

### AVANCES EN EL DESARROLLO DE PLATAFORMAS DE PRECONCENTRACIÓN PARA EL ANÁLISIS DE TRAZAS METÁLICAS Y ESPECIACIÓN

Carlos Bendicho, Isela Lavilla, Francisco Pena-Pereira, Inmaculada de la Calle, Vanesa Romero

Centro de Investigación Mariña, Universidade de Vigo, Departamento de Química Analítica e alimentaria, Grupo QAZ, Edificio CC Experimentais, Campus de Vigo, As Lagoas, Marcosende 36310 Vigo, Spain

Las fases sólidas con capacidad sorbente para la separación/preconcentración de diversos analitos, han sido ampliamente utilizadas en el proceso analítico con el fin de mejorar propiedades básicas como la sensibilidad y la selectividad. Estos materiales presentan igualmente aplicaciones importantes en procesos de purificación, remediación y tratamiento del agua. En los últimos años se han diseñado y aplicado diversos nanomateriales (tamaños típicos de 1-100 nm) que junto con otros, como los materiales de acceso restringido, los polímeros de impronta molecular y los polímeros mixtos, permiten abordar el análisis de trazas y la especiación química a los niveles de concentración requeridos [1]. Los nanomateriales poseen, frente a los sorbentes convencionales, una serie de propiedades que los hacen ventajosos: i) Elevada área específica; ii) Elevada densidad de sitios activos superficiales; iii) Baja resistencia a la difusión; iv) Cinéticas rápidas (sorción). Ello redundará en metodologías con características analíticas mejoradas, rápidas, eficientes y más sostenibles.

Actualmente se están desarrollando una gran variedad de nanosorbentes para su empleo en técnicas como extracción en fase sólida (SPE), extracción en fase microsólida ( $\mu$ -SPE) y microextracción en fase sólida (SPME) en sus diferentes modalidades (SPME, TFME, etc.). Por otra parte, se han empleado diversos nanomateriales en combinación sinérgica con técnicas de microextracción en fase líquida con diferentes fines, tales como el incremento de la capacidad de extracción, recuperación de agentes extractantes (*e.g.* líquidos iónicos), o la utilización secuencial de extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida [2]. Centrándonos en el campo del análisis de trazas metálicas y especiación, los nanosorbentes se han empleado principalmente para la especiación de estados de valencia de diferentes metales y metaloides (As, Se, Sb, Cr, etc.), a través de estrategias como el uso de diferente pH, reacciones redox o la funcionalización del nanosorbente para la sorción selectiva de los distintos estados de valencia.

En nuestro grupo de investigación, llevamos varios años desarrollando una línea de trabajo sobre el diseño de nuevos nanosorbentes basados en tres tipos de nanomateriales: i) nanomateriales magnéticos; ii) membranas multicapa de grafeno, y iii) metales nobles. La preparación de nanosorbentes mediante métodos de síntesis convencionales requiere de varias etapas mostradas en la **Figura 1A**. Una estrategia prometedora en la que el grupo ha sido pionero es la integración de varias de las etapas necesarias para llevar a cabo los procesos de sorción [3]. Aparte de la retención de los

analitos a través de las interacciones típicas (polar, no-polar, van der Waals, electrostática, etc.), otra posibilidad que ofrecen ciertos nanosorbentes es la preconcentración sobre los mismos debida a procesos catalíticos en fase heterogénea (gas-sólido). Así, siguiendo estrategias de deposición de vapor químico sobre sustratos sólidos, es posible la preconcentración de elementos de elevada importancia toxicológica y ambiental (As, Sb, Se, Bi, etc.) a través de descomposición catalítica sobre un sustrato nanoestructurado de metales nobles (Pd, Ag, Au, etc.) o en el caso de Hg, mediante un proceso de amalgamación. La combinación sinérgica de estas estrategias junto con instrumentación miniaturizada y transportable, permite llevar a cabo la detección *on-site* de diversos elementos y algunas de sus especies químicas.

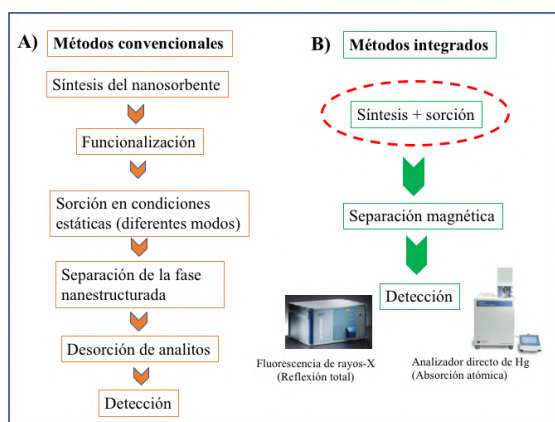
#### Preconcentración mediante nanomateriales magnéticos

Los materiales superparamagnéticos basados en óxidos de hierro (magnetita y maghemita)(SPIONs) permiten llevar a cabo fácilmente separaciones, evitando de esta forma etapas típicas de los procesos de sorción como la centrifugación o la filtración. A diferencia de las partículas de óxido de hierro de gran tamaño, que son ferromagnéticas, y por tanto no pierden la magnetización al desaparecer el campo magnético, las nanopartículas magnéticas basadas en óxidos de hierro son atraídas por un campo magnético, pero no mantienen la magnetización.

En la **Figura 1B** se muestra la simplificación que se puede conseguir integrando varias de las etapas necesarias en un proceso de sorción de trazas metálicas: i) la preparación del sorbente y sorción de analitos de forma simultánea; ii) la separación magnética del sorbente; iii) la utilización de técnicas de análisis que permite llevar a cabo directamente la detección de los analitos retenidos en el sorbente, por ejemplo, fluorescencia de rayos-X o analizadores directos de Hg mediante combustión.

La estrategia seguida ha sido la preparación *in situ* del nanosorbente magnético mediante sonoquímica. La síntesis del nanosorbente realizada de esta forma en la propia disolución acuosa de la muestra permite la retención de los analitos por coprecipitación a través de dos procesos: oclusión y adsorción superficial, sin necesidad de funcionalización del sorbente magnético. Para ello se trata una mezcla de sales de Fe(II) y Fe(III) en proporciones adecuadas en medio alcalino (NH<sub>4</sub>OH) mediante ultrasonidos de alta intensidad transmitidos a través de una sonda ultrasónica. Este método ha

permitido llevar a cabo el control analítico de varios elementos en aguas potables con LODs a nivel ppb-sub-ppb, inferiores a los máximos niveles contaminantes regulados por US EPA [3]. El tiempo de operación total del método es inferior a 10 min.



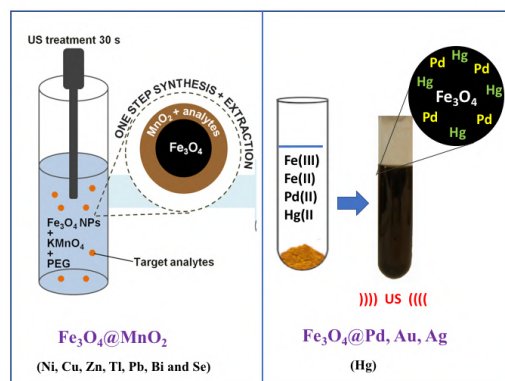
**Figura 1.** Comparación de las etapas necesarias en procesos de preconcentración con nanosorbentes superparamagnéticos. A) Métodos convencionales; B) métodos integrados.

El procedimiento seguido puede considerarse una extracción en fase micro-sólida magnética dispersiva (DM- $\mu$ -SPE), con generación de la fase magnética *in situ*. La eficiencia del nanosorbente magnético puede mejorarse todavía más, si se introducen componentes en la reacción sonoquímica que originan fases sólidas con mayor capacidad sorbente que el propio nanomaterial magnético base ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) (**Figura 2**). Por ejemplo, la reducción sonoquímica de Mn(VII) sobre nanopartículas de magnetita generadas de acuerdo al procedimiento anterior, origina un nanocomposite magnético (núcleo-capas  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MnO}_2$ ), que permite obtener factores de enriquecimiento del orden de 400-500 para elementos como Ni, Cu, Zn, Tl, Pb, Bi y Se y LODs en el intervalo de 0,2-1 ppb [4]. Si en la mezcla original de sales de Fe(II) y Fe(III) se añade una pequeña proporción de una sal de un metal noble (Ag, Au, Pd), es posible retener Hg(II) con elevados factores de preconcentración para su posterior detección. La fluorescencia de rayos-X de reflexión total (TXRF) ofrece un LOD de 2,2 ppb para Hg siguiendo el procedimiento anterior [3], ligeramente superior al límite máximo de contaminación marcado por US EPA para Hg en agua potable. Mediante la preparación *in situ* de un nanocomposite con Pd ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Pd}$ ) en la propia muestra de agua que contiene Hg(II) es posible obtener un LOD de 3,2 ng/L mediante un analizador directo de Hg [5]. Otros nanocomposites tales como  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$  o  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$  ofrecieron igualmente buenos resultados.

### Preconcentración mediante procesos catalíticos sobre nanopartículas metálicas

Una gran variedad de nanopartículas (NPs) metálicas (*e.g.* Ag, Pd, Pt, Au, etc.) de tamaños <5 nm tienen aplicaciones en catálisis debido a su elevada reactividad. Así, las NPs de Pd poseen una gran afinidad por el hidrógeno. Las NPs metálicas pueden emplearse como sustratos en procesos de deposición de vapor químico (CVD) de especies volátiles. Los procesos CVD poseen un

gran interés científico y tecnológico, *e.g.* fabricación de dispositivos microelectrónicos, producción de recubrimientos de fibras o la preparación de sorbentes para la extracción de contaminantes. La actividad catalítica depende del tamaño, forma y composición de las NPs. Cuando disminuye el tamaño, la fracción de átomos superficiales aumenta rápidamente como consecuencia de la elevada superficie específica y densidad de sitios activos, lo cual origina un aumento de la actividad catalítica.



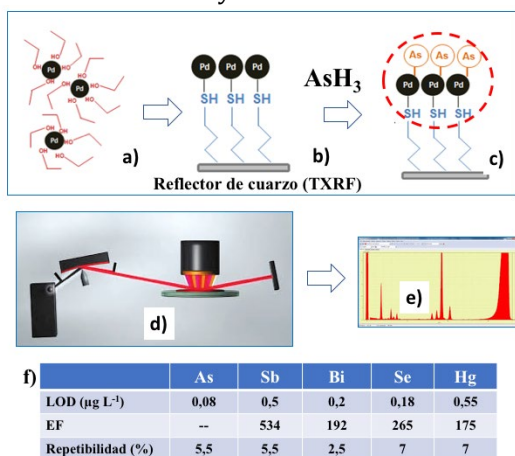
**Figura 2.** Nanocomposites magnéticos para la preconcentración de varios elementos y de mercurio. (Figura adaptada de las Refs. 4 y 5 con permiso de Elsevier).

En nuestro grupo se han llevado a cabo aplicaciones con NPs de Pd, Ag, Rh, Au y Pt como sustratos para llevar a cabo reacciones gas-sólido en las que diferentes hidruros volátiles de elementos como As, Se, Sb, Bi, etc así como de vapor de Hg quedan retenidos sobre los mismos por descomposición catalítica o amalgamación, respectivamente (**Figura 3**). Para ello es necesario inmovilizar las NPs metálicas sobre soportes adecuados como el cuarzo. La retención de los diferentes elementos sobre el soporte de cuarzo permite la aplicación de esta técnica para la detección de los diferentes elementos.

Estas plataformas de preconcentración pueden ser fácilmente adaptadas para la medida por TXRF [6, 7]. Con las plataformas de Pd nanoestructurado, es posible la detección *on-site* de elementos tóxicos como As, Sb, Bi [8-11] con LODs a nivel sub-ppb en aguas mediante un equipo de TXRF transportable. Otros recubrimientos como el de Ag NPs han demostrado su eficiencia para la retención de  $\text{SeH}_2$  y Hg en fase vapor, permitiendo su detección en muestras digeridas de pescado y marisco [12]. A diferencia de las superficies de metales nobles no nanoestructuradas, que únicamente consiguen la descomposición catalítica de hidruros a elevada temperatura (300-450 °C para Pd), estos recubrimientos logran altas eficiencias de descomposición ( $\approx 70\%$ ) a temperatura ambiente. También es posible la retención de Hg (II) directamente a partir de diversos tipos de aguas (potable, residual, marina, etc.) sobre Ag NPs inmovilizadas sobre sustratos de celulosa aplicando una filtración sobre el sustrato como estrategia de preconcentración. Este sistema permite alcanzar un factor de enriquecimiento de 3500. La incorporación del sustrato y su combustión directa en un analizador de mercurio proporcionan un LOD de 0,2 ng/L [13].

**Preconcentración mediante membranas multicapa de grafeno.**

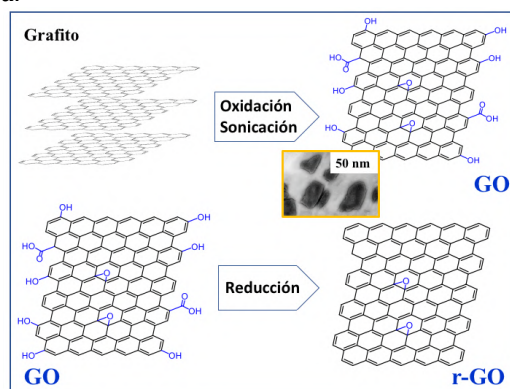
Entre los diversos nanomateriales de carbono, el grafeno ha alcanzado un gran auge en los últimos años como sorbente versátil y eficiente en aplicaciones de extracción en fase sólida y técnicas afines.



**Figura 3.** Preparación de sustratos de cuarzo recubiertos de una capa de Pd nanoestructurado. a) Preparación del coloide de Pd NPs mediante reducción con alcoholes; b) Inmovilización de Pd NPs sobre cuarzo modificado por silanización; d) deposición de vapor químico ( $\text{AsH}_3$ ) sobre el recubrimiento nanoestructurado; d) Análisis por TXRF del sustrato; e) espectro; f) Características analíticas para la detección de As, Sb, Bi, Se y Hg. (Figura adaptada de la Ref. 8 con permiso de la Royal Society of Chemistry).

El grafeno (G) está formado por una o un número limitado de capas de átomos de C con hibridación  $\text{sp}^2$  y organizados de forma hexagonal (panel). La elevada área superficial, el sistema de electrones  $\pi$  deslocalizados y la excelente estabilidad térmica y química de este material, justifican sus crecientes aplicaciones en catálisis, sensores, biomedicina, o en procesos de eliminación de contaminantes por sorción, así como su uso como sorbente en técnicas de extracción y microextracción en fase sólida tanto para iones metálicos como para moléculas orgánicas. Entre los métodos de preparación destaca el de oxidación del grafito originando óxido de grafeno (GO) (Método de Hummers) y posterior reducción para obtener un material con menor número de grupos superficiales con oxígeno (óxido de grafeno reducido, r-GO) (Figura 4). A diferencia de los nanotubos de C o los fullerenos, en este caso se aprovechan ambos lados de las nanoláminas, lo cual origina un sistema con muy elevadas capacidades sorbentes. Una ventaja, no despreciable frente a los nanotubos, es que la síntesis de GO y r-GO a partir de grafito no requiere catalizadores metálicos, limitando así la impurificación del material. Mientras que el G es un material hidrófobo y adecuado para la retención de moléculas orgánicas a través de interacciones  $\pi$ - $\pi$  con los anillos aromáticos, el GO posee un carácter más hidrofílico debido a la presencia de grupos funcionales como hidroxilo, carbonilo y epoxi sobre su superficie, permitiendo interacciones a través de enlaces de hidrógeno e interacciones de tipo electrostático con especies con carga como los iones metálicos. La inmensa mayoría de aplicaciones de los sorbentes basados en grafeno, emplean el formato de

nanoláminas, tal como se origina en la síntesis indicada arriba.

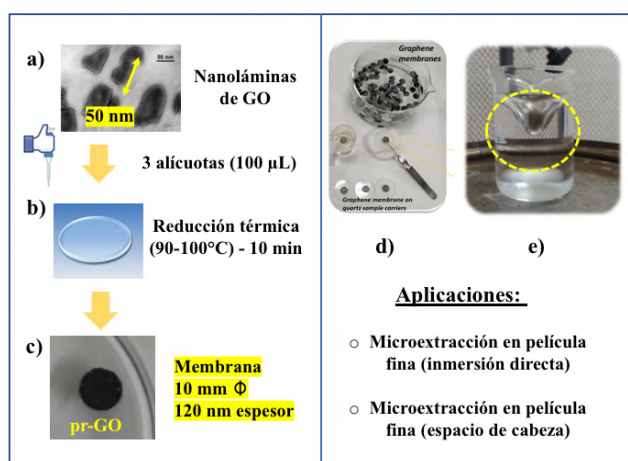


**Figura 4.** Preparación de nanoláminas de óxido de grafeno (GO) a partir de grafito. La reducción térmica suave de GO origina GO parcialmente reducido que conserva parte de los grupos oxigenados.

En este formato, la separación y aislamiento del nanomaterial a partir del medio acuoso donde se lleva a cabo la sorción empleando operaciones de filtración, centrifugación o decantación, presenta ciertas dificultades, dado que se trata de un material ultraligero. En nuestro grupo se inició una línea de trabajo para la preparación de membranas multicapa basadas en grafeno (GO y r-GO), aprovechando por una parte la gran flexibilidad de este formato y en segundo lugar su mínimo espesor (alrededor de 100-200 nm), mientras que se mantiene la capacidad sorbente del material base. Estas membranas son además un sustrato excelente en fluorescencia de rayos-X, dada la baja sensibilidad de esta técnica para elementos de bajo número atómico como el C, debido a la competencia del proceso Auger, originando espectros limpios con muy bajo ruido de fondo. Su implementación en fluorescencia de rayos X de reflexión total, una técnica que permite el análisis de trazas a diferencia de la fluorescencia de rayos-X convencional, origina la combinación perfecta, aunando el bajo espesor del sustrato que es primordial en esta modalidad de rayos X junto con la obtención de elevados factores de preconcentración (contenidos totales de un elemento) así como las posibilidades de ajustar su selectividad para diferentes especies metálicas (especiación) mediante estrategias de funcionalización adecuadas. En última instancia, la implementación de membranas multicapa de grafeno en TXRF, permite alcanzar los límites de detección de técnicas de análisis traza bien establecidas como la espectrometría de absorción atómica en cámara de grafito o la espectrometría de masas con fuente de plasma, empleando, a diferencia de éstas, instrumentación fácilmente transportable, sin los requerimientos de una instalación centralizada, dada la ausencia de gases, refrigeración, etc.

El método novedoso desarrollado en nuestro grupo para la preparación de estas membranas (Figura 5), se basa en un proceso de depósito por goteo (*drop-casting*) de tres alícuotas de la suspensión de nanoláminas de GO sobre un disco de vidrio, cuyo diámetro dependerá del diámetro de las membranas que se desean preparar, permitiendo un secado entre cada depósito, y llevando a

cabo una posterior reducción térmica suave (90-100 °C), donde se produce el autoensamblaje de las nanoláminas originando una estructura de nanoláminas apiladas, y al mismo tiempo se produce una reducción parcial de los grupos que contiene oxígeno (óxido de grafeno parcialmente reducido, pr-GO) como se demuestra a través de estudios por espectroscopia fotoelectrónica de rayos-X (XPS), con lo que la membrana obtenida mantiene parcialmente sus características hidrofílicas pero adquiere una mayor hidrofobicidad que el GO de partida [14].



**Figura 5.** Preparación de membranas multicapa de grafeno (membranas de pr-GO apiladas). A) Se efectúan tres ciclos de depósito sobre discos de vidrio y secado de la dispersión de nanoláminas de GO obtenida a partir del grafito; b) aplicación de un proceso térmico de reducción suave; c) Obtención de membranas multicapa de pr-GO; d) Conservación de las membranas hasta su uso; e) microextracción en película fina con inmersión directa de las membranas en la disolución muestra. (Figura adaptada de las Refs. 14 y 16 con permiso de la Royal Society of Chemistry y Elsevier, resp.).

Estas propiedades son interesantes, ya que la membrana conserva su capacidad de humectabilidad necesaria para el trabajo en medios acuosos. Una propiedad única de estas membranas cuando se emplea en procesos de extracción en fase sólida es la posibilidad de inmersión directa en la muestra acuosa sometida a agitación, debido a su flexibilidad extrema, que le permite adquirir la forma del vortex generado durante la agitación y mantenerse en el centro del vial, lo cuál conlleva un aumento de la velocidad de transferencia de masa y en definitiva, un incremento de las cinéticas de sorción. Una vez finalizado el proceso, la membrana vuelve a adquirir su morfología plana original. Estas membranas se han aplicado hasta el momento en el modo de extracción en fase sólida con inmersión directa para la especiación de Cr(VI) y Cr(III) aprovechando los grupos con oxígeno de superficie de la membrana y para la determinación multielemental de varios elementos previa formación de quelatos con DDTC (en este caso se utiliza la interacción  $\pi$ - $\pi$ ) [15], y la especiación de Mn(II)/MMT (organomanganeso) en el modo de microextracción en película fina en espacio de cabeza [16], aprovechando la elevada volatilidad del MMT.

**Agradecimientos:** Se agradece al Ministerio de Ciencia e Innovación por la financiación de esta línea de trabajo a través de los proyectos CTQ2015-68146-P y RT2018-093697-B-I00.

## Bibliografía

- [1] C. Bendicho, C. Bendicho-Lavilla, I. Lavilla, **Nanoparticle-assisted chemical speciation of trace elements**, *TrAC, Trends in Anal. Chem.* **2016**, 77, 109-121
- [2] C. Bendicho, I. Costas-Mora, V. Romero, I. Lavilla, **Nanoparticle-enhanced liquid-phase microextraction**, *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2015**, 68, 78-87
- [3] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, **In situ ultrasound-assisted synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles with simultaneous ion co-precipitation for multielemental analysis of natural waters by total reflection X-ray fluorescence spectrometry**, *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, 28, 923-933
- [4] E. Nourbala-Tafti, V. Romero, I. Lavilla, S. Dadfarnia, C. Bendicho, **In situ ultrasound-assisted preparation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MnO<sub>2</sub> core-shell nanoparticles integrated with ion-coprecipitation for multielemental analysis by total reflection X-ray fluorescence**, *Spectrochimica Acta Part B* **2017**, 131, 40-47
- [5] I. de la Calle, J. Páez-Cabaleiro, I. Lavilla, C. Bendicho, **One-pot synthesis of a magnetic nanocomposite based on ultrasound-assisted co-precipitation for enrichment of Hg(II) prior to detection by a direct mercury analyzer**, *Talanta*, **2019**, 199, 449-456
- [6] I. De La Calle, N. Cabaleiro, V. Romero, I. Lavilla, C. Bendicho, **Sample pretreatment strategies for total reflection X-ray fluorescence analysis: A tutorial review**, *Spectrochimica Acta Part B* **2013**, 90, 23-54
- [7] I. de la Calle, V. Romero, I. Lavilla, C. Bendicho, **Nanoparticle-assisted stabilization of metal species as an alternative to conventional approaches for avoiding volatilization errors in total reflection X-ray fluorescence: A review**, *Spectrochimica Acta Part B*, **2020**, 168, 105853.
- [8] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, **Facile preparation of an immobilized surfactant-free palladium nanocatalyst for metal hydride trapping: A novel sensing platform for TXRF analysis**, *Nanoscale*, **2015**, 7, 1994-2002
- [9] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, **Room temperature trapping of stibine and bismuthine onto quartz substrates coated with nanostructured palladium for total reflection X-ray fluorescence analysis**, *Spectrochimica Acta Part B* **2015**, 107, 125-131
- [10] V. Romero, M. Gryglicka, I. De La Calle, I. Lavilla, C. Bendicho, **Ultrasensitive determination of mercury in waters via photochemical vapor deposition onto quartz substrates coated with Pd nanoparticles followed by total reflection X-ray fluorescence analysis**, *Microchimica Acta* **2016**, 183, 141-148
- [11] V. Romero, L. Vilas, I. Lavilla, C. Bendicho, **Speciation of inorganic As and Sb in natural waters by total reflection X-ray fluorescence following selective hydride generation and trapping onto quartz reflectors coated with nanostructured Pd**, *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2017**, 32, 1705-1712
- [12] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, **Silver nanoparticle-assisted preconcentration of selenium and mercury on quartz reflectors for total reflection X-ray fluorescence analysis**, *J. Anal. At. Spectrom.* **2014**, 29, 696-706
- [13] I. de la Calle, I. Lavilla, H. Bartolomé-Alonso, C. Bendicho, **Solid-phase extraction of Hg(II) using cellulose filters modified with silver nanoparticles followed by pyrolysis and detection by a direct mercury analyzer**, *Spectrochimica Acta Part B*, **2019**, 161, 105697
- [14] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, **Graphene membranes as novel preconcentration platforms for chromium speciation by total reflection X-ray fluorescence**, *RSC Advances* **2016**, 6, 669-676
- [15] V. Romero, I. Costas-Mora, I. Lavilla, C. Bendicho, **Headspace thin-film microextraction onto graphene membranes for specific detection of methyl(cyclopentadienyl)-tricarbonyl manganese in water samples by total reflection X-ray fluorescence**, *Spectrochimica Acta Part B* **2016**, 126, 65-70
- [16] I. de la Calle, T. Ruibal, I. Lavilla, C. Bendicho, **Direct immersion thin-film microextraction method based on the sorption of pyrrolidine dithiocarbamate metal chelates onto graphene membranes followed by total reflection X-ray fluorescence analysis**, *Spectrochimica Acta Part B* **2019**, 152, 14-24