

SOPORTES SOSTENIBLES PARA LA PREPARACIÓN DE FASES EXTRACTANTES EN LA ETAPA DE TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Soledad Cárdenas

Departamento de Química Analítica. Instituto Universitario de Investigación en Nanoquímica (IUNAN). Edificio Marie Curie (anexo). Campus de Rabanales. Universidad de Córdoba. 14071 Córdoba. e-mail: scardenas@uco.es

El tratamiento de las muestras es una actividad central de los laboratorios analíticos. La labor del químico analítico excede el carácter rutinario de estas tareas buscando alternativas que resulten fáciles de implementar y fiables. Es por esto que la investigación en la propuesta de nuevas estrategias para el tratamiento analítico de muestras es una línea de trabajo compartida por muchos grupos de investigación, entre ellos el nuestro.

En nuestra contribución más reciente en Actualidad Analítica [1] se hacía referencia al empleo del papel del laboratorio para la síntesis y diseño de unidades de extracción. En este artículo se recogen las aportaciones más relevantes que el grupo ha realizado en este ámbito, así como la evolución que prevemos de la misma en los próximos años.

VENTAJAS DEL USO DE SOPORTES PLANOS EN EL DISEÑO DE UNIDADES PARA EL TRATAMIENTO DE MUESTRAS

En general, el uso de soportes planos para el diseño de unidades de extracción miniaturizadas presenta como ventaja sobre otras geometrías su mayor capacidad (superficie) para interactuar con los analitos de interés. Esto, además, mejora la cinética del proceso de extracción. Se pueden destacar tres tipos de soportes planos como los más empleados en la etapa de tratamiento analítico de la muestra: membranas, *fabric-phases* y papel [2].

Las membranas poliméricas comerciales se han empleado de manera habitual en esta etapa. Recientemente, se ha propuesto su modificación con nanopartículas o incluso la síntesis en el laboratorio mediante la técnica de *electrospinning*, de manera que se incremente su selectividad frente a los analitos de interés. En este último caso se pueden incluir nanopartículas en el proceso, de manera que queden embebidas en la red polimérica o añadirlas al final, siguiendo el mismo procedimiento de modificación de las membranas comerciales.

Las *fabric-phases* son tejidos (naturales o sintéticos) que se modifican superficialmente con la fase extractante adecuada mediante un proceso sol-gel. Los recubrimientos pueden diseñarse ad-hoc de manera que sean selectivos para el aislamiento de los analitos de interés.

El papel, por su parte, resulta más sostenible que las dos opciones anteriores. Es más barato, común en el laboratorio, fácil de modificar y su naturaleza porosa lo hace compatible con las técnicas de extracción. Además, su geometría puede adaptarse fácilmente a la unidad de extracción o al análisis directo mediante espectrometría de masas ambiental en la modalidad de infusión directa o *paper-spray*.

En el grupo de investigación lo hemos seleccionado como uno de los sustratos principales para la preparación de unidades de tratamiento de muestra teniendo en cuenta las ventajas comentadas anteriormente. Además, su uso reúne una de las características principales de la filosofía *Do It Yourself* (DIY), que también hemos implementado en nuestra dinámica de trabajo, de manera que el procedimiento de preparación sea lo suficientemente sencillo como para que pueda desarrollarse con facilidad en cualquier laboratorio.

PAPEL RECUBIERTO DE UNA FASE EXTRACTANTE POLIMÉRICA Y MATERIALES AVANZADOS

Los polímeros se han utilizado habitualmente para el diseño de fases extractantes debido a la variedad de interacciones químicas que pueden establecer con los analitos para aislarlos de la matriz de la muestra en la que se encuentran. Esas fases poliméricas se pueden sintetizar en la forma de película delgada (*thin film*) sobre la superficie del papel siguiendo un procedimiento de inmersión de éste en una disolución del polímero un número definido de veces. Entre cada inmersión se deja secar el papel de manera que la evaporación del disolvente/medio en el que se encontraba disuelto genera una capa de polímero sobre el papel. Nuestra primera contribución en este ámbito fue la preparación de un papel recubierto de poliestireno [3]. Para contribuir más al carácter sostenible de la unidad de extracción, el poliestireno se obtuvo disolviendo envases comerciales de yogurt en cloroformo. De esta primera propuesta la conclusión más importante fue la necesidad de alternar la dirección en la que se sumergía el papel en la disolución del polímero para garantizar que la fase quedara uniformemente distribuida sobre la superficie del papel. De esta manera se contribuía notablemente al aumento de la reproducibilidad tanto de la extracción como del proceso de síntesis entre unidades. Para simplificar el procedimiento se optó por utilizar un trozo de papel de dimensión mayor a la requerida, de manera que después mediante simple corte con unas tijeras se ajustó a la geometría adecuada para la unidad de extracción en la que se iba a introducir, en este caso una

punta de pipeta de 100 μL . En la Figura 1 se muestran imágenes SEM del recubrimiento con distintos porcentajes de polímero.

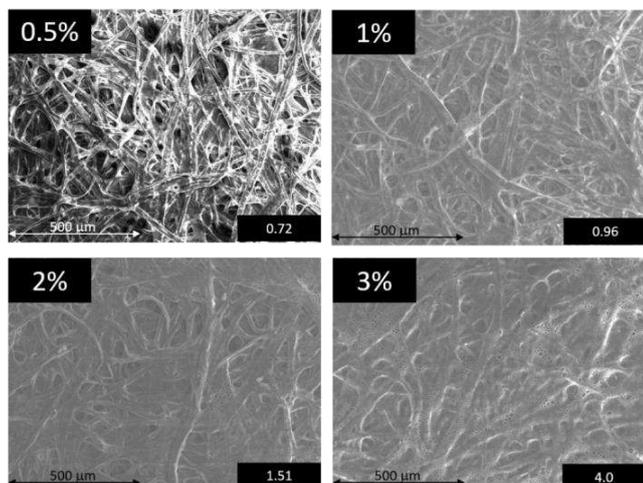


Figura 1. Imágenes SEM del recubrimiento del papel con distintos porcentajes de poliestireno. Reproducida de la referencia [3] con permiso de Elsevier.

Los nanocuernos de carbono (*single walled nanohorns*, SWNHs) son un tipo particular de nanopartículas de carbono que se caracterizan por concentrar una elevada densidad electrónica en su extremo cónico. Como consecuencia, tienen tendencia a formar de manera espontánea agregados nanoestructurados (80-100 nm de diámetro). Esta agregación ordenada, a diferencia de lo que ocurre con los agregados amorfos de nanotubos, mantiene su capacidad de extracción, que es incluso mayor que la de los SWNHs individuales. Se puede preparar una estructura tridimensional de estos agregados sobre papel sumergiéndolo en una dispersión concentrada de SWNHs en cloroformo y dejando que el disolvente se evapore a temperatura ambiente. De esta manera se recubre el papel con la estructura tridimensional de las nanopartículas pudiendo emplearse como unidad desechable de microextracción [4]. Dado el carácter hidrofóbico de los SWNHs, pueden emplearse para la extracción de antidepressivos en muestra de orina utilizando puntas de pipeta como unidades de microextracción (Figura 2).

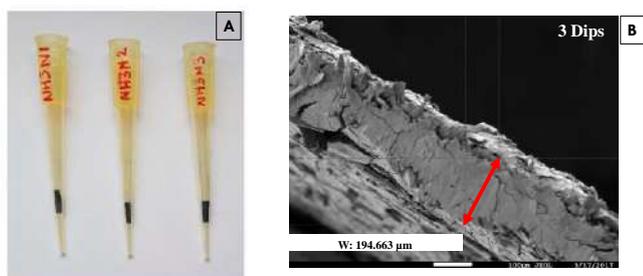


Figura 2. Unidades de extracción preparadas con el papel recubierto de SWNHs (A). Imagen SEM del recubrimiento (B). Reproducida bajo licencia Creative Commons de la referencia [4]

Los líquidos iónicos se han empleado como fase extractante en técnicas miniaturizadas exhibiendo como principal ventaja la síntesis dirigida según el carácter hidrofóbico/hidrofílico de los analitos a separar. Al igual que ocurre con otros materiales, se pueden obtener líquidos iónicos poliméricos, PILs, partiendo de monómeros que contienen ya la unidad de líquido iónico. En nuestro caso, hemos seleccionado la reacción de Radziszewski, que se desarrolla en fase acuosa, para obtener un líquido iónico polimérico de base imidazolio. La forma de anclar el PIL sobre la superficie del papel es muy sencilla. En primer lugar, se sumerge el papel 3 veces (con etapas de secado intermedias a 60°C) en una disolución del PIL al 2% y posteriormente se calienta a 120 °C durante 30 minutos. El papel puede cortarse en la geometría requerida para adaptarlo a la unidad de microextracción seleccionada; en nuestro caso un vial de 2 mL. Se pueden resaltar como características más interesantes de esta fase que al presentar como contra ion el grupo acetato, se potencian las interacciones iónicas con los analitos, lo cual favorece la extracción en la aplicación que propusimos (determinación de antiinflamatorios no esteroides en orina) [5]. Sin embargo, se puede incrementar el carácter hidrofóbico de la fase sumergiendo el papel con el recubrimiento de PIL en una disolución de KPF₆ en agua.

PAPEL CON CAPACIDAD DE RECONOCIMIENTO MOLECULAR

La selectividad de una fase extractante polimérica se puede incrementar mediante la tecnología de impresión molecular. En este procedimiento, tras la polimerización, quedan, idealmente en su superficie del sólido, huecos que son estérica y eléctricamente complementarios con el analito que se quiere determinar. Sin embargo, y frente a las indudables ventajas que presentan los MIPs en las técnicas de microextracción, la complejidad de la síntesis y el estricto control de las condiciones son factores que, de alguna manera, pueden condicionar su desarrollo en los laboratorios.

Nuestra aportación en este ámbito ha sido la preparación de fases poliméricas con capacidad de reconocimiento molecular basada en una síntesis que no requiere la inclusión de la etapa de polimerización habitualmente descrita para la obtención de un MIP. En lugar de ello, es suficiente con sumergir el papel en una disolución que contiene el polímero y el analito (*template*). La posterior evaporación del disolvente da lugar a que las cadenas del polímero se reordenen alrededor del *template*, que se elimina en una etapa de lavado. Como prueba de concepto, se preparó un papel-MIP para la determinación de quinina en agua tónica usando Nylon-6 como fase polimérica [6]. Debido al carácter fluorescente del analito, se adaptó su geometría del papel a una celda fluorimétrica especialmente diseñada para esta aplicación, de manera que se pudiera realizar la medida directamente sobre el papel-MIP. De igual manera, se puede preparar un MIP dual sin más que añadir dos analitos a la disolución del polímero realizando el

proceso de la misma forma. La aplicación seleccionada en este caso fue la determinación de cocaína y metanfetamina en saliva mediante infusión directa en espectrometría de masas [7].

RECUBRIMIENTO DE PAPEL CON NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Otra modificación interesante de los recubrimientos poliméricos del papel es la introducción durante el proceso de nanopartículas metálicas. Éstas se quedan incluidas dentro de la red polimérica de manera que aumentan su porosidad al espaciar el apilamiento de las cadenas poliméricas e introducir funcionalidades dependiendo de su naturaleza. Nuestra experiencia en la síntesis de estos materiales (*nano*)*composites* la hemos trasladado a los soportes de papel desarrollando dos aplicaciones concretas que se describen a continuación.

Sustrato doble de nanoflores de plata-polímero para su uso combinando en RAMAN-SERS y espectrometría de masas ambiental.

El uso de nanopartículas de oro y plata para mejorar la sensibilidad de la espectroscopía Raman, mediante el efecto de la amplificación en superficie por el efecto del plasmón de resonancia es suficientemente conocido. Entre los factores que contribuyen a este efecto SERS, la forma de las nanopartículas tiene una clara influencia en la extensión en la que éste se produce, de manera que la existencia de extremos o formas puntiagudas lo intensifican claramente.

Nuestra propuesta ha sido la incorporación de nanoflores de plata (AgNF) a un papel previamente recubierto con Nylon-6 [8] preparado siguiendo el procedimiento descrito en el primer apartado de este artículo. En este caso, y para asegurar el anclaje de las AgNF, se adicionaron unas gotas de nitrato de plata que posteriormente se redujeron a plata metálica de manera que se generaron puntos concretos sobre la superficie del soporte polimérico para la inmovilización de las nanopartículas. De esta manera se obtuvo el recubrimiento polimérico que actúa como fase extractante y las AgNFs, que permiten su uso como sustrato en SERS (Figura 3). Además, el recubrimiento de Nylon-6 en este caso evita que el analito (ketoprofeno) quede retenido dentro de la fibra del papel, lo que dificultaría su detección mediante la técnica espectroscópica sin que las bandas asociadas al polímero interfieran. Para el análisis se seleccionó como muestra saliva. Ésta se depositó sobre el papel modificado y se dejó secar. La medida mediante SERS-RAMAN se realizó directamente sobre el soporte.

Para el caso de la determinación por espectrometría de masas se optó por la modalidad de *paper-spray*, ya que la presencia de plata metálica incrementó notablemente la conductividad del soporte favoreciendo la creación del *spray*.

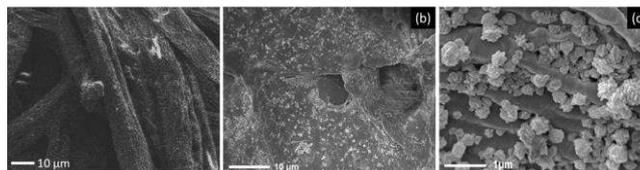


Figura 3. Imágenes SEM del papel recubierto con Nylon 6 y AgNFs a distintos aumentos.

Sustrato con nanopartículas de dióxido de titanio con propiedades fotocatalíticas.

Las nanopartículas de dióxido de titanio se utilizan como material activo (filtros) en los productos de protección solar para proteger la piel de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta. Este efecto deriva también del fenómeno de absorción de radiación UV, que crea un par redox (electrón-vacante) que puede degradar determinados compuestos. La adición de estas nanopartículas a una muestra con la finalidad de degradar ciertos contaminantes presenta como contrapartida la necesidad de su posterior recuperación del medio. Una manera de evitar esta etapa es su inmovilización sobre un soporte de forma que se simplifica la recuperación tras el proceso fotocatalítico.

La preparación de un soporte de papel recubierto únicamente de nanopartículas es difícil porque no se puede asegurar la estabilidad mecánica del recubrimiento y, por tanto, que las nanopartículas no se pierdan durante la etapa de tratamiento de la muestra. Sin embargo, esta estabilidad se puede mejorar notablemente si las nanopartículas se incluyen dentro de una red polimérica. En este caso, se consigue un efecto adicional que permite incrementar la eficiencia del proceso fotocatalítico, puesto que el polímero puede actuar como fase extractante. Al retener el compuesto que se quiere degradar sobre el sustrato, disminuye notablemente la distancia con las nanopartículas de dióxido de titanio, por lo que se incrementa la cinética de la reacción. Nuestra propuesta en este sentido fue preparar un recubrimiento del papel con Nylon-6 en el que quedaban incluidas las nanopartículas de dióxido de titanio que se habían dispersado en una disolución del polímero en ácido fórmico [9]. Tras la inmersión del papel en este medio se dejó evaporar el disolvente para generar la película superficial de Nylon-6-TiO₂. La inclusión de las nanopartículas en la red polimérica cambia el apilamiento normal de las cadenas de Nylon-6 generando unas estructuras globulares que resultan en una mayor porosidad y, por tanto, mayor capacidad de extracción. Como prueba de concepto se aplicó el soporte fotocatalítico descrito para la degradación de naranja de metilo. Como se puede observar en la Figura 4A, el colorante queda adsorbido sobre el sustrato, y el efecto de la degradación bajo una lámpara UV es apreciable por la pérdida de color. El efecto es más rápido y acusado si se deja el soporte con el colorante bajo acción de la luz solar, ya que se consigue la degradación completa del contaminante en menor tiempo (Figura 4B).

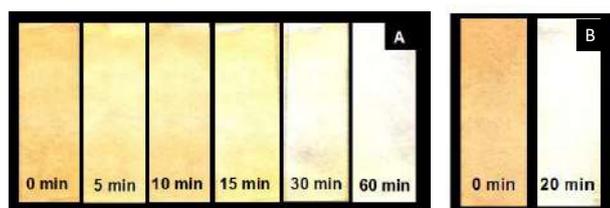


Figura 4. Degradación del naranja de metilo empleando el papel fotocatalítico bajo luz ultravioleta (A) y radiación solar (B). Reproducida de la referencia [9] con permiso de Elsevier.

Para poner de manifiesto el potencial de esta combinación se ha abordado la degradación de estrógenos en muestras de agua. Al igual que ocurrió en el caso del naranja de metilo, la luz UV consiguió degradar hasta un 65% de las hormonas (420 minutos), mientras que la luz solar alcanzó la eliminación cuantitativa (99.5%) de los contaminantes seleccionados en 180 minutos [10].

CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO

La investigación que se ha recogido en este artículo está centrada en la preparación de soportes planos con base papel recubiertos por materiales poliméricos, nanopartículas o la combinación de ambos, que se pueden emplear en el tratamiento analítico de muestras para la separación de los compuestos de interés. El objetivo es mejorar tanto la sensibilidad como la selectividad del proceso de medida. Los soportes que se pueden preparar, además de su sencillez y simplicidad en todas las etapas, son muy versátiles, ya que tanto el polímero como las nanopartículas se pueden seleccionar atendiendo a la química del analito y a la naturaleza de la instrumentación que se vaya a emplear para la identificación/cuantificación.

La evolución de esta línea dentro del grupo va a seguir dos vías principales de trabajo. La primera de ellas es aumentar la versatilidad de la fase sorbente. Uno de los principales desafíos que conlleva la determinación de un grupo amplio de compuestos es que es difícil que todos presenten unas características químicas (hidrofobicidad, pK_a) que permitan su extracción simultánea empleando un mismo recubrimiento. En este sentido, estamos trabajando en el diseño de sustratos en base papel en los que el proceso de extracción se realice por un doble mecanismo aprovechando el carácter hidrofílico de las cadenas de celulosa del papel. Los resultados obtenidos para la extracción de una familia de antibióticos de muestras de agua empleando un papel recubierto de Nylon-6 han sido muy favorables en cuanto al rendimiento de extracción para todos los analitos incluidos en el estudio [11].

Por otro lado, además del papel se ha evaluado el uso de otros soportes de carácter lignocelulósico, como son los

palillos de madera para la preparación de unidades de extracción. La modificación superficial es igualmente sencilla porque se pueden preparar de idéntica manera mediante la técnica de *dip-coating*. En nuestro caso, la propuesta que hemos realizado ha consistido en el recubrimiento de los palillos de madera con Nylon-6 y su empleo para la extracción de drogas de abuso de saliva [12]. La ventaja sobre el papel es que sus dimensiones lo hacen compatible con el tratamiento de muestras de disponibilidad reducida.

Finalmente, los dos formatos de extracción, papel y palillos de madera son compatibles con el análisis directo por espectrometría de masas ambiental, bien en la modalidad de infusión directa o en la de *paper-spray*. La eliminación de la etapa de separación cromatográfica reduce considerablemente los tiempos de análisis (típicamente 2-5 min), aunque para una correcta interpretación de los resultados se requiere que el sustrato sea selectivo o que se emplee un espectrómetro de masas de alta resolución.

Agradecimientos

Se agradece la financiación recibida del Ministerio de Economía y Competitividad MINECO/FEDER (proyecto CTQ2017- 83175-R). Se agradece a los miembros del grupo de investigación que han sido coautores de los artículos que han contribuido al desarrollo de esta línea.

Referencias

- [1] R. Lucena, S. Cárdenas. *Actualidad Analítica*, 61, 60-65, 2018.
- [2] J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdenas. *LCGC Europe*, 60-66, February 2020.
- [3] J. Ríos-Gómez, R. Lucena, S. Cárdenas. *Microchemical Journal*, 133, 90-95, 2017.
- [4] J. Ríos-Gómez, B. Fresco-Cala, M.T. García-Valverde, R. Lucena, S. Cárdenas. *Molecules*, 23, 1252 (1-11), 2018.
- [5] J. Ríos-Gómez, M.T. García-Valverde, A.I. López-Lorente, C. Toledo-Neira, R. Lucena, S. Cárdenas. *Analytica Chimica Acta*, 1094, 47-56, 2020.
- [6] M.C. Díaz-Liñán, A.I. López Lorente, S. Cárdenas, R. Lucena. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 287, 138-146, 2019.
- [7] M.C. Díaz-Liñán, M.T. García-Valverde, R. Lucena, S. Cárdenas, A.I. López-Lorente. *Microchemical Journal*. 160, 105686, 2021.
- [8] M.C. Díaz-Liñán, M.T. García-Valverde, A.I. López Lorente, S. Cárdenas, R. Lucena. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, 3547-3557, 2020.
- [9] J. Ríos-Gómez, B. Ferrer-Monteagudo, A.I. López-Lorente, R. Lucena, R. Luque, S. Cárdenas. *Journal of Cleaner Production*, 194, 167-173, 2018
- [10] G. Mafra, R. Brognoli, E. Carasek, A.I. López-Lorente, R. Luque, R. Lucena, S. Cárdenas. *ACS Omega*, en revisión.
- [11] J.L. Benedé, A. Chisvert, R. Lucena, S. Cárdenas. *Analytica Chimica Acta*, en revision.
- [12] J. Millán-Santiago, M.T. García-Valverde, R. Lucena, S. Cárdenas. *Microchemical Journal*, 162, 2021, 105843.