

PO-TM-15: DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO ON-CHIP PARA LA EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA DE ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS Y PARABENES MEDIANTE MICROEXTRACCIÓN EN FASE LÍQUIDA Y SU APLICACIÓN EN AGUAS SUPERFICIALES

María Ramos Payán^{1*}, Elia Santigosa Murillo², Santiago Maspoch²

¹Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Sevilla, c/Prof. García González s/n, 41012, Seville, Spain,

²Department of Analytical Chemistry, Universitat Autònoma de Barcelona, Campus UAB 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain

*ramospayan@us.es



Introducción

La sofisticación y la capacidad de identificación y/o cuantificación de la instrumentación actual contrastan con la lentitud y laboriosidad de los procedimientos de tratamiento de muestra convencionales, por lo que en los últimos años se han producido grandes avances en procedimientos alternativos. La etapa más crítica en el proceso analítico es, con frecuencia, disponer del analito en la forma más adecuada para su análisis; es aquí donde selectividad y sensibilidad cobran protagonismo y donde un adecuado pretratamiento de la muestra puede hacer viable una determinación concreta. Muestras biológicas y ambientales presentan frecuentemente una complejidad tal que hace necesario el uso de eficaces métodos de *clean-up* y preconcentración.

La extracción líquido-líquido es la técnica convencional de extracción con disolvente más antigua que se conoce y la más aceptada [1]. Esta técnica ha ido evolucionando a lo largo de los años con el objetivo de disminuir el consumo de disolventes orgánicos y de muestra, desarrollándose de esta manera técnicas como la extracción en fase sólida (1970), la microextracción en fase sólida (1990), la microextracción en gota (1996), microextracción en fibra hueca (1999) o la electromembrana (2000). Las técnicas de preparación de la muestra se encuentran en continua evolución debido al elevado consumo de tiempo, muestra y reactivos, en algunos casos caros o tóxicos, y es la causa más frecuente de pérdida y contaminaciones. Por ello, la tendencia actual es eliminar todos o parte de estos problemas o, al menos, reducirlos, por lo que se ha ido incrementando el desarrollo de nuevas técnicas de preparación de la muestra o la modificación de las ya existentes con la finalidad de hacerlas más rápidas, potentes y versátiles.

En los últimos años, la miniaturización y automatización de las técnicas analíticas se están convirtiendo en una tendencia dominante, ya que elimina las limitaciones presentadas por las tecnologías de análisis actuales. En este sentido, los dispositivos microfluídicos presentan numerosas ventajas frente a la preparación de la muestra tradicional, ya que minimizando la cantidad de muestra se disminuye también el

consumo de reactivos y de disolventes caros y tóxicos, contribuyendo a las líneas actuales enfocadas hacia una "Química Verde". Además, se ha demostrado que, con los usos de estas técnicas en el pretratamiento de muestras, se obtienen unos resultados de alta selectividad, sensibilidad, una buena limpieza, un corto tiempo de análisis y permiten su acoplamiento on-line a instrumentos de análisis.

Resumen del trabajo

En este trabajo, se pone a punto un procedimiento de microextracción en fase líquida (3 fases) integrado en un sistema microfluídico on-chip para la extracción simultánea de dos familias de compuestos: cinco antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y cuatro parabenos. La separación y análisis de los compuestos se llevó a cabo mediante las técnicas analíticas de cromatografía líquida de alta resolución con un detector DAD-UV. El dispositivo desarrollado se aplicó en la determinación de estos compuestos en aguas medioambientales, obteniéndose un excelente *clean-up* y elevada eficiencia de extracción.

Procedimiento experimental

El dispositivo integra una microextracción en fase líquida en modalidad de tres fases (acuosa-orgánica-acuosa), en la que los analitos se extraen desde una fase acuosa (fase donadora) hacia otra fase acuosa (fase aceptora), atravesando los poros de una membrana plana de polipropileno que soporta una membrana líquida (fase orgánica), actuando de barrera entre la fase donadora y la fase aceptora (Figura 1). Los analitos se extraen mediante difusión pasiva gracias a un gradiente de pH creado a ambos lados de la membrana.

El procedimiento experimental de este trabajo constó de diferentes etapas: 1) muestreo (obtención y recogida de muestra), 2) extracción de los compuestos mediante dispositivo chip, 3) separación/análisis de los compuestos y 4) tratamiento de datos. La separación cromatográfica de los 9 compuestos se realizó a una temperatura constante de 27°C, empleando una columna LiChroCART® 75-4 Purosphere STAR de 75 mm de longitud y 4 mm de diámetro interno, con una fase estacionaria PR-18e y un tamaño de partícula de 3 µm. Además, se empleó una precolumna Kromasil® de 15 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno, con una fase estacionaria tipo C-18 y un tamaño de partícula de 5 µm. Para la separación cromatográfica, se empleó una mezcla de una disolución acuosa de ácido fórmico al 0,1% V/V (pH 2,6) y metanol.

La Figura 2 muestra el dispositivo microfluídico desarrollado y optimizado en este trabajo. Este dispositivo construido con polimetil-metacrilato, consistió en dos micro-canales (aceptor y donador) separados por una membrana plana de polipropileno de 25 µm de espesor, y dimensiones de 13 mm

de longitud y 3,5 mm de ancho; soportando al dihexil-éter como disolvente orgánico. Los nueve analitos de estudio son extraídos desde la fase donadora hasta la fase aceptora a través de la membrana, gracias a un gradiente de pH entre ambas disoluciones acuosas. El pH de la fase donadora y aceptora fue de 3.5 y 11.5, respectivamente. Ambas fases fueron introducidas en el dispositivo microfluídico impulsadas por dos bombas de jeringa con un flujo aceptor y donador de 1 $\mu\text{L}/\text{min}$. Una vez completada la extracción (7 minutos), se recogió el extracto (7 μL) y se analizó directamente por HPLC.

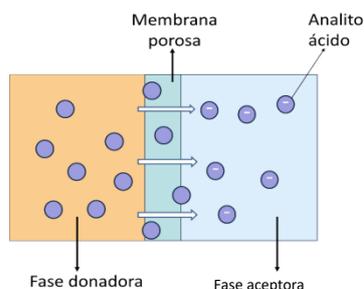


Figura 1: Esquema de LPME mediante difusión pasiva para analitos ácidos.

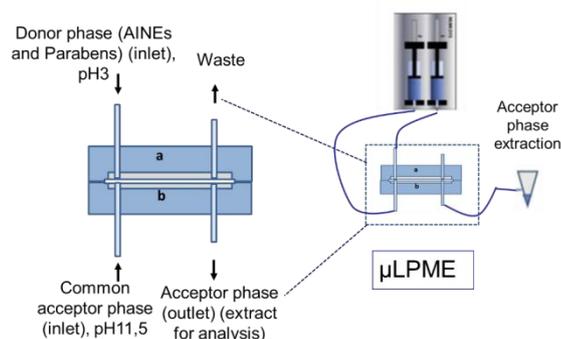


Figura 2. Esquema del dispositivo μLPME

Muestras reales

El dispositivo previamente optimizado se aplicó al análisis de muestras de aguas superficiales. Se analizaron cinco

tipos de aguas superficiales diferentes, todas procedentes de la provincia de Barcelona: Río Sec, Río Rubí, Río Ripollet, Lago Petit, Río Montcada. Para todas las aguas, se realizaron extracciones por triplicado dopadas a 1 mg/L. Las muestras se filtraron con un filtro de 0.45 μm , se ajustó a pH 3.5 y se introdujeron en el sistema microfluídico. La tabla 1 recoge las recuperaciones obtenidas para todos los compuestos y la figura 3 representa un cromatograma de una muestra real, donde se observan excelentes líneas bases.

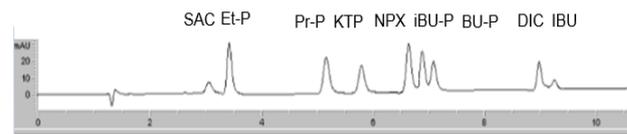


Fig 3. Cromatograma de agua de Río Sec (Barcelona) con 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de AINES y parabens mediante LPME-chip. Fase donadora: pH 3, fase aceptora: pH 11.5, membrana líquida: Diexil-éter, Flujo de fase donadora y aceptora: 1 $\mu\text{L}/\text{min}$. Tiempo de extracción: 7 minutos.

Conclusiones

El dispositivo microfluídico permite la determinación y extracción simultánea de dos familias de compuestos, obteniendo excelentes líneas bases y recuperaciones muy altas.

El dispositivo ha sido satisfactoriamente aplicado a muestras de agua superficiales obteniendo recuperaciones superiores al 66%, requiriendo volúmenes inferiores a 10 μL y completando la extracción en 7 min. Además el volumen de disolvente orgánico empleado es muy pequeño, inferior a 3 μL . La miniaturización de la microextracción en fase líquida es un procedimiento novedoso, muy rápido y eficaz que ofrece elevadas eficiencias de extracción para la extracción simultánea de dos familias de compuestos en muestras de aguas ambientales.

Tabla 1. Recuperaciones de aguas superficiales dopadas a 1mg/L (n=3)

Origen	SAC	KTP	NPX	DIC	IBU	Et-P	Pr-P	iBu-P	Bu-P
RUBÍ	84.1 ± 0.9	91.3 ± 0.9	90.2 ± 1.1	89.4 ± 0.2	100.0 ± 0.6	91.2 ± 0.9	82.1 ± 1.2	90.1 ± 0.7	83.8 ± 1.4
RIPOLLET	97.4 ± 0.7	96.3 ± 0.6	96.3 ± 0.4	80.4 ± 0.5	65.3 ± 0.4	72.1 ± 0.9	94.9 ± 0.7	85.5 ± 1.3	85.4 ± 0.6
LLAC PETIT	74.3 ± 0.1	82.7 ± 1.9	87.1 ± 1.0	57.8 ± 0.8	85.7 ± 0.1	89.4 ± 1.6	85.1 ± 0.9	86.9 ± 1.4	80.6 ± 0.9
RIO SEC	80.3 ± 0.3	87.5 ± 0.3	97.5 ± 1.0	65.9 ± 0.9	68.6 ± 0.1	90.5 ± 1.4	81.3 ± 1.9	85.6 ± 0.2	85.7 ± 0.9
RIO MONTCADA	72.9 ± 0.4	100.0 ± 0.5	83.5 ± 0.8	72.0 ± 0.21	53.3 ± 0.1	81.1 ± 1.4	80.6 ± 1.9	76.6 ± 0.3	82.1 ± 0.9

SAC: ác. Salicílico, KTP: Ketoprofeno, NPX: Naproxeno, DIC: Diclofenaco, IBU: Ibuprofeno, Et-P: Etil-Paraben, Pr-P: Propil-Paraben, iBu-P: isobutyl-Paraben, Bu-P: Butyl-Paraben