

TÉCNICAS DE MICROEXTRACCIÓN Y NUEVOS MATERIALES

Rafael Lucena, Soledad Cárdenas

Grupo de Investigación FQM-215. Departamento de Química Analítica. Instituto Universitario de Investigación en Química Fina y Nanoquímica. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Edificio Marie Curie (anexo). 14071 Córdoba. Email: rafael.lucena@uco.es; scardenas@uco.es

1. Introducción.

El tratamiento de muestra ha sido objeto de una profunda investigación en las últimas décadas. Su complejidad y la necesidad de adaptarlo al trinomio muestra-analito-instrumento ha hecho difícil su sistematización, pero a la vez ha permitido el desarrollo de innumerables técnicas que intentan adaptarse a casuísticas distintas. El tratamiento de muestra no ha sido ajeno a la evolución de la Química Analítica, incorporando la automatización, la simplificación y la miniaturización como fuerzas motrices de su propio desarrollo. La reducción de dimensiones de esta etapa permite, por ejemplo, abordar el análisis de muestras de disponibilidad limitada (ciertos fluidos biológicos) o de elevado valor, lo que abre la puerta al diseño de nuevos procesos de medidas capaces de abordar este tipo de problemas analíticos.

Las técnicas de tratamiento de muestra son necesarias para mejorar la sensibilidad (preconcentración del analito) y la selectividad (separación de interferencias) de los métodos analíticos. Además, en ciertos casos, permiten la aplicación de una técnica instrumental concreta. En este ámbito, la miniaturización ha supuesto un hito esencial de desarrollo. De hecho, las técnicas de microextracción, surgidas de esta evolución, suponen hoy una herramienta útil y versátil para el químico analítico. La reducción de dimensiones genera un reto evidente ya que al disminuir la cantidad de fase extractante (ya sea sólida o líquida) se requiere que ésta sea muy eficiente. Es, en este escenario, en el que resultan de especial relevancia los nuevos materiales como los líquidos iónicos, los disolventes supramoleculares, los disolventes conmutables y los sólidos nanoestructurados.

A continuación, se describen las principales aportaciones que nuestro grupo de investigación ha realizado en este contexto agrupadas en dos grandes líneas: 1) desarrollo de nuevas fases extractantes y 2) propuesta de nuevas modalidades de (micro)extracción.

2. Desarrollo de nuevas fases extractantes.

2.1 Uso de materiales nanoestructurados.

Los primeros trabajos del grupo de investigación basados en el uso de materiales nanoestructurados emplearon fundamentalmente sólidos comerciales de carbono (nano-

tubos, fullerenos, nanoconos o nanocuernos). En este contexto, una de las principales contribuciones fue demostrar el efecto negativo de la agregación de estos nanomateriales, especialmente los nanotubos de carbono, sobre su eficacia de extracción. En un artículo publicado en *The Analyst* en 2007, se estudió en profundidad como afectaba la dispersión asistida por tensioactivos en la capacidad sorbente de los nanotubos de carbono [1]. Además, se evaluó el papel que jugaba este tipo de moléculas en el proceso de extracción. La pseudofase formada (nanotubos incluido en el interior de la micela) puede emplearse en extracción líquido-líquido mejorando notablemente el análisis por espacio de cabeza de hidrocarburos volátiles en muestras de aceite.

2.1.1 Nanocomposites.

El grupo ha trabajado intensamente en el campo de la microextracción dispersiva. Esta técnica es altamente eficiente al maximizar el contacto entre la fase extractante y la muestra. La recuperación del sorbente tras la extracción puede suponer un reto especialmente cuando la cantidad de este material es muy reducida. El uso de materiales magnéticos simplifica sobremanera este proceso ya que pueden recuperarse fácilmente mediante la simple aplicación de un campo magnético (usualmente un imán permanente). Este tipo de materiales, generalmente Fe_3O_4 , se sintetizan fácilmente en el laboratorio. No obstante, el material sintetizado no tiene, por sí mismo, capacidad para extraer compuestos orgánicos. Es, por tanto, habitual que se diseñen partículas tipo *core-shell*, en las que el *core* magnético se recubre de una película de un material capaz de interactuar con los analitos. Si esta selección se realiza de forma adecuada, se puede incrementar de forma notable la selectividad del proceso. En nuestro caso, hemos empleado líquidos iónicos [2,3] o polímeros de impresión molecular [4] para la extracción de PAHs o disruptores del sistema endocrino en aguas en el primer caso, y feromonas en aceite con la segunda propuesta.

La línea de investigación más reciente se centra en la síntesis de composites poliméricos que combinen nanopartículas y polímeros. Los polímeros se caracterizan por presentar una alta estabilidad química, alta porosidad y síntesis *ad-hoc* en función de la naturaleza del analito a extraer. La hibridación polímero-nanopartícula se puede hacer de varias formas: a) siguiendo una estructura *core-shell*, en la que el sólido resultante mantiene las dimensio-

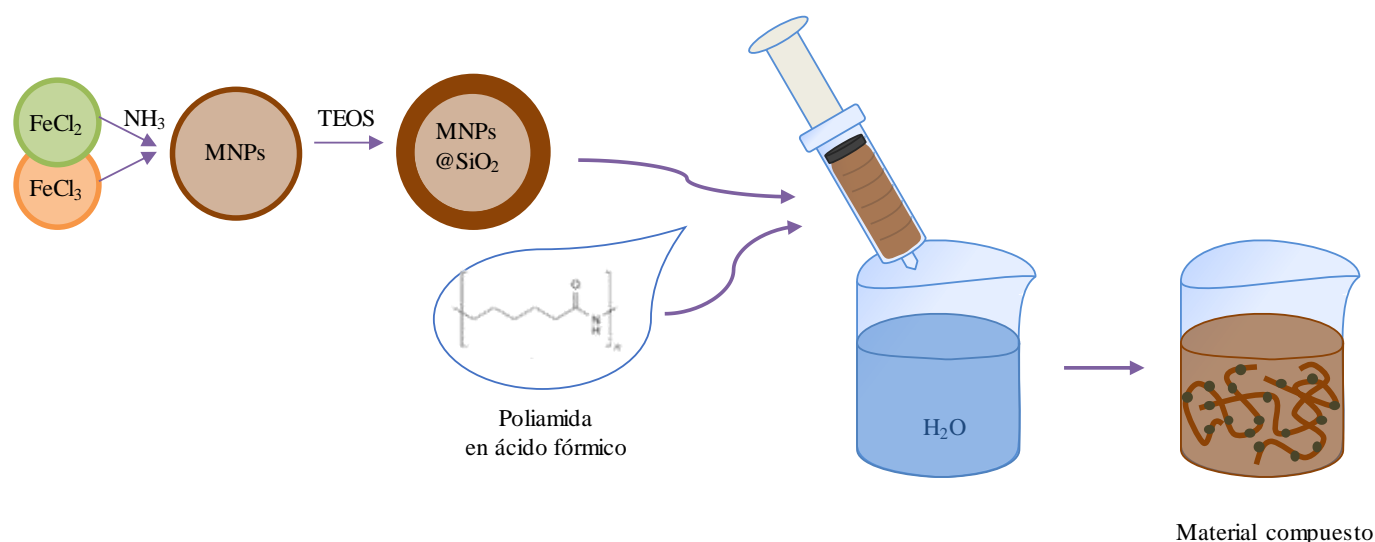


Figura 1. Síntesis de materiales composite basada en la combinación de poliamidas y nanopartículas.

nes nanométricas; b) recubriendo las micropartículas de polímero con nanopartículas, lo que afecta a la capacidad extractante del polímero, ya que ésta disminuye a medida que aumenta el recubrimiento nanométrico; o c) incluyendo la nanopartícula dentro de la red polimérica. En 2014 propusimos un método muy simple para la síntesis de estos materiales siguiendo la última aproximación. El procedimiento juega con la distinta solubilidad del polímero en diferentes disolventes. La primera combinación que propusimos utilizaba poliamida y nanopartículas magnéticas [5]. Las poliamidas suelen ser solubles en ácido fórmico e insolubles en agua. El procedimiento, esquematizado en la Figura 1, consiste en la preparación de una disolución de la poliamida en ácido fórmico, en la que se dispersan las nanopartículas haciendo uso de ultrasonidos. La dispersión se añade mediante una jeringa de plástico a un recipiente que contiene agua. El cambio de medio provoca la precipitación de la poliamida, que arrastra en este proceso a las nanopartículas, que quedan incluidas en la red polimérica.

Entre las ventajas de este procedimiento se pueden destacar la simplicidad y la versatilidad, puesto que se pueden combinar una amplia variedad de sólidos poliméricos y nanopartículas, siempre y cuando se encuentren los disolventes adecuados. Las poliamidas son, además, fáciles de sintetizar en el laboratorio, de manera que se pueden seleccionar los monómeros más adecuados para extraer el analito diana [6]. Recientemente hemos evaluado la posibilidad de reciclar polímeros (por ejemplo, bandejas de empaquetado de alimentos, vasos) para preparar composites poliméricos [7]. En cuanto al papel de las nanopartículas en el composite, éste puede ser muy diverso. Por un lado, le pueden conferir nuevas propiedades, por ejemplo, carácter magnético cuando se usan nanopartículas de esta naturaleza. Por otro lado, incrementan notablemente la capacidad sorbente ya sea

incluyendo otro tipo de interacción con el analito o incrementando la superficie del polímero al dificultar el empaquetamiento normal de las cadenas poliméricas [8].

Se puede considerar en la misma línea la síntesis de materiales composite, que combinan líquidos iónicos poliméricos y nanopartículas magnéticas [9]. La síntesis, que tiene lugar a temperatura ambiente, hace uso de reactivos de bajo precio y, debido a su versatilidad, se puede adaptar a numerosos problemas analíticos.

2.1.2 Combinación de nanopartículas con sólidos monolíticos.

Los sólidos monolíticos son materiales que se caracterizan por presentar una estructura continua que presenta poros de gran tamaño que le confieren una alta permeabilidad y por tanto permiten el flujo de una fase líquida a su través. En comparación con los sólidos particulados, carecen de los problemas de empaquetamiento y presentan una mayor eficiencia en relación con la interacción con los analitos de interés ya que no se ve afectada por los fenómenos de difusión. Las propuestas en este contexto del grupo se han centrado en la modificación de sólidos monolíticos con nanopartículas. La idea fundamental es combinar de forma sinérgica las ventajas de ambos materiales para que el sólido resultante presente mejores propiedades sorbentes. Las propuestas que hemos desarrollado utilizan fundamentalmente nanopartículas de carbono que se incorporan al sólido monolítico una vez sintetizado, depositándose sobre la superficie de este o bien se añaden a la mezcla de polimerización, quedando en este caso embebidos en la estructura monolítica. La Figura 2 recoge las alternativas que hemos propuesto, indicando el tipo de nanopartículas empleadas, la forma de adición al polímero, así como el formato de microextracción en el que se han empleado.

De lo recogido en la figura, se concluye que la adición de las nanopartículas convenientemente dispersas en el disolvente porógeno a la mezcla de polimerización es la alternativa más eficiente puesto que, entre otras cosas, el sólido resultante es más estable. Además de las unidades basadas en la inmovilización en el interior de un capilar de sílice fundida [10,11], se han desarrollado con éxito otros formatos más versátiles y que permiten procesar mayores volúmenes de muestras como las *spin-columns* [12], las puntas de pipeta [13] o las unidades agitadas [14]. La línea de trabajo actual se orienta a la síntesis de estos materiales monolíticos haciendo uso exclusivamente de nanomateriales de forma que se puedan utilizar como unidades independientes o soportados sobre distintas superficies.

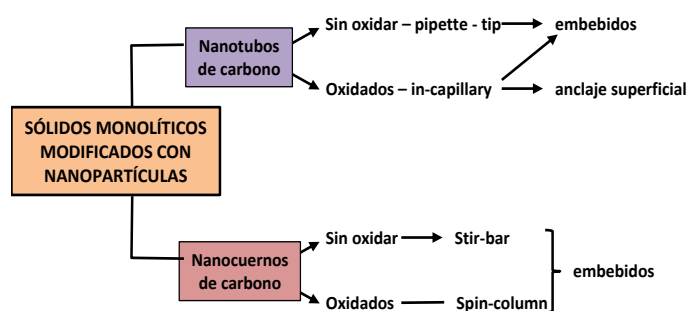


Figura 2. Alternativas propuestas para la preparación de unidades de microextracción basadas en la combinación de sólidos monolíticos y nanopartículas.

2.1.3 Nanotubos de dióxido de titanio.

Las nanopartículas de carbono proporcionan una gran capacidad sorbente, pero presentan una alta tendencia a la agregación que limita su potencial. Además, su síntesis es compleja y no es abordable en un laboratorio convencional. Por otro lado, su derivatización (para mejorar la dispersabilidad o incluir grupos funcionales extractantes) requiere de tratamientos agresivos que en muchas ocasiones producen desperfectos en su estructura. En 2014, el grupo comenzó a trabajar con nanotubos de dióxido de titanio [15]. Estos nanomateriales son fáciles de sintetizar mediante un procedimiento hidrotérmal en el que se puede controlar el tamaño y forma del material resultante jugando con las condiciones experimentales. Una vez sintetizado el *core* inorgánico (TiO_2) abordamos su recubrimiento con carbono siguiendo dos etapas simples: a) creación de una capa de caramelo mediante tratamiento hidrotérmal de sacarosa sobre la superficie de los nanotubos de TiO_2 ; y b) carbonización de este recubrimiento a alta temperatura en atmósfera inerte. Una ventaja adicional de este tipo de síntesis es que se puede

modular la polaridad de la capa de carbono jugando con la temperatura y el tiempo en la segunda etapa del proceso.

3. Nuevas modalidades/formatos de microextracción.

3.1 Integración de la extracción y la agitación en la misma unidad.

De forma general, la agitación de la muestra contribuye favorablemente a la mejora del rendimiento del proceso de extracción. Esto se debe a que facilita la difusión de los analitos desde la matriz de la muestra hacia la fase extractante, reduciendo notablemente los tiempos de extracción. En la mayoría de las técnicas de microextracción (excepto en *stir bar sorptive extraction* y técnicas relacionadas) el extractante se dispersa o sumerge en la muestra, estando el elemento de agitación (normalmente una barra magnética) separado de éste. En el año 2009 el grupo de investigación presentó una modalidad de extracción denominada *stir membrane extraction*, que integraba de un modo sinérgico la elevada capacidad de extracción de las membranas poliméricas con las ventajas cinéticas de la agitación de la muestra [16]. La unidad se diseñó a partir de materiales comerciales que garantizaban la reproducibilidad entre unidades y un coste de fabricación reducido. Este trabajo original supuso el inicio de una nueva línea de investigación centrada en el desarrollo de nuevas técnicas que integran la extracción y la agitación en el mismo dispositivo. En la Figura 3 se muestra la evolución histórica de esta línea.

Como puede verse, se ha aplicado tanto a microextracción en fase sólida como en fase líquida. En su configuración inicial, estas unidades estaban diseñadas para el análisis de volúmenes de muestra superiores a los 20 mL. Esto limitaba su potencial en bioanálisis ya que en este campo la disponibilidad de muestra suele estar restringida. Para dar respuesta a esta necesidad, la unidad de extracción se ha adaptado a estos volúmenes tanto en el tratamiento de muestras líquidas (saliva) como sólidas (leche materna liofilizada). A su vez, las unidades se han adaptado a distintas fases sorbentes entre las que se incluyen las nanopartículas magnéticas o las *fabric phases*.

Actualmente, esta línea de investigación está centrada en el desarrollo de nuevos dispositivos que integren la extracción en la etapa de muestreo. Estos dispositivos tendrán aplicación fundamentalmente en análisis ambiental y permitirán muestrear en diferentes localizaciones reduciendo la toma y transporte de elevados volúmenes de muestra hasta el laboratorio para su extracción y análisis.

Además, esta aproximación es especialmente interesante en aquellos casos en los que los analitos no son químicamente estables. En este caso, su retención en un material sorbente puede ser la mejor solución.

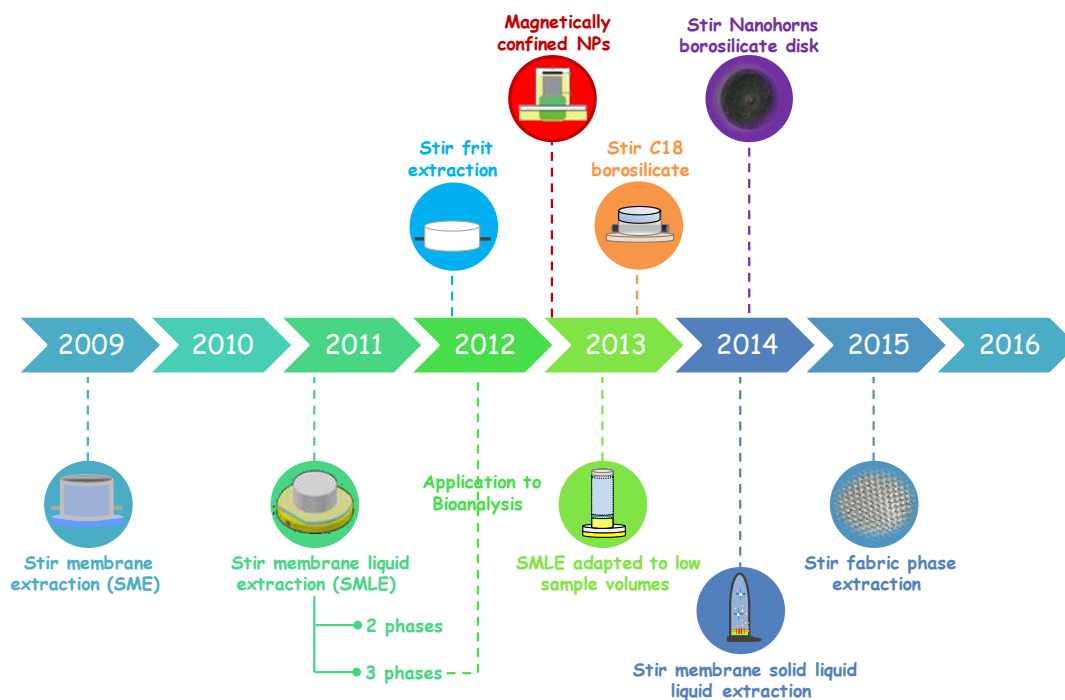


Figura 3. Evolución histórica de la línea de investigación centrada en el desarrollo de técnicas que combinan la extracción y agitación en el mismo dispositivo.

3.2 Microextracción asistida por efervescencia.

Las técnicas de microextracción dispersiva, ya sea en fase sólida o líquida, hacen uso de energías externas y/o disolventes que faciliten la dispersabilidad del extractante en la muestra. La primera opción, si bien es muy eficiente, requiere el uso de un equipo auxiliar como un baño o sonda de ultrasonidos, por ejemplo. La dispersión química es una buena alternativa, siempre y cuando el agente dispersante no afecte negativamente al equilibrio de extracción, incrementando la solubilidad de los analitos de interés en la muestra. La técnica *effervescence-assisted dispersive micro-solid phase extraction*, propuesta por el grupo de investigación en 2011, hace uso de la generación in-situ de CO_2 como medio dispersante en microextracción en fase sólida dispersiva [17]. Para llevarla a cabo, se prepara una pastilla que contenga los reactivos efervescentes (una fuente de CO_2 y otra de protones) y el sorbente a dispersar. Al añadirla a la muestra, la pastilla se disuelve liberando CO_2 , que dispersa el sólido sorbente en la muestra. Entre las ventajas de la técnica están su simplicidad, la posibilidad de realizar extracciones *in-situ* y su versatilidad ya que puede emplearse tanto para dispersiones en fase sólida como líquida. Además, el agente dispersante no afecta al equilibrio de extracción ya que se libera de la vasija de extracción.

En microextracción en fase líquida, la distribución de los precursores efervescentes es distinta, ya que la fuente de CO_2 se añade a la muestra líquida en forma de carbonato o bicarbonato, mientras que el medio ácido se prepara junto al extractante y se adiciona mediante una jeringa. En la configuración que propusimos en 2014 se emplean

nanopartículas magnéticas para facilitar la recogida del disolvente de extracción, del que se usa un volumen muy limitado [18]. Estos trabajos han tenido gran aceptación en la comunidad científica y diversos grupos han utilizado esta metodología para desarrollar nuevas aplicaciones en el ámbito del análisis medioambiental.

3.3 Sistemas de microextracción basados en el empleo de unidades desechables.

El potencial de los líquidos iónicos en técnicas de microextracción se ha puesto de manifiesto ampliamente en la bibliografía. Sin embargo, se constata también la dificultad que conlleva la manipulación de pequeños volúmenes en los sistemas de extracción especialmente por la alta viscosidad que presentan. El grupo de investigación ha realizado dos propuestas en este sentido. La primera de ellas, *ionic liquid-based dynamic liquid phase microextraction*, facilita el uso de estos disolventes al ser disueltos previamente en un disolvente adecuado. Nuestra propuesta, como se muestra en la Figura 4, hace uso de una configuración de flujo para la dosificación del extractante (mezcla de líquido iónico y un disolvente miscible) que se prepara en una única pesada. La unidad de extracción es muy simple (pipeta Pasteur) y de bajo coste por lo que puede desecharse tras el análisis, lo que es especialmente útil en el ámbito clínico. El proceso de extracción conlleva varios ciclos de aspiración extractante-muestra, que finaliza con la recuperación, por reversión del flujo, del líquido iónico que contiene los analitos diana [19].

Otro inconveniente derivado de la viscosidad de los líquidos iónicos en su tendencia a quedar adheridos a las paredes del recipiente en el que se lleva a cabo la extracción. La configuración propuesta, que denominamos *in-syringe ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction*, emplea una jeringa comercial de plástico como unidad de extracción y en ella se sitúa la muestra. A continuación, se inyecta el extractante (líquido iónico + disolvente dispersante) de forma convencional. Tras la extracción, el desplazamiento del émbolo arrastra al líquido iónico que contiene los analitos hasta el extremo Luer de la jeringa, desde donde puede recogerse fácilmente para su análisis final [20]. Esta alternativa ha abierto la puerta a la automatización completa de la técnica.

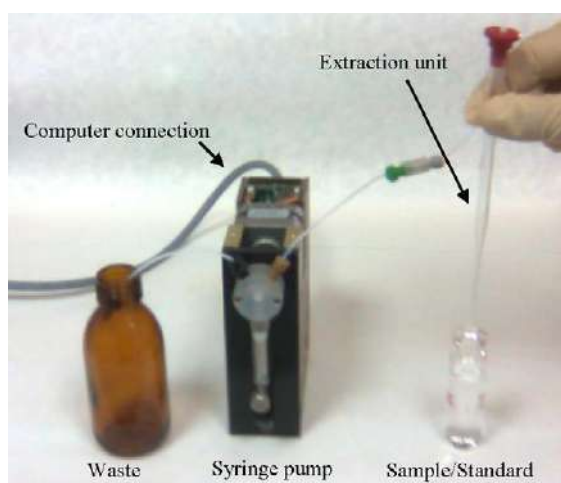


Figura 4. Sistema de flujo empleado en la modalidad *ionic liquid-based dynamic liquid phase microextraction*.

La jeringa de plástico se puede emplear también en el ámbito de la microextracción en fase sólida dispersiva, con sólo añadir un filtro de algodón en su extremo que evite que el material sorbente (nanopartículas o fibras) se pierda durante el proceso de extracción. Al aspirar la muestra, la dispersión del sólido sorbente se realiza en el cuerpo de la jeringa [21] aumentando así la superficie de contacto con los analitos diana. La unidad de extracción es desechable, barata y se puede adaptar al volumen de muestra disponible con sólo seleccionar correctamente el tamaño de la jeringa.

4. Nuevas aproximaciones basadas en el papel como soporte de la fase extractante.

La investigación más reciente del grupo de investigación, y que supondrá una línea central en futuros desarrollos, es el empleo de papel de laboratorio para la síntesis y diseño de la unidad de extracción.

Las membranas presentan un elevado potencial en técnicas de microextracción y se han utilizado en configuraciones planas o tubulares para la

preconcentración de analitos en sistemas de dos o tres fases. A pesar de su versatilidad, la variedad de química disponible y su capacidad para ser funcionalizada, resultan un soporte particularmente caro y sujeto a las dimensiones comercialmente disponibles. Por ello, introdujimos el papel en nuestra línea de investigación de microextracción al ser un soporte barato y disponible en el laboratorio. Su estructura de celulosa permite, además, una funcionalización muy simple de su superficie. Nuestra primera propuesta en este sentido ha sido el uso de papel modificado con polímero como medio de extracción [22]. En la Figura 5 se muestra una fotografía de microscopía electrónica de barrido (SEM) de un papel modificado con polímero. Tal y como puede observarse, el polímero cubre las fibras de celulosa que son fácilmente identificables.

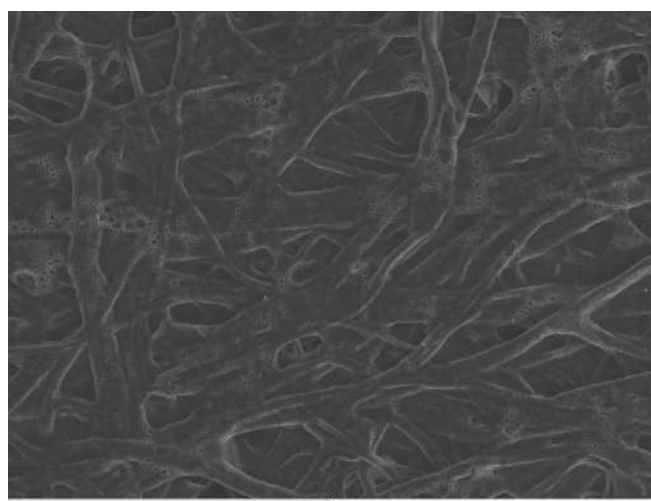


Figura 5. Fotografía SEM de papel modificado con polímero

La simplicidad de su síntesis, junto con el potencial extractante del mismo, son las características más destacables. Además, la gran variedad de polímeros que pueden emplearse aumenta la versatilidad de estos tipos de materiales. Los próximos desarrollos irán encaminados a incluir nanopartículas en el recubrimiento. Estas nanopartículas podrán introducir nuevas propiedades en la membrana y/o mejorar la capacidad sorbente de las mismas.

Además, el uso de estas membranas abre la puerta a su análisis directo mediante diferentes técnicas instrumentales como la espectrometría de masas. Esta combinación permitiría simplificar sobremedida el proceso de medida al soslayar la separación cromatográfica. La selectividad del proceso de extracción, dependiente del recubrimiento diseñado, será clave para asegurar la calidad de los resultados finales.

Agradecimientos

Se agradece la financiación recibida del Ministerio de Economía y Competitividad MINECO/FEDER, proyectos CTQ2104-52939-R y CTQ2017- 83175-R).

Referencias

- [1] Carrillo-Carrión, C., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2007). Surfactant-coated carbon nanotubes as pseudophases in liquid-liquid extraction. *The Analyst*, 132(6), 551–9.
- [2] Galán-Cano, F., Del Carmen Alcudia-León, M., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2013). Ionic liquid coated magnetic nanoparticles for the gas chromatography/mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters. *Journal of Chromatography A*, 1300, 134–140.
- [3] Casado-Carmona, F. A., Alcudia-León, M. del C., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2016). Magnetic nanoparticles coated with ionic liquid for the extraction of endocrine disrupting compounds from waters. *Microchemical Journal*, 128, 347–353.
- [4] Alcudia-León, M.C., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2016). Selective extraction of *Bactrocera oleae* sexual pheromone from olive oil by dispersive magnetic microsolid phase extraction using a molecularly imprinted nanocomposite. *Journal of Chromatography A*, 1455, 57-64.
- [5] Reyes-Gallardo, E. M., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2014). Magnetic nanoparticles-nylon 6 composite for the dispersive micro solid phase extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. *Journal of Chromatography A*, 1345, 43–49.
- [6] Ballesteros-Esteban, T., Reyes-Gallardo, E. M., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2016). Determination of propranolol and carvedilol in urine samples using a magnetic polyamide composite and LC-MS/MS. *Bioanalysis*, 8 (20)
- [7] Ghambari, H., Reyes-Gallardo, E. M., Lucena, R., Saraji, M., & Cárdenas, S. (2017). Recycling polymer residues to synthesize magnetic nanocomposites for dispersive micro-solid phase extraction. *Talanta*, 170, 451–456.
- [8] Reyes-Gallardo, E. M., Lucena, R., & Cárdenas, S. (2017). Silica nanoparticles–nylon 6 composites: synthesis, characterization and potential use as sorbent. *RSC Advances*, 7(4), 2308–2314.
- [9] Castro-Grijalba, A., Reyes-Gallardo, E. M., Wuilloud, R. G., Lucena, R., & Cárdenas, S. (2017). Synthesis of magnetic polymeric ionic liquid nanocomposites by the Radziszewski reaction. *RSC Advances*, 7(68) 42979-42985.
- [10] Fresco-Cala, B., Cárdenas, S. & Valcárcel, M. (2016). Improved microextraction of selected triazines using polymer monoliths modified with carboxylated multi-walled carbon nanotubes, *Microchimica. Acta*, 183, 465-474.
- [11] Fresco-Cala, B., Cárdenas, S. & Valcárcel, M. (2016). Preparation and evaluation of micro and meso porous silica monoliths with embedded carbon nanoparticles for the extraction of non-polar compounds from waters, *Journal of Chromatography A*, 1468, 55-63.
- [12] Fresco-Cala, B., Cárdenas, S. & Herrero-Martínez, J.M: (2017) Preparation of porous methacrylate monoliths with oxidized single-walled carbon nanohorns for the extraction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs from urine samples, *Microchimica Acta*, 6, 1863-1871.
- [13] Fresco-Cala, B., Mompó-Roselló, O., Simó-Alfonso, E.F., Cárdenas, S. & Herrero-Martínez, J.M. (2018). Carbon nanotube-modified monolithic polymethacrylate pipette tips for (micro)solid-phase extraction of antidepressants from urine samples, *Microchimica Acta*, 185, 127. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2659-4>
- [14] Fresco-Cala, B. & Cárdenas, S. Nanostructured hybrid monolith with integrated stirring for the extraction of UV filters from waters and urine samples. *Talanta*, enviado para su publicación.
- [15] García-Valverde, M. T., Lucena, R., Galán-Cano, F., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2014). Carbon coated titanium dioxide nanotubes: Synthesis, characterization and potential application as sorbents in dispersive micro solid phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1343, 26–32.
- [16] Alcudia-León, M. C., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2009). Stir membrane extraction: A useful approach for liquid sample pretreatment. *Analytical Chemistry*, 81(21), 8957–8961.
- [17] Lasarte-Aragones, G., Lucena, R., Cardenas, S., & Valcarcel, M. (2011). Effervescence-assisted dispersive micro-solid phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 1218 (51), 9128-9134.
- [18] Lasarte-Aragonés, G., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2014). Effervescence assisted dispersive liquid-liquid microextraction with extractant removal by magnetic nanoparticles. *Analytica Chimica Acta*, 807, 61–66.
- [19] Cruz-Vera, M., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2008). Ionic liquid-based dynamic liquid-phase microextraction: Application to the determination of anti-inflammatory drugs in urine samples. *Journal of Chromatography A*, 1202(1), 1–7.
- [20] Cruz-Vera, M., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2009). One-step in-syringe ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1216(37), 6459–6465.
- [21] García-Valverde, M. T., Lucena, R., Cárdenas, S., & Valcárcel, M. (2015). Determination of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid by combining D μ -SPE using carbon coated TiO $_2$ nanotubes and LC-MS/MS, *Bioanalysis*, 7(22), 2857–2867.
- [22] Ríos-Gómez, J., Lucena, R., & Cárdenas, S. (2017). Paper supported polystyrene membranes for thin film microextraction. *Microchemical Journal*, 133, 90–95.