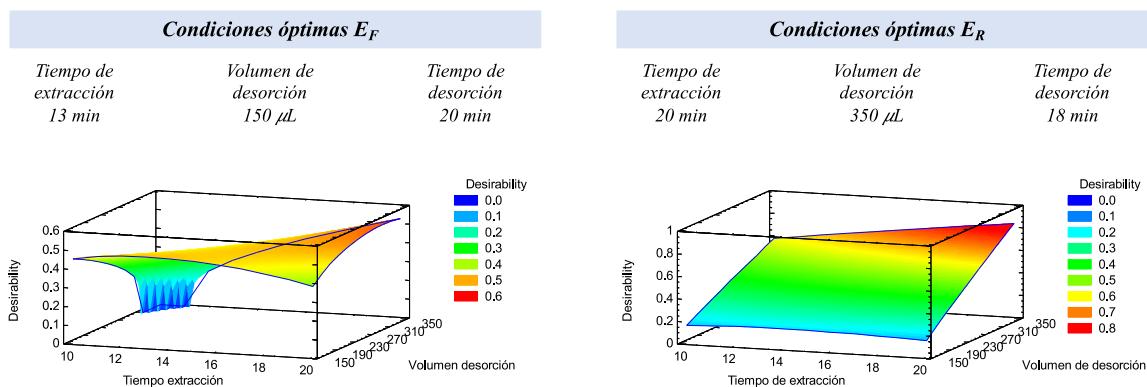
Para el estudio de la respuesta en función del  $E_R$ , se observa mucha más uniformidad. Siendo la única diferencia en el tiempo de extracción de 10 min para los filtros UV.

Todo esto pone de manifiesto cómo, dependiendo de la estructura de los analitos, la respuesta óptima va a ser completamente diferente. En el caso de los 8 PCPs en estudio, los conservantes constan de estructuras mucho más simples, con cadenas de hidrocarburos alifáticos y grupos hidroxilos, a diferencia de los filtros UV que tienen muchos más anillos bencénicos y el desinfectante que contiene grupos cloruros.

#### 4.4.3 Estudio global del diseño

Para determinar las condiciones óptimas globales, es necesario realizar una respuesta multivariante de los 8 PCPs en estudio, obteniendo así las superficies de respuestas ilustradas en la **Figura 27**. En ellas, se puede observar la gran importancia que tiene la elección de la variable respuesta, ya que los resultados pueden ser totalmente diferentes. En cuanto a la optimización utilizando como variable respuesta el  $E_F$ , las condiciones óptimas son 13 min de extracción, 150  $\mu\text{L}$  de volumen de desorción y 20 min de tiempo de desorción. Esto va en consonancia con la definición del  $E_F$  de la *Ecuación (4)*, ya que a mayor volumen final se obtienen menores preconcentraciones, porque son parámetros inversamente proporcionales.

Con respecto a la optimización en función del  $E_R$ , se puede observar cómo este parámetro toma valores completamente diferentes a los correspondientes al  $E_F$  anteriormente descrito. Con un tiempo de extracción óptimo de 20 min, un volumen de desorción de 350  $\mu\text{L}$  y un tiempo de desorción de 18 min (**Figura 27**), viéndose reflejado como a mayor volumen de desorción mejores resultados, al igual que a mayores tiempos de extracción y desorción.



**Figura 27.** Condiciones óptimas obtenidas aplicando un diseño experimental  $2^3$  tomando como variable respuesta el factor de enriquecimiento ( $E_F$ ) y las recuperaciones ( $E_R$ )

Una vez obtenidos los resultados anteriores, es necesario plantear el futuro enfoque del procedimiento de TF-SPME-HPLC-PDA. Para ello, es necesario decidir si se quieren alcanzar buenas eficacias extractivas o buenas preconcentraciones, ya que son factores con respuestas opuestas pero que, en cierta manera, pueden llegar a ser complementarias. Para ello, se tomaron las dos experiencias del diseño experimental que más se asemejaban a las dos condiciones óptimas y se compararon sus  $E_F$  y  $E_R$ . En la **Tabla 10** puede observarse como los valores de  $E_F$  en ambos casos son muy similares siendo sus promedios de 8,60 y 7,61. Sin embargo, para el caso de las recuperaciones, las condiciones que son más parecidas a la óptima tomando como variable respuesta el  $E_F$  tienen recuperaciones menores que para las condiciones óptimas teniendo como respuesta los  $E_R$ , con resultados de casi el doble, manteniendo en cierta medida las preconcentraciones con un tiempo de extracción de 20 min, un volumen de 350  $\mu\text{L}$  y 20 min de tiempo de desorción.

Por este motivo, se consideran como condiciones óptimas para el método, las obtenidas a partir de la respuesta de la variable  $E_R$ . Es decir, 20 min de tiempo de extracción, 350  $\mu\text{L}$  de volumen de desorción y 18 min de tiempo de desorción, y son las que se emplearán en futuros estudios de validación metodológica en este método propuesto TFME-HPLC-PDA para la determinación de 8 PCPs.

**Tabla 10.** Factor de enriquecimiento ( $E_F$ ) y recuperaciones ( $E_R$ ) de las dos experiencias del diseño experimental que más se asemejan a las condiciones óptimas finales

PCP	$E_F^a$	$E_R$ (%) <sup>a</sup>	$E_F^b$	$E_R$ (%) <sup>b</sup>
EPB	2,6	6,5	3,0	17,7
PPB	4,7	11,9	4,9	28,7
BuPB	8,5	21,4	7,5	44,2
BP	15,7	39,2	15,3	89,1
BP3	9,8	24,6	8,0	46,9
TCS	13,6	34,0	10,1	59,2
MBC	9,2	23,1	7,9	46,4
OCR	4,4	11,0	3,8	22,2

<sup>a</sup>Experiencia con condiciones próximas a  $E_F$  óptimo: *i*) tiempo de extracción: 10 min *ii*) volumen de desorción: 150  $\mu$ L *iii*) tiempo de desorción: 20 min

<sup>b</sup>Experiencia con condiciones próximas al  $E_R$  óptimo: *i*) tiempo de extracción: 20 min *ii*) volumen de desorción: 350  $\mu$ L *iii*) tiempo de desorción: 20 min



## 5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

---

A partir de los resultados experimentales obtenidos en este Trabajo de Fin de Máster se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- Se ha logrado separar con éxito 8 de los PCPs propuestos, entre los cuales se encuentran analitos representativos de las distintas familias de interés. Asimismo, se consiguieron mejoras sustanciales en la resolución de los picos cromatográficos mediante el empleo de estándares acuosos con un 40 % en agua y un 60% en acetonitrilo.
- Se ha validado con éxito un método cromatográfico para la determinación de PCPs mediante un HPLC-PDA con adecuados parámetros de calidad analítica, incluyendo buena reproducibilidad y bajos límites de detección.
- Ha resultado exitosa la preparación de los dispositivos *thin-film*, con características de reproducibilidad y de estabilidad, haciendo uso de 0,2 g de PS, 30 % en carga de MOF y 10 mL de cloroformo sobre soportes de celulosa con tamaño de 1,5 × 2,5 cm, caracterizando con éxito la presencia del MOF MIL-100(Fe) en tales dispositivos mediante PDRX, asegurándose asimismo la correcta deposición del composite PS@MIL-100(Fe) sobre el soporte de celulosa, evidenciada mediante imágenes SEM del dispositivo que confirmaron
- El uso de los dispositivos con el composite se evaluó en profundidad en TF-SPME utilizando diferentes modos de extracción, seleccionándose finalmente la extracción y desorción asistida porque aportaba mayor sencillez y buenos resultados en un tiempo aceptable.
- El dispositivo TF-SPME demostró su capacidad para ser reutilizado con una sola etapa de lavado.
- Se aplicó con éxito un diseño experimental de tres factores (2<sup>3</sup>) para la optimización de las condiciones de extracción en TF-SPME con los dispositivos, seleccionándose 20 min de tiempo de extracción, 350 µL de volumen de desorción y 18 min de tiempo de desorción cuando se toma como variable respuesta el E<sub>R</sub> y considerando el conjunto de analitos en total.
- Es posible seleccionar condiciones dirigidas para familias concretas del grupo de productos de cuidado personal seleccionado, y atendiendo a parámetros de

respuesta no solo relacionados con la eficacia de extracción sino con la sensibilidad final que se puede alcanzar.

De un modo general, se puede concluir que se ha desarrollado con éxito un dispositivo *thin-film* basado en un nuevo material como es el MIL-100(Fe), mediante el desarrollo de un composite denotado como PS@MIL-100(Fe) y en un soporte sencillo de celulosa, fácilmente integrable en un procedimiento de TF-SPME. Además, se han determinado las condiciones óptimas del procedimiento de microextracción mediante la aplicación de un diseño experimental. En este sentido, resulta de gran interés resaltar los siguientes aspectos de cara a posibles líneas de trabajo futuras:

- Necesidad de validar el procedimiento total mediante el empleo del dispositivo *thin-film* (TF-SPME-HPLC-PDA) con las condiciones óptimas ya seleccionadas.
- Evaluar la necesidad de realizar un calibrado en la muestra para el estudio del posible efecto matriz cuando se utilizan muestras reales
- Aplicar el dispositivo *thin-film* siguiendo el procedimiento de TF-SPME-HPLC-PDA a un alto número de muestras reales de diferente índole como puede ser agua de consumo, orina o aguas micelares.



## ***ABREVIATURAS***

ACN	Acetonitrilo
arrow SPME	Microextracción en punta de flecha
BP	Benzofenona
BP3	Benzofenona 3
BuPB	Butilparabeno
BzPB	Benzilparabeno
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Center
CNTs	Nanotubos de carbono
COFs	Redes orgánicas covalentes
DI-SPME	Microextracción en fase sólida en inmersión directa
$E_F$	Factor de enriquecimiento
$E_{F\text{máximo}}$	Factor de enriquecimiento máximo
EPB	Etilparabeno
$E_R$	Factor de recuperación
EtOH	Etanol
G	Grafeno
GAPI	Índice de procedimientos analíticos verdes
GO	Óxido de grafeno
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HS-SPME	Microextracción en fase sólida en espacio en cabeza
IsoPPB	Isopropilparabeno
LOD	Límite de detección

LOQ	Límite de cuantificación
MBC	Metilbenzacameno
MeOH	Metanol
MePB	Metilparabeno
MIPs	Polímeros de impronta molecular
MOFs	Redes metal-orgánicas
NEMI	Índice nacional de métodos medioambientales
OCR	Octocrileno
PCPs	Productos de cuidado personal
PDA	Detector de fotodiodos
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDRX	Difracción de rayos X en polvo
PPB	Propilparabeno
PS	Poliestireno
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
QAB	Química Analítica Blanca
QAV	Química Analítica Verde
r-GO	Óxido de grafeno reducido
RSD	Desviación estándar relativa
SBSE	Microextracción empleando barras agitadoras
SCSE	Microextracción en pastilla con agitación
SEGAI	Servicio General de Apoyo a la Investigación de la Universidad de La Laguna

SEM	Microscopio electrónico de barrido
SPE	Extracción en fase sólida
SPME	Microextracción en fase sólida
SPME in-tube	Microextracción en fase sólida en capilar
TCS	Triclosán
TF-SPME	Microextracción en película delgada
TMA	Ácido trimésico
$\mu$ -dSPE	Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva
$\mu$ -dSPE magnética	Extracción en fase sólida miniaturizada dispersiva asistida por imanes
$\mu$ -SPE	Extracción en fase sólida miniaturizada



## REFERENCIAS

- (1) Gutiérrez-Serpa, A.; González-Martín, R.; Sajid, M.; Pino, V. *Talanta* **2021**, *225*, 122053
- (2) I.C. Silvestre, C., L.M.; L.M. Santos, J.; L.F.C Lima, J.; A.G.Zagatto, E. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *652*, 54-65
- (3) Marie-Claire, H. *J.Chromatogr. A* **1999**, *856*, 3-54
- (4) Kumar Kailasa, S.; Reddy Koduru, J.; Jung Park; T.; Kumar Singhal, R.; Wu, H.; *Trends in Env. Anal. Chem.* **2021**, *29*, e00113
- (5) Rezaee, M.; Yamini, Y.; Faraji, M. *J.Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 2342-2357
- (6) Ghambarian, M.; Yamini, Y.; Esrafil, A. *Microchim. Acta* **2012**, *177*, 271-294
- (7) Kabir, A.; Locatelli, M.; Ulusoy, H.I. *Separations* **2017**, *4*, 36
- (8) Gałuszka, A; Migaszewski, Z.; Namiesnik, J. *Trends Anal. Chem.* **2013**, *50*, 78-84
- (9) Tobiszewski, M. *Anal. Methods* **2016**, *8*, 2993-2999
- (10) Nowak, P.M.; Wietecha-Posłuszny, R.; Janusz, P. *Trends Anal. Chem.* **2021**, *138*, 116223
- (11) Seidi, S.; Tajik, M.; Baharfar, M.; Rezazadeh, M. *Trends Anal. Chem.* **2019**, *118*, 810-827
- (12) Trujillo-Rodríguez, M.J.; Pacheco-Fernández, I.; Taima-Mancera, I.; Ayala Díaz, J.H.; Pino, V. *J.Chromatogr. A* **2020**, *1634*, 461670
- (13) Ghorbani, M.; Aghamohammadhassa, M.; Chamsaz, M.; Akhlaghi, H.; Pedramrad, T. *Trends Anal. Chem.* **2019**, *118*, 793-809
- (14) Wierucka, M.; Biziuk, M. *Trends Anal. Chem.* **2014**, *59*, 50-58
- (15) Arthur, C.L; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 2145-2148
- (16) Reyes-Garcés, N.; Gionfriddo, E.; Gómez-Ríos, G.A.; Alam, M.A.; Boyaci, E.; Bojko, B.; Singh, V.; Grandy, J.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 302-360

- 
- (17) Gutiérrez-Serpa, A.; Kundu, T.; Pasán, J.; Jiménez-Abizanda, A.I.; Kaskel, S.; Senkowska, I.; Pino, V. *Appl. Mater. Interfaces* **2022**, *14*, 4510-4521
- (18) Gutiérrez-Serpa, A.; Pacheco-Fernández, I.; Pasán, J.; Pino, V. *Separations* **2019**, *6*, 47
- (19) Emmons, R.V.; Tajali, R.; Gionfriddo, E. *Separations* **2019**, *6*, 39
- (20) Asatekin, A.; Gleason, K.K. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 677-686
- (21) Jiang, R.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 403-410
- (22) Chen, M.; Heijman, S.G.J.; Rietveld, L.C. *J. Membranes* **2021**, *11*, 888
- (23) Pawlowski, L. *Surface & Coatings Technology* **2009**, *203*, 2807-2829
- (24) Mavukkandy, M.O.; McBride, S.A.; Warsinger, D. M.; Dizge, N.; Hasan, S.W.; Arafat, H.A. *Journal of membrane science* **2020**, *610*, 118258
- (25) Bruheim, I.; Liu, X.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 1002-1010
- (26) Riazi Kermani, F.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 8990-8995
- (27) J. Grandy, J.; Boyaci, E.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 1760-1767
- (28) J. Grandy, J.; Singh, V.; Lashgari, M.; Gauthier, M.; Pawliszyn, J. *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 14072-14080
- (29) Mafra, G.; García-Valverde, M.T.; Millán-Santiago, J.; Carasek, E.; Lucena, R.; Cárdenas, S. *Separations* **2020**, *7*, 2
- (30) Soares Maciel, E.V.; de Toffoli, A.L.; Sobieski Neto, E.; Domingues Nazario, C.E.; Mauro Lanças, F. *Trends Anal. Chem.* **2019**, *119*, 115633
- (31) Qian, H.; Yang, C.; Wang, W.; Yang, C.; Yan, X.; *J.Chromatogr. A* **2018**, *1542*, 21-18
- (32) Wang, J.; Zhuang, S. *Coordination Chemistry Review* **2019**, *400*, 213046
- (33) D. Souza, I.; G.C. Oliveira, I.; C. Queiroz, M.E.; *Anal. Chim. Acta* **2021**, *1165*, 238110

- 
- (34) Gutiérrez-Serpa, A.; González-Martín, R.; Sajid, M.; Pino, V. *Talanta* **2021**, *225*, 122053
- (35) Grajek, H.; Jonik, J.; Witkiewicz, Z.; Wawer, T.; Purchała, M. *Critical Review in Anal. Chem.* **2020**, *50*, 445-471
- (36) Li, W.; Shi, Y. *Trends Anal. Chem.* **2019**, *118*, 652-665
- (37) Turiel, E.; Martín-Esteban, A. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *668*, 87-99
- (38) Rocío-Bautista, P.; Taima-Mancera, I.; Pasán, J.; Pino, V. *Separations* **2019**, *6*, 33
- (39) Ding, L.; Yazaydin, A.O. *Microporous and mesoporous materials* **2013**, *182*, 185-190
- (40) Howarth, A.J.; Peters, A.W.; Vermeulen, N.A.; Wang, T.C.; Hupp, J.C.; Farha, O.K. *Chem. Mater.* **2017**, *29*, 26-39
- (41) Rocío-Bautista, P.; Pino, V.; Ayala, J.H.; Ruiz-Pérez, C.; Vallcorba, O.; Afonso, A.M.; Pasán, J. *RSC Adv.* **2018**, *8*, 31304
- (42) Julien, P.A.; Mottillo, C.; Friščić, T. *Green Chem.* **2017**, *19*, 2729
- (43) Wang, D.; Song, Y.; Cai, J.; Wu, L.; Li, Z. *New J. Chem.* **2016**, *40*, 9170
- (44) Soury, S.; Firoozichahak, A.; Nematollahi, D.; Alizadeh, S.; Kakae, H.; Abbasi, A. *Microchem. Journal* **2021**, *171*, 106866
- (45) Abdelhai Senosy, I.; Zhang, X.; Lu, Z.; Guan, X.; Yang, Z.; Li, J.; Guo, H.; Mahmoud Abdelrahman, T.; Mmby, M.; Gbiliy, A. *Microchim. Acta* **2021**, *188*, 33
- (46) Saedi, N.; Bahrami, A.; Ghorbani Shahna, F.; Habibi Mohraz, M.; Farhadian, M.; Alizadeh, S. *Biomedical Chromatography* **2020**, *34*, e4800
- (47) Zhang, H.; Jieying, W.; Zhengji, L.; Fan, R.; Chen, Q.; Shan, X.; Jiang, C.; Sun, G. *New J. Chem.* **2020**, *44*, 1548
- (48) Lei, Y.; Chen, B.; You, L.; He, B.; Hu, B. *Talanta* **2017**, *115*, 158-167
- (49) Du, F.; Qin, Q.; Deng, J.; Ruan, G.; Yang, X.; Li, L.; Li, J. *J. Sep. Sci.* **2016**, *39*, 2356-2364

- 
- (50) Bai, Y.; Dou, Y.; Xie, L.; Rutledge, W.; Li, J.; Zhou, H. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 2327
- (51) Saoudi, S.; Sifaoui, I.; Chammem, N.; Reyes-Batlle, M.; López-Arencibia, A.; Pacheco-Fernández, I.; Pino, V.; Hamdi, M.; Jiménez, I.; Bazzocchi, I.; Piñero, J.; Lorenzo-Morales, J. *Experimental Parasitology* **2017**, *183*, 231e235
- (52) Sifaoui, I.; Pacheco-Fernández, I.; Piñero, J.E.; Pino, V.; Lorenzo-Morales, J. *Front. Bioeng Biotechnol.* **2021**, *9*, 514115
- (53) Bazargan, M.; Ghaemi, F.; Amiri, A.; Mirzaei, M. *Coordination Chemistry Review* **2021**, *445*, 214107
- (54) Tan, K.L.; Foo, K.I. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2021**, *9*, 104923
- (55) Casado-Carmona, F.A.; Lucena, R.; Cárdenas, S. *Talanta* **2021**, *228*, 122227
- (56) Witorsch, R.J.; Thomas, J.A. *Critical Review in Toxicology* **2010**, *40*, 1-30
- (57) Šulc, J.; Pacheco-Fernández, I.; Ayala, J.H.; Bajerová, P.; Pino, V. *J.Chromatogr. A* **2021**, *1648*, 462219