



UNCUYO
Universidad
Nacional de Cuyo

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Doctorado en Ciencia y Tecnología

Tesis Doctoral

**“Nuevas tecnologías analíticas basadas en
líquidos iónicos magnéticos para el análisis de
especiación de arsénico y antimonio en muestras
de origen ambiental y alimentos”**

Tesista: **Bioq. María Natalia Oviedo**

Director: **Dr. Rodolfo G. Wuilloud**

Mendoza, Argentina – 2023

Instituciones de desarrollo



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO



**FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS
Y NATURALES**
Naturaleza, Ciencia y Humanismo

CONICET



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

I C B

Instituto Interdisciplinario de Ciencias Básicas

(ICB-CONICET UNCUYO)



QUIANID

Laboratorio de Química Analítica
para investigación y desarrollo

Financiamiento

CONICET



AGENCIA
NACIONAL DE PROMOCIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

SIIP

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN,
INTERNACIONALES Y POSGRADO

“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste”

Marie Curie

Dedico esta tesis doctoral a mi familia,
en especial a mis padres, a mi hermano
y a mi abuela, por brindarme su amor,
contención y confianza para que pueda
cumplir mis metas sin importar cuanto cueste.

Agradecimientos

El presente trabajo de Tesis Doctoral ha sido realizado en el Instituto Interdisciplinario de Ciencias Básicas (ICB), unidad ejecutora de doble dependencia perteneciente al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Universidad Nacional de Cuyo (UNCUYO), con sede en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), específicamente en el Laboratorio de Química Analítica para Investigación y Desarrollo (QUIANID). Deseo expresar mi más profundo agradecimiento a dichas Instituciones y a las personas que allí desempeñan sus actividades. Agradezco a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y a CONICET, por haber financiado mis estudios doctorales, haciendo posible realizar el trabajo aquí expuesto.

Al director de esta Tesis, el Dr. Rodolfo G. Wuilloud, por haber confiado en mí desde un primer momento y por permitirme trabajar bajo su dirección durante estos 5 años. Le agradezco por haberme guiado en este camino, por aconsejarme y brindarme su apoyo, aportes y conocimiento, los cuales contribuyeron significativamente a mi desarrollo profesional, así como personal.

A los miembros de la Comisión de Seguimiento del Doctorado, en especial a la Dra. Ofelia Agoglia, por acompañarme en cada una de las etapas de la Tesis, el apoyo y los aportes realizados a lo largo de todo el proceso de mi doctorado. A las autoridades y personal de la FCEN, por haber sido el espacio en el que desarrollé esta Tesis y por haberme dado la oportunidad de hacer actividades de docencia como ayudante. A la Universidad Juan Agustín Maza, lugar donde estudié la carrera de Bioquímica, que me permitió formarme para afrontar el desafío de este doctorado.

A los excelentes docentes de diversas universidades nacionales, incluyendo a la UNCuyo, que, mediante el dictado de distintos cursos de posgrado, me dieron la posibilidad de ampliar y profundizar mis conocimientos sobre la Ciencia y en especial sobre la Química Analítica. Al Dr. Pablo Pacheco del Instituto de Química San Luis, de la Universidad Nacional de San Luis y al Dr. Carlos Acha del Laboratorio de Bajas Temperaturas, de la Universidad de Buenos Aires, por haberme permitido acceder, en colaboración, a equipos fundamentales para el desarrollo de trabajos de la presente Tesis.

Además, quiero agradecer a todos mis compañeros del doctorado, y en especial a los que pertenecen o en algún momento formaron parte del QUIANID, a Aldana, Belén, Cecilia, Pamela, Mauricio, Brenda, Leticia, Estefanía, Eliana, Agustina y en particular a

Emiliano por haberme ayudado desde mi comienzo en el doctorado. Gracias a todos por su afecto, amistad, apoyo, colaboración y todos los aportes que de alguna manera me ayudaron a transitar el desarrollo de esta Tesis. Aprendí mucho de ustedes.

Quiero agradecer de forma muy especial, a mis padres Daniel y Sara, a mi hermano Rubén y a mi abuela Rosa, por su amor, su apoyo incondicional, su contención y por darme esa confianza para seguir adelante y cumplir mis objetivos. Les agradezco por enseñarme siempre valores como el respeto, el esfuerzo y la responsabilidad, que me han permitido crecer tanto personal como profesionalmente. Gracias por aconsejarme y guiarme en este camino. Pero, sobre todo, gracias por estar presente en momentos de alegría, de logros, así como en momentos difíciles, ustedes saben que nuestra unión nos ha permitido ser fuertes y poder vencer los distintos obstáculos que presenta la vida. Agradezco a mis tíos y primos por su apoyo y cariño. Finalmente, agradezco a Dios por darme la serenidad y la fuerza necesaria para afrontar los diversos desafíos que se han ido presentando en esta etapa de la vida.

Prólogo

El análisis de especiación elemental desempeña un papel fundamental generando información necesaria para la comprensión de la biodisponibilidad, toxicidad y movilidad de los elementos en los sistemas biológicos y ambientales. Estos factores se encuentran influenciados no sólo por la naturaleza y concentración del elemento en cuestión, sino también por las distintas especies y combinaciones químicas que este presenta en el sistema en estudio. En consecuencia, en las últimas décadas, se ha contribuido continuamente desde la comunidad científica al desarrollo de diversos métodos de análisis de especiación elemental que usualmente se basan en la combinación de técnicas de separación, extracción y detección elemental.

Entre los numerosos elementos químicos conocidos, el arsénico (As) es un metaloide tóxico muy reconocido que se encuentra presente en organismos vivos y sistemas ambientales. A pesar de su presencia ubicua, no se ha encontrado evidencia de que este elemento cumpla una función biológica específica. Los seres humanos y los animales pueden estar expuestos a diferentes especies inorgánicas de As como As(III) y As(V) y a especies orgánicas como monometil-As (MMA), dimetil-As (DMA), arsenobetaina (AsB), arsenocolina (AsCo), arsenoazúcares y arsenolípidos, entre las conocidas. Esta exposición puede ocurrir principalmente mediante el consumo de agua y alimentos contaminados con As, pudiendo desencadenar una serie de efectos adversos en la salud, incluyendo alteraciones en la piel, el sistema respiratorio, cardiovascular y gastrointestinal, además de manifestar propiedades genotóxicas, mutagénicas y carcinogénicas. Debido a que el As tiene una química compleja, biodisponibilidad, la movilidad y la toxicidad en los sistemas ambientales y biológicos depende en gran medida de la naturaleza química de sus especies. Así, conocer solo la concentración total de As en una muestra no provee suficiente información sobre el potencial riesgo toxicológico de su presencia dentro de estudios ambientales, biológicos y del control de calidad de alimentos. Por lo tanto, es necesario identificar y cuantificar las posibles especies de As.

Asimismo, el antimonio (Sb) es un elemento traza reconocido como tóxico y puede ser un contaminante del ambiente y de los alimentos debido a actividades naturales, así como industriales y urbanas. El Sb en estado elemental es más tóxico que sus sales y la especie Sb(III) es al menos 10 veces más tóxica que Sb(V), lo cual destaca la importancia de realizar el análisis de especiación de dicho elemento. Este elemento puede producir diversos efectos en la salud, como conjuntivitis, gastroenteritis y lesiones en la piel, incluso puede causar cáncer de pulmón ante una exposición prolongada.

Por otro parte, es importante considerar también que las concentraciones de As y Sb en muestras de agua potable, alimentos y de origen ambiental típicamente se encuentran en el orden de unos pocos $\mu\text{g L}^{-1}$, por lo que se requieren técnicas analíticas de alta sensibilidad para su determinación. Este objetivo es aún más desafiante cuando se trata de la determinación individual de cada especie de un dado elemento químico, ya que la concentración de cada especie individual representa una fracción de la concentración total del elemento en estudio. En este sentido, la preconcentración es una etapa de gran importancia para incrementar la sensibilidad de las metodologías analíticas. Dentro de las técnicas de preconcentración, la extracción líquido-líquido (LLE) ha sido ampliamente utilizada para la separación y extracción de elementos traza. Esta técnica involucra el empleo de grandes volúmenes de solventes orgánicos, lo que plantea preocupaciones ambientales debido a la alta volatilidad de estos solventes y la generación de una gran cantidad de residuos. Para abordar este problema y reducir el consumo de solventes, se ha desarrollado la técnica de microextracción líquido-líquido (LLME), una alternativa simplificada que minimiza el uso de reactivos y solventes, promoviendo así el cuidado ambiental.

Los líquidos iónicos (ILs) han ganado popularidad como solventes de extracción en LLME, especialmente porque si reemplazan a los solventes orgánicos clásicos volátiles pueden aportar un beneficio ambiental importante. Sin embargo, muchas técnicas de microextracción basadas en ILs requieren una etapa de centrifugación para separar las fases, lo que prolonga el tiempo total de análisis y aporta al consumo de energía de la práctica analítica. Una alternativa conveniente son los ILs magnéticos (MILs), que incorporan átomos paramagnéticos de metales de transición (Fe, Mn) o elementos de tierras raras (Dy, Nd) en su estructura. Estos átomos exhiben moderada o alta susceptibilidad magnética, lo que permite una fácil y rápida separación de fases mediante la aplicación de un campo magnético externo, eliminando de este modo la necesidad de centrifugación. Además, se ha observado que los MILs pueden absorberse y magnetizar la superficie de nanomateriales no magnéticos como el óxido de grafeno (GO), facilitando su recolección desde un medio acuoso.

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral ha sido la investigación y desarrollo de nuevos métodos analíticos basados en técnicas de microextracción, que emplean MILs con el fin de lograr la separación y cuantificación de especies inorgánicas de As y Sb. En estos métodos se implementaron técnicas de separación no cromatográficas, lo que representó una ventaja significativa en términos de simplicidad y reducción del consumo de reactivos y tiempo. Posteriormente, dichas técnicas fueron vinculadas a técnicas instrumentales espectrométricas, como la espectrometría de absorción atómica

electrotérmica (ETAAS) y la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), para la detección y cuantificación de los elementos de interés, en muestras de origen ambiental y alimentos.

En este trabajo de Tesis Doctoral se demostró la eficiencia de los MILs en técnicas LLME para el análisis de especiación de As y Sb mediante ETAAS en muestras de agua potable y origen ambiental. La aplicación de un MIL evitó el paso de centrifugación clásico involucrado en las técnicas de microextracción para la separación de fases, lo que contribuyó a evitar pasos que consumen mucho tiempo y operaciones adicionales que aumentan la posibilidad de contaminar las muestras. Además, el método propuesto realizó una rápida separación de especies de As inorgánico utilizando instrumentación de bajo costo en comparación con HPLC-ICP-MS. Adicionalmente, la combinación de MILs con nanomateriales no magnéticos, como el GO, en técnicas de microextracción en fase sólida dispersiva (D- μ -SPE), permitió potenciar sinérgicamente las propiedades de ambos materiales. Como resultado, se desarrolló un método simple y selectivo basado en el uso de GO@MIL para la separación de especies inorgánicas de Sb y su posterior determinación por ICP-MS en muestras de agua de grifo, infusiones de té y miel de diferentes tonalidades.

En todos los trabajos, el MIL empleado facilitó la separación de fases mediante su magnetismo intrínseco, eliminando la necesidad de centrifugación y reduciendo el tiempo y la energía requeridos. Además, en los métodos propuestos se minimizó el consumo de reactivos y se evitó el uso significativo de solventes orgánicos inflamables y volátiles como fase de extracción, disminuyendo la generación de residuos. Los métodos propuestos han demostrado ser una herramienta eficiente y selectiva para el análisis de especiación elemental a niveles de ultratrazo en muestras con matrices de mediana o alta complejidad.

La realización del presente trabajo de Tesis Doctoral ha dado lugar a la publicación de diversos trabajos de investigación en revistas de prestigio internacional:

- **"Two-step separation and determination of inorganic as species in water, soil and sediment samples by implementing two ionic liquids in dispersive liquid–liquid microextraction with electrothermal atomic absorption spectrometry detection."** María N. Oviedo, Emiliano F. Fiorentini, Aldana A. Lemos, María B. Botella, Rodolfo G. Wuilloud. *Microchemical Journal* 159 (2020) 105386. Editorial Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105386>.
- **"Ultra-sensitive Sb speciation analysis in water samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction and multivariate**

- optimization."** María N. Oviedo, Emiliano F. Fiorentini, Aldana A. Lemos, Rodolfo G. Wuilloud. Analytical Methods 13 (2021) 1033-1042. Editorial The Royal Society of Chemistry. DOI: <https://doi.org/10.1039/d0ay02276d>.
- **"Alternative solvent systems for extraction and preconcentration of trace elements."** María N. Oviedo, Emiliano F. Fiorentini, Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud. TrAC Trends in Analytical Chemistry 137 (2021) 116227. Editorial Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116227>. (Review)
 - **"A simple and green dispersive micro-solid phase extraction method by combined application of graphene oxide and a magnetic ionic liquid for selective determination of inorganic antimony species in water, tea and honey samples."** María N. Oviedo, María B. Botella, Emiliano F. Fiorentini, Pablo Pacheco, Rodolfo G. Wuilloud. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 199 (2023) 106591. Editorial Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2022.106591>.

Asimismo, el desarrollo del presente trabajo de Tesis Doctoral ha dado origen a la presentación de diversos trabajos en congresos nacionales e internacionales:

- **"Magnetic ionic liquid-based microextraction and preconcentration technique for arsenic speciation analysis by electrothermal atomic absorption spectrometry."**

Autores: María N. Oviedo, Emiliano F. Fiorentini, Rodolfo G. Wuilloud.

Congreso: 15th Rio Symposium on atomic spectrometry, 2019, Mendoza, Argentina.

Modalidad: Presentación oral

- **"Análisis de especiación ultrasensible de especies inorgánicas de antimonio en muestras de agua mediante microextracción líquido-líquido dispersiva con la implementación de un líquido iónico magnético y detección por espectrometría de absorción atómica electrotérmica."**

Autores: María N. Oviedo, Emiliano F. Fiorentini, Aldana A. Lemos, Rodolfo G. Wuilloud

Congreso: LatinXChem, 2020

Modalidad: Online (vía twitter)

- **“Óxido de grafeno funcionalizado con líquidos iónicos magnéticos para la separación y extracción de especies inorgánicas de antimonio y su potencial aplicación en remediación ambiental y metodologías analíticas.”**

Autores: María N. Oviedo, María B. Botella, Emiliano F. Fiorentini, Rodolfo G. Wuilloud

Congreso: 1er Congreso Interuniversitario I+D+i Mendoza, 2021, Mendoza, Argentina.

Modalidad: Póster

- **“Método simple y sustentable para la separación y determinación de especies de antimonio en muestras de agua, té y miel.”**

Autores: María N. Oviedo, María B. Botella, Emiliano F. Fiorentini, P. Pacheco, Rodolfo G. Wuilloud.

Congreso: VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina, 2022.

Modalidad: Póster

Objetivos generales y específicos de la Tesis Doctoral

Desarrollar métodos analíticos ultrasensibles, selectivos y que promuevan el cuidado ambiental, a través de la aplicación de solventes de última generación denominados Líquidos Iónicos Magnéticos (MILs). Estos métodos analíticos permitirán el análisis de especiación elemental en muestras ambientales y alimentos de gran importancia regional.

- 1) Sintetizar y caracterizar MILs para aplicaciones potenciales en técnicas LLME. Se considerarán aquellos con cationes del tipo fosfonio, imidazolio o benzimidazolio y aniones conteniendo elementos paramagnéticos (por ejemplo, Fe, Mn, Co, Dy, etc.).
- 2) Evaluar propiedades magnéticas y capacidad extractante de los MILs preparados.
- 3) Caracterizar los sistemas de LLME basados en MILs en cuanto a su eficiencia de extracción, selectividad hacia especies de As y Sb, preconcentración y posibilidad de recuperación o reciclaje.
- 4) Desarrollar metodologías analíticas ultrasensibles y selectivas que se fundamenten en técnicas LLME basadas en MILs y para el análisis de especiación de As y Sb en muestras con matrices de mediana a alta complejidad.
- 5) Investigar el desarrollo de nuevos métodos analíticos que involucren el uso conjunto de MILs con nanomateriales no magnéticos (por ejemplo, óxido de grafeno) a fines de permitir la separación y extracción de especies de As y Sb en muestras de diversos orígenes.
- 6) Aplicar los métodos analíticos desarrollados para la determinación de As y Sb, y sus especies químicas, en aguas potables y naturales (ej. ríos, lagos, lagunas, subterráneas, etc.) y alimentos de importancia estratégica para la producción de Mendoza (ej. vinos, uvas, ajo, etc.). El objetivo será demostrar la utilidad práctica de los métodos desarrollados frente a las diversas matrices químicas de estas muestras y no se pretende en este punto realizar un monitoreo exhaustivo.

Hipótesis general de la Tesis Doctoral

Nuevos solventes, como son los MILs, con propiedades potencialmente útiles (magnetismo, nula volatilidad, estabilidad térmica, etc.) para el desarrollo de técnicas LLME, permitirán la eficiente microextracción y preconcentración de especies de As y Sb en muestras complejas, promoviendo a la vez el cuidado del ambiente a través de la reducción significativa de la escala de las operaciones (microvolúmenes), la recuperación de las fases extractantes y su reutilización.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Capítulo 1: Introducción	33
1.1 Arsénico	34
1.1.1 Reseña histórica	34
1.1.2 Ocurrencia y obtención	34
1.1.3 Usos	35
1.1.4 Propiedades físicas y químicas	35
1.1.4.1 Especies inorgánicas	36
1.1.4.2 Especies orgánicas	37
1.1.5 Toxicología	39
1.1.5.1 Fase de exposición	40
1.1.5.2 Fase toxicocinética	40
1.1.5.3 Fase toxicodinámica	42
1.1.5.4 Efectos adversos en la salud por la exposición al arsénico	42
1.1.5.5 Tratamiento	43
1.1.6 Análisis de especiación de arsénico	43
1.1.6.1 Arsénico en muestras de origen ambiental	46
1.1.6.2 Arsénico en los alimentos	46
1.2 Antimonio	48
1.2.1 Reseña histórica	48
1.2.2 Ocurrencia y obtención	48
1.2.3 Usos	49
1.2.4 Propiedades físicas y químicas	49
1.2.4.1 Especies inorgánicas	50
1.2.4.2 Especies orgánicas	51
1.2.5 Toxicología	52
1.2.5.1 Fase de exposición	52
1.2.5.2 Fase toxicocinética	53
1.2.5.3 Fase toxicodinámica	53
1.2.5.4 Efectos adversos en la salud por la exposición al antimonio	53
1.2.5.5 Tratamiento	54
1.2.6 Análisis de especiación de antimonio	54
1.2.6.1 Antimonio en muestras de origen ambiental	54

1.2.6.2	Antimonio en alimentos	55
1.3	Espectrometría de absorción atómica electrotérmica	56
1.3.1	Antecedentes históricos	56
1.3.2	Principios básicos de la AAS	56
1.3.3	Instrumentación y funcionamiento	57
1.3.3.1	Fuentes de radiación	58
1.3.3.2	Modulación de la fuente	61
1.3.3.3	Atomización de la muestra	62
1.3.3.4	Sistema de dispersión y separación de la radiación	63
1.3.3.5	Sistema de detección y señal de salida	65
1.4	Espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente	67
1.4.1	Reseña histórica	67
1.4.2	Introducción	67
1.4.3	Instrumentación y funcionamiento	68
1.4.3.1	Introducción de muestra	68
1.4.3.2	Generación de iones	69
1.4.3.3	Interfase de acondicionamiento	70
1.4.3.4	Sistema de focalización de iones	72
1.4.3.5	Analizador de masas	72
1.4.3.6	Sistema de detección	74
1.4.4	Interferencias	74
1.5	Líquidos iónicos	76
1.5.1	Aspectos generales	76
1.5.1.1	Historia	76
1.5.1.2	Composición química	77
1.5.1.3	Propiedades fisicoquímicas	78
1.5.1.4	Síntesis	80
1.5.1.5	Aplicaciones analíticas	82
1.5.2	Líquidos iónicos magnéticos	83
1.5.2.1	Introducción	83
1.5.2.2	Propiedades fisicoquímicas	84

1.5.2.3	Síntesis de líquidos iónicos magnéticos	87
1.5.2.4	Caracterización de líquidos iónicos magnéticos	88
1.5.2.5	Aplicaciones analíticas de los MILs	91
1.6	Técnicas de microextracción y preconcentración	93
1.6.1	Extracción en fase sólida	93
1.6.1.1	Microextracción en fase sólida dispersiva	94
1.6.1.2	Nanomateriales	95
1.6.2	Extracción líquido-líquido	97
1.6.2.1	Microextracción líquido-líquido	98
1.6.2.2	MILs en técnicas de microextracción líquido-líquido	102
1.6.3	Parámetros de evaluación de sistemas de separación/preconcentración	104
1.6.3.1	Factor de enriquecimiento	104
1.6.3.2	Factor de refuerzo de la sensibilidad	104
1.6.3.3	Eficiencia de concentración	105
1.6.3.4	Índice de consumo	105
1.6.3.5	Factor de transferencia de fase	105
1.7	Diseño experimental	106
1.7.1	Introducción	106
1.7.2	Metodología del diseño experimental	106
1.7.3	Diseños	109
1.7.3.1	Diseños de screening	109
1.7.3.2	Diseños de optimización	111
1.7.4	Modelado	112
1.7.4.1	Construcción de modelos para el screening	112
1.7.4.2	Construcción de modelos de superficies de respuesta	113
1.7.4.3	Evaluación del modelo	114
1.7.4.4	Transformación de la respuesta	115
1.7.4.5	Evaluación de los coeficientes individuales en los modelos	116
1.7.4.6	Localización óptima	116
1.7.5	Aplicación a separaciones analíticas	117
1.8	Referencias capítulo 1	118

Capítulo 2: Materiales y métodos **131**

2.1 Instrumentación y materiales **132**

2.1.1	Instrumentos	132
2.1.1.1	Espectrómetro de absorción atómica electrotérmica	132
2.1.1.2	Espectrómetro de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente	132
2.1.1.3	Espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier	134
2.1.1.4	Microscopio electrónico de transmisión	134
2.1.1.5	Dispositivo de interferencia cuántica superconductora	134
2.1.1.6	Espectrómetro de absorción UV-Vis	134
2.1.1.7	Balanza analítica	134
2.1.1.8	Peachímetro	134
2.1.2	Aparatos	135
2.1.2.1	Sistema de centrifugación	135
2.1.2.2	Estufa de secado	135
2.1.2.3	Plancha calefactora	135
2.1.2.4	Rotavapor	135
2.1.2.5	Sistema de agitación	135
2.1.2.6	Micropipetas	136
2.1.2.7	Destilador de agua y equipo de agua ultrapura	136
2.1.3	Materiales	136
2.1.3.1	Material de vidrio	136
2.1.3.2	Imanes	136

2.2 Reactivos **137**

2.2.1	Agua ultrapura	137
2.2.2	Preparación de soluciones patrón	137
2.2.2.1	Solución patrón de As	137
2.2.2.2	Solución patrón de Sb	137
2.2.3	Preparación de modificadores químicos de matriz para ETAAS	138
2.2.4	Reactivos utilizados como agentes complejantes	138
2.2.5	Preparación de soluciones reguladoras	139
2.2.6	Preparación de reactivo utilizado como agente reductor	139
2.2.7	Preparación de reactivos utilizados para ajustar la fuerza iónica	139
2.2.8	Reactivos usados como diluyentes y dispersantes	139

2.2.9	Cationes o aniones interferentes	140
2.2.10	Reactivos utilizados para síntesis de MILs	140
2.2.11	Reactivos utilizados para la síntesis de GO	140

2.3 Síntesis y caracterización de líquidos iónicos magnéticos 141

2.3.1	Síntesis de líquidos iónicos magnéticos con catión imidazolio	141
2.3.2	Síntesis de líquidos iónicos magnéticos con catión fosfonio	141
2.3.3	Caracterización de líquidos iónicos magnéticos	146

2.4 Síntesis y caracterización de óxido de grafeno 153

2.4.1	Síntesis de óxido de grafeno	153
2.4.2	Caracterización de GO y GO@MIL	154

2.5 Recolección y preparación de las muestras 156

2.5.1	Recolección y preparación de las muestras de agua, suelo y sedimento	156
2.5.1.1	Muestras de agua	156
2.5.1.2	Muestras de suelo y sedimento	156
2.5.2	Procedimiento de limpieza de muestras de agua, suelo y sedimento	157
2.5.3	Recolección y preparación de las muestras de té y miel	158

2.6 Referencias capítulo 2 159

Capítulo 3: Resultados y discusión 162

3.1 Análisis de especiación de As en muestras ambientales asistido por dos líquidos iónicos magnéticos 163

3.1.1	Introducción	163
3.1.2	Método desarrollado para el análisis de especiación de As en muestras de origen ambiental	165
3.1.2.1	Determinación de As inorgánico total	166
3.1.2.2	Determinación de As(III)	166
3.1.3	Selección del líquido iónico magnético para la extracción de especies de As	167

3.1.4	Optimización de las variables involucradas en la separación de especies de As	171
3.1.5	Estudio de las condiciones para la extracción y determinación de As(V)	174
3.1.6	Optimización de la extracción y determinación de As inorgánico total	179
3.1.7	Estudio de las condiciones operacionales de ETAAS para la detección de As en líquidos iónicos magnéticos	180
3.1.8	Evaluación de especies potencialmente interferentes	183
3.1.9	Selectividad del método para la determinación de As(III) y As(V)	186
3.1.10	Rendimiento analítico	188
3.1.11	Estudios de exactitud y determinación de As en muestras de agua, suelo y sedimento	192
3.1.12	Conclusiones específicas	195
3.2	Análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua asistido por un líquido iónico magnético	196
3.2.1	Introducción	196
3.2.1	Microextracción y preconcentración de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua	197
3.2.2.1	Determinación de Sb inorgánico total	198
3.2.2.2	Determinación de Sb(V)	198
3.2.3	Estudio comparativo y selección de líquidos iónicos magnéticos	199
3.2.4	Selección del reactivo quelante	201
3.2.5	Optimización multivariada de los parámetros de microextracción	204
3.2.5.1	Estudio de variables categóricas	204
3.2.5.2	Selección de factores estadísticamente significativos	207
3.2.5.3	Análisis de superficie de respuesta	209
3.2.6	Estudio del volumen de diluyente	210
3.2.7	Reducción de Sb(V) a Sb(III)	211
3.2.8	Efecto del líquido iónico magnético sobre la detección de Sb por la técnica ETAAS	212
3.2.9	Estudio de especies potencialmente interferentes	216
3.2.10	Selectividad del método analítico para la determinación de Sb(III) y Sb(V)	217
3.2.11	Rendimiento analítico	219
3.2.12	Determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua	224

3.2.13	Conclusiones específicas	227
--------	--------------------------	-----

3.3	Método simple y sustentable para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua, té y miel combinando óxido de grafeno y un líquido iónico magnético	228
------------	--	------------

3.3.1	Introducción	228
3.2.2	Separación y determinación de especies inorgánicas de Sb en las muestras bajo estudio	230
3.3.3	Selección de agentes complejantes para la extracción selectiva de Sb	232
3.3.4	Optimización multivariada de las variables de extracción	234
3.3.4.1	Análisis de las variables categóricas	234
3.3.4.2	Estudio de la selección de factores	236
3.3.4.3	Superficie de respuesta	238
3.3.5	Estudio del tipo y volumen de MIL	240
3.3.6	Evaluación del tipo y concentración de eluyente	241
3.3.7	Estudio de potenciales interferencias	241
3.3.8	Selectividad analítica del método para la determinación de especies de Sb	242
3.3.9	Rendimiento analítico del método propuesto	244
3.3.10	Determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua, té y miel	249
3.3.11	Conclusiones específicas	253

3.4	Referencias capítulo 3	254
------------	-------------------------------	------------

Capítulo 4: Conclusiones generales y perspectivas futuras	261
--	------------

Índice de Tablas y Figuras

Tablas

1.1.1	Principales propiedades fisicoquímicas del As.	36
1.1.2	Propiedades de las especies de As más comunes.	38
1.1.3	Valores de DL ₅₀ (mg kg ⁻¹) de los principales compuestos arsenicales.	39
1.2.1	Principales propiedades fisicoquímicas del Sb.	50
1.7.1	Diseños de screening comúnmente utilizados en la optimización de un método.	110
1.7.2	Diseños de RSM comúnmente utilizados en la etapa de optimización.	112
2.1.1	Condiciones instrumentales óptimas para la determinación de Sb por ICP-MS.	133
2.3.1	Estructura química y propiedades de los MILs sintetizados.	143
3.1.1	Condiciones experimentales para el análisis de especiación de As.	166
3.1.2	Condiciones instrumentales óptimas en ETAAS para la determinación de As.	182
3.1.3	Selectividad del método propuesto para las especies inorgánicas de As.	187
3.1.4	Métodos analíticos reportados en la literatura para la determinación de As por IL-LLME ETAAS.	190
3.1.5	Resultados del análisis de especiación de As en muestras de agua, suelo y sedimento.	193
3.2.1	Condiciones experimentales para el análisis de especiación de Sb.	198
3.2.2	Condiciones experimentales para la selección de factores significativos.	207
3.2.3	Condiciones experimentales para la superficie de respuesta.	209
3.2.4	Condiciones instrumentales de la técnica ETAAS para la determinación de Sb.	216

3.2.5	Selectividad del método MIL-LLME-ETAAS para la determinación de especies de Sb(III) y de Sb(V).	218
3.2.6	Métodos analíticos reportados para la determinación de Sb basados en diferentes ILs y detectores.	223
3.2.7	Resultados del análisis de especiación Sb en muestras de agua (intervalo de confianza del 95%; n = 6).	225
3.3.1	Condiciones experimentales para la separación y determinación de especies inorgánicas de Sb en agua, té y miel.	231
3.3.2	Parámetros experimentales para la identificación de factores significativos.	237
3.3.3	Parámetros experimentales para la superficie de respuesta.	239
3.3.4	Selectividad del método propuesto para la determinación de las especies Sb(III) y Sb(V).	243
3.3.5	Datos de rendimiento analítico informados en la literatura y análisis AGREE para la determinación de Sb por ICP-MS.	247
3.3.6	Resultados del análisis de especiación de Sb inorgánico en las muestras en estudio (95% intervalo de confianza; n = 6).	250
4.1	Métodos analíticos desarrollados durante la presente tesis doctoral para el análisis de especiación de As y Sb.	266

Figuras

1.1.1	Diagrama de distribución de especies inorgánicas de: a) As(V), b) As(III).	37
1.1.2	Diagrama de potencial redox E vs pH del As.	37
1.1.3	Biotransformación del As inorgánico en humanos.	41
1.1.4	Esquema general de las técnicas más utilizadas para el análisis de especiación de As.	45
1.2.1	Diagrama esquemático indicando las especies de Sb predominantes de acuerdo al intervalo de pH.	51
1.2.2	Diagrama de potencial redox E vs pH del Sb.	51

1.3.1	Representación gráfica de un espectrómetro de absorción atómica electrotérmico.	58
1.3.2	Esquema de una lámpara de cátodo hueco.	59
1.3.3	Esquema de una lámpara de descarga sin electrodos.	60
1.3.4	Esquema de la fuente de emisión de espectro continuo de xenón.	61
1.3.5	Atomizador de Horno de grafito.	62
1.3.6	Programa típico de temperatura aplicado al horno de grafito durante las determinaciones de elementos por la técnica ETAAS.	63
1.3.7	Esquema de dos tipos de monocromadores: a) monocromador de red de Czerny-Turner y b) monocromador de prisma de Busen. (En ambos casos $\lambda_1 > \lambda_2$).	65
1.3.8	Diagrama esquemático de un fotomultiplicador con 11 dinodos.	66
1.4.1	Esquema de los componentes principales de un instrumento ICP-MS.	68
1.4.2	Diagrama esquemático de un ICP.	70
1.4.3	Esquema de la zona de interface de un ICP-MS clásico.	71
1.4.4	Esquema de un analizador de masas cuadrupolar.	73
1.5.1	Cationes y aniones más comunes que forman los IL. R, R', R'' y R''' son cadenas orgánicas lineales: metil, etil, propil, butil, etc.	77
1.5.2	Ejemplo de reacción de cuaternización para obtener ILs de tipo: a) imidazolio, b) fosfonio.	81
1.5.3	Síntesis de MILs basados en el anión tetracloroferrato (III) de: a) 1-butil-3-metilimidazolio, b) trihexil(tetradecil)fosfonio.	87
1.5.4	Ejemplo de espectros IR de MILs tipo fosfonio con distintos aniones.	89
1.5.5	Ejemplo de espectros Uv-Vis de MILs tipo fosfonio con distintos aniones.	89
1.5.6	Resumen esquemático de las propiedades y ventajas de los MILs.	92

1.6.1	Esquema general de la técnica D- μ -SPE.	95
1.6.2	Representación esquemática de algunos nanomateriales basados en carbono que más se utilizan en SPE.	96
1.6.3	Representación esquemática un método basado en IL-LLME.	102
1.6.4	Representación esquemática un método basado en MIL-LLME.	103
1.7.1	Diagrama de Pareto típico.	111
1.7.2	Ejemplo de gráfico de superficie de respuesta.	114
2.1.1	Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer 5100 PC utilizado en la presente Tesis.	132
2.1.2	Espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente marca Perkin-Elmer SCIEX, ELAN DRC-e utilizado en la presente Tesis.	133
2.3.1	Reacciones de síntesis para los MILs evaluados. (a) Tipo imidazolio y (b) tipo fosfonio.	142
2.3.2	Espectros IR de MILs tipo imidazolio sintetizados. (a) $[\text{C}_{12}\text{mim}][\text{FeCl}_4]$, (b) $[\text{C}_{12}\text{mim}]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, (c) $[\text{C}_8\text{mim}][\text{FeCl}_4]$ y (d) $[\text{C}_8\text{mim}]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.	146
2.3.3	Espectros IR de MILs tipo fosfonio sintetizados. (a) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$, (b) $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, (c) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ y (d) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$.	147
2.3.4	Espectros Uv-Vis correspondientes a los MILs: (a) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$, (b) $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, (c) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ y (d) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$.	148
2.3.5	Curvas de M en función de H para calcular la susceptibilidad magnética de a) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$, b) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$ y c) $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$.	152
2.4.1	Esquema general de la síntesis de GO mediante el método de Hummer modificado.	153
2.4.2	Espectros FTIR de (a) MIL ($[\text{P}_{6,6,6,14}]_3\text{DyCl}_6$), (b) GO y (c) GO@MIL.	155

2.4.3	Imágenes TEM de: (a) GO, (b) GO@[P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆], (c) GO@[P _{6,6,6,14}] ₃ [FeCl ₄] y (d) GO@[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄].	155
2.5.1	Representación esquemática del procedimiento de lixiviado de suelo y sedimento.	157
2.5.2	Diagrama ilustrativo del proceso de limpieza de las muestras.	158
3.1.1	Diagrama esquemático del método MIL-LLME-ETAAS propuesto para la determinación de especies inorgánicas de As en agua, suelo y sedimento.	167
3.1.2	Representación gráfica de la susceptibilidad magnética exhibida por Fe(III), Mn(II), Co(II) y Dy(III).	168
3.1.3	Efecto de diferentes agentes complejantes en (a) eficiencia de extracción As(III) y (b) eficiencia de extracción de As(V) (5 mL de muestra a 0,1 mol L ⁻¹ HCl). ■ [P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄] y ■ [P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆]. Otras condiciones experimentales se exhiben en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	170
3.1.4	Estudio de pH para la extracción de 4 µg L ⁻¹ de As(III) con APDC y el MIL [P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆]. Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	172
3.1.5	Influencia de la concentración de APDC en la eficiencia de extracción de 4 µg L ⁻¹ As(III) utilizando el MIL [P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆]. Otras condiciones experimentales se describen en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	172
3.1.6	Efecto del volumen de muestra durante la separación de As(III) y As(V). Otras condiciones experimentales se indican en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	173
3.1.7	Efecto del tipo y tiempo de agitación sobre la eficiencia de extracción. (▲) Vórtex y (●) ultrasonido. Otras condiciones experimentales se detallan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	174
3.1.8	Efecto de la concentración de HCl sobre la eficiencia de extracción de 4 µg L ⁻¹ de As(V) usando el MIL [P _{6,6,6,14}] ₃ [FeCl ₄] para 5 mL de	175

solución de muestra. Otras condiciones experimentales se exhiben en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

- 3.1.9** Efecto del tipo y tiempo de agitación sobre la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). (■) Vórtex y (●) ultrasonido. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 175
- 3.1.10** Influencia del volumen de CHCl_3 como diluyente de la fase MIL en la señal de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As. Otras condiciones experimentales se reportan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 177
- 3.1.11** Efecto del volumen del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ sobre la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) para 5 mL de solución de muestra. Otras condiciones experimentales se detallan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 177
- 3.1.12** Influencia del tipo de dispersante en la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). ■ 0 μL , ■ 50 μL , ■ 100 μL y ■ 150 μL . Otras condiciones experimentales se exhiben en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 178
- 3.1.13** Estudio del tipo de sal en la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). ■ 0%, ■ 1%, ■ 2% y ■ 3%. Otras condiciones experimentales se indican en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 179
- 3.1.14** Influencia de la concentración de HCl en la eficiencia de extracción de As total ($4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) y $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V)) usando 60 μL del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$. ■ As(III) y ■ As(V). Otras condiciones experimentales se describen en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 180
- 3.1.15** Evaluación de las curvas de temperatura de pirólisis (▲) y atomización (●) inyectando 20 μL de una solución de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). (I) Etapa de pirólisis 1, (II) Etapa de pirólisis 2 y (III) Etapa de atomización. Otras condiciones experimentales se reportan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6). 181

3.1.16	Señal obtenida tras la inyección de 20 μL de la fase MIL en CHCl_3 , luego de aplicar el método MIL-LLME-ETAAS propuesto en condiciones óptimas a una solución de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As.	182
3.1.17	Evaluación de las variables involucradas en la etapa de limpieza de las muestras de agua, suelo y sedimento. (a) Tipo de agente complejante, (b) Concentración de 5-Br-PADAP, (c) Tipo y volumen de agente de extracción: volumen de ■ CHCl_3 y ■ diclorometano, (d) Tipo y tiempo de agitación: (■) vórtex y (●) ultrasonido.	185
3.1.18	Gráfica de calibración para As obtenida con el método de preconcentración propuesta y bajo las condiciones experimentales indicadas en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).	189
3.2.1	Diagrama esquemático del método MIL-LLME-ETAAS desarrollado para la determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua.	199
3.2.2	Efecto de la concentración de HCl en la eficiencia de extracción de Sb(III) utilizando $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ (■), $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ (▲) y $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ (●) como solventes de extracción. Otras condiciones se mencionan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).	200
3.2.3	Separación de las gotas del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ con una varilla magnética.	201
3.2.4	Efecto de diferentes agentes complejantes en la eficiencia de extracción de 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) (a 2 mol L^{-1} de HCl). Otras condiciones se indican en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).	202
3.2.5	Efecto de la concentración de HCl sobre la eficiencia de extracción de Sb(III) del método MIL-DLLME. Otras condiciones se indican en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).	203
3.2.6	Influencia de la concentración de DDTP sobre la eficiencia de extracción de 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) utilizando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ como fase de extracción en 6 mL de muestra. Otras condiciones	204

	se mencionan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	
3.2.7	Estudio de los factores categóricos involucrados en el método propuesto. (a) Tipo de agitación: (■) vórtex y (●) ultrasonido. (b) Volumen de dispersantes:  25 µL y  50 µL. (c) Fuerza iónica:  Sin sal,  NaCl,  NaNO ₃ y  NaClO ₄ . Otras condiciones se muestran en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	206
3.2.8	Diagrama de Pareto para determinar los efectos significativos de las variables en la eficiencia de extracción de Sb(III).  Efecto significativo positivo y  efecto significativo negativo. Las condiciones experimentales óptimas se enumeran en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	208
3.2.9	Gráfico de superficie de respuesta para la determinación de Sb(III). Influencia de la concentración de NaCl (% (p/v)) y el tiempo de agitación (min) en la eficiencia de extracción (%) de Sb con un volumen de muestra inicial constante de 6 mL. Las condiciones experimentales óptimas se muestran en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	210
3.2.10	Estudio de la influencia del volumen de CHCl ₃ como diluyente de la fase MIL en la señal de Sb(III). Otras condiciones se mencionan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	211
3.2.11	Efecto de la concentración de KI sobre la eficiencia de extracción de Sb total aplicando el método MIL-LLME-ETAAS. Otras condiciones se reportan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	212
3.2.12	Efecto de la masa de Fe(III) sobre la señal de absorbancia de Sb. Se inyectó un volumen de 20 µL de 200 µg L ⁻¹ de solución estándar acuosa de Sb. Las condiciones instrumentales de ETAAS se indican en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	214
3.2.13	Evaluación de las curvas de temperatura de pirólisis (■) y atomización (▲) para una solución de 200 µg L ⁻¹ Sb(III). (I) Etapa de pirólisis 1, (II) Etapa de pirólisis 2 y (III) Etapa de atomización.	215

	Otras condiciones se observan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	
3.2.14	Señal de absorbancia obtenida al aplicar el método MIL-LLME-ETAAS propuesto en condiciones óptimas a una solución de 6 µg L ⁻¹ de Sb.	215
3.2.15	Curva de calibración obtenida para la determinación de Sb con el método de extracción y preconcentración propuesto y bajo las condiciones experimentales indicadas en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	219
3.3.1	Diagrama esquemático del método propuesto para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua, te y miel.	231
3.3.2	Efecto de diferentes reactivos quelantes sobre la eficiencia de extracción de Sb(III). Otras condiciones se muestran en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	232
3.3.3	Influencia del pH en la eficiencia de extracción de Sb(III) utilizando DDTC como agente complejante y GO como sorbente extractante. Otras condiciones se pueden observar en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	233
3.3.4	Evaluación del efecto de la concentración de DDTC sobre la eficiencia de extracción de Sb(III) a pH 6 para un volumen de 8 mL de muestra. Otras condiciones de extracción fueron las que se muestran en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	234
3.3.5	(a) Estudio del tipo y tiempo de agitación sobre la eficiencia de extracción de Sb (III). (■) Vórtex y (●) ultrasonido. (b) Fuerza iónica. Otras condiciones fueron las indicadas. Otras condiciones fueron las mencionadas en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	236
3.3.6	Gráfico de Pareto utilizado para determinar factores significativos involucrados en la eficiencia de extracción de Sb(III). A: Volumen de muestra, B: Masa absorbente, C: Tiempo de agitación, D: Concentración de sal. ■ Efecto significativo positivo y ■ efecto significativo negativo. Otras condiciones fueron las mencionadas en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	238

3.3.7	Gráfica de superficie de respuesta correspondiente para determinar las condiciones óptimas de extracción. Influencia de la concentración de NaNO ₃ (% (p/v)) y el volumen de muestra (mL) en la eficiencia de extracción de Sb con un tiempo de agitación inicial constante de 10 min. Las condiciones experimentales óptimas se indican en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	240
3.3.8	Magnetización de las nanopartículas de GO cuando se combinan con el MIL [P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆].	241
3.3.9	Curva de calibración para Sb obtenida bajo las condiciones experimentales indicadas en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).	245

Abreviaturas / Abbreviations

La mayoría de las abreviaciones y acrónimos utilizados a lo largo de esta Tesis derivan de los nombres de las respectivas técnicas, materiales o instrumentos en inglés, ya que aún en idioma castellano suelen ser las más utilizadas.

AA-DLLME	Microextracción dispersiva líquido-líquido asistida por aire / Air-assisted dispersive liquid-liquid microextraction
AAS	Espectrometría de absorción atómica / Atomic absorption spectrometry
AES	Espectrometría de emisión atómica / Atomic emission spectrometry
AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica / Atomic fluorescence spectrometry
ANOVA	Análisis de varianza / Analysis of variance
APDC	Pirrolidinditiocarbamato de amonio / Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate
ASV	Voltamperometría de redisolución anódica / Anodic stripping voltammetry
ATP	Adenosin trifosfato / Adenosine triphosphate
ATR	Reflectancia total atenuada / Attenuated total reflectance
CE	Eficiencia de concentración / Concentration efficiency
CG	Cromatografía gaseosa / Gas chromatography
CI	Índice de consumo / Consumption index
CRM	Material de referencia certificado / Certified reference material
CSV	Voltamperometría de redisolución catódica / Cathodic stripping voltammetry
DDTC	Dietilditiocarbamato / Diethyldithiocarbamate
DDTP	Dietilditiofosfato / Diethyldithiophosphate
DFBETAS	Diferencia entre coeficientes de regresión / Difference between regression coefficients
DFFITS	Diferencia entre valores predichos / Difference between predicted values

DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva / Dispersive liquid-liquid microextraction
DOE	Diseño multivariado de experimentos / Multivariate design of experiments
DPP	Polarografía de pulso diferencial / Differential pulse polarography
DSPE	Extracción en fase sólida dispersiva / Dispersive solid phase extraction
D-μ-SPE	Microextracción en fase sólida dispersiva / Dispersive micro-solid phase extraction
EDL	Lámpara de descarga sin electrodos / Electrodeless discharge lamp
EF	Factor de enriquecimiento / Enrichment factor
ETAAS	Espectrometría de absorción atómica electrotérmica / Electrothermal atomic absorption spectrometry
FAAS	Espectrometría de absorción atómica con llama / Flame atomic absorption spectrometry
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura / Food and Agriculture Organization of the United Nations
FT-IR	espectrometría infrarroja por transformada de fourier / Fourier transform infrared spectrometry
GC	Cromatografía gaseosa / Gas chromatography
GO	Óxido de grafeno / Graphene oxide
HACRE	Hidroarsenicismo crónico regional endémico / Regional endemic chronic hydroarsenism
HCL	Lámpara de cátodo hueco / Hollow cathode lamp
HF-LPME	Microextracción en fase líquida con fibra hueca / Hollow fiber liquid phase microextraction
HG-AAS	Espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros / Hydride generation atomic absorption spectrometry
HG-AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros / Hydride generation atomic fluorescence spectrometry

HPLC	Cromatografía líquida de alta performance / High-performance liquid chromatography
IARC	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer / International Agency for Research on Cancer
IC	Cromatografía iónica / Ion chromatography
ICP-MS	Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo / Inductively coupled plasma mass spectrometry
ICP-OES	Espectrometría de emisión óptica con fuente de plasma acoplado inductivamente / Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry
IL	Líquido iónico / Ionic liquid
LLE	Extracción líquido-líquido / Liquid-liquid extraction
LLME	Microextracción líquido-líquido / Liquid-liquid microextraction
LOD	Límite de detección / Limit of detection
MAE	Extracción asistida por microondas / Microwave-assisted extraction
MIL	Líquido iónico magnético / Magnetic ionic liquid
MS	Espectrometría de masas / Mass spectrometry
MSPD	Dispersión de matriz en fase sólida / Matrix solid phase dispersion
MSPE	Extracción en fase sólida magnética / Magnetic solid phase extraction
NAA	Análisis de activación de neutrones / Neutron activation analysis
OMS	Organización Mundial de la Salud / World Health Organization
RMN	Resonancia Magnética Nuclear / Nuclear magnetic resonance
RSD	Desviación Estándar Relativa / Relative standard deviation
RSM	Metodología de superficie de respuesta / Response surface methodology
SBSE	Extracción por sorción con barra de agitación / Stir bar sorptive extraction
SDME	Microextracción en gota única / Single-drop microextraction

SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño / Size exclusion chromatography
SPE	Extracción en fase sólida / Solid phase extraction
SQUID	Dispositivo de interferencia cuántica superconductora / Superconducting quantum interference device
TA-DLLME	Microextracción dispersiva líquido-líquido asistida por temperatura / Temperature-assisted dispersive liquid-liquid microextraction
TEM	Microscopía electrónica de transmisión / Transmission electron microscopy
UA-DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por ultrasonido / Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction
U.S. EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos/ United States Environmental Protection Agency
UV-Vis	Espectrometría de absorción ultravioleta-visible / Ultraviolet-visible absorption spectrometry
VA-DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por vórtex / Vortex-assisted ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction

Capítulo 1

Introducción

1.1 Arsénico

1.1.1 Reseña histórica

El arsénico (As) fue descrito por primera vez por Theophrastus en el 300 a.C. quien lo nombró como "arsenikon" refiriéndose a su naturaleza "potente", aunque originalmente se consideraba una forma alternativa del azufre. Sin embargo, no fue sino hasta el año 1250 que el científico, teólogo y filósofo Albertus Magnus, pudo aislar el elemento del mineral oropimente o trisulfuro de diarsénico (As_2S_3) [1]. En el siglo XVIII, se sintetizó la solución de Fowler (trióxido de arsénico, As_2O_3) en solución de bicarbonato de potasio (1% p/v), la cual se usó para tratar diversas enfermedades, como malaria, sífilis y psoriasis. Desde la década de 1880, se ha descrito el uso de pastas de As y ácido arsénico, para el tratamiento de cánceres de piel y de mama, y para el tratamiento de la hipertensión [2]. Posteriormente, ciertos compuestos de As orgánico se produjeron como armas químicas entre la Primera y Segunda Guerra Mundial, y fueron en gran parte variantes del tricloruro de arsénico o tricloroarsina [3].

1.1.2 Ocurrencia y obtención

El As es un elemento ampliamente distribuido en el ambiente y organismos vivos y está presente en la corteza terrestre en una concentración de aproximadamente $3,4 \text{ mg kg}^{-1}$ [4]. En la naturaleza, se encuentran más de 300 minerales que contienen As, siendo aproximadamente 60% arseniatos, 20% sulfuros y sulfosales, 10% óxidos y el resto arsenitos, arseniuros, elementos nativos y aleaciones metálicas. El mineral más abundante que contiene As es el sulfuro de hierro y arsénico o arsenopirita (FeAsS), además, existen otros minerales como el sulfuro de arsénico o rejalgar (As_4S_4) y el sulfuro de cobalto y arsénico o cobaltina (CoAsS) [5]. El As puede obtenerse a partir de FeAsS mediante el calentamiento al vacío del mineral, permitiendo así la sublimación del As y la deposición de residuo sólido de sulfuro ferroso. No obstante, la mayoría del As se comercializa bajo la forma de óxido. Se obtiene el As_2O_3 como producto del proceso de fusión de minerales de cobre (Cu), plomo (Pb), oro (Au) y Co, el cual se volatiliza y es arrastrado por los gases de la chimenea, luego estos gases se refinan, mezclándolos con pequeñas cantidades de galena o pirita para evitar la formación de arsenito y por tostación se obtiene el As_2O_3 con una pureza de alrededor del 95% o del 99% si se realizan sucesivas sublimaciones. Se estima que los recursos globales de Cu y Pb contienen aproximadamente 11 millones de toneladas de As [6].

1.1.3 Usos

El As inorgánico ha sido aplicado en la síntesis de insecticidas bajo la forma de arseniato de plomo y herbicidas como arsenito de potasio, ambos actualmente prohibidos por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) [7]. Actualmente, dichos compuestos han sido reemplazados por compuestos arsenicales orgánicos como agentes herbicidas y plaguicidas, además, se han empleado en menor concentración que los arsenicales inorgánicos, disminuyendo problemas relacionados con la acumulación de As en suelos agrícolas. Los compuestos orgánicos de As como los fenil-derivados se emplean en piensos, debido a su acción antimicrobiana y coccidiostática, además promueven el crecimiento, mejoran el plumaje de las aves e incrementan la producción de huevos [8]. El As se utiliza como preservante de maderas (arsenito de cobre y cromo) y en la producción de perdigones (en aleaciones con Pb), así como en la fabricación de semiconductores para circuitos integrados bajo la forma de arseniuro de galio y en la construcción de diodos de láser y LED. Además, el As_2S_3 se ha sido aplicado como pigmento para pinturas y fuegos artificiales, y el As_2O_3 como decolorante en la fabricación del vidrio para la eliminación del color verde que es producido por las impurezas de Fe [9].

1.1.4 Propiedades físicas y químicas

El As es un elemento que pertenece al Grupo 15 de la tabla periódica, siendo su configuración electrónica externa $[\text{Ar}] 3d^{10} 4s^2 4p^3$. Este elemento existe bajo 4 estados de oxidación (-III, 0, +III y +V) y químicamente se lo clasifica como un metaloide, debido a que presenta propiedades tanto metálicas como no metálicas. El As presenta un isótopo natural y estable, ^{75}As , el cual se encuentra en una abundancia del 100%. Además, posee 32 isótopos inestables, cuyo período de semidesintegración oscila entre 0,09 segundos para el caso de ^{66}As y 80,3 días para ^{73}As . El ^{74}As es un radioisótopo utilizado en la localización de tumores cerebrales [10].

Existen 3 variedades alotrópicas de este elemento: gris, amarillo y negro. El As gris (forma α), es la forma estable en condiciones normales y posee una estructura romboédrica, con buena conductividad térmica pero pobre conductividad eléctrica, es deleznable y pierde el brillo metálico al exponerse al aire. El As amarillo (forma γ) se obtiene cuando el vapor de As se enfría rápidamente. Es extremadamente volátil y más reactivo que el As metálico y presenta fosforescencia a temperatura ambiente. Expuesto a la luz o al calor se revierte a la forma estable. La tercera variedad alotrópica corresponde a la del As negro (forma β), de estructura hexagonal y con propiedades

intermedias entre las formas α y γ . Se obtiene por la descomposición térmica de la arsina (AsH_3) o bien enfriando lentamente el vapor de As [11]. En la Tabla 1.1.1 se resumen algunas propiedades del elemento.

Tabla 1.1.1 Principales propiedades fisicoquímicas del As.

Propiedad	Valor
Número atómico	33
Masa atómica relativa	74,9
Punto de fusión (°C)	614
Punto de ebullición (°C)	817
Densidad (g mL^{-1})	5,72
Radio medio (pm)	115
Electronegatividad	2,0
Conductividad eléctrica (S m^{-1})	$3,45 \times 10^6$
Conductividad térmica ($\text{W K}^{-1} \text{m}^{-1}$)	50,0

1.1.4.1 Especies inorgánicas

El catión pentavalente tendría una relación carga/radio tan alta que no sería posible su existencia en solución acuosa, por lo tanto, el As(V) se presenta principalmente como anión arseniato, protonado en mayor o menor medida (Figura 1.1.1a), mientras que el As(III) existe como H_3AsO_3 y sus correspondientes derivados protolíticos, de acuerdo al valor de pH (Figura 1.1.1b) [12]. Asimismo, su estado de oxidación y, por lo tanto, su movilidad en diferentes medios, están fuertemente influenciados por las condiciones redox (potencial redox, E) y el pH (Figura 1.1.2) [10]. En condiciones oxidantes y a valores de pH aproximadamente menores de 6,9; predomina la forma H_2AsO_4^- , mientras que, a un pH más alto el anión HAsO_4^{2-} se vuelve dominante (H_3AsO_4 y AsO_4^{3-} pueden estar presentes en condiciones extremadamente ácidas y alcalinas, respectivamente). Por otro lado, en condiciones reductoras, a un pH inferior a aproximadamente 9,2; predominará la especie de H_3AsO_3 .

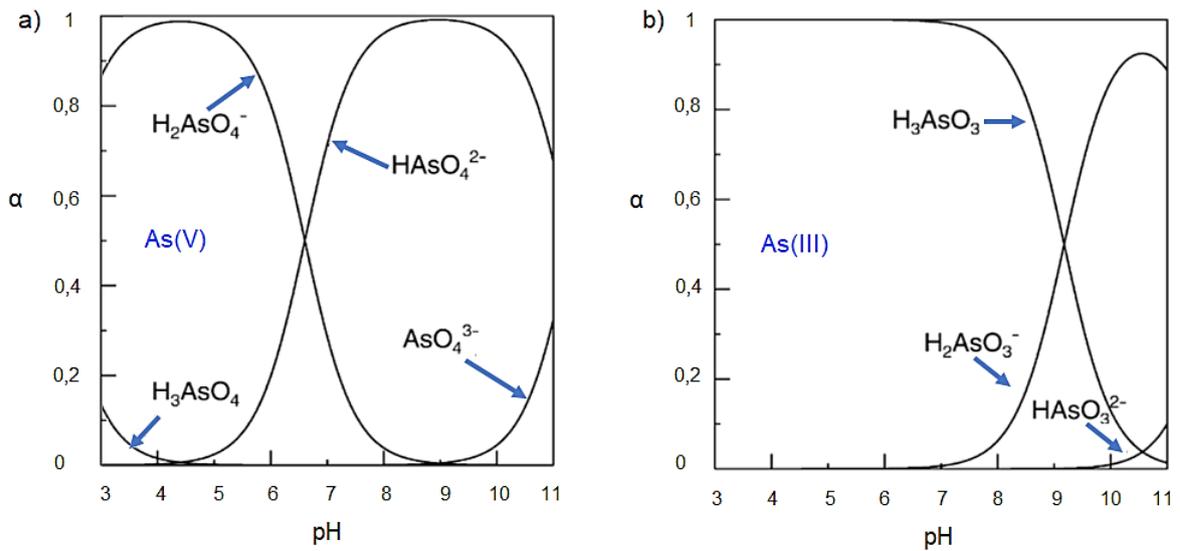


Figura 1.1.1 Diagrama de distribución de especies inorgánicas de: a) As(V), b) As(III).

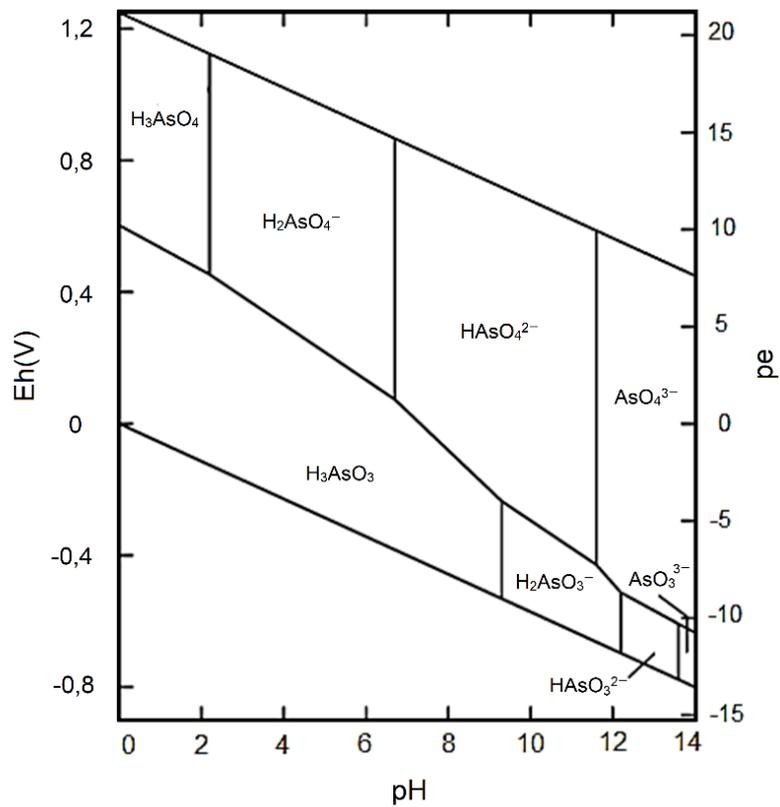


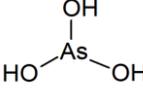
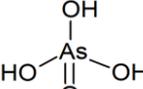
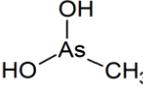
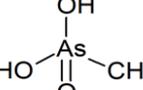
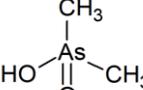
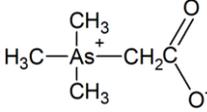
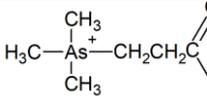
Figura 1.1.2 Diagrama de potencial redox E vs pH del As.

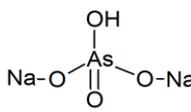
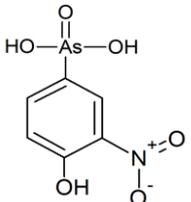
1.1.4.2 Especies orgánicas

En las especies orgánicas arsenicales, el As está unido a un átomo de carbono por medio de enlaces covalentes. En este tipo de unión, el As puede estar tanto en su

forma trivalente como pentavalente. Estos compuestos suelen producirse por actividad biológica de microorganismos, principalmente en aguas superficiales, pero rara vez son cuantitativamente importantes. Sin embargo, las formas orgánicas pueden existir donde las aguas se ven afectadas significativamente por la contaminación industrial [10]. En la Tabla 1.1.2 se resumen los principales compuestos arsenicales y algunas de sus propiedades.

Tabla 1.1.2 Propiedades de las especies de As más comunes.

Compuesto	Composición elemental	Estructura	Peso molecular	pKa	Ref.
Ácido arsenioso	H ₃ AsO ₃		125,94	9,23 12,1	[4]
Ácido arsénico	H ₃ AsO ₄		141,94	2,25 7,25 12,3	[4]
Ácido monometilarsénico	CH ₅ AsO ₂		123,97	4,10 8,70	[13]
Ácido monometilarsónico (MMA)	CH ₅ O ₃ As		139,97	4,26 8,25	[4]
Ácido dimetilarsínico (DMA)	C ₂ H ₇ O ₂ As		137,99	6,25	[4]
Arsenobetaina (AsB)	C ₅ H ₁₁ AsO ₂		178,06	2,18	[14]
Arsenocolina (AsC)	C ₅ H ₁₃ AsO		163,96	N.R.	[14]

Metilarsenato disódico (DSMA)	Na_2HAsO_4		185,90	N.R.	[15]
Roxarsona (ácido 3-nitro-4 hidroxifenilarsónico) (ROX)	$\text{C}_6\text{H}_6\text{NO}_6\text{As}$		263,03	3,49 5,74 9,13	[16]

N.R.: No reportado.

1.1.5 Toxicología

El As es un metaloide altamente tóxico y se ha demostrado que es una sustancia cancerígena para el ser humano [17]. La toxicidad de los compuestos de As depende principalmente de la naturaleza química de sus especies, estado de oxidación, solubilidad, estado físico, pureza, y tasas de absorción y eliminación. En términos generales, las especies inorgánicas de As son más tóxicas que los compuestos orgánicos arsenicales, y a su vez, la toxicidad del As(III) es mayor a la del As(V) [18]. Los valores de DL_{50} de los principales compuestos de As se indican en la Tabla 1.1.3. Por otro lado, las especies de As que se absorben en menor tiempo tienen mayor toxicidad, mientras que las que tienden a eliminarse más fácilmente del organismo suelen ser menos tóxicas.

Tabla 1.1.3 Valores de DL_{50} (mg kg^{-1}) de los principales compuestos arsenicales [19, 20].

Compuesto	LD_{50} [mg kg^{-1}]
As elemental	763
Especies de As(III) inorgánicas	
As_2O_3	14
HAsO_2	14
AsO_3^{3-}	14
AsCl_3	14
As_2S_3	14
Especies de As(V) inorgánicas	
As_2O_5	20
H_3AsO_4	20
HAsO_3	20

AsO ₄ ³⁻	20
MMA	1800
DMA	2600
AsH₃	3
AsB	>10,000
AsC	>6500

N.R.: No reportado.

1.1.5.1 Fase de exposición

El As está ampliamente distribuido en la naturaleza, por lo que la exposición a este elemento puede ocurrir mediante el consumo de agua y alimentos contaminados o por contacto con aire contaminado. La contaminación por la presencia de As en las aguas subterráneas es un serio problema para la salud pública y para el ambiente que afecta a millones de personas a nivel mundial [17]. En la mayoría de los países afectados, el agua subterránea actúa como vehículo para que el As ingrese a la cadena alimentaria a través de la ingesta e irrigación de cultivos alimentarios con agua contaminada con As. Es por eso, que se ha establecido una máxima concentración de As total admisible en el agua potable, la cual es de 10 µg L⁻¹ según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (U.S.EPA) [21] y la Organización Mundial de la Salud (OMS) [22]. En cuanto a los alimentos, la principal fuente de As que puede aportarse a la dieta es mediante el consumo de pescado (principalmente como AsB), seguido de carnes, leche, frutas, arroz y cereales [23]. Por otra parte, el As está presente en la atmósfera como As₂O₃ principalmente en forma de partículas, siendo liberado por fuentes naturales como actividades volcánicas, o bien, por fuentes antropogénicas como operaciones de fundición, combustión de combustibles fósiles y pesticidas. Además, se ha reportado que el As es un componente del humo del tabaco, siendo un elevado factor de riesgo para el cáncer de vejiga y el cáncer de pulmón [19].

1.1.5.2 Fase toxicocinética

El As se puede absorber a través del tracto gastrointestinal, por vía respiratoria (la cual depende del tamaño de las partículas inhaladas, de su estructura química y de su solubilidad) y, en menor medida, por vía dérmica. Cuando pasa al torrente sanguíneo, el metaloide es transportado hacia todos los tejidos, mediante la formación de un complejo de α-globulina-As [24]. La distribución del As en el cuerpo es bastante constante, pero se distribuye mayormente en el hígado, piel, faneras, pulmones y riñones [25]. El As se metaboliza principalmente en el hígado y, pese a que su

mecanismo no es del todo conocido, se ha propuesto que en él intervienen dos mecanismos. El primero involucra reacciones de reducción del As(V) a As(III), y en el segundo intervienen reacciones de metilación oxidativa, que transforman el As(III) en especies metiladas. En la Figura 1.1.3 se presenta un esquema de las diferentes rutas metabólicas que experimenta el As inorgánico.

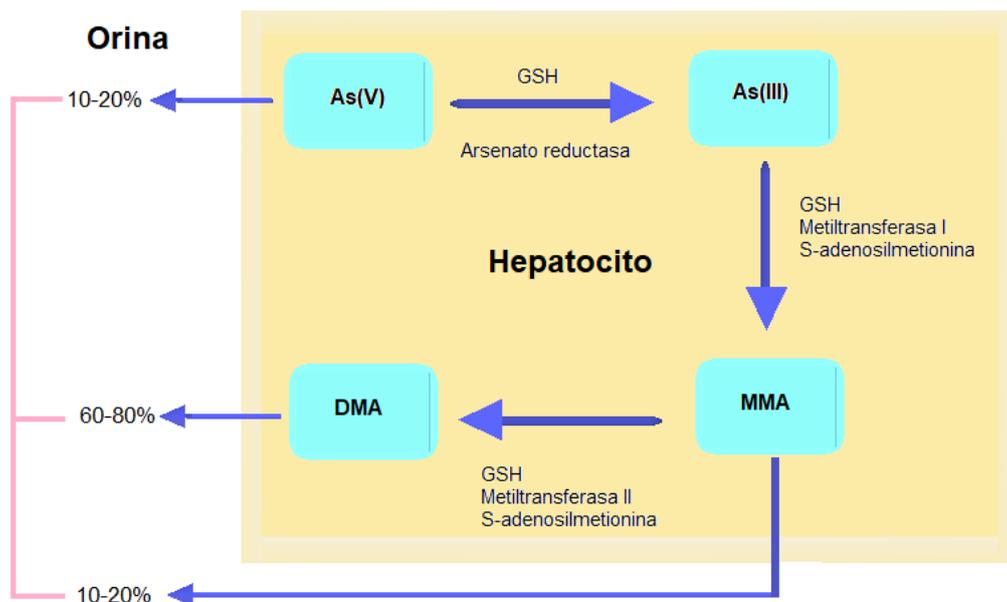


Figura 1.1.3 Biotransformación del As inorgánico en humanos [26].

Como producto de la primera metilación se obtiene el compuesto MMA y luego de una segunda metilación, se produce el DMA, siendo el donante de grupos metilo la S-adenosilmetionina, y el principal agente reductor y transportador del As el glutatión reducido (GSH). La capacidad de metilación del metaloide depende de varios factores, entre ellos, la dosis, el tiempo de exposición, la incorporación de metionina a través de la dieta y el probable polimorfismo genético de las enzimas involucradas en las reacciones de metilación [26]. Finalmente, el As es excretado principalmente a través del riñón como DMA en aproximadamente un 60%, mientras que, alrededor de un 20% se excreta como MMA y un 20% como As inorgánico. Estas proporciones pueden variar según la forma química del elemento, el tiempo de exposición, la dosis y la especie animal expuesta. Asimismo, las concentraciones de As medidas en la orina pueden usarse como biomarcadores de la exposición al As en humanos [27].

1.1.5.3 Fase toxicodinámica

El mecanismo de acción por el cual el As causa toxicidad es principalmente a través de la interacción del As(III) con los grupos sulfhidrúlicos (-SH) que están presentes en algunas proteínas, como enzimas, obstruyendo el metabolismo celular y generando complicaciones respiratorias y cardiovasculares. Por otra parte, el As(V) actúa sustituyendo los grupos fosfato en las reacciones catalizadas por enzimas, afectando procesos como la producción de adenosín trifosfato (ATP), un nucleótido fundamental en la obtención de energía a nivel celular y la síntesis del ADN [28].

1.1.5.4 Efectos adversos en la salud por la exposición al arsénico

El desarrollo de la sintomatología clínica varía dependiendo del tipo de exposición. Durante la exposición aguda al As, los síntomas se desarrollan mucho más rápido, mientras que en la exposición crónica se desarrollan durante un período prolongado. Por un lado, los síntomas más inmediatos de intoxicación aguda por el metaloide incluyen vómitos, dolor abdominal y diarrea. Asimismo, aparecen otros efectos relacionados al sistema nervioso, como entumecimiento u hormigueo en las manos y los pies o calambres musculares, como también alteraciones cardiovasculares. Además, se producen alteraciones hematológicas caracterizadas por anemia y leucopenia. En casos extremos, puede provocar la muerte. Por otro lado, durante la exposición prolongada a altas concentraciones de As inorgánico se producen cambios de pigmentación y lesiones cutáneas, durezas y callosidades en las palmas de las manos y las plantas de los pies (hiperqueratosis). Estas alteraciones suelen manifestarse luego de una exposición mínima de aproximadamente cinco años y pueden ser potenciales precursoras de cáncer de piel [29].

La enfermedad conocida como “Pie Negro” o Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico (HACRE), es el resultado de la exposición prolongada al As a través del consumo de agua y alimentos contaminados con concentraciones superiores de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Esta enfermedad fue descrita por el Dr. A. Ayerza a comienzos del siglo XX en Bell Ville (Córdoba, Argentina) y la llamó “enfermedad de Bell Ville”. En Argentina, alrededor de 4 millones de personas están expuestas a altas concentraciones de As en el agua que consumen, siendo las provincias de Córdoba, Santiago del Estero y Chaco las más afectadas. Esta patología presenta una clínica relacionada con trastornos de la piel como leucodermia y/o queratosis palmo-plantar, además puede desencadenar complicaciones como diabetes, arteriopatías, y cáncer de piel y de órganos internos como esófago, estómago, hígado, colon, pulmón, vejiga y próstata [30].

1.1.5.5 Tratamiento

Dependiendo de la gravedad de la sintomatología, puede realizarse un tratamiento de sostén y sintomático, estabilizando hemodinámicamente al paciente, un lavado gástrico utilizando carbón activado (preferible a los eméticos), o puede optarse por el uso de quelantes, tales como dimercaprol, ácido dimercaptosuccínico o d-penicilamina [31].

1.1.6 Análisis de especiación de arsénico

La amplia distribución de las especies de As en el ambiente y los alimentos, así como su variable toxicidad, destacan la necesidad de identificar y cuantificar los compuestos individuales para comprender su compleja química ambiental y biológica. En este sentido, es evidente que la determinación del As total por sí sola no proporciona información suficiente sobre su movilidad, biodisponibilidad y toxicidad [4]. Por lo tanto, debe combinarse con el análisis de especiación elemental lo que permitirá una mejor comprensión de su comportamiento en el ambiente y su impacto en la salud. Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) se define como análisis de especiación al conjunto de actividades analíticas tendientes a identificar y/o medir las cantidades de una o más especies químicas individuales en una muestra [32]. Existen diversas técnicas para la separación y detección de especies de elementos. En particular, el acoplamiento con cromatografía líquida (LC) o electroforesis capilar para la separación de especies, junto con la espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) para la detección, se ha establecido como una técnica altamente efectiva [14]. A pesar del rendimiento de los sistemas cromatográficos modernos, a veces la baja concentración del analito en presencia de una gran cantidad de interferencias podría requerir un paso de pretratamiento de la muestra. La elección de la técnica adecuada depende de la naturaleza de la matriz de la muestra y del analito de interés, y debe ser cuidadosamente evaluada para asegurar una elevada recuperación y minimizar errores analíticos [33].

Además, como alternativa a los métodos cromatográficos o electroforéticos, se han propuesto técnicas extractivas más simples que involucran la separación y preconcentración simultánea de una o más especies de interés de la matriz de la muestra previo a la determinación mediante técnicas analíticas apropiadas. Entre las técnicas de tratamiento de muestras más comunes se encuentran aquellas clásicas como extracción líquido-líquido (LLE) y extracción en fase sólida (SPE), así como sus versiones miniaturizadas como microextracción líquido-líquido (LLME) y microextracción

en fase sólida (SPME). Estas técnicas se utilizan para separar y concentrar las especies de interés de la matriz de la muestra, mejorando la sensibilidad y selectividad. Las técnicas miniaturizadas, en particular, permiten reducir la escala de las operaciones y la cantidad de residuos generados, lo que promueve el cuidado del ambiente [34]. En la Figura 1.1.4 se esquematizan las técnicas más utilizadas para el análisis de especiación de As [35, 36].

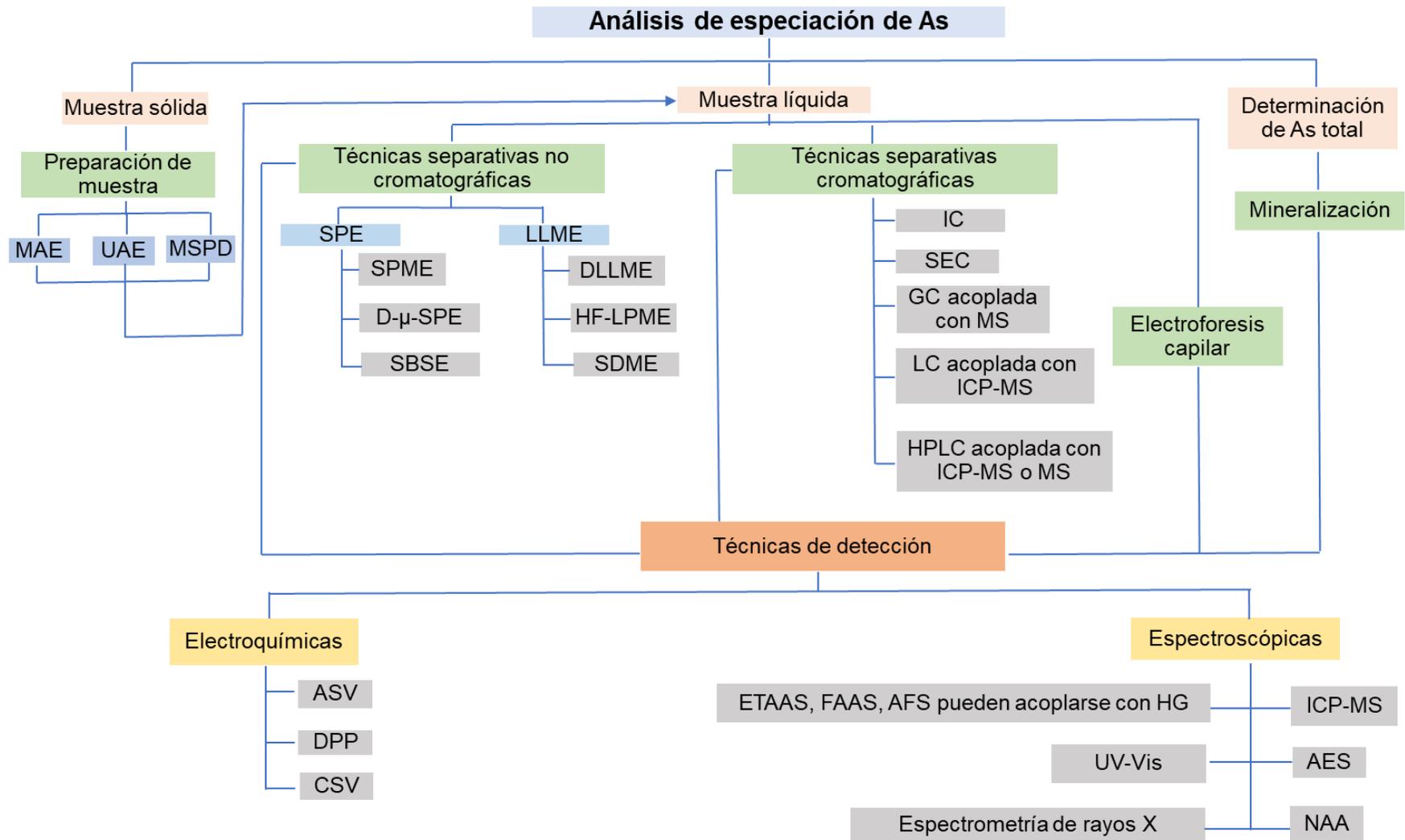


Figura 1.1.4 Esquema general de las técnicas más utilizadas para el análisis de especiación de As.

1.1.6.1 Arsénico en muestras de origen ambiental

El As se encuentra ampliamente distribuido en el agua superficial, subterránea y potable. En el agua de mar, suele hallarse en concentraciones entre 1 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. En ríos y lagos típicamente se encuentran por debajo de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, pero en algunos casos, se pueden registrar concentraciones de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ [28]. Debido a las fuertes interacciones agua-roca, y a las condiciones físicas y geoquímicas que permiten la movilización y acumulación de As, las concentraciones más altas del elemento suelen encontrarse en aguas subterráneas. Es importante destacar que las elevadas concentraciones de As (hasta 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) presentes en el agua subterránea han afectado significativamente el suministro de agua potable de alrededor de 200 millones de personas a nivel mundial, principalmente en Argentina, Chile, México, China, Bengala Occidental (India), Bangladesh, Vietnam y Hungría [37].

En aguas naturales, el As existe predominantemente como As(III) y As(V) dependiendo de su estado de oxidación y química redox, ambos presentes como oxianiones solubles en agua. El arseniato es la especie más difundida en el ambiente, principalmente en agua y suelos. Por otra parte, arsenito se encuentra en proporciones más bajas en las muestras ambientales y su presencia está favorecida en condiciones reductoras [19]. Se han reportado en bibliografía numerosos estudios de especiación de As en muestras ambientales de diversos orígenes. Se han encontrado concentraciones de 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(III) y 0,17 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(V) en agua de mar y 0,102 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(III) y 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(V) en agua de pozo [34]. Se han hallado niveles de 1,51 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) y 3,07 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) en agua de río y niveles de 2,29 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) y 3,45 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) en agua de estanque. También se han detectado concentraciones de 1,29 $\mu\text{g g}^{-1}$ y 3,47 $\mu\text{g g}^{-1}$ de As(III) y As(V) respectivamente en muestras de suelo [38].

1.1.6.2 Arsénico en los alimentos

Los pescados y mariscos tienen los niveles más altos de As total, el cual varía entre 5 y 100 mg kg^{-1} según la especie de pescado. La AsB es la principal especie de As en estos alimentos, donde la AsC es considerada su precursora, la cual es el producto final del metabolismo del As marino. Ambas especies no se consideran tóxicas para la salud humana. Otros arsenicales como el MMA, DMA y el óxido de trimetilarsina se encuentran a menudo en organismos marinos, junto con muchos arsenoazúcares y arsenolípidos. La acumulación de As por plantas y fauna de origen marino es relativamente alta comparada con otras fuentes de alimento, en consecuencia, muchos estudios de análisis de especiación de As se han centrado en este tipo de alimentos.

Las algas marinas utilizadas en la alimentación humana tienen un contenido total de As de entre 0,031 y 149 mg kg⁻¹ y de As inorgánico entre <0,014 a 117 mg kg⁻¹. En mariscos entre el 80-90% del As se encuentra en forma orgánica incluyendo AsB, AsC, arsenoazúcares y arsenolípidos [39]. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la OMS recomiendan un consumo moderado de 1-2 porciones de 100 g de pescado por semana, para disminuir los riesgos relacionados con la ingestión del metaloide y para promover los máximos beneficios de este alimento para la salud [40]. Por otra parte, los alimentos de origen terrestre, como carnes, verduras, frutas, cereales y productos lácteos, contienen concentraciones de As inferiores a 0,1 mg kg⁻¹. Sin embargo, en el arroz, la concentración de As total suele ser entre 0,1 y 0,4 mg kg⁻¹, incluso, de las cuales el 91% de dichas concentraciones correspondía a As inorgánico [41]. Cabe mencionar que en 2010, el Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) de la FAO retiró la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) de As inorgánico, fijada en 15 µg kg⁻¹ de peso, debido a que ya no era apropiado para la protección de la salud humana [42].

Se han realizado diversos estudios basados en el análisis de especiación de As en diversos alimentos. Por ejemplo, se han obtenido concentraciones de 4,14 µg g⁻¹ de As(III) y 8,91 µg g⁻¹ de As(V) en muestras de espinaca y 2,43 µg g⁻¹ de As(III) y 6,07 µg g⁻¹ de As(V) en muestras de lechuga [18]. También se han reportado concentraciones de 2,03 µg L⁻¹ de As(III), 1,40 µg L⁻¹ de As(V), 5,5 µg L⁻¹ de DMA y 0,21 µg L⁻¹ de MMA, respectivamente en muestras de leche de arroz [43].

1.2 Antimonio

1.2.1 Reseña histórica

El antimonio (Sb) fue descrito por primera vez en el siglo XVII por el alquimista Basil Valentine, sin embargo, se cree que ha sido reconocido en varios compuestos desde hace 6000 años. El sulfuro de antimonio, antimonita o estibinita (Sb_2S_3) fue utilizado en la época de los egipcios como maquillaje negro para pestañas y alrededor de los ojos de las mujeres [44]. En el siglo XVI, Paracelso, médico y defensor de la alquimia, favoreció el uso de metales, entre ellos el Sb como drogas, oponiéndose a las enseñanzas de Galeno (c. 130-201), un médico romano preeminente que consideraba a los metales como venenosos. El período entre el año 1560 y 1660 se denominó la guerra del Sb y reflejó el conflicto entre la medicina galénica y las prácticas de Paracelso [45].

Las copas hechas de Sb fueron populares en los siglos XVII y XVIII con fines de inducir la sudoración terapéutica, vómitos y purga, a pesar de que el Sb fue reconocido como un veneno y causó la muerte de los pacientes que recibieron medicamentos que lo contenían [46]. Además, el Sb fue ampliamente usado durante la Primera Guerra Mundial debido a que se descubrió que era el material más adecuado en aleaciones con Pb para producir municiones capaces de penetrar placas blindadas [47].

1.2.2 Ocurrencia y obtención

El Sb es un elemento relativamente raro cuya abundancia en la corteza terrestre es alrededor de $0,7 \text{ mg kg}^{-1}$. Las fuentes naturales de Sb incluyen la meteorización de rocas y la actividad volcánica [19]. Por otro lado, el Sb es también emitido al ambiente por fuentes antropogénicas como la minería, fundición y refinación de metales como Cu, combustión de carbón y residuos [48]. El Sb está presente principalmente en minerales de sulfuros y sulfosales como boulangerita ($\text{Pb}_5\text{Sb}_4\text{S}_{11}$), jamesonita ($\text{Pb}_4\text{FeSb}_6\text{S}_{14}$), Sb_2S_3 y tetrehedrita [$(\text{Cu,Fe})_{12}\text{Sb}_4\text{S}_{13}$]. De los más de 100 minerales de Sb que se encuentran en la naturaleza, el predominante es la Sb_2S_3 [49]. Los principales recursos mundiales de Sb se encuentran en Bolivia, China, México, Rusia, Sudáfrica y Tayikistán. Según lo establecido por el Servicio Geológico de los Estados Unidos, la producción global de Sb es de 187.000 toneladas por año, y el 90% es producido en China. El distrito minero más importante de China pertenece a Xikuangshan conocida como la

"Capital Mundial del Antimonio" con el depósito de este metaloide más abundante del mundo (más de 2.000.000 de toneladas) [48].

El trióxido de diantimonio (Sb_2O_3) es el principal compuesto de Sb producido en la industria. Tres métodos se han descrito para la producción primaria industrial de Sb, el pirometalúrgico, hidrometalúrgico y electrometalúrgico. El pirometalúrgico ha sido el más ampliamente utilizado, los minerales sulfurados que contienen 5-25% de Sb se volatilizan a Sb_2O_3 , los que contienen 25-40% de Sb se funden en un alto horno y los que contienen 45-60% de Sb se tratan mediante licuación o precipitación de Fe [47].

1.2.3 Usos

El Sb_2O_3 se utiliza como retardante de llamas para plásticos, pinturas, papel, textiles y caucho [50]. Además, el Sb_2O_3 se emplea como reactivo catalizador de policondensación en la producción de tereftalato de polietileno (PET), producto que contiene una concentración de Sb de aproximadamente $213 \pm 35 \text{ mg kg}^{-1}$. Uno de los usos más frecuentes del PET es como material de empaque en la industria alimentaria, se han reportado concentraciones de Sb en agua natural en botellas PET de $156 \pm 86 \text{ ng L}^{-1}$ [49]. El Sb es un componente común de las aleaciones metálicas (por ejemplo, con Pb y Cu), asimismo, su aplicación más importante es como endurecedor en baterías de almacenamiento de Pb. Las aleaciones de Pb-Sb se usan en baterías de encendido, municiones, bombas y tuberías resistentes a la corrosión, revestimientos de tanques, láminas de techo, soldadura, fundas de cables y rodamientos antifricción [47]. Además, el Sb ha sido usado como componente importante en materiales termoeléctricos que se han sintetizado y estudiado en forma de nanopartículas [51] y en la industria de semiconductores para producir diodos y detectores infrarrojos. Por otro lado, el Sb_2S_3 se emplea como lubricante en materiales de fricción para disminuir la vibración y mejorar la estabilidad de la fricción [50]. En medicina, el coloide del isótopo Tc-99m antimonio-azufre se ha utilizado con éxito en el mapeo del ganglio centinela de diversos tipos de cáncer como el de mama [52].

1.2.4 Propiedades físicas y químicas

El Sb es un elemento que pertenece al Grupo 15 de la tabla periódica y su configuración electrónica externa es $[\text{Kr}] 4d^{10} 5s^2 5p^3$ y en sus compuestos se presenta bajo los estados de oxidación -III, 0, +III y +V, de los cuales, es bien sabido que +III y +V son de gran importancia ambiental y biológica. Químicamente, se lo clasifica como un metaloide, debido a que presenta propiedades tanto metálicas como no metálicas.

El Sb posee dos isótopos estables, ^{121}Sb y ^{123}Sb . Asimismo, se han descrito 35 isótopos radiactivos artificiales, de los cuales el ^{125}Sb , ^{124}Sb , ^{126}Sb y ^{127}Sb son los que poseen períodos de semidesintegración más largos de 2,76 años, 60,2 días, 12,35 días y 3,85 días, respectivamente [10].

El Sb amarillo o forma α es producido por la acción de O_3 sobre el gas estibina (SbH_3) líquido a $-90\text{ }^\circ\text{C}$. Es amorfo y poco soluble en disulfuro de carbono. El Sb amarillo es muy inestable y se transforma fácilmente a temperaturas superiores a $-90\text{ }^\circ\text{C}$ en Sb negro, que también se puede formar directamente a partir de SbH_3 líquida y O_2 a $-40\text{ }^\circ\text{C}$. El Sb negro se oxida espontáneamente en aire y se convierte en el Sb romboédrico o forma β . La cuarta forma alotrópica del Sb es explosiva y se forma a partir de la electrólisis del cloruro de antimonio [44]. En la Tabla 1.2.1 se resumen algunas propiedades del elemento.

Tabla 1.2.1 Principales propiedades fisicoquímicas del Sb.

Propiedad	Valor
Número atómico	51
Masa atómica relativa ($^{12}\text{C}=12,000$)	121,8
Punto de fusión ($^\circ\text{C}$)	631
Punto de ebullición ($^\circ\text{C}$)	1587
Densidad (g mL^{-1})	6,7
Radio atómico (Å)	1,53
Radio covalente (Å)	1,41
Conductividad eléctrica (S m^{-1})	$2,88 \times 10^6$
Conductividad térmica ($\text{W K}^{-1} \text{m}^{-1}$)	24,3

1.2.4.1 Especies inorgánicas

En soluciones acuosas, las especies con carga positiva de Sb solo se presentan en condiciones ácidas extremas (Figura 1.2.1). El Sb(V) es estable bajo condiciones oxidantes, mientras que el Sb(III) permanece estable en condiciones reductoras. En medios acuosos, el ion antimoniato $[\text{Sb}(\text{OH})_6]^-$ es la especie predominante en condiciones aeróbicas a valores de pH superiores a 2,7. Por otro lado, la especie de Sb(III) predomina bajo la forma neutra de antimonito $\text{Sb}(\text{OH})_3$ entre pH 1,4 y 11,8

aproximadamente. Es de gran importancia conocer el estado de oxidación del elemento, debido a que su solubilidad, movilidad, biodisponibilidad y toxicidad dependen de las condiciones redox (potencial redox, E) y del pH (Figura 1.2.2) [10, 12].

Sb(III)	Sb(OH)_2^+	$\text{H}_3\text{SbO}_3, \text{Sb(OH)}_3$	$\text{H}_2\text{SbO}_3^-, \text{Sb(OH)}_4^-$
Sb(V)	SbO_2^+	H_3SbO_4	$\text{H}_2\text{SbO}_4^-, \text{Sb(OH)}_6^-$
	2	2,7	10,4
	pH		

Figura 1.2.1 Diagrama esquemático indicando las especies de Sb predominantes de acuerdo al intervalo de pH.

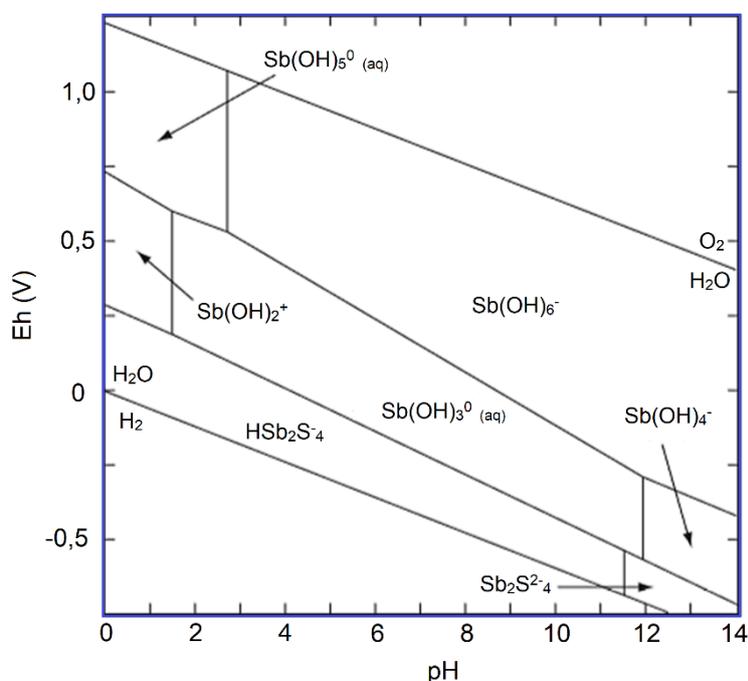


Figura 1.2.2 Diagrama de potencial redox E vs pH del Sb.

1.2.4.2 Especies orgánicas

Actualmente, la información disponible no es suficiente para lograr una comprensión completa de las especies orgánicas de Sb. Se caracterizan por presentar enlaces covalentes entre el átomo de Sb y de carbono. En este tipo de unión, el Sb puede estar bajo su forma trivalente como pentavalente. Las más comunes que se pueden encontrar son los compuestos metilados de Sb, que incluyen las especies mono-

, di- y trimetiladas. Se ha reportado la presencia de dicloruro de trimetilantimonio $[(\text{CH}_3)_3\text{SbCl}_2]$, ácido metilestibónico $(\text{CH}_3)\text{SbO}(\text{OH})_2$, ácido dimetilestibónico $(\text{CH}_3)_2\text{Sb}(\text{O})\text{OH}$ y trimetilestibina $(\text{CH}_3)_3\text{Sb}$ en varias muestras ambientales [19]. Es probable que la especie $[(\text{CH}_3)_3\text{SbCl}_2]$ se presente en soluciones acuosas en forma de $[(\text{CH}_3)_3\text{Sb}(\text{OH})]^+$. Además, se han determinado varios complejos Sb-azufre (tioantimonio) como tritioantimonato y tetratioantimonato en aguas geotérmicas. Las especies, HSb_2S_4^- y $\text{Sb}_2\text{S}_4^{2-}$ se han identificado como las formas termodinámicamente más estables de complejos de tioantimonita a temperaturas más bajas ($<120\text{ }^\circ\text{C}$), mientras que el complejo de hidroxotioantimonita, $\text{Sb}_2\text{S}_2(\text{OH})_2^\circ$ predomina a temperaturas más altas ($>120\text{ }^\circ\text{C}$) [53].

1.2.5 Toxicología

La toxicidad relativa de los compuestos de Sb varía con la naturaleza química de sus especies, valencia, naturaleza inorgánica u orgánica, solubilidad, estado físico y pureza, tasas de absorción y de eliminación. Generalmente, el Sb(III) es 10 veces más tóxico que el Sb(V) y las especies inorgánicas son más tóxicas que los compuestos orgánicos. Además, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasifica al Sb_2O_3 en el grupo 2B y al Sb_2S_3 en el grupo 3, como posible carcinógeno y no carcinógeno para humanos, respectivamente [54].

1.2.5.1 Fase de exposición

El Sb está ampliamente distribuido en el ambiente y en los alimentos. Las principales vías de exposición al Sb son a través del aire y las partículas de polvo, la ingesta de agua y alimentos contaminados, y mediante la exposición a telas, alfombras y otros productos que contengan materiales ignífugos, pigmentos, cerámicos o plásticos. También puede haber exposición a través del contacto directo con envases de bebidas y alimentos que contengan PET [53]. Otra fuente de exposición es el humo del cigarrillo, se ha reportado que una muestra de tabaco contenía una concentración de $0,1\text{ mg de Sb kg}^{-1}$ de peso seco. Se estimó que la cantidad de Sb inhalado era el 20% de la cantidad total de Sb en un cigarrillo [55].

En contraste con las bajas concentraciones de Sb halladas en aguas subterráneas no contaminadas, la mayoría de los estudios realizados sobre Sb en aguas embotelladas reportan valores mucho más altos. Un trabajo realizado en Europa reportó que la concentración media de Sb en 56 botellas de agua fue de 165 ng L^{-1} , muy superior en comparación con su abundancia en aguas subterráneas de Noruega, donde los niveles son usualmente de 30 ng L^{-1} [56]. El Sb y sus compuestos son considerados

contaminantes prioritarios de interés, por lo que, la concentración máxima admisible de Sb en agua potable es de $6 \mu\text{g L}^{-1}$, $5 \mu\text{g L}^{-1}$ y $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de acuerdo a lo establecido por la U.S.EPA, la Comisión de las Comunidades Europeas y la OMS, respectivamente [22, 57, 58].

1.2.5.2 Fase toxicocinética

Se ha aceptado comúnmente que el Sb y sus compuestos se absorben poco en el tracto gastrointestinal, en un rango de 5-15% en adultos. Por otro lado, un estudio reveló una absorción promedio de 15% de Sb por vía pulmonar, dependiendo del tamaño de las partículas y de la solubilidad de los compuestos del elemento [59]. El Sb se distribuye y se acumula en órganos y tejidos muy vascularizados, principalmente en el hígado, riñón, bazo y glóbulos rojos [60].

El Sb inorgánico se excreta en la bilis después de la conjugación con GSH y también por orina. La metilación puede ser una vía eficaz para eliminar Sb en el cuerpo humano debido a que se han detectado compuestos de Sb metilados en la orina o la saliva. Los microorganismos intestinales pueden desempeñar un papel importante en la biometilación del Sb [60]. La excreción urinaria es mayor para los compuestos de Sb(V) que para los compuestos de Sb(III), mientras que la excreción gastrointestinal es mayor para el Sb(III) que para el Sb(V). Algunos datos confirman que una pequeña parte del Sb absorbido y retenido puede tener una vida media biológica prolongada, especialmente en el pulmón. Luego de la administración intravenosa o intramuscular de compuestos de Sb(V), más del 90% es eliminado por orina dentro de las 24 h [55].

1.2.5.3 Fase toxicodinámica

Las especies de Sb(III) tienen una elevada afinidad por los glóbulos rojos, debido a que reaccionan con los eritrocitos y las enzimas que contienen grupos sulfhidrúlicos uniéndose de forma irreversible [28]. Por otro lado, no se conoce con claridad el mecanismo de toxicidad de las especies de Sb(V) [10].

1.2.5.4 Efectos adversos en la salud por la exposición al antimonio

Los efectos causados por intoxicación aguda de Sb se manifiestan principalmente como trastornos gastrointestinales, es decir, vómitos, náuseas y diarrea y por trastornos respiratorios como irritación y dolor en el tracto respiratorio superior. Adicionalmente, se asocia con anomalías en el electrocardiograma y un mayor riesgo de muerte súbita debido a arritmias [55]. En humanos adultos, la inhalación de SbH_3

causa anemia hemolítica, hemólisis, mioglobinuria, hematuria, insuficiencia renal, náuseas, vómitos y cefalea [10]. La exposición crónica al Sb puede producir alteraciones pulmonares, cardíacas y gastrointestinales, manchas en la piel llamadas “manchas de antimonio”, así como irritación respiratoria, neumoconiosis y un aumento de la mortalidad por cáncer de pulmón. Además, el Sb se ha utilizado como tratamiento de la leishmaniasis y la esquistosomiasis, pero puede causar efectos secundarios como la cardiotoxicidad y la pancreatitis, especialmente en pacientes con coinfecciones por HIV y leishmaniasis visceral [61].

1.2.5.5 Tratamiento

De acuerdo con la clínica del paciente, puede realizarse un tratamiento de sostén y sintomático, estabilización hemodinámica, lavado gástrico utilizando carbón activado o puede optarse por el uso de quelantes, tales como dimercaprol [62].

1.2.6 Análisis de especiación de antimonio

Para el análisis de especiación de Sb, se emplean comúnmente técnicas similares a las utilizadas para el análisis de especiación de As y otros elementos [63], las cuales se esquematizan en detalle en la sección 1.1.6.

1.2.6.1 Antimonio en muestras de origen ambiental

El Sb está ampliamente distribuido en el ambiente y está presente principalmente como Sb(III) en su forma de SbO_2^- y como Sb(V) en su forma de $\text{Sb}(\text{OH})_6^-$. La concentración de Sb en el agua de mar suele ser de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que, usualmente en aguas subterráneas se haya en un rango de $0,010$ - $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Sin embargo, se han obtenido concentraciones de hasta $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ en aguas subterráneas cercanas a las minas de Sb abandonadas en Eslovaquia [12]. El Sb en ríos suele hallarse en una concentración promedio de $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Sin embargo, fuentes antropogénicas puntuales suelen aumentar su concentración. Por ejemplo, se han hallado altos niveles de Sb en un rango de 2 - $6384 \mu\text{g L}^{-1}$ en ríos alrededor de la mina de Sb más grande del mundo en el área de Xikuangshan, China [64].

Los niveles de Sb en el suelo suelen variar en un rango de entre $0,1$ y 10 mg kg^{-1} de peso seco [55]. Tanto en suelos contaminados como no contaminados, el Sb está presente principalmente como oxoanión pentavalente $[\text{Sb}(\text{OH})_6^-]$. Debido a su carácter neutro en un amplio rango de pH, el Sb(III) es mayormente absorbido que el Sb(V) aniónico, por lo tanto, el Sb(V) es más móvil en suelos neutros y alcalinos [48]. Las

actividades de minería y tiro suelen incrementar las concentraciones de Sb en suelos. Por ejemplo, se han hallado concentraciones de Sb de hasta 15 g kg^{-1} en el sur de la Toscana donde se han extraído y fundido minerales de Sb [65]. Por otro lado, se observó que los campos de tiro son focos de contaminación por Sb en los suelos. Se han reportado concentraciones de hasta $13,8 \text{ g kg}^{-1}$ en las capas superiores de los campos de tiro en Suiza. Si bien dicha contaminación es superficial, conforma un problema ambiental importante debido a la gran cantidad de campos de tiro, por ejemplo Suiza tiene más de 2000 campos de tiro que todavía están en uso [66].

En partículas atmosféricas las concentraciones de Sb varían de unos pocos pg m^{-3} en áreas remotas a varios ng m^{-3} en áreas urbanas. La emisión de Sb a la atmósfera desde fuentes naturales, como la actividad volcánica, es muy inferior en comparación con las emisiones antropogénicas que representan más del 95% de contribución. Un estudio realizado en la estación de tráfico en Granada (España) reportó concentraciones de Sb en partículas PM10 en un rango de $5,2\text{-}6,2 \text{ ng m}^{-3}$, siendo la especie predominante Sb(V) en un 64-69% con respecto a Sb(III), en el periodo 2011-2013 [67]. La U.S.EPA ha establecido una dosis de referencia respiratoria de $87 \text{ } \mu\text{g m}^3$ y $0,2 \text{ } \mu\text{g m}^3$ para el Sb y para el Sb_2O_3 , respectivamente [55].

1.2.6.2 Antimonio en los alimentos

La ingesta diaria admisible de Sb es de $6,0 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Por otro lado, la cantidad máxima permitida del elemento en alimentos y bebidas almacenados en envases PET es de $20 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ de acuerdo con la OMS [22]. La carne, el pescado de agua dulce, las aves de corral, los cereales, las frutas y las verduras presentan concentraciones de Sb de aproximadamente entre 1 y 10 ng g^{-1} de peso húmedo [55]. En la actualidad, existe una limitada información sobre la distribución de las especies de Sb en los alimentos. Sin embargo, se han reportado estudios de especiación de Sb inorgánico en diferentes alimentos. Se han hallado concentraciones de $5,21 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, $5,43 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ y $1,47 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ de Sb(III) y $9,42 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, $11,26 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ y $3,55 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ de Sb(V) en muestras de tomate, ajo y frijoles, respectivamente [68]. Por otro lado, se han hallado concentraciones de $1,20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, $1,15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, $1,35 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,51 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) y $1,25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, $2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, $3,95 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ y $3,64 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) en muestras de jugo de limón, jugo de manzana, cerveza negra y leche, respectivamente [69].

1.3 Espectrometría de Absorción Atómica

Electrotérmica

1.3.1 Antecedentes históricos

En 1666 Isaac Newton estudió el comportamiento de la luz solar cuando atravesaba un prisma de vidrio. Observó que la luz blanca solar al atravesar el prisma se separaba en una serie regular de colores, más precisamente, un espectro. Newton concluyó que la luz blanca estaba compuesta de colores y que cada uno se desdoblaba de manera diferente al atravesar un prisma. Estos experimentos marcaron el comienzo de la espectroscopía como una ciencia [70]. En 1802, William Wollaston realizó nuevamente los experimentos de Newton e indicó que el espectro de la luz del sol estaba interceptado por un número de líneas oscuras. Dichas líneas fueron mapeadas en 1817 por Fraunhofer (líneas de Fraunhofer) y les asignó letras a algunas de las más prominentes, empezando con la "A" en el extremo rojo y "H" en la región ultravioleta del espectro. En 1859 se creó un espectroscopio de llama que demostró que la radiación de un gas y de los átomos individuales tenía un espectro con líneas brillantes en un fondo oscuro. Tanto el número como la posición de estas líneas eran características del cuerpo que emitía la luz. Así, los espectros atómicos se caracterizaban por ser una "huella dactilar" del elemento, permitiendo su identificación. Sin embargo, la radiación de sólidos y líquidos luminosos se caracterizaba por tener un espectro continuo [71].

En 1955, Walsh estableció los conceptos básicos de la espectrometría de absorción atómica (AAS) moderna, lo que se considera el nacimiento de la técnica instrumental. Alkemade y Milatz diseñaron un espectrómetro de absorción atómica que utilizaba la llama como fuente de radiación y atomización. En 1965, comenzó la fabricación comercial de instrumentos de AAS. El uso de óxido nítrico como oxidante y la atomización electrotérmica, han ampliado significativamente el uso de AAS en varios campos. Estas técnicas han aumentado el número de elementos medibles y reducido los límites de detección (LODs) [72]. Con el tiempo, el desarrollo de estos equipos se ha incrementado y han sido aplicados en la mayoría de los laboratorios a nivel mundial.

1.3.2 Fundamentos básicos de la AAS

La AAS se fundamenta en la capacidad que tienen los átomos de una muestra de absorber radiación electromagnética para pasar del estado fundamental a un estado excitado. En este sentido, la muestra se descompone en átomos gaseosos,

principalmente por calentamiento, luego una radiación de longitud de onda característica incide a través del vapor atómico y es parcialmente absorbida por los átomos del elemento a analizar. La concentración del analito en la muestra se cuantifica en relación con la cantidad de luz absorbida por sus átomos [73]. El rango de longitudes de onda adecuado para trabajar en absorción atómica se presenta en la región ultravioleta-visible (UV-Vis) del espectro electromagnético (190 y 800 nm). Por debajo de 190 nm, zona correspondiente al UV del vacío, absorben los elementos no metálicos, por lo tanto, no pueden cuantificarse por medio de esta técnica [74].

En esta técnica, los átomos de un elemento son capaces de absorber radiación de longitudes de onda características de transiciones electrónicas del estado basal de energía hacia estados excitados superiores. La absorción selectiva a las diversas longitudes de onda origina un espectro de absorción característico para cada elemento [75]. Dicha radiación es aportada por una fuente que es específica para cada elemento a cuantificar. Al medir la disminución de intensidad de radiación de una línea analítica luego de que la misma interactúe con los átomos de la muestra, se generan menos interferencias espectrales en comparación con las técnicas de emisión [73]. La AAS es la técnica más utilizada a nivel mundial para determinar elementos en muestras de diversas matrices, y ha llegado a ser ampliamente utilizada en análisis de rutina. Es una técnica instrumental que posee la sensibilidad adecuada para determinar de manera cuantitativa más de 40 elementos en minerales, muestras biológicas, farmacéuticas, ambientales, alimentarias, y otros tipos de muestras [76].

1.3.3 Instrumentación y funcionamiento

El funcionamiento del instrumento de basado en la técnica AAS electrotérmica (ETAAS) clásico o equipado con fuente de línea, se menciona a continuación: (1) La fuente de radiación, lámpara de cátodo hueco (HCL) o lámpara de descarga sin electrodos (EDL), emite una línea aguda del espectro característico del elemento que se desea determinar; (2) el haz que se emite desde la fuente de radiación es modulado; (3) la señal modulada atraviesa el vapor atómico conformado por los átomos del analito generados en el atomizador (horno de grafito), los cuales absorben radiación que corresponde a la línea de emisión de la fuente; (4) la línea espectral deseada (usualmente la línea de resonancia) es seleccionada por el monocromador; (5) la línea aislada del elemento incide sobre el detector, donde la señal de luz es transformada en señal eléctrica; (6) la señal modulada es amplificada por un amplificador selectivo; (7) la señal es finalmente registrada por un dispositivo de lectura o a través del procesamiento

de datos a una unidad digital o un graficador [74]. Los principales componentes de un espectrómetro de absorción atómica electrotrémica se indican en la Figura 1.3.1.

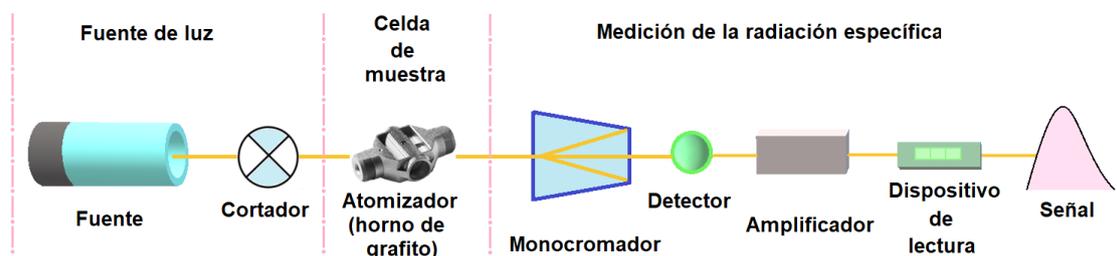


Figura 1.3.1 Representación gráfica de un espectrómetro de absorción atómica electrotrémico.

1.3.3.1 Fuentes de radiación

La fuente de radiación es un dispositivo que permite generar radiación electromagnética con propiedades específicas. En AAS se requiere que el ancho de la línea de emisión de la fuente sea menor que el ancho de la absorción del analito, disminuyendo posibles interferencias espectrales. Inicialmente, las lámparas empleadas eran de radiación continua, cuya intensidad variaba en función de la longitud de onda. Aunque se seleccionase un ancho de banda específico con un monocromador, el ancho de banda de la línea de absorción atómica era muy estrecho ($0,02-0,05 \text{ \AA}$) y resultaba despreciable en comparación con la cantidad de luz total que incidía en el detector. En 1955, Walsh y Alkemade lograron resolver este problema, empleando fuentes de líneas atómicas del mismo elemento a determinar. Las fuentes de líneas, se caracterizan por emitir una cantidad limitada de líneas o bandas de radiación, cada una de las cuales abarca un rango limitado de longitudes de onda. Los átomos del elemento son excitados en la lámpara, emitiendo radiación a longitudes de onda características, la cual es absorbida por el mismo elemento que está presente en la muestra [74, 77]. Las lámparas HCL y EDL son las fuentes de excitación de líneas más utilizadas en AAS.

La HCL (Figura 1.3.2) es la fuente de radiación de línea más utilizada en AAS. Está constituida por un ánodo, conformado por un hilo de tungsteno, y un cátodo, constituido con un material que contiene el elemento a determinar. Ambos están sellados en un tubo Pyrex con una ventana de cuarzo en el extremo opuesto que transmite toda la región espectral UV. El interior del cilindro de vidrio se llena con un gas inerte (argón o neón) a una presión de aproximadamente de 1 a 5 torr [78]. Se aplica un potencial de 150 a 500 V (generando una corriente de 1 a 50 mA) a través de los terminales del cátodo y el ánodo, permitiendo que los átomos de gas se ionicen en el

ánodo y se aceleren hacia el cátodo. Así, los cationes del gas adquieren la suficiente energía cinética para desprender algunos de los átomos del metal presente en la superficie del cátodo y, por lo tanto, producir una nube atómica. Los átomos desprendidos del metal sufren colisiones con otros iones del gas, produciendo átomos de metal en estado excitado. Luego de la relajación al estado fundamental, los átomos metálicos emiten radiación con una longitud de onda característica. Por último, los átomos vuelven a depositarse en la superficie del cátodo o se condensan en las paredes de vidrio del tubo [75, 78].

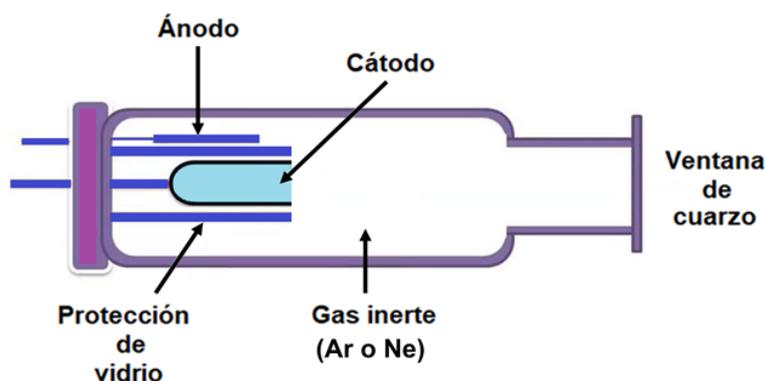


Figura 1.3.2 Esquema de una lámpara de cátodo hueco.

Comercialmente se dispone de fuentes de un solo elemento o múltiples elementos. En la lámpara multielemental se opera bajo los mismos principios que rigen en la lámpara de un solo elemento. A pesar de las ventajas económicas, esta fuente usualmente tiene una vida útil más corta que la de un solo elemento (aproximadamente 1000 horas), debido a que los átomos metálicos del cátodo tienen diferentes grados de volatilidad. Con el tiempo, el elemento más volátil se depositará preferentemente sobre la superficie del cátodo, haciendo que los otros metales del cátodo se vuelvan inaccesibles para los iones del gas que impactan, disminuyendo así sus sensibilidades y, en consecuencia, acortando la vida útil efectiva de la lámpara [79].

La EDL (Figura 1.3.3) está fabricada con un tubo de cuarzo sellado herméticamente, que contiene un gas inerte (argón o neón) a unos pocos torr y una pequeña cantidad del metal (o su sal) que se desea determinar. Al no poseer electrodos, un campo intenso de radiofrecuencia (RF) o radiación de microondas le provee energía a la fuente. Por lo tanto, la ionización del gas inerte es producida por un campo magnético el cual es generado por la corriente que fluye a través de la bobina, originándose iones que son acelerados por la componente de RF del campo hasta que

adquieren suficiente energía para excitar a los átomos del metal a analizar. Este tipo de fuentes solamente se fabrican para algunos elementos volátiles, entre ellos, As, Hg, Sb, Pb y Sn. Se caracterizan por generar líneas de emisión de alta intensidad que proporcionan una mayor sensibilidad para dichos metales. Además, presentan una mayor vida útil, así como una señal más estable y LODs más bajos que las de cátodo hueco. Sin embargo, necesitan un equipo adicional (un generador de RF), aumentando el costo de las lámparas [74, 80].

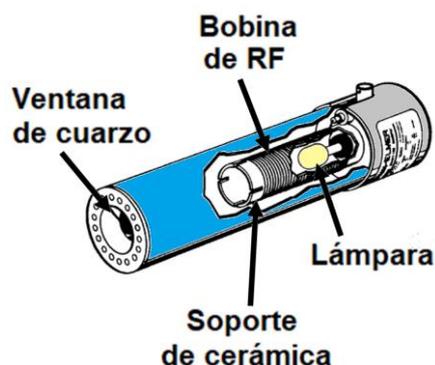


Figura 1.3.3 Esquema de una lámpara de descarga sin electrodos.

El desarrollo de fuentes continuas de alta resolución (HR-CS) en AAS ha sido de gran interés debido a que una sola fuente de radiación es suficiente para la determinación de todos los elementos, con todas las longitudes de onda disponibles (Figura 1.3.4). Así, ha disminuido la utilización de fuentes de línea; eliminando el tiempo de preparación, es decir, no se requiere del calentamiento de la fuente de radiación debido a que la intensidad se normaliza de forma simultánea. En la HR-CS se utiliza una lámpara de xenón de arco corto como fuente de radiación facilitando toda la gama de longitudes de ondas necesaria para la AAS desde 185 hasta 900 nm en un solo paso con una muy elevada densidad de radiación. Estas lámparas operan con un modo de “punto caliente” con una temperatura de alrededor de 10.000 K, generando así una radiación de mayor intensidad que las fuentes de líneas, en particular, en el UV lejano.

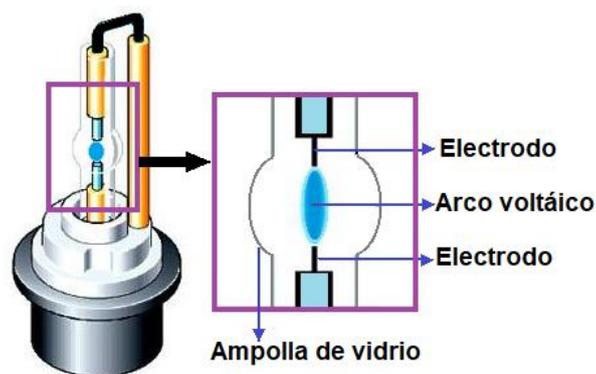


Figura 1.3.4 Esquema de la fuente de emisión de espectro continuo de xenón.

Otras ventajas que poseen estas fuentes incluyen, corrección de fondo de forma simultánea, elevada frecuencia analítica, rápida preparación para la medición, costo relativamente bajo, facilidad de operación, elevada robustez y mejor rendimiento analítico (se obtienen LODs generalmente cinco veces mejores con respecto a los de una fuente de líneas) [81].

1.3.3.2 Modulación de la fuente

En AAS es muy importante eliminar las interferencias producidas por la radiación que es emitida por los átomos del analito en el atomizador. Si bien la mayoría de la radiación que se emite, es eliminada por medio del monocromador, parte de ella corresponde a la longitud de onda seleccionada por el monocromador que puede estar presente en el atomizador debido a la excitación y emisión de los átomos del elemento a determinar. Por lo tanto, es fundamental modular la salida de la fuente para que su intensidad oscile a una frecuencia constante y se puedan eliminar los efectos de la emisión en el atomizador. Así, el detector recibe dos señales, una alterna que proviene de la fuente y otra continua del atomizador. Estas señales se convierten en las correspondientes respuestas eléctricas. De este modo, la modulación de la radiación aumenta la selectividad de AAS [73]. Por otra parte, se puede modular la emisión de la fuente de forma simple y efectiva, interponiendo entre la fuente y el atomizador, un disco metálico circular o cortador al cual se le han eliminado cuadrantes de forma alterna para que se permita el paso de luz. Así, el disco gira a una velocidad constante y conocida, proporcionando un haz intermitente cortado a la frecuencia deseada. Además, el alimentador de la fuente puede diseñarse para que funcione con corriente alterna o de manera intermitente, para que la fuente se encienda y se apague a una frecuencia constante determinada [74].

1.3.3.3 Atomización de la muestra

El atomizador tiene como fin producir átomos en su estado fundamental, lo cual es muy importante debido a que solo los átomos en este estado absorben la radiación emitida por la lámpara. Por lo tanto, es necesario suministrar rápidamente la suficiente energía a la muestra con el analito para generar diversos procesos como la evaporación del solvente de la muestra, la obtención de compuestos moleculares y la disociación de las moléculas en átomos libres. Existen dos tipos de atomizadores, los continuos y los discretos. En los atomizadores continuos, la muestra ingresa sin interrupción a una velocidad constante, por lo que la señal espectral es constante en el tiempo. En los atomizadores discretos, se introduce una determinada cantidad de muestra, así la señal espectral alcanza un valor máximo en el tiempo y luego disminuye a su valor basal, por lo que es una señal transitoria [82]. La energía térmica que se requiere para la atomización en ETAAS es proporcionada por un horno de grafito (Figura 1.3.5).

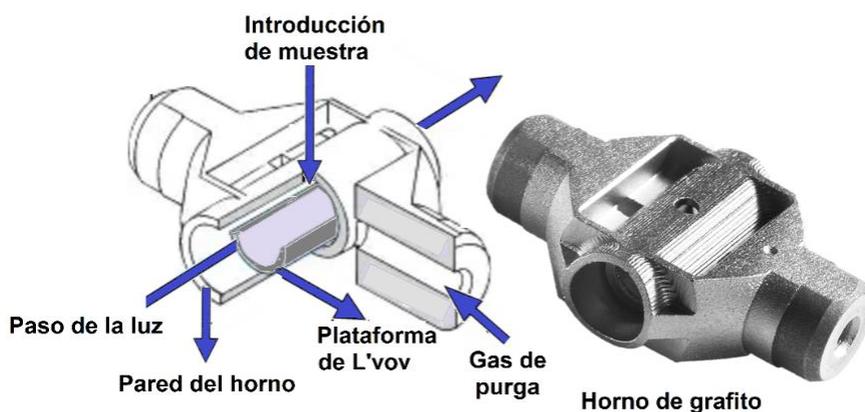


Figura 1.3.5 Atomizador de horno de grafito.

En ETAAS se utiliza un horno de grafito electrotérmico cilíndrico, que está abierto en los extremos y posee un orificio central para introducir un volumen discreto de muestra mediante una micropipeta. La muestra se calienta eléctricamente utilizando un programa de temperatura de varios pasos, los cuales ocurren en un corto periodo, generando así una señal espectral con la forma de un pico agudo [83]. En esta técnica, la temperatura se aumenta de forma gradual, permitiendo que se separen los procesos de secado o desolvatación de la muestra, descomposición térmica de la matriz y disociación térmica de las moléculas en átomos libres. Además, se suministran dos corrientes de gas inerte (argón), una externa que impide que ingrese el aire del exterior e incinere el tubo, y una interna que fluye hacia los dos extremos del tubo y sale por el

orificio central, permitiendo así eliminar el aire y los vapores generados por descomposición de la matriz de muestra. En las etapas de secado y pirólisis se aplica un flujo constante de un gas inerte a través del tubo para eliminar el solvente y los vapores que provienen de la matriz. La temperatura de pirólisis debe ser suficientemente alta para eliminar la matriz, pero evitando la pérdida del analito. Por lo tanto, la mayoría de los componentes de la matriz son eliminados antes de la etapa de atomización, la cual se realiza en una atmósfera inerte [84].

En dicha etapa, se evita que el flujo de argón atraviese el horno de grafito, para que los átomos libres permanezcan en contacto con el haz de radiación emitido por la fuente durante unas décimas de segundo, tiempo unas mil veces mayor al que permanecen en la llama. A diferencia de la atomización por llama, una mayor cantidad de átomos absorbe radiación en ETAAS, por lo que se requiere una menor cantidad de muestra a analizar (del orden de los μL), obteniendo LODs de cien a mil veces más bajos (a niveles de trazas) y, por lo tanto, una mayor sensibilidad. Luego, en la etapa de limpieza, se eliminan los compuestos evaporados en el atomizador mediante el flujo de gas inerte [77]. En la Figura 1.3.6 se ilustra un perfil típico de temperaturas de trabajo en el horno de grafito.

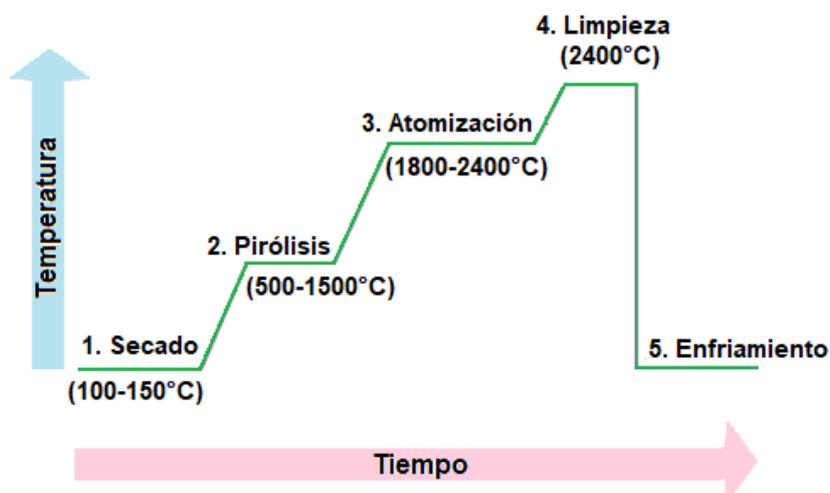


Figura 1.3.6 Programa típico de temperatura aplicado al horno de grafito durante las determinaciones de elementos por la técnica ETAAS.

1.3.3.4 Sistema de dispersión y separación de la radiación

Un monocromador típico (Figura 1.3.7) consiste en: a) una ranura o rendija de entrada que permite el paso de una fracción de la radiación incidente al monocromador,

proporcionando una imagen óptica rectangular; b) una lente o espejo colimador que produce un haz paralelo de radiación; c) un prisma o una red que dispersa la radiación en las longitudes de onda que la componen; d) un elemento de enfoque que reforma la imagen de la ranura de entrada y la enfoca sobre una superficie plana denominada plano focal, y e) una rendija de salida en el plano focal que aísla la banda espectral deseada.

El funcionamiento de un monocromador se basa en dispersar la luz policromática en las diferentes longitudes de onda que la componen, para luego aislar la línea medida (radiación de resonancia), correspondiente al elemento a determinar, de las otras líneas de emisión provenientes del cátodo, del gas de llenado y de las que puedan originarse en el atomizador. Además, permite variar en forma continua la longitud de onda de la radiación en un intervalo amplio (barrido espectral). En AAS, generalmente se utiliza un ancho de banda espectral mayor a 0,1 nm, por lo que no se requiere un monocromador de elevada resolución en análisis de rutina. La AAS no pierde su selectividad o especificidad si se utilizan anchos de rendija muy grandes, a excepción de que se analicen muestras complejas. En términos generales, un buen rango lineal y una elevada sensibilidad se obtienen con la disminución del ancho de banda espectral [74].

Para la dispersión de la radiación en longitudes de onda individuales suelen utilizarse dos clases de dispositivos: prismas y redes de difracción. La dispersión por un prisma varía de acuerdo con el índice de refracción del material del cual está constituido y de la longitud de onda de la línea en estudio. Dicha dispersión es elevada en la región UV y, a medida que se incrementa la longitud de onda, esta dispersión disminuye significativamente. Esta propiedad resulta sumamente beneficiosa al aplicar la técnica AAS, debido a que la mayoría de las líneas de resonancia se encuentran en esa región del espectro electromagnético. Además, es importante considerar que los prismas de vidrio no pueden ser utilizados en instrumentos de AAS ya que no son transparentes a la radiación UV [85].

Por otra parte, en las redes de difracción, la luz ingresa a través de la ranura de entrada, cae sobre la rejilla por reflejo de un espejo y se reenvía a través de la ranura de salida hacia el detector. La luz que impacta sobre la rejilla se dispersa en un ángulo característico de la longitud de onda de la luz. Cuanto mayor es la densidad de línea en una rejilla, mayor es el ángulo de dispersión. A diferencia de un prisma, la rejilla dispersa la luz de forma lineal en el rango de longitud de onda. No obstante, las rejillas producen líneas de segundo y tercer orden de una longitud de onda específica, por lo que requieren un filtro, que se utiliza para longitudes de onda superiores a 600 Å [75].

En equipos con fuentes de emisión de espectro continuo, es necesario utilizar un monocromador doble de alta resolución. Este consiste en un prisma de 300 mm como pre-monocromador y una red de difracción “echelle” de 400 mm como monocromador. Un monocromador de alta resolución de este tipo requiere una estabilización activa de la longitud de onda, que es obtenida mediante una lámpara de neón interna que proporciona una precisión superior a $\pm 0,2$ h, permitiendo una corrección de fondo simultánea para cada tiempo de medición directamente en la línea de análisis [81].

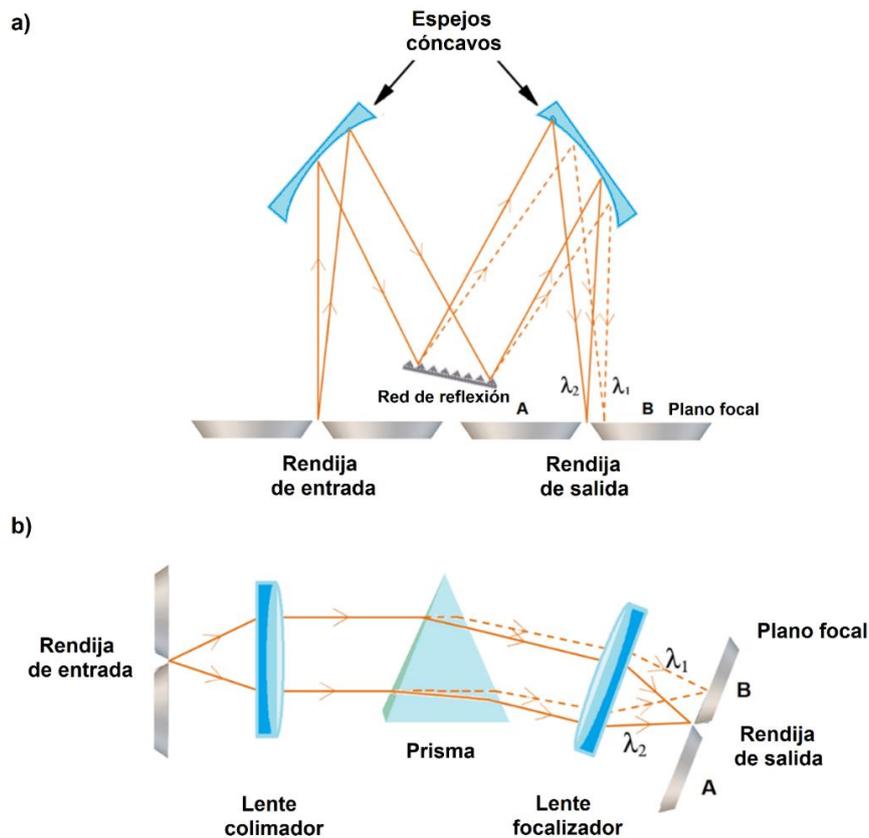


Figura 1.3.7 Esquema de dos tipos de monocromadores: a) monocromador de red de Czerny-Turner y b) monocromador de prisma de Bunsen. (En ambos casos $\lambda_1 > \lambda_2$).

1.3.3.5 Sistema de detección y señal de salida

El detector es el dispositivo que capta la señal óptica que proviene del monocromador y la convierte en una señal electrónica capaz de ser transformada en un valor legible. Idealmente, debe tener una elevada relación señal/ruido y sensibilidad, una respuesta rápida y constante en un amplio rango de longitudes de onda y una señal de salida equivalente a cero en ausencia de radiación. El fotomultiplicador es el detector

más comúnmente utilizado (Figura 1.3.8), el cual consiste en un tubo de vacío con un fotocátodo provisto de placas fotosensitivas (dínodos). La radiación que incide sobre el fotocátodo provoca la emisión de electrones primarios que son liberados al vacío circundante. Al aplicar un voltaje en el dínodo, cada electrón primario se acelera de forma tan rápida que cuando golpea un dínodo se emiten de dos a diez electrones secundarios, lo que produce un efecto en cascada hasta obtener la suficiente intensidad eléctrica. A la longitud de onda en la que tiene lugar la absorción, la señal del detector aumenta al máximo algunos segundos después de la ignición y disminuye rápidamente a cero cuando los productos de la atomización salen del atomizador. El cambio es lo suficientemente rápido (usualmente menor a un segundo) como para necesitar un sistema de lectura que procese la información a una alta velocidad. Los análisis cuantitativos están basados en la medición del área del pico, aunque también suele utilizarse la altura del mismo [73, 86].

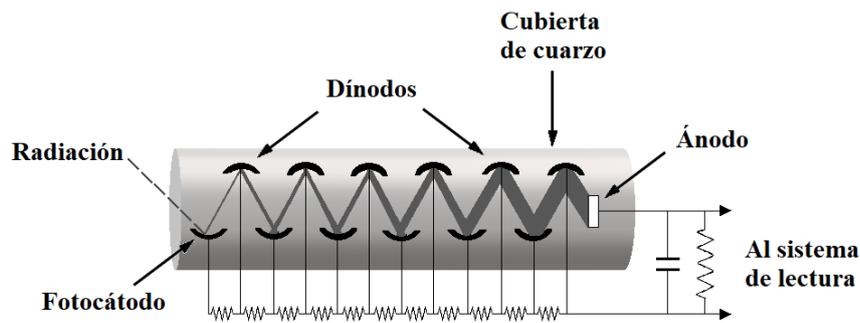


Figura 1.3.8 Diagrama esquemático de un fotomultiplicador con 11 dínodos.

1.4 Espectrometría de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente

1.4.1 Reseña histórica

La técnica espectroscópica AES ha sido utilizada desde 1925, cuando la espectroscopía de emisión atómica fotográfica se estableció como una técnica analítica cuantitativa multielemental. En la década de 1960, la técnica de emisión atómica fue superada en popularidad por la AAS. Sin embargo, en la década de 1970 hubo un resurgimiento del interés en las técnicas de emisión, debido a mejoras en los sistemas de detección [87]. Inicialmente, el plasma acoplado inductivamente (ICP) se utilizó principalmente como fuente de excitación espectroquímica en la espectrometría de emisión óptica con ICP (ICP-OES). Sin embargo, en la década de 1980, se desarrolló por primera vez un ICP acoplado a un espectrómetro de masas, con el fin de medir los iones generados en la fuente de emisión. Varios científicos, como Gray, Houk y Douglas, abordaron esta tarea y trabajaron en colaboración con sus respectivos equipos para desarrollar y mejorar la técnica [88]. Con el tiempo, la técnica ICP-MS se convirtió en una herramienta analítica poderosa y versátil para la identificación y cuantificación de elementos e isótopos en una amplia gama de muestras.

1.4.2 Introducción

La técnica ICP-MS se basa en la determinación de masas atómicas de un determinado isótopo de un elemento dado. Las mediciones se realizan en función de la relación masa/carga (m/z) obtenidas para cada isótopo. Esta técnica presenta varias ventajas con respecto a otras como FAAS, ETAAS, ICP-OES, incluyendo análisis multielemental, generación de espectros únicos, sencillos y de fácil interpretación, capacidad para medir relaciones isotópicas atómicas y LODs muy bajos, igual o por debajo de partes por trillón (ppt, 10^{-12}). Sin embargo, la adquisición del equipo de ICP-MS suele ser costosa y, además, el costo operativo es alto debido al consumo de gases de alta pureza, principalmente gas argón. Además, la instalación de un laboratorio de ICP-MS puede requerir una inversión significativa en sistemas de aire acondicionado, filtros, tuberías y medidas de reducción de polvo para evitar interferencias en las mediciones. Otro factor a tener en cuenta es que el personal que opera este equipo debe tener un alto nivel de experiencia para poder controlar las interferencias y obtener mediciones exactas y confiables [89].

concéntricos son adecuados para muestras de matriz simple, mientras que los nebulizadores de flujo cruzado y de ranura en V son más resistentes y toleran muestras más complejas. Un nebulizador ultrasónico utiliza energía sonora (de un transductor piezoeléctrico) para generar el aerosol. Aunque mejoran la sensibilidad analítica en un orden de magnitud, tienen un mayor costo. Los sistemas de nebulizadores desolvatadores utilizan una cámara de pulverización calentada para desolvatar la muestra antes de que llegue al plasma. Además de aumentar la sensibilidad, disminuyen la formación de especies de óxido en el plasma que pueden interferir con la medición de ciertos analitos [91].

Después de formar el aerosol, la muestra entra en la cámara de pulverización, que filtra las gotas de aerosol más grandes y atenúa los pulsos de nebulización producidos por la bomba peristáltica. Esto es importante porque el plasma es ineficaz para disociar gotas grandes ($>10 \mu\text{m}$ de diámetro). En la cámara de rociado de doble paso, las gotas de aerosol más grandes se drenan, mientras que las gotas más pequeñas se transfieren al plasma. El sistema de introducción de muestra es ineficiente en comparación con otras técnicas analíticas como ETAAS, solo el 1-2% de la muestra llega al plasma, mientras que el resto se drena como desecho. Los factores que influyen en la eficiencia de la introducción de la muestra, como la temperatura de la cámara de pulverización, pueden tener efectos marcados en la respuesta del instrumento. La temperatura de la cámara de pulverización se mantiene a unos $2 \text{ }^\circ\text{C}$ (por refrigeración termoeléctrica o una camisa de agua) para minimizar la formación de óxidos y evitar la sobrecarga del plasma con disolvente, que puede tener un efecto nocivo en el rendimiento analítico [89].

1.4.3.2 Generación de iones

Un plasma es un gas ionizado, con iones cargados positivamente y electrones libres. Los instrumentos ICP-MS utilizan comúnmente un plasma de argón. El plasma se forma en el extremo de un conjunto de tres tubos concéntricos de cuarzo (antorcha) (Figura 1.4.2). El tubo interior o inyector contiene la muestra de aerosol en una corriente de argón (a un flujo entre $0,9$ y $1,5 \text{ L min}^{-1}$) que transporta la muestra al plasma. En el tubo intermedio hay un flujo tangencial de argón (aproximadamente a 1 L min^{-1}) llamado gas auxiliar, que da lugar a la forma del plasma. El tubo exterior contiene un flujo de argón (aproximadamente a 15 L min^{-1}) que sirve como capa de enfriamiento para evitar que la antorcha se derrita. En el extremo opuesto de la antorcha, una bobina de cobre está conectada a un generador de RF. La energía de alta frecuencia del generador de RF induce un campo electromagnético variable en la antorcha, lo que produce una descarga

de alto voltaje (chispa) que ioniza una fracción de los átomos de argón que fluyen a través de la antorcha, generando iones y electrones. Estos chocan con otros átomos de argón, creando electrones e iones adicionales que propagan una cascada. Mediante el movimiento de electrones e iones, la antorcha produce un plasma de alta temperatura llamado ICP, que puede alcanzar los 10.000 K [74].

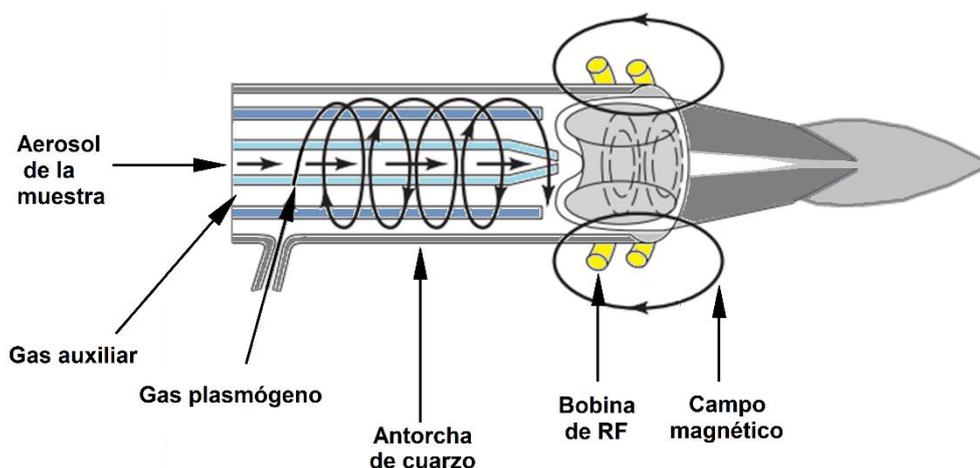


Figura 1.4.2 Diagrama esquemático de un ICP.

Después de llegar al plasma, la muestra se somete a una serie de procesos que incluyen desolvatación, vaporización, atomización e ionización. La mayoría de los elementos forman iones positivos con una sola carga; sin embargo, otros pueden formar una pequeña fracción de iones con doble carga. El grado de ionización de un elemento depende de la temperatura del plasma y del potencial de ionización del elemento. Por ejemplo, a una temperatura dada, el grado de ionización disminuye a medida que aumenta el potencial de ionización, disminuyendo hasta casi cero en valores superiores a 15,76 eV (el potencial de ionización del argón). No obstante, la mayoría de los elementos tienen un primer potencial de ionización mucho más bajo que el argón y, por lo tanto, se ionizan eficientemente en el plasma. Por lo tanto, mediante ICP-MS se pueden medir casi todos los elementos de la tabla periódica, y la sensibilidad analítica del elemento está vinculada a su ionización general, así como a la abundancia isotópica del isótopo medido [89].

1.4.3.3 Interfase de acondicionamiento

La zona de interfase (Figura 1.4.3) permite dirigir los iones de la muestra desde la zona de generación del plasma hasta el analizador de masas. Esto implica un desafío instrumental debido a que el ICP opera a presión atmosférica (760 torr), mientras que el

discriminador de masas y el detector se encuentran en condiciones de alto vacío (10^{-6} torr). Por lo tanto, se requiere de una zona de interfase especial que pueda permitir el eficiente acoplamiento de ambas partes del sistema. En este sentido, el flujo de iones pasa a través de una serie de cámaras con presiones cada vez menores, interponiendo un cono con un orificio muy pequeño entre el plasma y la primera cámara (cámara de expansión). De este modo, disminuye la entrada del gas argón desde el exterior y se posibilita el establecimiento de cierto grado de vacío mediante el bombeo continuo con una bomba rotatoria [92].

Este cono de muestreo es generalmente de níquel, aunque puede ser de otros elementos como platino, que es mucho más resistente a líquidos corrosivos. Posee un pequeño orificio de 1 mm de diámetro aproximadamente. Para garantizar un funcionamiento adecuado del sistema, es necesario que el usuario manipule los controles micrométricos de la posición de la antorcha mediante el software del equipo, con el fin de alinearla correctamente con la entrada del cono. Estos conos deben desmontarse y limpiarse de forma periódica con agua ligeramente acidulada y ultrasonido, seguido de un enjuague con agua desionizada. Generalmente, los conos de muestreo tienen una duración de varios meses. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el uso de soluciones con altas concentraciones de ácidos oxidantes ($> 5\%$), especialmente de ácido nítrico, puede degradarlos rápidamente [74].

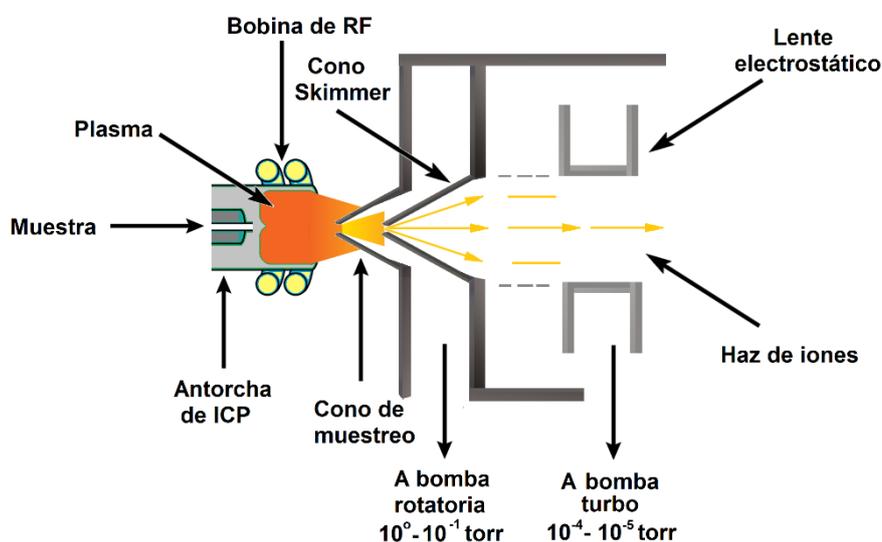


Figura 1.4.3 Esquema de la zona de interface de un ICP-MS clásico.

Una vez que el gas ha atravesado el cono de muestreo, se forma un flujo en forma de cono que interactúa con el gas que ocupa el espacio. Este proceso de colisión

entre ambos gases produce una disminución abrupta de la velocidad del flujo y un aumento de la temperatura. Por eso, un segundo cono metálico o skimmer de orificio más pequeño (de 0,4 mm de diámetro aproximadamente) se interpone antes de llegar a la siguiente zona, ya que sólo el material cercano al eje del flujo cónico es representativo de la muestra introducida. Este segundo obstáculo permite sólo el paso de la fracción más central del flujo, luego la presión se ve reducida drásticamente. Este cono es la interfase entre la cámara de expansión y la cámara que contiene las lentes, actuando como una cámara intermedia. El mecanismo de bombeo hacia el interior funciona también por diferencias de presión [92].

1.4.3.4 Sistema de focalización de iones

Consiste en un conjunto de lentes iónicas ubicadas detrás del cono skimmer que dirigen electrostáticamente a los iones del analito desde la interfase hacia el analizador de masas, evitando que los fotones y otras especies neutras (como los componentes de la matriz no ionizados) lleguen al detector, los cuales son una fuente de ruido e inestabilidad de la señal. El sistema óptico de iones suele evitar que esto suceda colocando un 'tope de fotones' en la ruta de los iones, o guiando el haz de iones fuera del eje. El ICP-MS a menudo incluye una celda de colisión o reacción, complementario al sistema de lentes iónicas descrito, que es opcional pero esencial para eliminar las interferencias poliatómicas en el análisis de muestras complejas. En el caso de la celda de colisión, se hace pasar el haz de iones por un gas de baja masa atómica (helio) a baja presión. Los iones del analito no se ven afectados por la presencia de este gas, mientras que las moléculas poliatómicas son fragmentadas, convirtiéndose en iones que no interfieren con el analito de interés. En el caso de la celda de reacción, se introduce uno o varios gases altamente reactivos en la celda para favorecer reacciones químicas predecibles. Un cuadrupolo de barrido es capaz de eliminar de forma inmediata cualquier interferencia adicional que surja de una reacción secundaria [89].

1.4.3.5 Analizador de masas

El analizador de masas se sitúa entre la celda de colisión o reacción y el detector. Los analizadores más utilizados son: el analizador cuadrupolar, el de sector magnético y el de tiempo de vuelo. El analizador cuadrupolar (Figura 1.4.4) es esencialmente un filtro de masas que separa los iones en función de su relación m/z . Un cuadrupolo consta de cuatro barras metálicas cilíndricas (comúnmente de 15 a 20 cm de largo) por lo general son de molibdeno, están colocadas paralelamente y de forma equidistante a un eje central imaginario. Las barras opuestas se conectan eléctricamente, un par está

unido al polo positivo de una fuente variable de corriente continua y el otro par se une al terminal negativo. Además, se aplican a cada par de barras. potenciales variables de corriente alterna de RF, que están desfasados 180 grados [93].

La pareja de electrodos positivos funciona como filtro, permitiendo el paso solo de los iones con una determinada relación m/z y de mayor masa, mientras que los iones de masa inferior chocan con las barras, se neutralizan y se pierden al seguir trayectorias inestables. El par de barras cargadas negativamente actúa al revés, bloqueando los iones más pesados y permitiendo que los iones de interés y los más ligeros sigan trayectorias estables. Ajustando los voltajes de corriente continua y RF, solo los iones con una determinada relación m/z pueden atravesar toda la longitud del cuadrupolo y salir por el otro extremo. El analizador de masas cuadrupolar es más compacto, económico y robusto que cualquier otro tipo de espectrómetro de masas. Además, posee una elevada velocidad de barrido, de manera que se puede obtener un espectro de masas completo en menos de 100 ms [94].

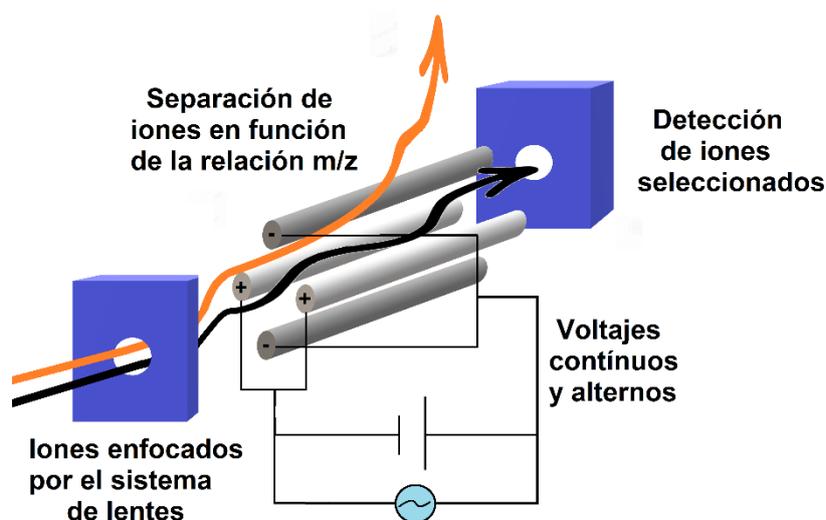


Figura 1.4.4 Esquema de un analizador de masas cuadrupolar.

El analizador de sector magnético funciona mediante un imán permanente o un electroimán que genera un campo magnético para desviar la trayectoria de los iones en movimiento en función de su masa y velocidad. Al variar la intensidad del campo magnético, los iones con diferentes relaciones m/z pueden enfocarse en orden creciente o decreciente sobre una rejilla y detectarse posteriormente. Debido a su principio de funcionamiento, estos analizadores se comportan de manera similar a los prismas o las rejillas. El analizador de masas de tiempo de vuelo produce iones positivos

periódicamente mediante el bombardeo de la muestra con electrones, iones secundarios o fotones generados por láser. Estos iones son acelerados por un impulso de campo eléctrico y entran en un tubo analizador de que no está sometido a ningún campo. Debido a que idealmente todos los iones entran en el tubo con la misma energía cinética, sus velocidades dentro del mismo varían inversamente con sus masas, llegando al detector antes las partículas más ligeras. Los tiempos de vuelo habituales oscilan entre 1 y 30 μs [92].

1.4.3.6 Sistema de detección

El multiplicador de electrones es el detector más comúnmente utilizado en ICP-MS. Cuando los iones del analito, que están cargados positivamente, impactan el primer dínodo del detector que se encuentra a un alto voltaje negativo, se produce un proceso llamado emisión secundaria. Este proceso hace que varios electrones sean emitidos desde la superficie del dínodo, los cuales, a su vez, impactan en el siguiente dínodo y liberan más electrones. Esta cascada de amplificación continúa hasta que se genera una señal lo suficientemente grande como para ser una medida confiable como un "recuento" de iones. Así, puede generar un pulso de señal medible a partir del impacto de un solo ión en el detector, lo que le confiere una sensibilidad analítica muy alta [89].

1.4.4 Interferencias

La detección por ICP-MS se ve limitada por la existencia de interferencias espectrales y no espectrales. Las primeras ocurren cuando un isótopo medido sufre una interferencia debido a la presencia de otro ión con la misma relación m/z . Cuando la interferencia espectral se debe a un conjunto de átomos se conoce como interferencia poliatómica, comúnmente asociada a átomos de argón de los gases del ICP, a la matriz de la muestra, al disolvente, a otros analitos, o a la entrada de oxígeno o nitrógeno del aire circundante. Además, la presencia de iones de cloruro en las muestras puede causar interferencias significativas en la medición de As, por lo que se recomienda evitar el uso de ácido clorhídrico en la preparación de muestras. Por otro lado, cuando la interferencia espectral se produce por la presencia de un isótopo de otro elemento con igual relación m/z se define como interferencia isobárica, y se presenta por ejemplo en el caso de ^{123}Te y ^{123}Sb . Para evitar las interferencias espectrales existen diferentes estrategias que pueden utilizarse. Una de ellas consiste en eliminar la matriz o emplear técnicas cromatográficas para separar los componentes de la muestra y así reducir las interferencias. También es posible corregir los espectros mediante ecuaciones matemáticas o el uso de celdas de colisión/reacción. El espectro de masas $m/2$ contiene

iones M^{2+} , y por ejemplo, el bario y el estroncio producen niveles significativos de estos iones en condiciones normales del plasma que pueden interferir con algunos isótopos de zinc y calcio, esta interferencia es conocida como doblemente cargada [90].

Las interferencias no espectrales pueden dividirse generalmente en efectos de matriz y deriva del instrumento. Los efectos de matriz se refieren a la mejora o supresión de la señal de un analito debido a las propiedades o componentes de la matriz de muestra. Estos efectos son causados por las diferencias de viscosidad, tensión superficial, presión de vapor, fuerza iónica y acidez entre las muestras y estándares de calibración, que afectan a los procesos desde la aspiración de la muestra hasta la detección de los iones. Además, la presencia de elementos fácilmente ionizables como el sodio y el potasio en la muestra puede disminuir la señal del instrumento, ya que desplazan el equilibrio de ionización térmica del analito hacia el átomo neutro. En cambio, la presencia de carbono puede potenciar la ionización del analito para elementos con un alto potencial de ionización.

En ICP-MS, el efecto de matriz se debe principalmente al efecto de carga espacial en la interfaz y la óptica iónica del instrumento. La carga espacial se produce debido a la repulsión electrostática entre los iones cargados positivamente en el haz de iones, lo que amplía el haz y reduce la transmisión de iones al detector. Los analitos livianos se ven más afectados que los de mayor masa, y los elementos pesados de la matriz causan una mayor supresión que los elementos más livianos. Para minimizar este efecto, es importante elegir un estándar interno con una masa similar a la del analito. Las interferencias por deriva del instrumento suelen producirse por los sólidos disueltos en las muestras que pueden depositarse en el nebulizador y/o en los conos de interfaz con el tiempo, reduciendo así la transmisión de iones al espectrómetro de masas y provocando una desviación descendente en la señal. Para minimizar estos efectos, las muestras analíticas no deben contener más del 0,1% de sólidos disueltos. Otro factor a controlar es la temperatura ambiente por lo que es esencial controlar el aire acondicionado en el laboratorio [95].

1.5 Líquidos iónicos

1.5.1 Aspectos generales de los líquidos iónicos

1.5.1.1 Historia

A mediados del siglo XIX, se obtuvo un compuesto líquido de color rojo denominado "red oil", producto de una reacción de Friedel-Crafts usando benceno y clorometano electrófilo para formar tolueno y cloruro de aluminio (AlCl_3) como un ácido de Lewis para catalizar la reacción. Sin embargo, la composición del aceite rojo no se conoció hasta el desarrollo de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear que permitió identificar su estructura como un compuesto iónico o un líquido iónico (IL) [96]. Sin embargo, la primera referencia bibliográfica de los ILs se atribuye a un famoso investigador y profesor de química nacido en Latvia y nacionalizado alemán, Paul Walden, quien estaba investigando acerca de sales fundidas que fueran líquidas a temperatura ambiente. En 1914 sintetizó el nitrato de etilamonio, cuyo punto de fusión es de 12 °C. Inicialmente, los primeros ILs fueron empleados como electrolitos, sin embargo, el interés por estas sales tuvo un aumento significativo a finales del siglo pasado debido a que eran consideradas como "solventes de diseño" por la gran cantidad de combinaciones catiónico-aniónicas que dieron lugar a ILs ideales para un gran número de aplicaciones. En 1963, el ejército de Estados Unidos descubrió una patente de 1948 que describía una mezcla conductiva de AlCl_3 y haluros de 1-etilpiridinio, considerada la primera muestra de ILs. Esto despertó el interés de científicos en solventes no acuosos y totalmente iónicos, lo que llevó a la búsqueda de alternativas viables para reemplazar las sales fundidas de LiCl-KCl utilizadas como electrolitos [97].

Las propiedades de los ILs permitieron su aplicación como electrolito en pilas, y en reacciones orgánicas como Friedel-Crafts, demostrando que no solo eran adecuados para la electroquímica, sino que también podrían ser utilizados como catalizadores en otras áreas de la química. En los últimos años, los ILs se han utilizado como solventes alternativos en metodologías analíticas para extraer analitos de naturaleza orgánica, biomoléculas y metales, como reemplazo de solventes orgánicos los cuales son tóxicos, volátiles e inflamables. En ese sentido, los ILs han sido de gran importancia en el desarrollo de la "química verde", término propuesto por Paul Anastas y John Warner quienes establecieron doce principios de la "química verde" que actualmente son de gran importancia para lograr la sostenibilidad simultánea en los ámbitos medioambiental, económico y social [98].

1.5.1.2 Composición química

Los ILs se definen como sales que funden a una temperatura inferior a 100 °C, a diferencia de otras sales convencionales como el NaCl cuya temperatura de fusión suele ser muy superior. En general, los ILs se componen de un catión orgánico voluminoso a base de nitrógeno o fósforo y un anión de naturaleza orgánica o inorgánica [99]. En la Figura 1.5.1 se ilustran los principales cationes y aniones que forman parte de la estructura de los ILs comúnmente utilizados en el campo de la química analítica. Como se mencionó en la sección 1.5.1.1, los ILs se caracterizan por ser "solventes de diseño" debido a que pueden sintetizarse con propiedades específicas, como una mayor selectividad, una menor solubilidad en agua o una mejor biodegradabilidad, combinando adecuadamente diferentes aniones y cationes. Actualmente, hay al menos un millón (10^6) de ILs simples que se pueden preparar fácilmente en el laboratorio, un billón (10^{12}) de combinaciones binarias y un trillón (10^{18}) de sistemas ternarios posibles, comparado con los 600 solventes moleculares conocidos en la actualidad [100].

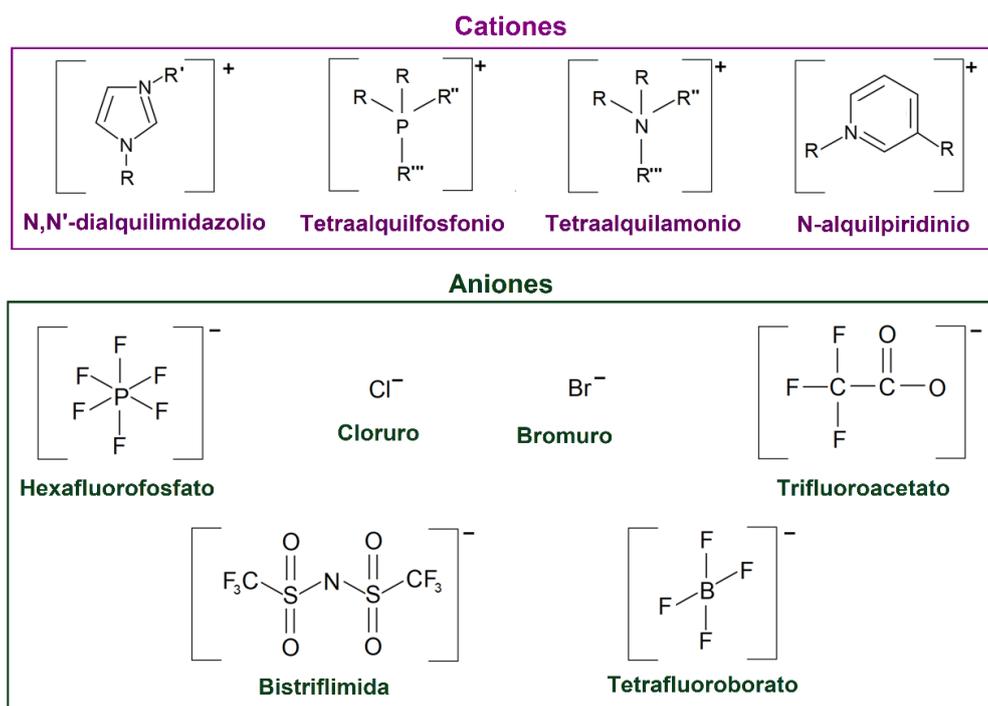


Figura 1.5.1 Cationes y aniones más comunes que forman los IL. R, R', R'' y R''' son cadenas orgánicas lineales: metil, etil, propil, butil, etc.

En los ILs, los iones suelen ser bastante asimétricos debido al gran tamaño que presenta el catión con respecto al anión, por lo tanto, las fuerzas atractivas catión-anión son más débiles que las fuerzas que intervienen en las sales iónicas convencionales.

Esto contribuye a que los ILs sean líquidos a temperatura ambiente o que posean un punto de fusión en dicho rango. Se requiere un pequeño aporte de energía (temperatura ambiente) para separar los aniones y los cationes que conforman el sólido y transformarlo en un líquido. Por lo contrario, en las sales clásicas, los iones se enlazan con un gran empaquetamiento entre ellos formando una estructura cristalina [101].

1.5.1.3 Propiedades fisicoquímicas

A continuación, se detallan las propiedades de los ILs que dependen en gran medida del tipo de catión y anión, y de su naturaleza química, así como de la longitud del grupo alquilo en el catión. Los ILs son únicos en el sentido de que, además de sus interacciones iónicas y covalentes, existen interacciones relativamente débiles, como enlaces H y π - π , que no son comunes en los solventes típicos.

❖ **Baja presión de vapor:** A diferencia de los solventes orgánicos clásicos, los ILs poseen una presión de vapor insignificante debida a la débil interacción coulombica que presentan entre sus iones, limitando la formación de pares iónicos necesarios para que se produzca la volatilización de las sales. Esta propiedad permite recuperar productos por destilación sin contaminación por el solvente en técnicas como LLE. Además, conlleva un bajo riesgo de contaminación atmosférica e intoxicación por inhalación en seres humanos [102].

❖ **Densidad:** Varía en un rango de entre 0,98-1,45 g cm⁻³ y suele ser más alta que la densidad del agua y la de solventes orgánicos. La densidad como propiedad fisicoquímica está relacionada con las fuerzas intermoleculares y la masa de los elementos presentes en el compuesto. En general, la densidad de los ILs comparables disminuye con el aumento del volumen del catión orgánico. Para un catión determinado, la densidad para los diferentes aniones varía de la siguiente manera: [OAc]⁻ < Cl⁻ < [SCN]⁻ < [BF₄]⁻ < Br⁻ < [PF₆]⁻ < [TFSI]⁻.

❖ **Viscosidad:** Esta propiedad es de gran importancia cuando estos solventes se utilizan como fase de extracción o como medios en una reacción química. Por su naturaleza iónica, la viscosidad de los ILs es relativamente alta (10 a 500 cP a presión atmosférica y a 20 °C) en comparación con los solventes orgánicos comunes y depende del tipo de catión y anión. Se ha observado que, para un catión determinado con diferentes aniones, la viscosidad varía de la siguiente manera: [DCA]⁻ < [TCN]⁻ < [BF₄]⁻ < [ClO₄]⁻ < [C₁SO₄]⁻ < [PF₆]⁻, mientras que con respecto al catión la viscosidad aumenta con la longitud de la cadena de alquilo y disminuye con la presencia de cadenas ramificadas [103].

❖ **Punto de fusión:** Determina el límite inferior del intervalo de temperatura en el que puede utilizarse el IL como solvente. Esta propiedad refleja las fuerzas intermoleculares y la disposición de la red cristalina. El punto de fusión depende fundamentalmente del tamaño y de la simetría de sus iones. En este sentido, bajos puntos de fusión se obtienen con sales formadas por iones grandes y asimétricos. Además, esta propiedad depende de la longitud de la cadena de alquilo. Por ejemplo, las cadenas de alquilo más cortas ($n < 6$) forman ILs menos asimétricos con mejor cohesión iónica y, por lo tanto, con puntos de fusión más altos. Sin embargo, las cadenas de alquilo más largas ($n > 8$) forman cationes más hidrófobos con interacciones de tipo Van der Waals, lo que también aumenta el punto de fusión [104].

❖ **Solubilidad y miscibilidad:** Los ILs tienen una gran capacidad para disolver una amplia variedad de compuestos, incluyendo dióxido de carbono, benceno, carbohidratos, metales, enzimas, carbón, polímeros naturales y sintéticos. Son más solvatantes que los solventes orgánicos convencionales y pueden ser diseñados para disolver sustancias específicas. La capacidad de disolución de un IL depende principalmente de su polaridad y de las propiedades de coordinación de sus iones [102].

❖ **Propiedades hidrofílicas/hidrofóbicas:** La solubilidad en agua de los ILs depende del tipo de anión, la temperatura y la longitud de la cadena de alquilo unida al catión. En el caso del catión $[C_4mim]^+$, los aniones $[BF_4]^-$, $[CF_3CO_2]^-$, $[NO_3]^-$ y las sales de haluro exhiben una miscibilidad completa en agua a temperatura ambiente. Es importante destacar que incluso si los ILs no son solubles en agua, tienen la tendencia a absorber agua de la atmósfera, es decir, son higroscópicos. Se ha establecido que las moléculas de agua, que se han absorbido del aire, están presentes en su mayoría en estado "libre" o unidas mediante enlaces de H.

❖ **Estabilidad térmica:** La estabilidad térmica de los IL es un parámetro importante que limita la temperatura máxima de funcionamiento. Los ILs generalmente no son inflamables y permanecen térmicamente estables a temperaturas superiores a las de los solventes orgánicos clásicos, por lo tanto, se evita el riesgo de explosión cuando se realizan reacciones químicas con ILs. Entre los ILs, hay una gran proporción con alta temperatura de descomposición (varía entre 200 a 400 °C) la cual depende más del tipo de anión que del catión. Las temperaturas de descomposición de los ILs pueden clasificarse con respecto al tipo de catión de la siguiente manera: a base de fosfonio > a base de imidazolio > a base de amonio [103].

❖ **Estabilidad química:** A diferencias de los ILs basados en cloro-aluminatos que son muy sensibles a la humedad y, por lo tanto, necesitan estar muy protegidos de ella

y de otras impurezas de óxido, el resto de los ILs son compuestos no inflamables y químicamente inertes.

❖ **Propiedades electroquímicas:** Algunas propiedades de los ILs (por ejemplo, alta estabilidad química y térmica, alta conductividad y amplia ventana electroquímica) los hacen adecuados para su uso en métodos electroanalíticos, especialmente en sensores electroquímicos donde los ILs se han aplicado como materiales fabricados sobre la superficie del electrodo. En este contexto, su alta viscosidad permite su aplicación como aglutinantes para inmovilizar moléculas sensibles sobre la superficie de electrodos [105].

❖ **Toxicidad y biodegradabilidad:** Los ILs tienen una despreciable volatilidad, lo que reduce las posibles vías de exposición a través de la piel y la ingestión. Su toxicidad se correlaciona directamente con la longitud del sustituyente n-alquilo presente en el catión metilimidazolio. En los cationes de ILs que contienen nitrógeno, por ejemplo, pirrolidinio, piperidinio y morfolinio, se observó un aumento de la toxicidad con un número creciente de átomos de carbono en el anillo [103].

❖ **Biodegradabilidad:** Una mayor biodegradabilidad se relaciona con un mayor contenido de carbono en la estructura de los ILs. En este sentido, a menos que los ILs estén constituidos por un anión orgánico, (por ejemplo, anión octil-sulfato), la biodegradación no debe considerarse para el par iónico. Por ejemplo, en el caso de los aniones $[\text{BF}_4]^-$ y $[\text{PF}_6]^-$, la biodegradación está estrictamente relacionada con el catión orgánico debido a que la gran mayoría de los cationes del IL se caracterizan por un mayor contenido de carbono que los aniones. Adicionalmente, se ha reportado un estudio de biodegradabilidad de los ILs, en el cual se observó que algunos son más biodegradables cuando presentan un grupo éster o amida en su estructura [106].

1.5.1.4 Síntesis

En general la síntesis de ILs implica dos etapas bien diferenciadas: (a) formación del catión que será parte de la estructura del IL (reacción de cuaternización), (b) reacción de intercambio iónico que obtendrá el producto deseado.

- Reacciones de cuaternización: Se basan en polisustituir aminas o fosfinas, convirtiéndolas en compuestos cuaternarios, mediante la reacción con un haluro de alquilo. Estas reacciones transcurren a temperaturas relativamente suaves. Generalmente, las condiciones de reacción son más suaves con los derivados de yodo en comparación con el bromo, mientras que los cloruros de alquilo requieren condiciones más fuertes, similares a las reacciones de sustitución nucleofílica. Este tipo

de reacción es bastante simple: la amina o fosfina se mezcla con un haloalcano específico, y luego la mezcla se agita y calienta (Figura 1.5.2) [107].

Los compuestos más comúnmente utilizados en estas reacciones son los del tipo 1-alkilimidazoles. La temperatura y el tiempo de reacción dependen del haloalcano empleado, siendo los cloroalcanos los menos reactivos y los iodoalcanos los más reactivos. La reactividad de los haloalcanos disminuye al aumentar la longitud de la cadena. La reacción debe realizarse bajo una atmósfera de nitrógeno u otro gas inerte para evitar la presencia de trazas de agua y oxígeno durante la cuaternización. La eliminación del oxígeno es esencial para obtener una sal de haluro incolora. La sal de haluro obtenida generalmente es inmiscible con los reactivos de partida, lo que facilita su separación. El producto puede separarse por decantación, eliminando compuestos que puedan permanecer en la misma por calentamiento en vacío. Sin embargo, la temperatura no debe superar los 80 °C, ya que un calentamiento excesivo puede invertir la reacción de cuaternización. La mezcla de reacción debe estar libre de humedad, porque los productos de reacción son a menudo muy higroscópicos. Para evitar ese inconveniente, se puede almacenar el producto obtenido en un desecador. Al finalizar, se deben realizar continuos lavados con un solvente adecuado para eliminar cualquier traza de los reactivos de partida. Mediante RMN se puede confirmar que el IL final esté libre de estos compuestos [108].

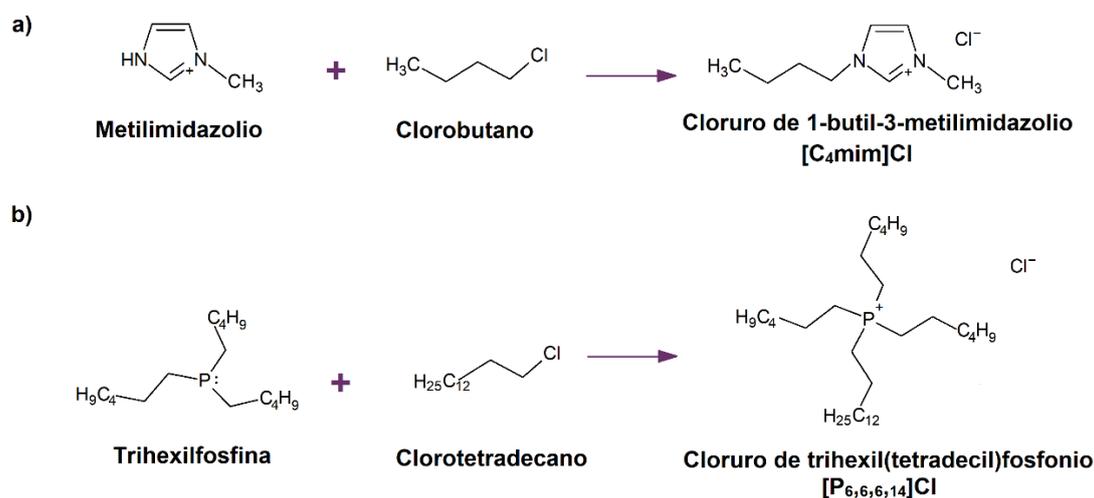


Figura 1.5.2 Ejemplo de reacción de cuaternización para obtener ILs de tipo: a) imidazolio, b) fosfonio.

▪ Reacciones de intercambio aniónico: Existen dos tipos de reacciones de intercambio del anión, aquellas que consisten en el tratamiento directo de las sales del haluro con ácidos de Lewis y las que son conocidas como reacciones de metátesis aniónica. El tratamiento con ácidos de Lewis fue inicialmente la vía de síntesis más utilizada y consiste en la reacción de las sales de haluro (Q^+X^-) con ácidos de Lewis (MX_n), principalmente con $AlCl_3$. Generalmente, la reacción produce más de una especie aniónica, de acuerdo a las proporciones. Si bien estas sales son relativamente estables, el exceso de calor, debido a que usualmente son bastante exotérmicas, puede descomponer el IL. La sensibilidad al agua de las sustancias supone que la reacción tiene que realizarse en ausencia de trazas de agua. Es importante que después de su síntesis, los ILs se almacenen en un desecador al vacío [107].

Por otro lado, las reacciones de metátesis permiten sintetizar principalmente ILs inmiscibles en agua. Se basan generalmente en preparar una solución acuosa de la sal de haluro del catión, sobre la cual se añade el anión en su forma ácida o como sal alcalina, dando lugar a la reacción de intercambio aniónico. Cuando se emplea como fuente del anión la forma ácida del mismo, se favorece la reacción, liberándose al medio HCl, HBr, o HI como subproducto que se puede eliminar por medio de posteriores lavados con agua. En este caso, el lavado debería continuar hasta la neutralización del agua de lavado, debido a que con el tiempo las trazas de ácido podrían causar la descomposición de los ILs. Si la forma ácida como fuente del anión no está disponible, se podría sustituir por un metal alcalino o una sal de amonio. La alta viscosidad de los ILs dificulta la purificación por lavados, por lo que se los debe disolver en solventes orgánicos como cloroformo ($CHCl_3$) o diclorometano para disminuir su viscosidad [109].

1.5.1.5 Aplicaciones analíticas

Durante los últimos años, los ILs se han utilizado en una amplia gama de aplicaciones en el área de la química con un éxito considerable. Las primeras aplicaciones fueron con fines electroquímicos, debido a sus propiedades específicas. Como se mencionó anteriormente, en contraste con los electrolitos usados comúnmente, los ILs poseen potenciales electroquímicos y conductividades iónicas similares, y a la vez son más seguros y menos tóxicos e inflamables, lo cual los convierten en electrolitos ideales en dispositivos electroquímicos como baterías, condensadores, celdas de combustible y sensores electroquímicos [110].

A demás, se ha demostrado la aplicación de ILs como medios de reacción tanto en procesos químicos como bioquímicos, lo que ha potenciado el desarrollo de nuevos ILs. Se han empleado como solventes en reacciones nucleofílicas y electrofílicas

catalizadas tanto por ácidos como por complejos de metales de transición. Además, se han usado como medios de reacción en biosíntesis, con una gran capacidad para la estabilización enzimática en procesos continuos. En los últimos años, los ILs se han empleado en membranas líquidas soportadas con fines de separación y como lubricantes potenciales, de alto rendimiento y versátiles gracias a sus específicas características como bajo punto de fusión, baja presión de vapor, polaridad variable y estabilidad [111, 112].

Por otro lado, su nula presión de vapor y su elevada estabilidad térmica los han convertido en solventes adecuados en el área de la química analítica, más precisamente, en técnicas de LLE [99]. En estas técnicas hay un mecanismo de partición que produce la transferencia de los analitos desde la fase acuosa a la fase del IL. A pesar de que la extracción de iones metálicos en sistemas bifásicos acuosos/IL a menudo indica una mayor selectividad y eficiencia de extracción que la observada con solventes orgánicos tradicionales, la partición de iones metálicos depende significativamente de la naturaleza del IL, del ión metálico y el ligando [113]. En ese sentido, se pueden realizar varias estrategias para mejorar la afinidad de los iones metálicos por la fase de IL. En primer lugar, la más utilizada en técnicas de preconcentración es el uso de agentes complejantes específicos cuando los ILs se utilizan como solventes de extracción. En segundo lugar, la aplicación de ILs que sean tanto reactivos quelantes como solventes de extracción. En este sentido, los TSILs son una subclase de ILs que pueden diseñarse para usos específicos en amplio rango de aplicaciones. Por ejemplo, la presencia de grupos quelantes de metales en la estructura de los TSILs (urea, tiourea o tioéter como parte del catión, tiosalicilato o tioglicolato como parte del anión) aumenta la afinidad de iones metálicos específicos hacia la fase TSIL, obteniendo así altas eficiencias de extracción sin el uso de agentes complejantes [114].

1.5.2 Líquidos iónicos magnéticos

1.5.2.1 Introducción

La combinación de ILs con materiales magnéticos puede generar una sinergia única que potencia tanto la capacidad de extracción de estos solventes como la destacada respuesta de los materiales magnéticos a la atracción de un imán, simplificando la separación de fases, complementada por su utilidad como materiales de soporte. Por este motivo, el interés por el desarrollo de métodos de extracción magnéticos basados en ILs ha aumentado constantemente en la química analítica. Sin embargo, la recuperación del sorbente depende fuertemente de la calidad de la

inmovilización, debido a que los ILs pobremente funcionalizados pueden liberarse del soporte y no se separarán magnéticamente, afectando el rendimiento de la extracción [115]. Este problema pudo resolverse mediante el desarrollo de una nueva subclase de ILs, llamados ILs magnéticos (MILs), los cuales son sintetizados mediante la incorporación de un componente paramagnético, que con frecuencia suele ser un ión de metal de transición como hierro (Fe), manganeso (Mn) o cobalto (Co) o de metal lantánido como disprosio (Dy) o gadolinio (Gd), en el catión o anión de la estructura del IL [116]. Los MILs poseen las propiedades fisicoquímicas únicas de los ILs clásicos y, además, exhiben una fuerte respuesta a campos magnéticos externos. Adicionalmente, presentan propiedades intrínsecas que les permiten formar materiales termocrómicos, magnetocrómicos o luminiscentes dependiendo del ion magnético que contienen [117].

En el 2004, se estudió por primera vez el MIL llamado tetracloroferrato (III) de 1-butiril-3-metilimidazolio ($[\text{C}_4\text{mim}][\text{FeCl}_4]$) que, aunque se conocía hace un tiempo, se reportaron por primera vez sus propiedades magnéticas y su potencial aplicación bajo el efecto de un imán de neodimio de 0,55 T a temperatura ambiente. Este descubrimiento abrió una nueva área de investigación de gran interés. Inicialmente, los primeros MILs desarrollados se basaban principalmente en aniones conteniendo Fe(III) d^5 de alto espín, como el tetracloro o tetrabromoferrato(III), combinados con diversos cationes orgánicos, como alquilimidazolio, tetraalquilamonio o tetraalquifosfonio. Posteriormente, la síntesis de MILs evolucionó hacia la combinación de diferentes iones de metales de transición (Co, Mn), tierras raras (Dy y Gd) e incluso cationes quirales, como aminoácidos. Actualmente, estos solventes se emplean en técnicas de LLE, en sensores químicos y en reacciones químicas como catalizadores o medios de reacción. Su capacidad de ser manipulados magnéticamente les confiere una ventaja sustancial sobre los métodos convencionales, lo que posibilita realizar análisis selectivos y eficientes en diversas aplicaciones [118].

1.5.2.2 Propiedades fisicoquímicas

La investigación inicial sobre las propiedades de los MILs se ha basado en desarrollar y comprender la relación que existe entre la naturaleza y la estructura del anión-catión y las propiedades físicas. La susceptibilidad magnética, estabilidad térmica, hidrofobicidad y viscosidad son algunos de los parámetros críticos de los MILs para sus potenciales aplicaciones como solventes de extracción. Las principales propiedades de los MILs se detallan a continuación:

❖ **Susceptibilidad magnética:** Es una de las principales propiedades de los MILs y representa una gran ventaja de estos solventes sobre los ILs clásicos, debido a que

pueden separarse de soluciones acuosas mediante la aplicación de un campo magnético externo. La utilización de MILs con momentos magnéticos altos aportan grandes ventajas a procesos de extracción analítica, manipulación dentro de dispositivos microfluídicos, sensores basados en imanes, entre otras aplicaciones. Las susceptibilidades magnéticas de los MILs dependen de la naturaleza del metal presente ya sea en el anión o catión, de la naturaleza del catión, la longitud de sus grupos alquilo y de la naturaleza de los aniones sin metal [115].

❖ **Viscosidad:** Este parámetro influye en la aplicación práctica de estos solventes en la química analítica. Los líquidos altamente viscosos son deseables para ciertas aplicaciones, como las fases estacionarias en CG, mientras que se prefieren viscosidades más bajas para facilitar la mezcla o la transferencia de masa en las técnicas de extracción. Los factores que influyen en la viscosidad de los MIL deben, por lo tanto, considerarse cuidadosamente al aplicar estos materiales para un propósito específico. En técnicas de extracción resulta conveniente que estos solventes presenten viscosidades relativamente bajas para facilitar su manipulación en soluciones acuosas [118].

❖ **Estabilidad térmica:** El conocimiento de la estabilidad térmica de los MILs es crucial para establecer su temperatura de funcionamiento máxima permitida. Aunque las temperaturas de descomposición (T_d) informadas para los MILs dependen de la velocidad de calentamiento, la composición del gas transportador y/o el porcentaje de pérdida de masa correspondiente, las características estructurales que influyen en la estabilidad térmica pueden identificarse mediante el examen y la comparación de los valores de T_d . Se estudió que el MIL compuesto por el catión $[P_{6,6,6,14}]^+$ emparejado con el anión $[FeCl_4]^-$ proporcionó una elevada estabilidad térmica de aproximadamente 350 °C cuando se sometieron a un análisis termogravimétrico (TGA) usando una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹ y gas portador de nitrógeno [119].

❖ **Hidrofobicidad:** En un principio, los MILs tenían una naturaleza hidrofílica debido a la inestabilidad hidrolítica del anión paramagnético. Esto resultaba en su miscibilidad en agua, impidiendo que retuvieran sus propiedades magnéticas y, por lo tanto, no podían recuperarse con un imán, especialmente en situaciones donde el volumen de la fase de extracción era mínimo, como en técnicas de microextracción. Sin embargo, estos MILs hidrofílicos pueden ser una opción viable para medios no acuosos, lo cual explica por qué las primeras aplicaciones de MILs como fase de extracción se centraron en estos medios. Dado que la mayoría de las extracciones se realizan en muestras acuosas, se han llevado a cabo nuevos estudios enfocados en la síntesis de

MILs hidrofóbicos y su aplicación en la extracción de analitos en medios acuosos [115]. Existen diferentes estrategias para conferir hidrofobicidad a los MILs:

- Utilización de largas cadenas de alquilo en el catión.
- Introducción de aniones que presentan baja capacidad de coordinación y son relativamente hidrófobos.
- Combinación de un catión con un anión tensioactivo y otro catión con un anión paramagnético en un sistema dicatiónico, o en su lugar, un catión con un anión hidrófobo libre de metal y otro catión con un anión paramagnético.
- Modificación del componente aniónico con el fin de conferir tanto carácter paramagnético como hidrofobicidad, por ejemplo, usando aniones hexafluoroacetilacetato como ligandos para centros metálicos paramagnéticos.
- Incorporación de un componente paramagnético en el catión y seleccionar un anión relativamente hidrófobo.

❖ **Toxicidad:** El uso cada vez mayor de MILs implica la necesidad de considerar los efectos sobre la salud humana y el ambiente que puede causar su liberación. Su presión de vapor insignificante y su nula inflamabilidad reducen o eliminan el riesgo de emisiones al aire. Sin embargo, algunos de ellos son solubles en agua, por lo que pueden presentar riesgos ambientales para los ecosistemas acuáticos que deben evaluarse. Se ha estudiado que la presencia de Fe en la estructura molecular de los MIL basados en imidazolio, así como el aumento en la longitud de la cadena produjo un aumento en la ecotoxicidad. Además, se ha reportado un estudio sobre los efectos toxicológicos de MILs conteniendo cationes imidazolio y colina en combinación con los aniones $[\text{FeCl}_4]^-$, $[\text{MnCl}_4]^-$, $[\text{CoCl}_4]^-$ y $[\text{GdCl}_6]^-$ en células de adenocarcinoma colorrectal humano y fibroblastos normales de la piel humana. De acuerdo a los resultados, los aniones $[\text{FeCl}_4]^-$ y $[\text{GdCl}_6]^-$ inducían una toxicidad más baja que $[\text{MnCl}_4]^-$ y $[\text{CoCl}_4]^-$ [120].

❖ **Luminiscencia electroquímica:** Los compuestos de lantánidos han ganado una atención generalizada como materiales potenciales en fotoquímica y espectroscopía debido al hecho de que muestran luminiscencia. Se estudiaron MILs basados en Dy debido a que el momento magnético del Dy(III) es dos veces superior al del Fe(III), los productos obtenidos mostraron luminiscencia [121], un comportamiento ya conocido para los iones lantánidos disueltos en ILs [122].

1.5.2.3 Síntesis de líquidos iónicos magnéticos

La síntesis de MILs se ha basado principalmente en la utilización de ILs convencionales previamente sintetizados o disponibles comercialmente. Estos ILs experimentan una reacción de intercambio iónico, donde el anión original del IL se sustituye por un anión que posee propiedades magnéticas. Este nuevo anión magnético está compuesto por un elemento paramagnético como Co, Fe, Mn o Dy. Aunque también se han reportado MILs donde el catión proporciona las propiedades magnéticas, estas variantes han sido menos estudiadas en comparación con las anteriores [118]. A continuación, se describe el proceso general de la síntesis de un MIL (Figura 1.5.3). En una primera etapa, se disuelve el IL convencional en CHCl_3 o diclorometano para disminuir la viscosidad y favorecer su posterior mezcla con una solución acuosa o en medio ácido de la sal halogenada o cianurada que contenga el ion metálico en cantidades estequiométricas. La mezcla se agita constantemente a temperatura ambiente durante varias horas, para permitir la reacción de intercambio iónico con un alto rendimiento. Luego la capa orgánica se separa, lavando varias veces con agua ultrapura para eliminar restos de ácido e impurezas y el solvente orgánico se elimina por un evaporador rotatorio. Finalmente, el MIL es secado por calentamiento gradual para eliminar vestigios de solución acuosa o de solvente orgánico [123].

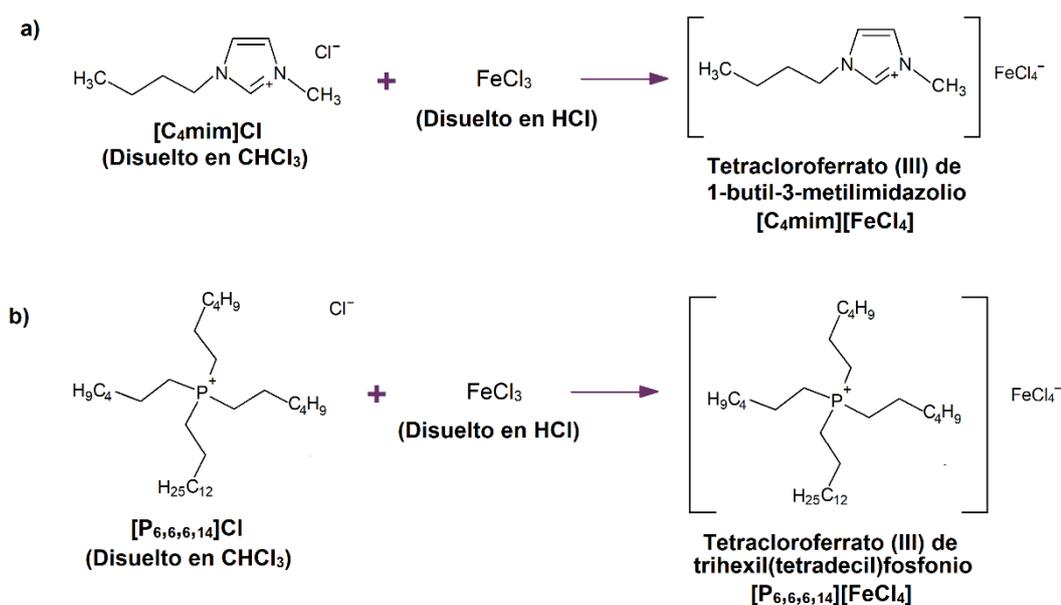


Figura 1.5.3 Síntesis de MILs basados en el anión tetracloroferrato (III) de: a) 1-butil-3-metilimidazolio, b) trihexil(tetradecil)fosfonio.

1.5.2.4 Caracterización de líquidos iónicos magnéticos

La caracterización de los MILs se basa en diferentes estudios incluyendo termofísico, estructural y magnético:

- **Caracterización termofísica:** Las propiedades termofísicas de los MILs, como la viscosidad, la densidad y la estabilidad térmica, pueden influir en su comportamiento magnético y en su aplicación en diferentes campos. Estas propiedades dependen significativamente de la temperatura, en general, disminuyen con el aumento de la misma. La densidad de MILs suele medirse gravimétricamente con un picnómetro, la viscosidad con un reómetro y el análisis TGA con una termobalanza en atmósfera de nitrógeno, todos se estudian en un rango de temperatura [123].

- **Caracterización estructural:** El análisis químico elemental es una técnica utilizada para determinar la composición elemental de las muestras. En el caso de los MILs, esta técnica permite determinar el contenido de hidrógeno, carbono, nitrógeno y otros elementos presentes en la muestra. La espectroscopia óptica atómica es otra técnica que mediante proceso de atomización convierte las muestras de MILs en iones gaseosos, para determinar la proporción de un determinado átomo en el compuesto. Además, las técnicas vibracionales, como la espectroscopía Raman e infrarroja (IR), son herramientas importantes en la caracterización de MILs. Estas técnicas posibilitan la identificación de modos de vibración de los aniones y cationes presentes en la muestra, lo que ayuda a caracterizar los grupos funcionales específicos. Con la técnica IR, el espectro suele mostrar bandas en la zona de altas energías, cercano a los 3000 cm^{-1} , relacionadas con vibraciones C-H de los radicales alquilo pertenecientes al catión de MILs. En la Figura 1.5.4, se ejemplifica un espectro IR de MILs tipo fosfonio con diferentes aniones [124].

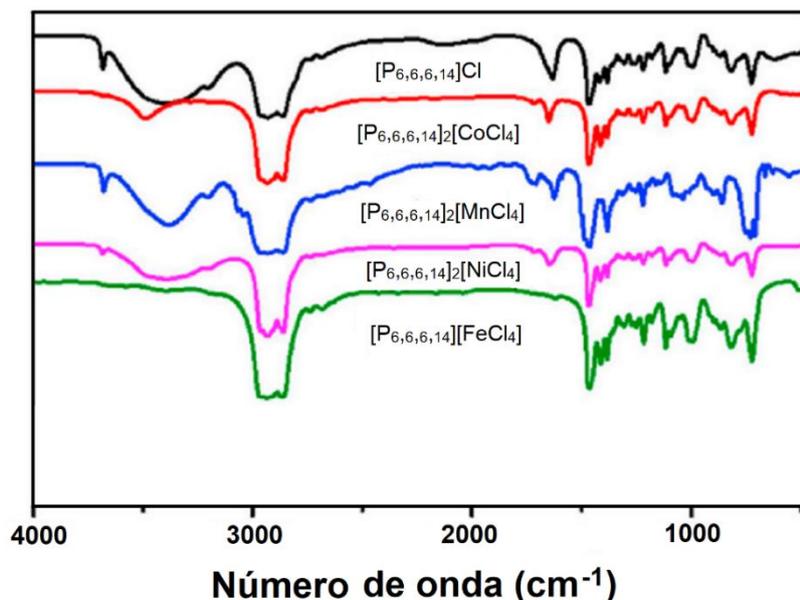


Figura 1.5.4 Ejemplo de espectros IR de MILs tipo fosfonio con distintos aniones.

Por otro lado, los aniones de haluro metálico existen como aniones MCl_x discretos, lo cual se evidencia mediante espectros Raman de las sales. Por ejemplo, el espectro del anión [FeCl₄]⁻ muestra un pico limpio a 335 cm⁻¹ que se ha asignado previamente al [FeCl₄]⁻ tetraédrico [125]. Además, los aniones se pueden caracterizar mediante espectrofotometría UV-Vis, ya que los complejos metálicos tienden a absorber radiación en esta región debido a transiciones electrónicas. En la Figura 1.5.5, se ejemplifica un espectro UV-Vis de MILs tipo fosfonio con diferentes aniones [124].

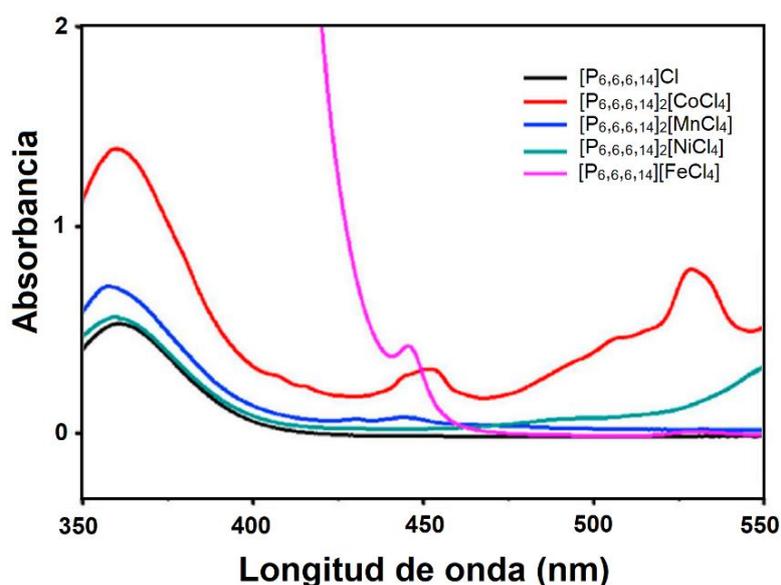


Figura 1.5.5 Ejemplo de espectros UV-Vis de MILs tipo fosfonio con distintos aniones.

Finalmente, la determinación de la estructura cristalina es crucial para comprender las interacciones intermoleculares y las propiedades fisicoquímicas de los compuestos. La difracción de rayos X se utiliza para este propósito, pero no puede localizar los hidrógenos ni diferenciar átomos cercanos en la tabla periódica debido a que los rayos X son difractados por los electrones. Esto puede resolverse empleando la técnica difracción de neutrones, que permite localizar los hidrógenos y distinguir entre isótopos. Además, la interacción de los neutrones con los momentos magnéticos del material genera una dispersión magnética. Si hay un orden magnético de largo alcance en el material, esto resulta en picos de difracción que se superponen o aparecen en nuevos ángulos, dependiendo del tipo de ordenamiento magnético. En otras palabras, esta técnica puede proporcionar la estructura magnética del material [126].

- **Caracterización magnética:** La susceptibilidad magnética consiste en cuantificar el grado de magnetización de un material que contiene un elemento paramagnético en su estructura, en respuesta a un campo magnético externo aplicado. Una técnica comúnmente utilizada es la "curva de magnetización" o "histéresis magnética" que se basa en medir la imantación en función del campo magnético a una temperatura constante. Esta técnica permite identificar si el compuesto es ferromagnético al aparecer una irreversibilidad en la curva de imantación, que da lugar a la aparición de un campo coercitivo. Mediante el ajuste de la ley de Curie-Weiss en la zona paramagnética, se puede obtener el momento paramagnético efectivo (μ_{eff}) que presentan los aniones magnéticos y la temperatura de Curie paramagnética (θ_P) que permite saber si las interacciones son de tipo ferro o antiferromagnética. Existen varios sistemas de medición de propiedades magnéticas o magnetómetros como, por ejemplo, el magnetómetro de muestra vibrante (VSM) y el dispositivo de interferencia cuántica superconductora (SQUID). El SQUID es un sistema extremadamente sensible diseñado para medir el momento magnético de una muestra, aprovechando las propiedades mecánicas cuánticas de los materiales superconductores. Esta tecnología excepcional permite la medición de campos magnéticos con una precisión sin precedentes [123].

Por otro lado, la espectroscopía Mössbauer consiste en la emisión y absorción resonante de rayos gamma sin retroceso de átomos en un compuesto, lo que permite caracterizar el entorno nuclear de los átomos con una alta resolución energética. En el caso del Fe(III) con ordenamiento magnético, el espectro muestra 6 picos distintivos. Cualquier variación, como impurezas magnéticas o desorden en los átomos de Fe, se reflejará en el espectro final como contribuciones adicionales. Ajustando el conjunto de picos, es posible obtener la concentración de cada estado de oxidación presente en la muestra [127].

1.5.2.5 Aplicaciones analíticas de los MILs

En los últimos años, se han reportado un gran número de aplicaciones de los MILs y en una gran variedad de áreas de investigación. Por ejemplo, se han empleado MILs como solventes de extracción en técnicas de LLME. La posibilidad de diseñar estos solventes con suficiente carácter hidrófobo ha permitido su aplicación en sistemas acuosos tanto para la extracción de biomoléculas como de iones metálicos. Además, se presentan como una alternativa más ecológica a los solventes orgánicos volátiles e inflamables, debido a que tienen una baja presión de vapor y nula inflamabilidad. Adicionalmente, debido a sus propiedades magnéticas, se puede simplificar la separación de la fase orgánica mediante la aplicación de un imán, evitando la etapa de centrifugación, la cual consume tiempo y energía. Por otro lado, en comparación con los ILs convencionales combinados con nanopartículas magnéticas como la magnetita, los MILs presentan la ventaja de evitar una etapa adicional de desorción de los ILs, lo que implica un menor consumo de reactivos [115].

La elevada estabilidad térmica de los MILs, ha permitido que sean utilizados en separaciones cromatográficas como fases estacionarias en la GC bidimensional integral [128]. También se han investigado como materiales sensibles para aplicaciones electroquímicas como nuevos materiales electrocromáticos para la fabricación de diferentes dispositivos electrónicos, como pantallas de información, vista trasera antideslumbrante de automóviles y ventanas inteligentes, debido a sus propiedades magnéticas, fotofísicas/ópticas o catalíticas únicas de los MILs que se originan a partir del metal incorporado en el anión. Además, se estudió la utilización de los MILs a base de cloruro de hierro como una alternativa a los catalizadores homogéneos existentes en la reacción de acilación Friedel-Crafts de compuestos aromáticos, obteniendo conversiones y selectividades muy altas en una variedad de reacciones [118]. Por otro lado, se han sintetizado membranas caracterizadas por la inmovilización del MIL en los poros de una película microporosa hidrófila o hidrófoba, por ejemplo para eliminar selectivamente el dióxido de carbono de una mezcla de gases [123]. Adicionalmente, se han empleado MILs para medir de forma precisa la densidad de un objeto diamagnético mediante levitación magnética, combinando aniones basados en Fe(III), Mn(II), Gd(III), Ho(III) y Dy(III) con cationes de éster de imidazolio, amonio o aminoácidos alquilados, una variedad de MILs con rangos de densidad accesibles únicos [129]. En la Figura 1.5.6 se esquematizan las propiedades y ventajas que presentan los MILs para diversas aplicaciones analíticas.



Figura 1.5.6 Resumen esquemático de las propiedades y ventajas de los MILs.

1.6 Técnicas de microextracción y preconcentración

La etapa de preparación de la muestra desempeña un papel crucial en prácticamente todos los métodos analíticos, ya que permite mejorar la sensibilidad al preconcentrar analitos de interés y facilitar su separación y detección. Esto resulta especialmente importante cuando los analitos se encuentran en concentraciones extremadamente bajas y las muestras contienen concomitantes en niveles elevados, lo que genera efectos de interferencia durante las mediciones. En general, el As y el Sb se encuentran en muy bajas concentraciones en muestras ambientales y alimentos (en el orden de $\mu\text{g L}^{-1}$ o ng L^{-1}), y el análisis de especiación elemental supone un desafío adicional debido a que sus concentraciones representan solo una fracción de la concentración total. Por lo tanto, se requieren metodologías analíticas altamente sensibles y selectivas para obtener una determinación exacta y sensible de elementos traza y sus especies. En algunos casos, es necesario realizar una etapa de preconcentración previa a la detección mediante diversas técnicas instrumentales [130]. En esta sección se describen de forma general las técnicas clásicas de extracción y algunas de sus versiones miniaturizadas, las cuales se utilizan ampliamente en la actualidad.

1.6.1 Extracción en fase sólida

La SPE es una clásica técnica de preparación de muestras ampliamente usada para la separación y preconcentración de elementos y sus especies. Esta técnica se fundamenta en la partición selectiva de uno o más analitos entre dos fases: una fase líquida que contiene el analito y otra fase sólida, compuesta por un sorbente dispuesto en diferentes geometrías, siendo la columna la más común, aunque también se pueden emplear cartuchos o discos [131]. La SPE clásica implica cuatro pasos: 1) equilibrio de la columna o cartucho con un solvente adecuado, 2) carga de la muestra, que se filtra a través del sorbente empaquetado que retiene el analito, 3) lavado del sorbente para eliminar impurezas que puedan haber quedado asociadas y 4) elución o retroextracción del analito [132]. El proceso de adsorción en SPE depende de las propiedades físicas y químicas de los analitos, las características superficiales del sorbente y las condiciones experimentales (pH, temperatura, entre otras). Las interacciones entre los analitos y los sorbentes involucran grupos funcionales y procesos de intercambio iónico. Los sorbentes desempeñan un papel crucial en SPE, ya que determinan la selectividad, afinidad y capacidad del método. Un sorbente en condiciones ideales debe ser poroso,

con alta superficie específica y selectividad, estabilidad química y mecánica, cinética rápida de sorción y desorción, reversibilidad y alta tasa de recuperación. En los últimos años, los sorbentes clásicos utilizados en los primeros desarrollos de SPE, como el carbón activado, alúmina activada y material microcristalino, han sido desplazados por el avance de los materiales modernos, especialmente los nanomateriales. El uso de nanomateriales ha tenido un impacto significativo en el desarrollo de las técnicas de SPE, mejorando su eficiencia y permitiendo la miniaturización de los sistemas mediante el uso de microcolumnas que requieren una cantidad mínima de material (en el orden de los mg) para su funcionamiento [133].

1.6.1.2 Extracción en fase sólida dispersiva

La extracción en fase sólida dispersiva (DSPE) se presenta como una versión alternativa a la SPE clásica, donde el sorbente se dispersa en la matriz de la muestra (o su extracto). Esta técnica permite un mayor contacto entre el analito y el sorbente mejorando la cinética de sorción y por lo tanto aumentando la eficiencia de extracción. Anastasiades y colaboradores fueron los pioneros en utilizar sorbentes dispersos con el objetivo de aumentar la selectividad del método. Su éxito en la determinación de plaguicidas en productos alimenticios ha impulsado su comercialización en tubos listos para su uso. La clave de la DSPE radica en retener los componentes de la matriz mientras se mantiene el analito en la fase líquida, lo cual se obtiene mediante la reducción de pequeñas cantidades de sólidos (aproximadamente 50 mg). Así el analito permanece en una fase líquida más limpia, mejorando la selectividad de la determinación. Esta técnica ofrece beneficios más allá de mejorar la selectividad, ya que el sorbente disperso puede utilizarse de manera eficiente para retener el analito de la muestra en su totalidad. El analito extraído se determina luego de ser eluido del sorbente con un eluyente adecuado [134].

La técnica D- μ -SPE (Figura 1.6.1) es una versión miniaturizada de la DSPE en la que se utiliza poca cantidad de un sorbente (en el rango de μ g o pocos mg) con una elevada área superficial. La dispersión del sorbente se realiza mediante sonicación, agitación o vórtex, aumentando la superficie de contacto entre el analito presente en la fase acuosa y el sólido, acelerando la transferencia de masa y el equilibrio de extracción. Posteriormente, se separa el sorbente de la solución de muestra por filtración, centrifugación o separación magnética, según la naturaleza del mismo. Finalmente, el analito se eluye en un volumen reducido de solvente para su posterior análisis. Es importante mencionar que, aunque el DSPE originalmente se desarrolló para realizar la limpieza de las muestras, tanto la DSPE como D- μ -SPE se utilizan en la literatura para

describir la extracción analítica bajo el mismo principio de dispersión del sorbente en las matrices de muestra. A diferencia de la SPE convencional, la D- μ -SPE no requiere columnas empaquetadas ni el paso de grandes volúmenes de muestra a través del sorbente. Sin embargo, la selección del sorbente en D- μ -SPE debe considerar su capacidad de dispersión en la matriz seleccionada, evitando problemas operativos como la agregación, flotación o adherencia del sorbente al vial de muestra. La D- μ -SPE ofrece ventajas como un bajo consumo de solventes orgánicos, rapidez, simplicidad de operación y altas recuperaciones de analitos [135].

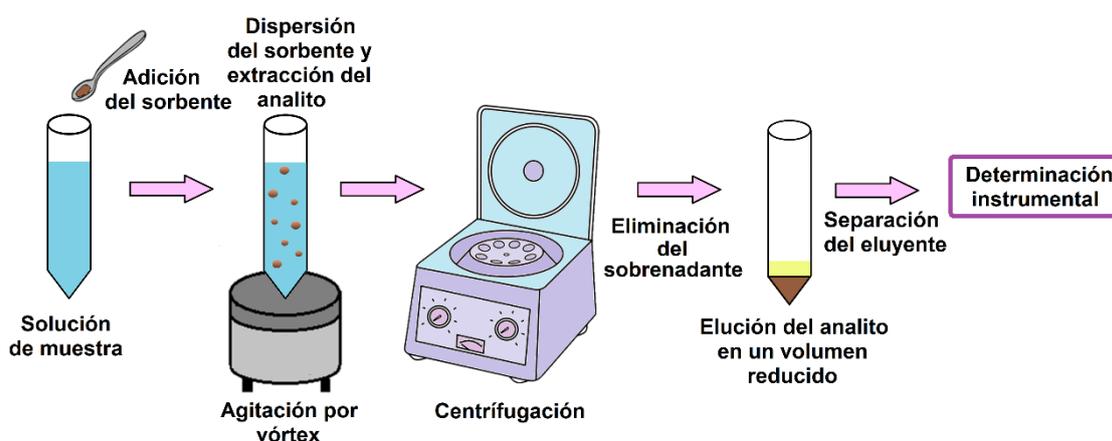


Figura 1.6.1 Esquema general de la técnica D- μ -SPE.

1.6.1.3 Nanomateriales

Los sorbentes juegan un papel muy importante en técnicas D- μ -SPE debido a que tanto la eficiencia de la limpieza de la muestra como el enriquecimiento de un analito dependen de la afinidad del material sólido con los compuestos de interés. Es fundamental destacar que la interacción entre el sorbente y los analitos debe ser reversible en diferentes condiciones experimentales para permitir una fácil desorción. Sin embargo, en algunos casos, se puede omitir este último paso si se realiza la determinación directamente en la superficie del sorbente. La eficiencia de los procesos de sorción y desorción está influenciada por el área de contacto entre la muestra y el sorbente, así como entre este y el solvente de desorción. Por lo tanto, los sorbentes nanoestructurados con una alta relación área superficial/volumen ofrecen una mayor capacidad de adsorción en comparación con los materiales a escala micro (octadecil sílice, minerales de aluminosilicato, entre otros) [134].

En los últimos años, los nanomateriales han tenido una marcada influencia en las técnicas de microextracción debido a que se demostró que la reducción del tamaño

de partícula, aumenta exponencialmente la relación área/volumen, favoreciendo la eficiencia de extracción. El descubrimiento del fullereno C₆₀, en 1985, dio inicio al desarrollo de una amplia gama de nanomateriales basados en carbono que han desempeñado un papel destacado en las técnicas de SPE. Estos materiales incluyen fullerenos, grafeno, nanotubos de carbono y nanofibras de carbono, entre otros, así como sus formas funcionalizadas [131]. La Figura 1.6.2 detalla las estructuras de algunos nanomateriales a base de carbono ampliamente utilizados en aplicaciones analíticas.

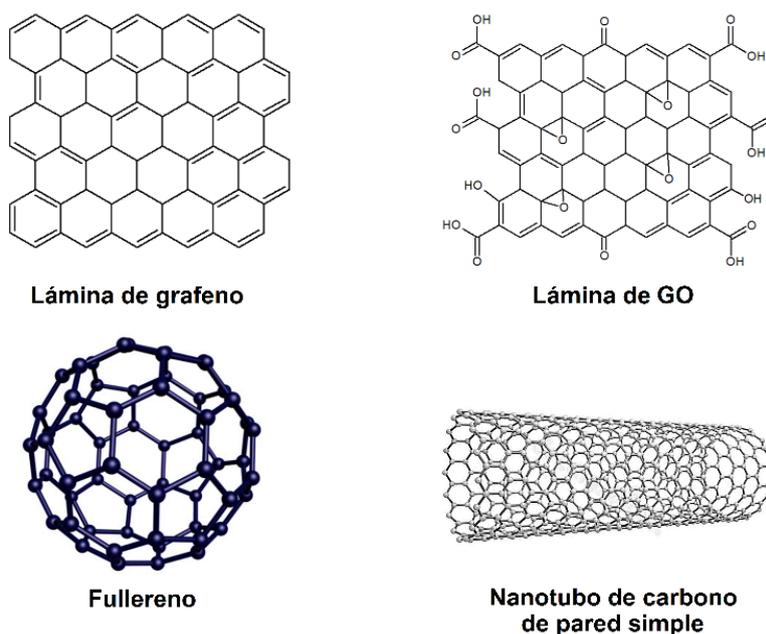


Figura 1.6.2 Representación esquemática de algunos nanomateriales basados en carbono que más se utilizan en SPE.

El grafeno es un nanomaterial formado por una sola capa de átomos de carbono con hibridación sp² y presenta una estructura bidimensional de panal hexagonal. Posee propiedades como flexibilidad e impermeabilidad, fuerte resistencia mecánica y excelentes conductividades térmicas y eléctricas, así como una elevada área de superficie específica (2630 m² g⁻¹), las cuales lo convierten en una herramienta versátil para diferentes aplicaciones en química analítica. En contraste con nanotubos de carbono y fullerenos que, por el impedimento estérico causado por sus paredes internas, se dificulta la interacción con moléculas, el grafeno ofrece la ventaja de tener ambos lados de sus láminas accesibles para la adsorción. Además, su superficie se puede modificar incorporando grupos funcionales que puedan mejorar la selectividad [135].

Por ejemplo, el GO se obtiene por oxidación del grafito (el cual se compone por varias capas de grafeno), para luego ser sometido a una etapa dispersión y exfoliación en agua para separar las capas del GO. Se han propuesto varios modelos estructurales de GO a lo largo de los años, describiendo presencia de varios grupos funcionales oxigenados, siendo principalmente en forma de grupos hidroxilo y epoxi en el plano basal, y en menor proporción, grupos carboxi, carbonilo, fenol, lactona y quinona en los bordes de la lámina [136]. Los grupos funcionales en la superficie del GO le permiten formar enlaces de hidrógeno o interacción electrostática con compuestos orgánicos o iones metálico. Debido a su carácter hidrofílico, el GO tiene una elevada capacidad de dispersión en medios acuosos, pero su recuperación representa un gran desafío. Es por eso, que se han diseñado modificaciones para simplificar su separación y recuperación desde una solución acuosa. Por ejemplo, se han desarrollado métodos basados en el uso combinado de GO con nanopartículas magnéticas, como Fe_3O_4 , las cuales le confieren magnetismo, facilitando la separación de fases con un imán. Sin embargo, como resultado de esa combinación, disminuye la cantidad de sitios activos disponibles del sorbente no magnético, afectando la capacidad de extracción [135].

Por otro lado, la magnetización de nanopartículas no magnéticas con MILs y su posterior utilización en métodos analíticos, hasta el momento no había sido explorada, por lo que en la presente tesis doctoral se reporta la primera aplicación de GO@MIL en técnicas de microextracción (sección 3.3). De esta manera, se introduce un enfoque novedoso y sin precedentes en el campo de la extracción, demostrando el potencial y las posibles ventajas de esta combinación para el análisis de especiación elemental.

1.6.2 Extracción líquido-líquido

La LLE se ha aplicado ampliamente en el análisis de rutina como una técnica de preparación de muestras para la separación y preconcentración de analitos inorgánicos y orgánicos desde muestras acuosas. Por medio de esta técnica se pueden separar uno o varios analitos de interés de especies químicas interferentes que pueden estar presentes en la matriz de muestra, así como preconcentrar los mismos previo a su determinación, obteniendo una elevada sensibilidad [137]. Esta técnica se basa en la distribución de uno o más componentes de una solución de muestra entre dos fases inmiscibles, es decir, la división de solutos entre una fase acuosa y un solvente orgánico (por ejemplo, acetona, etanol, metanol, acetonitrilo), por lo que usualmente se denomina a esta técnica como "extracción con solvente orgánico" o "extracción con solvente". En LLE la muestra presente en medio acuoso se mezcla con un adecuado solvente, luego ambas fases se agitan por un tiempo determinado, produciendo la transferencia del

analito de interés desde la fase acuosa inicial hacia la fase orgánica. Posteriormente se dejan reposar, permitiendo así la separación de fases [138]. Durante la etapa de agitación, ambas fases entran en íntimo contacto, lo cual permite que el analito se distribuya o reparta más rápidamente entre ellas hasta alcanzar el equilibrio:



El cual depende de una constante conocida como coeficiente de partición:

$$K = \frac{C_{\text{org}}}{C_{\text{aq}}}$$

Donde C_{org} y C_{aq} corresponden a la concentración del analito en la fase orgánica y acuosa, respectivamente. Mayor será la transferencia del analito desde la fase acuosa hacia el solvente orgánico en cuanto mayor sea su coeficiente de partición, el cual es diferente para cada analito y depende de la fase acuosa y orgánica. En este sentido, si un analito es muy poco soluble en agua, será fácilmente extraído desde una muestra acuosa usando un solvente orgánico apolar. Consecuentemente para desarrollar un método basado en LLE, se debe conocer con anterioridad la polaridad de los analitos. En la actualidad, los coeficientes de partición octanol-agua están tabulados para una gran cantidad de compuestos orgánicos [139].

Existen varios factores que influyen en la selectividad y eficiencia de la LLE, por ejemplo, la elección del solvente de extracción, el pH, el tipo y tiempo de agitación, la adición de un reactivo quelante o un reactivo formador de pares iónicos, la modificación de la fuerza iónica por adición de sales (efecto salino o “salting out”), entre otros. En un sistema bifásico entre una fase acuosa y un solvente orgánico, los analitos más polares quedarán preferentemente en la fase acuosa y los más apolares pasarán a la fase orgánica. La gran cantidad de variables que es posible modificar, hace de la LLE una técnica muy útil y versátil. Sin embargo, la formación de emulsiones, la manipulación de grandes volúmenes de muestra y de reactivos, el empleo de solventes orgánicos tóxicos, así como los riesgos de pérdidas o contaminación durante las diferentes etapas, hacen de ella una técnica lenta, tediosa y con un significativo impacto ambiental [140].

1.6.2.2 Microextracción líquido-líquido

En las últimas décadas, se han desarrollado continuamente nuevas técnicas de extracción con el objetivo de miniaturizar y disminuir el impacto ambiental producido por la LLE. En este contexto, las técnicas de LLME han sido muy útiles y populares e

implican una técnica de preparación de muestras miniaturizada que utiliza un volumen muy pequeño de fase de extracción, típicamente del orden de los microlitros, en relación con el volumen de la muestra. Las principales ventajas de estas técnicas son mayor simplicidad, rapidez, reducción de tiempo y consumo de reactivos, y por lo tanto minimización de residuos [141]. En LLME, el proceso de extracción ocurre entre una pequeña cantidad de solvente hidrofóbico (fase aceptora) y una fase acuosa (fase donante) que contiene el analito de interés. Se han desarrollado diversas variantes de LLME que se implementan mediante distintos modos de extracción: SDME, HF-LPME y DLLME [142].

En la técnica de SDME, se suspende una gota de la fase de extracción en la punta de una aguja de una microjeringa y se sumerge directamente en una solución que se agita constantemente (DI-SDME) o se pone en contacto con su espacio de cabeza (HS-SDME) para la extracción de analitos. La aguja se inserta a través del septo de un vial el cual contiene un volumen determinado de muestra. Luego, se presiona el émbolo de la jeringa para exponer unos pocos μL de solvente, mientras la solución es agitada por un tiempo determinado mediante un agitador magnético. Finalmente, la microgota se retrae en la microjeringa y se inyecta directamente en el detector para su posterior determinación. Esta técnica requiere un volumen mínimo de solvente de extracción obteniendo una alta sensibilidad y un alto factor de enriquecimiento en comparación con otras técnicas de microextracción. Además, en HS-SDME la gota no está en contacto directo con la muestra, lo cual permite aislar el analito de matrices complejas, evitando la interferencia de un gran número de compuestos. Sin embargo, sólo puede utilizarse para analitos volátiles o semivolátiles, los cuales deben ser transportados en una primera instancia desde la solución de muestra hacia el espacio de cabeza por acción de la temperatura o reacciones químicas. Otro inconveniente de estas técnicas es la pequeña superficie de contacto que existe entre la solución de muestra y el solvente de extracción, generando así una cinética de extracción lenta, por lo tanto, se requiere un mayor tiempo para alcanzar el equilibrio. Además, la gota suspendida en la aguja exhibe una estabilidad muy limitada [143].

En la microextracción en fase líquida con fibra hueca (HF-LPME), el solvente de extracción está contenido dentro de una fibra hueca de polipropileno poroso que se fija a la punta de una aguja de jeringa. Dado que la gota está protegida mecánicamente, la muestra puede agitarse vigorosamente sin ninguna pérdida de solvente de extracción. Sin embargo, la cinética de equilibrio sigue siendo lenta como en SDME. En la práctica, se utiliza una fibra hueca porosa para inmovilizar el solvente orgánico en sus poros, formando una capa delgada de solvente en la pared de la fibra. Posteriormente, se llena

la fibra hueca con una solución adecuada y se coloca en un recipiente que contiene la muestra. Durante el proceso de extracción, los compuestos se transfieren desde la muestra hacia la fase orgánica en las paredes de la fibra y luego hacia la solución dentro de la fibra hueca [144].

En la técnica DLLME se produce una nube de gotas finas de la fase de extracción, aumentando significativamente la superficie de contacto con la muestra y, por lo tanto, acelerando el tiempo en el que se alcanza el equilibrio, a diferencia de lo que ocurre en SDME. En esta técnica, la turbidez se forma por las pequeñas gotas de solvente que se originan después de inyectar rápidamente una mezcla de solventes: el extractante y el dispersante en una solución acuosa. La elevada superficie de contacto entre las finas gotas y la fase acuosa promueve la rápida transferencia de analitos de la solución de muestra a la fase extractante. Luego, al centrifugar la mezcla, las gotas finas se sedimentan en el fondo del tubo cónico. Finalmente, la fase sedimentada se puede recolectar con una jeringa y analizar mediante un detector adecuado [140].

La DLLME se ha convertido en una técnica de microextracción muy popular debido a varias ventajas incluyendo, simplicidad, rapidez, altos factores de enriquecimiento y bajo consumo de solventes orgánicos. La selección de variables experimentales como el tipo de extracción, solventes dispersantes y sus volúmenes, puede afectar la eficiencia de la extracción de los analitos de interés. Por lo tanto, es necesario optimizar estos factores para alcanzar una buena recuperación. Los solventes de extracción se eligen considerando la densidad, la capacidad de extracción de los analitos, la solubilidad en el dispersante y en agua. Además, su volumen puede influir en la eficiencia de la DLLME, debido a que el factor de enriquecimiento disminuye con un mayor volumen del solvente extractante. Comúnmente se utilizan clorobenceno, tetracloruro de carbono o CHCl_3 como solventes de extracción por la mayor densidad que el agua. La miscibilidad del solvente dispersante tanto en el solvente de extracción como en la fase acuosa es un factor esencial a considerar. Además, el volumen del solvente dispersante puede afectar la eficiencia de extracción. A bajos volúmenes, el estado turbio no se forma correctamente, mientras que un aumento del volumen del solvente dispersante disminuye la eficiencia de extracción debido a una mayor solubilidad de los analitos en la fase acuosa. La acetona, el etanol, el metanol y el acetonitrilo son los solventes dispersantes más comúnmente usados [142].

Una alternativa más novedosa para lograr la dispersión es mediante una fuente de energía externa. En la DLLME asistida por temperatura (TA-DLLME), se aplica una temperatura determinada (en un rango entre 45-90 °C) durante un tiempo adecuado con el fin de aumentar la solubilidad de la fase del solvente, alcanzando así un mejor

contacto entre ambas fases. Luego, se enfría la mezcla en un baño de hielo, insolubilizándose el disolvente y formándose una solución turbia, permitiendo la separación de fases. Su principal ventaja en relación con DLLME es que no requiere el uso de un solvente orgánico tóxico como agente dispersante, lo que disminuye el impacto ambiental. El principal inconveniente de la aplicación de TA-DLLME es que requiere mucho tiempo para los pasos de calentamiento y enfriamiento, además de que se limita a analitos térmicamente estables [141].

La DLLME asistida por ultrasonido (UA-DLLME) es otra modificación de DLLME que implica la aplicación de ultrasonido para obtener una dispersión eficiente del extractante en la matriz de la muestra, permitiendo un equilibrio más rápido entre las fases, lo que se traduce en tiempos de extracción más cortos. Además, no hay necesidad de emplear solventes orgánicos como dispersantes, debido a que la alta energía producida por la fuerza ultrasónica es suficiente para alcanzar una dispersión adecuada [145].

Por otro lado, la técnica DLLME asistida por vórtex (VA-DLLME) es otra alternativa simple y rápida que permite aumentar la superficie de contacto entre ambas fases, evitando la necesidad de un agente dispersante. En esta técnica, la muestra y el solvente se mezclan mediante un agitador vórtex, acelerando la transferencia del analito desde la fase acuosa hacia el solvente extractante [142]. La agitación por vórtex puede considerarse una técnica más suave en comparación con ultrasonido, evitando la potencial degradación de los analitos. Su sencillez, disponibilidad, precio y su potencial para agitar varias muestras al mismo tiempo lo hacen muy interesante para potenciar la transferencia de masa en técnicas de microextracción. Aunque también es posible agitar varias soluciones de muestras de forma simultánea en un baño de ultrasonido, la irradiación no suele ser homogénea en diferentes posiciones [134].

En el 2012, se desarrolló la técnica de DLLME asistida por aire (AA-DLLME) como alternativa a DLLME, donde se aplica el burbujeo de aire para ayudar a la dispersión de la fase de extracción en una solución acuosa. El solvente extractante se dispersa en la solución de muestra realizando varios ciclos de succión/dispersión utilizando una jeringa equipada con una aguja. De esta forma, el área de contacto del solvente de extracción con la solución de muestra aumenta significativamente, sin necesidad de usar un solvente orgánico dispersante. Esta técnica de preparación de muestra es simple, ecológica, económica y eficiente [130].

1.6.2.3 MILs en técnicas de LLME

En las últimas décadas, ha habido un incremento considerable en la aplicación de ILs como solventes de extracción en técnicas de LLME. Los ILs se consideran una alternativa más segura y respetuosa con el ambiente en comparación con los solventes orgánicos volátiles clásicos. Los ILs pueden ser diseñados con diferentes aniones y cationes para obtener extracciones específicas de analitos en diferentes medios, y también se les pueden añadir grupos funcionales para una extracción selectiva. Además de mejorar la sensibilidad y selectividad analítica en metodologías existentes basadas en LLME, los ILs ofrecen soluciones originales a desafíos analíticos debido a su comportamiento químico y propiedades únicas [141]. En la Figura 1.6.3 se esquematiza un método basado en IL-LLME típico.

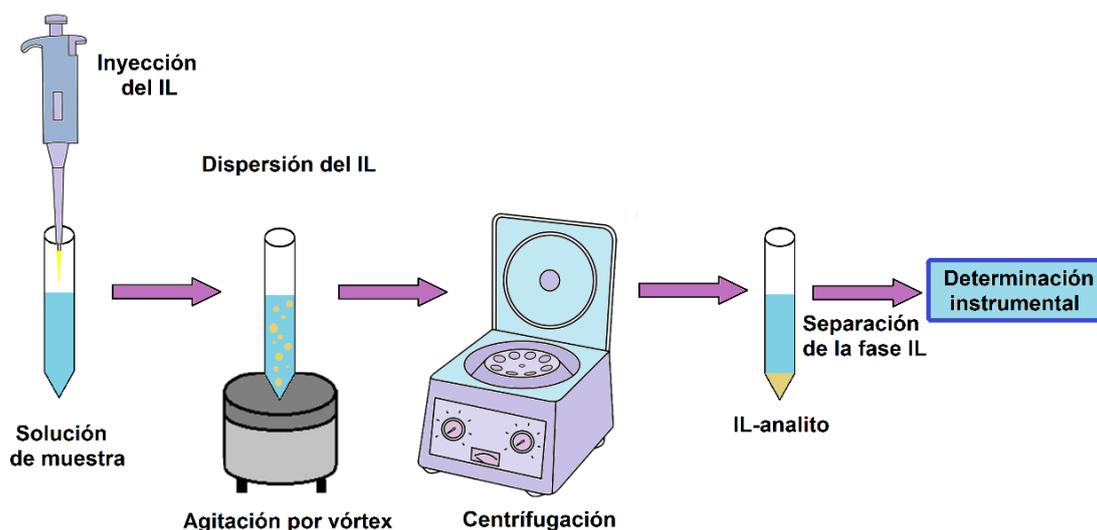


Figura 1.6.3 Representación esquemática un método basado en IL-LLME.

Sin embargo, la mayoría de las técnicas de microextracción requieren una etapa de centrifugación para la separación de fases, lo cual consume mucho tiempo. Además, cuando se implementan ILs como solventes de extracción, estos deben poseer preferentemente mayor densidad que el agua para obtener una eficiente separación de fases. Esto implica un mayor tiempo de análisis, lo que puede potencialmente provocar una potencial contaminación de la muestra [146]. Estos inconvenientes pueden ser abordados mediante la implementación de MILs, lo cual permite prescindir de la centrifugación y simplificar la separación de la fase extractante mediante el uso de un campo magnético externo. En la Figura 1.6.4 se observa un esquema de un método basado en MIL-LLME.

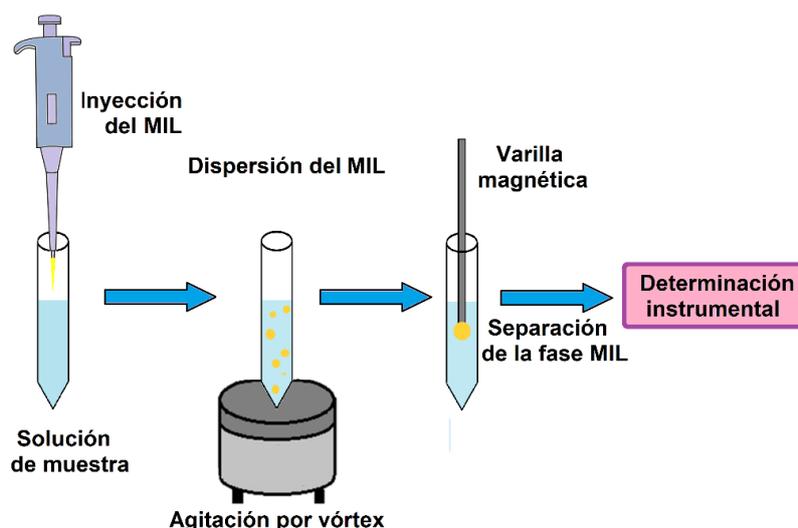


Figura 1.6.4 Representación esquemática un método basado en MIL-LLME.

En general, los MILs han sido aplicados eficientemente en técnicas de DLLME tanto para la determinación de analitos orgánicos [147] como inorgánicos [146, 148]. Para ampliar su aplicabilidad en medios acuosos, resulta deseable contar con MILs de naturaleza hidrofóbica, lo cual se puede obtener sintetizándolos con cationes orgánicos (principalmente fosfonio) con cadenas alifáticas largas. También es importante considerar que el anión $[\text{FeCl}_4]^-$ es susceptible a hidrólisis y puede interferir en la determinación por espectrofotometría UV-Vis debido a que absorbe en esa región. Por lo que puede ser sustituido con otros aniones basados en metales de transición como $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ o $[\text{DyCl}_6]^{3-}$ [128]. Otro inconveniente es la adición directa de una cantidad exacta del MIL a la solución de muestra debido a su alta viscosidad, lo que impide un control adecuado del tamaño de la gota formada en la punta de la pipeta. Una posible solución podría resultar de la combinación del MIL con un soporte sólido adecuado. Esto permitiría la pesada exacta de la mezcla y favorecería la dispersión del MIL durante la extracción. En condiciones ideales, el soporte sólido debe interactuar sólo físicamente con el MIL para poder separarse fácilmente del solvente luego de la dispersión. Adicionalmente, el soporte sólido no debería adsorber el analito de interés [118].

La DLLME in situ es una alternativa del clásico DLLME que utiliza ILs como solventes de extracción. En esta técnica, un IL hidrosoluble se mezcla con un reactivo de intercambio aniónico en la solución de muestra, lo que genera una reacción de metátesis in situ y da lugar a la formación de un IL inmiscible en agua que actúa como solvente de extracción. Esta técnica suele ofrecer mayores factores de preconcentración en comparación con el DLLME clásico. Recientemente, se ha propuesto aplicar esta técnica utilizando MILs y aprovechando sus propiedades magnéticas [149].

1.6.3 Parámetros de evaluación de sistemas de separación/preconcentración

1.6.3.1 Factor de enriquecimiento

El factor de enriquecimiento (EF) es un parámetro que permite evaluar los sistemas de preconcentración. El término está dado por la relación entre la concentración del analito en la solución luego del proceso de preconcentración (C_e), y la concentración del mismo en la muestra original (C_s):

$$EF = \frac{C_e}{C_s}$$

Es importante mencionar que este factor y el factor de refuerzo de la sensibilidad son conceptos diferentes y pueden no ser necesariamente equivalentes. En condiciones prácticas, la evaluación del EF no es tan sencillo debido a que la concentración del analito en la solución usualmente es desconocida. Por lo tanto, comúnmente se evalúa el factor de refuerzo de la sensibilidad definido como la relación entre las dos pendientes de las curvas de calibración antes y después de la preconcentración. La evaluación es realizada en función de la respuesta del detector y no sobre el incremento de concentraciones. Esta definición se aplica en casos donde las condiciones de respuesta del detector se mantengan constantes para las dos curvas de calibración [73, 150].

1.6.3.2 Factor de refuerzo de la sensibilidad

En los sistemas de preconcentración, en ocasiones se puede observar una mejora en las señales del analito durante la introducción del concentrado en el detector, lo cual sucede mediante mecanismos que aumentan la concentración del analito. Por consiguiente, es necesario distinguir entre estos efectos de refuerzo y los efectos de enriquecimiento, para obtener una evaluación certera del rendimiento de la preconcentración. Así, el factor de refuerzo (N_t), se expresa como el producto de todos los diferentes factores de refuerzo de la sensibilidad independientes entre sí, por el valor del factor de enriquecimiento (EF):

$$N_t = N_1 \cdot N_2 \cdot \dots \cdot N_n \cdot EF$$

Es importante resaltar que el valor de N no necesariamente es superior a uno, ya que ciertas variaciones en las condiciones analíticas pueden tener un impacto negativo en la sensibilidad [151].

1.6.3.3 Eficiencia de concentración

El EF no aporta información sobre la eficiencia del proceso analítico total y no está asociado con una eficiencia elevada, ya que un gran valor de EF puede ser obtenido durante un tiempo prolongado (horas, días), consumiéndose un gran volumen de muestra. Consecuentemente, se propuso el uso de la eficiencia de concentración (CE) para evaluar y comparar la eficiencia de varios sistemas. En consecuencia, CE se define como el producto del EF y la frecuencia de muestreo, la cual está dada por el cociente entre el número de muestras analizadas por hora (f) y 60 minutos:

$$CE = EF \cdot (f/60)$$

De esta manera, la CE es el factor de enriquecimiento obtenido por un sistema en un minuto. Por lo tanto, CE no es sólo un parámetro para el diseño de los sistemas de preconcentración, sino también permite la comparación de las eficiencias de los procesos de preconcentración con diferentes principios de separación [152].

1.6.3.4 Índice de consumo

La eficiencia en el consumo de muestra se determina a través del índice de consumo (CI) el cual se define como el volumen de la muestra consumida para alcanzar el valor de EF.

$$CI = \frac{V_s}{EF}$$

Donde V_s es el volumen de muestra requerido para alcanzar el EF. Este criterio es importante cuando la cantidad de muestra es limitada o como en el caso de muestras de fluidos corporales, los cuales no se pueden recolectar en grandes cantidades [152].

1.6.3.5 Factor de transferencia de fase

El factor de transferencia de fase (P) permite cuantificar la total transferencia del analito de interés desde la solución de muestra hacia la fase del concentrado, como la extracción con solvente. Este criterio se define como la relación entre la masa del analito en la fase de muestra (m_s), y la masa de analito en la fase del concentrado m_e [153]:

$$P = \frac{m_e}{m_s}$$

1.7 Diseño experimental y optimización

1.7.1 Introducción

En química analítica, la optimización es un punto crítico para evaluar el valor que debe tener cada factor para obtener la mejor respuesta posible y así alcanzar un mejor rendimiento analítico con un menor número de experimentos. La optimización de un método analítico a menudo se realiza paso a paso para evaluar factores importantes. Sin embargo, su optimización se vuelve muy compleja debido a la gran cantidad de factores involucrados. Por lo tanto, para obtener la respuesta óptima, considerando las interacciones entre ellos, el desarrollo de un diseño experimental eficiente es de suma importancia [154]. En este sentido, existen dos técnicas de optimización, la univariada y la multivariada. La primera consiste en el estudio de la influencia de un factor a la vez en una respuesta experimental, sin considerar la interacción entre variables [155]. Sin embargo, el diseño multivariado de experimentos (DOE) es una herramienta muy útil de optimización, debido a que reduce tiempo, esfuerzo y recursos, y permite la recolección de mucha información con el menor número de experimentos posible. Además, mediante el DOE es posible evaluar la robustez del método, es decir, estudiar los efectos que pequeños cambios en las condiciones del mismo tienen en las respuestas, y la construcción de conjuntos de calibración y validación [156]. La metodología DOE y la metodología de superficie de respuesta (RSM) han demostrado ser de gran utilidad para el desarrollo, mejora y optimización de muchos procesos [157]. La RSM ha sido ampliamente utilizada en aplicaciones analíticas [158], industriales [159] y en bioprocesos [160].

1.7.2 Metodología del diseño experimental

La optimización de un método consta de dos etapas: (1) etapa de screening, en la cual muchos factores son evaluados a la vez para identificar aquellos que tengan efectos significativos sobre las variables críticas, y (2) etapa de optimización, en la cual los factores seleccionados como significativos son estudiados con mayor profundidad para obtener las mejores condiciones analíticas posibles. Es fundamental aclarar la diferencia entre factores controlables e incontrolables. Los primeros se relacionan con condiciones experimentales que podrían afectar a la respuesta y que pueden establecerse en un nivel predefinido. Estos factores pueden ser de naturaleza cuantitativa (tiempo de agitación, volumen de solvente, pH, fuerza iónica) o cualitativa, considerando variables dicotómicas (sí/no) y variables categóricas (agitación mediante

vórtex o ultrasonido). Por otro lado, los segundos, no pueden ser controlados durante el experimento (ruido, partículas, vibraciones, luz) [161].

Como se mencionó anteriormente, en la técnica univariada, sólo se modifica un factor a la vez, mientras que los demás factores permanecen constantes. Sin embargo, esta técnica presenta importantes inconvenientes. Por ejemplo, no tiene en cuenta los efectos interactivos entre los factores estudiados o cómo estas interacciones afectan a la respuesta, por lo que no representa los efectos completos del factor en la respuesta. Además, requiere una gran cantidad de experimentos y tiempo cuando el número de factores aumenta, lo que conduce a un mayor consumo de reactivos y, por lo tanto, un mayor costo. Adicionalmente, el dominio experimental explorado es menor en comparación con el evaluado con el estudio multivariado. Por otro lado, la técnica multivariada, implica la variación de los factores que intervienen en un proceso analítico de manera simultánea, modificando todos sus niveles al mismo tiempo, mediante un número predeterminado de experimentos. Esto permite considerar las interacciones entre las variables en estudio y obtener el óptimo absoluto en el dominio estudiado [162].

A continuación, se resumen las ventajas de la técnica multivariada con respecto a la univariada [155, 157]:

- Permite conocer con mayor profundidad el sistema en estudio en todo el dominio experimental. Los datos experimentales obtenidos se ajustan a un modelo matemático para relacionar la respuesta con las condiciones experimentales. Es posible predecir la respuesta para cualquier punto del dominio experimental luego de una estimación de los coeficientes del modelo.
- Se requiere un menor número de experimentos con respecto al estudio univariado, minimizando el consumo de reactivos, materiales, y, por lo tanto, costo, esfuerzo y tiempo.
- Permite evaluar las interacciones entre los factores y las relaciones no lineales con las respuestas.
- Generalmente, puede encontrarse el óptimo absoluto en el dominio en estudio, mientras que en la técnica univariada es posible hallar máximos locales que dependen de las condiciones iniciales del experimento.
- Se genera grandes cantidades de información a partir de un pequeño número de experimentos, permitiendo evaluar el efecto de interacción entre las variables en la respuesta.

Con el objetivo de realizar un diseño experimental adecuado, la mayoría de los autores sugieren tener en cuenta los siguientes pasos [163]:

- Planteamiento del problema: Es de gran importancia tener conocimiento sobre el tema y definir los objetivos de optimización. El diseño experimental es una técnica muy útil que permite la búsqueda de soluciones a los problemas analíticos bien definidos. El objetivo del estudio debe ser adecuadamente identificado y especificado, además se debe evaluar el tiempo y el costo del proceso experimental.

- Selección de las variables de respuesta: Las respuestas o variables dependientes son los valores medidos de los resultados de los experimentos, y aporta la adecuada información para evaluar el rendimiento analítico del método, según el objetivo, puede ser necesario observar más de una respuesta. Las respuestas típicas son la señal analítica (absorbancia, intensidad de emisión neta y señal eléctrica), recuperación de un analito y resolución entre picos cromatográficos.

- Selección de los factores y sus niveles: Los factores o variables independientes, son variables experimentales que pueden ser modificadas independientemente entre sí, y pueden afectar al proceso analítico, por lo que deben ser criteriosamente detectados y examinados. Los factores se clasifican en cuantitativos, cualitativos y relacionados a la mezcla. El dominio experimental es el campo experimental que debe investigarse y está definido por los límites mínimos y máximos de los factores en estudio. Se debe establecer el dominio experimental para cada factor, así como una forma de control y medición. Como el número de factores a considerar puede ser grande, es muy importante determinar las variables experimentales y las interacciones que influyen significativamente en una o más respuestas. En los diseños de detección, los factores son frecuentemente evaluados en dos niveles (-1, +1). El rango entre los niveles es el intervalo más amplio que el factor se puede variar para el sistema estudiado y es elegido de acuerdo a la información presente en la literatura o el conocimiento adquirido previamente.

- Selección de un diseño experimental: La aplicación del diseño experimental requiere tener una idea clara de qué es exactamente lo que se va a estudiar y cómo se van a recopilar los datos. Por ello, se requiere considerar los siguientes aspectos para cada etapa: (a) tipo de problema y definición adecuada del objetivo, (b) cantidad de factores e interacciones que se evalúan, (c) validez estadística y eficacia de cada diseño, (d) funcionamiento, costo y restricciones de tiempo y (e) facilidad de comprensión y aplicación de la complejidad de cada diseño.

1.7.3 Diseños

1.7.3.1 Diseños de screening

Estos diseños permiten considerar muchos factores con el fin de identificar aquellos que tienen efectos importantes en la respuesta y suelen realizarse en las primeras etapas del experimento cuando es probable que muchos de ellos inicialmente considerados tengan escaso o nulo efecto sobre la misma. Los diseños usualmente aplicados en la etapa de selección de factores son el factorial completo, factorial fraccional y Plackett-Burman, debido a que son eficientes y de bajo costo. Estos diseños permiten el examen simultáneo de factores cualitativos, cuantitativos y relacionados con la mezcla. El diseño factorial fraccional es uno de los más empleados para la selección, ya que permite la evaluación de un gran número de factores en un reducido número de experimentos. En este sentido, se pueden crear distintos diseños fraccionales para un gran número de factores, pero no permiten la estimación de todos los efectos principales y de las interacciones por separado porque algunos de ellos se estiman juntos, es decir, se confunden [164].

Por otro lado, el diseño factorial completo estudia todos los factores que afectan a la respuesta del sistema, utilizando al menos dos niveles para cada factor, dando lugar a un número inaceptablemente grande de experimentos a diferencia del factorial fraccional. Esto se debe a que incluso los procesos aparentemente simples pueden verse afectados por una gran cantidad de factores y que estos pueden afectar la respuesta del sistema de forma interactiva, es decir, el efecto de un factor puede depender de los niveles de otros. Por otra parte, el diseño Plackett-Burman proporciona información sólo sobre los efectos de factores individuales, pero no sobre sus interacciones. Este diseño es adecuado para evaluar múltiples factores, suponiendo que no existe interacción entre los mismos [165]. Las principales características de los diseños de screening se indican en la Tabla 1.7.1. La resolución de un diseño nos da idea del nivel de confusiones que se generan en la estimación de efectos, por lo tanto, nos indica la eficacia con que pueden estimarse los efectos potencialmente importantes. Así, en un diseño factorial completo se estiman todos los efectos principales y sus interacciones, evitando que presenten confusiones entre las variables. Por otro lado, en un diseño factorial fraccionado, la resolución disminuye según el grado de fraccionamiento del diseño y de esta manera es posible la confusión entre efectos principales e interacciones dentro del diseño [163].

Tabla 1.7.1 Diseños de screening comúnmente utilizados en la optimización de un método.

Diseño	Factor		Res ^c	N° de		Efectos estimados	O ^d	R ^e
	Tipo	Número		Experimentos				
Factorial completo de 2 niveles	Numérico	$2 \leq k^a \leq 5$	-	2^k	Efectos principales, interacciones (bidireccional, tridireccional y factores k)	$2^k - 1$	Si	Si
	Categórico			2^{k+1} (considerando réplicas)				
Factorial fraccional de 2 niveles	Numérico	> 4	III o >	2^{k-p} ^b	R=III (efectos principales confundidos con interacciones de 2 factores o dobles)		Si	Si
	Categórico				R=IV (efectos principales confundidos con interacciones triples o interacciones dobles entre sí)			
Plackett–Burman	Numérico	N - 1	III	N (múltiplo 4)	R=V (efectos principales confundidos con interacciones de 4 factores e interacciones dobles confundidos con interacciones triples)		Si	Si
	Categórico				Efectos principales confundidos con (fracciones) de las interacciones igual o superior a 2			

^ak: Número de factores

^bp: Número de generadores independientes

^cRes: Resolución

^dO: Ortogonalidad

^eR: Rotabilidad

El diagrama de Pareto es una gráfica frecuentemente utilizada para la evaluación de diseños experimentales en la cual se organizan distintas clasificaciones de los resultados obtenidos por orden descendente, de izquierda a derecha por medio de barras sencillas luego de haber recopilado la información para calificar los factores evaluados y para asignarles un orden de prioridades. Pareto es una herramienta de análisis de datos muy útil que permite seleccionar las variables significativas de un modelo, es decir, los factores que afectan significativamente la respuesta analítica que se desea medir. Las variables no significativas, es decir, aquellas que no afectan la respuesta analítica de manera significativa, se fijan a un valor determinado, considerando minimizarlos en la medida que sea posible [166]. En la Figura 1.7.1 se observa un diagrama de Pareto típico.

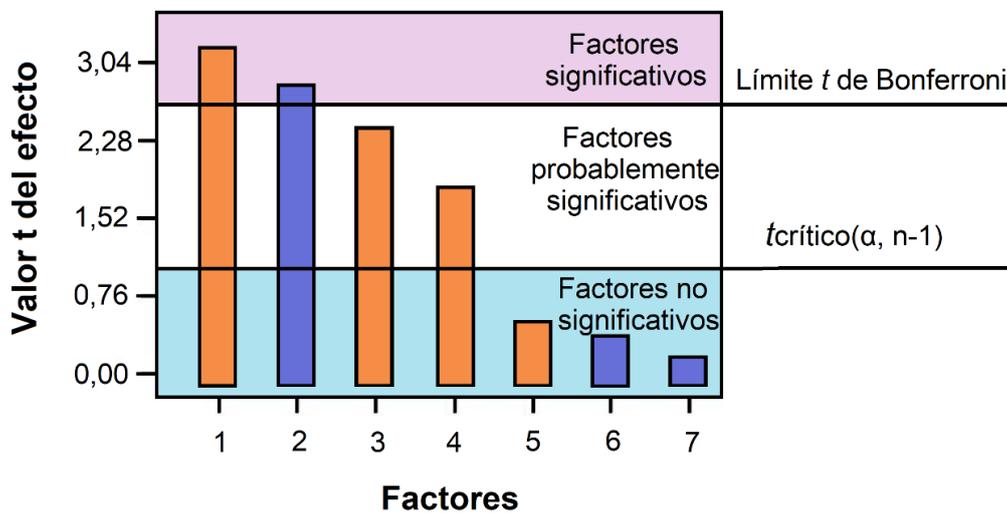


Figura 1.7.1 Diagrama de Pareto típico.

1.7.3.2 Diseños de optimización

Los diseños más utilizados en esta etapa son el factorial completo en tres niveles, central compuesto, Box-Behnken, D-óptimo y diseños Doehlert. Estos diseños permiten obtener datos experimentales que luego se ajustan en un modelo polinomial de múltiple regresión lineal para caracterizar una RSM. Las principales características de los diseños de optimización más utilizados se indican en la Tabla 1.7.2.

Tabla 1.7.2 Diseños de RSM comúnmente utilizados en la etapa de optimización.

Diseño	Tipo de factores	Nivel factorial	Nº experimentos	O	R
Central compuesto	Numérico Categorico	5	$2^k + 2k + C_p^a$	Si-No	Si-No
Box-Behken	Numérico Categorico	3	$2k(k-1) + C_p$	Si	Si
Factorial completo de 3 niveles	Numérico Categorico	3	3^k	Si	No
Doehlert Matrix	Numérico Categorico	Diferente para cada factor	$k^2 + k + C_p$	No	No
D-Optimal	Numérico Categorico	Diferente para cada modelo	Subconjunto seleccionado de todas las posibles combinaciones	No	Si

^aC_p: Número de puntos centrales

1.7.4 Modelado

1.7.4.1 Construcción de modelos para el screening

El análisis estadístico del diseño de screening para cada respuesta que se analiza incluye [167]:

- Estimar los efectos de los factores y el examen de sus signos y magnitudes.
- Construir un modelo inicial para la respuesta.
- Realizar pruebas estadísticas.
- Refinar el modelo eliminando cualquier variable que sea no significativa desde el modelo inicial.
- Analizar los residuos con el fin de comprobar la adecuación del modelo y las hipótesis.

El efecto que cada factor tiene sobre cada respuesta se calcula como la diferencia entre la respuesta media de los experimentos con signos positivos y la

respuesta media de los experimentos con signos negativos. Otra alternativa consiste en determinar el efecto de los factores en la estimación de los coeficientes del modelo. Las respuestas pueden describirse a través de un modelo estadístico lineal.

Los gráficos de probabilidad normal y media normal permiten analizar la importancia de los efectos y decidir cuál de ellos debe considerarse en el modelo final y cuáles deben incluirse en el error. Los efectos que son despreciables se distribuyen normalmente, con media cero y varianza σ^2 y tenderán a caer a lo largo de una línea recta en estos gráficos. Por otra parte, los efectos significativos tendrán medias distintas de cero y no se encontrarán a lo largo de la línea recta. Así, los efectos aparentemente no significativos se combinan como una estimación del error y los efectos significativos se consideran en el modelo. Adicionalmente, las variables seleccionadas mediante cualquier análisis gráfico deben ser evaluadas mediante el análisis de varianza o ANOVA y, de ser necesario, el modelo debe reducirse eliminando las variables no significativas del modelo inicial. ANOVA es una técnica estadística muy útil que permite analizar si hay o no diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los grupos que se estudian, comparando la varianza entre grupos junto con la varianza al interior de cada grupo. Finalmente, se deben seleccionar todos los factores que afectarán significativamente a cada respuesta. Si el número de factores es muy grande, el analista debe recurrir a su criterio y experiencia para seleccionar adecuadamente cada factor y evaluar sus efectos [168].

1.7.4.2 Construcción de modelos de superficie de respuesta

Luego de haber realizado la recopilación de datos correspondientes a las respuestas evaluadas en la etapa de optimización, se construye un modelo matemático con una función polinomial de segundo orden para cada respuesta. Generalmente, sólo las interacciones de segundo orden son consideradas ya que las de órdenes superiores no son significativas. La ecuación del modelo se realiza usualmente mediante el método de los mínimos cuadrados, basado en una técnica de regresión múltiple que se ajusta a un modelo para establecer los datos experimentales, permitiendo minimizar los residuos o errores cuadráticos. En todos los casos, el modelo ajustado debe describir adecuadamente el rendimiento de los datos para poder realizar predicciones estadísticas. Cuando se optimizan dos factores, RSM proporciona una vista gráfica del sistema, debido a que la respuesta puede graficarse como una superficie sólida en un espacio tridimensional. En el caso de la optimización de más de dos factores, la representación gráfica se realiza solo para dos de ellos, mientras el resto permanece constante. Los mapas de contorno son otra forma de visualización, el cual se constituye

de líneas de respuesta constante que corresponden a una altura específica de la respuesta, es decir, cada línea de contorno se conforma por todas las combinaciones de los factores en estudio que producen una misma respuesta [163]. En la Figura 1.7.2 se ejemplifica un gráfico de superficie de respuesta.

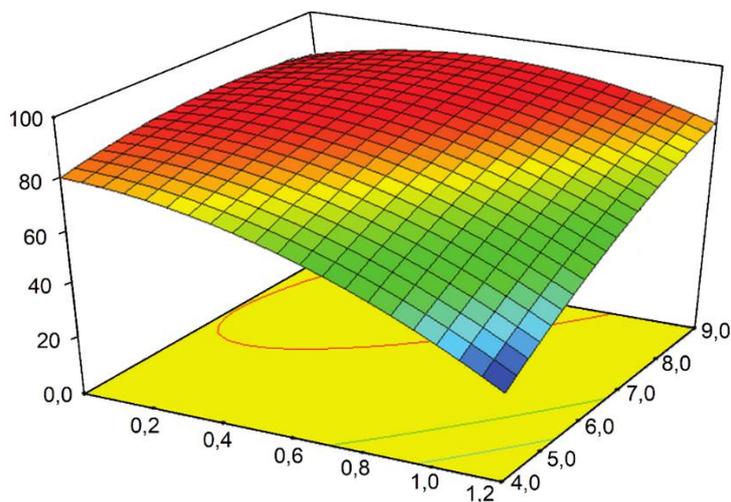


Figura 1.7.2 Ejemplo de gráfico de superficie de respuesta.

1.7.4.3 Evaluación del modelo

Cuando se aplica regresión por la metodología de los mínimos cuadrados, generalmente se asume que los valores esperados de los errores se aproximan a cero, independientes de la varianza constante y, al menos, una distribución aproximadamente normal. No obstante, la respuesta siempre se mide con un determinado error. Por lo tanto, se debe aplicar ANOVA para determinar si el ajuste de regresión múltiple es importante para el modelo de segundo orden [169].

El modelo es considerado satisfactorio si la regresión es significativa y la falta de ajuste es no significativa para el nivel de confianza establecido. Que se obtenga un modelo significativo no implica necesariamente que explique correctamente la variación en los datos. Por eso, es importante analizar los gráficos de residuos, el coeficiente de regresión (R^2) y el coeficiente de regresión ajustado (R^2_{adj}), los cuales representan la varianza explicada por el modelo. La distribución normal de los residuos es uno de los supuestos para la validez de ANOVA el cual se demuestra a través de la gráfica de probabilidad normal. Otro requisito es la homogeneidad de la varianza y puede ser evaluada por la trama residual con respecto a los valores predichos de respuesta. Existen dos diagnósticos adicionales importantes: (a) los residuos frente al orden de ensayo experimental, que permite detectar variables que no se pueden controlar y

podrían influir en la respuesta durante el experimento, y (b) los residuos frente a los niveles de factor de cada diagnóstico, que confirma si la varianza explicada por el modelo es diferente en los distintos niveles de un factor [163].

Por otro lado, los residuos son utilizados para examinar los supuestos del modelo y para detectar valores atípicos o extremos (outliers) y puntos de datos potencialmente influyentes. El "leverage" es un parámetro que permite analizar si un punto del diseño puede influir en el ajuste del modelo. No es deseable que se obtengan puntos con elevados valores de leverage debido a que, si llevan a errores inesperados, estos podrían tener una gran influencia en el modelo. Otras formas de estudiar los puntos influyentes atípicos son los diagnósticos DFFITs (diferencia entre valores predichos) y DFBETAs (diferencia entre coeficientes de regresión) que determinan las diferencias en el ajuste del modelo cuando el valor de una respuesta es eliminado. Finalmente, la distancia de Cook es una prueba estadística muy común, que proporciona una medida general del impacto de una observación en el coeficiente de regresión estimado. Si se identifica una observación como un valor atípico no significa que se deba eliminar automáticamente el punto. Se debe ajustar la ecuación de regresión con y sin el punto sospechoso y comparar los coeficientes del modelo y revisar el error cuadrático medio y R^2 de los dos modelos [170].

1.7.4.4 Transformación de la respuesta

La transformación de los datos que se obtienen luego de la evaluación general del modelo propuesto, puede permitir un mejor ajuste del sistema, en especial, cuando la respuesta es bastante grande, o cuando normalidad y homocedasticidad no se cumplen en el modelo supuesto. En la práctica, algunas variables de respuesta siguen distribuciones de Poisson, binomial o gamma, en el que la varianza de la respuesta no es constante, sino que se relaciona de alguna forma a la media [169]. Una distribución anormal del "tipo cuerno" o "en forma de s" se genera en el gráfico de los residuos. Las transformaciones implementan una función matemática a todos los datos de respuesta, generando un nuevo conjunto de datos que cumplen los requisitos para la validez de ANOVA. Así, es posible construir un nuevo modelo que explique mejor el comportamiento de los datos.

Box y Cox desarrollaron un método clásicamente usado para la transformación de los datos en modelos lineales [171], el cual se utiliza frecuentemente para obtener una transformación normalizadora. La selección adecuada de una transformación se basa en consideraciones estadísticas según el tipo de distribución derivada de los residuos. Por lo general, el mejor valor λ se encuentra en el punto mínimo de la curva

que se obtiene por el logaritmo natural de la suma de cuadrados de los residuos, es decir, el valor λ que genera el conjunto de datos con los residuos inferiores [172, 173]. Se debe considerar que el ajuste de un modelo a una respuesta transformada debe someterse a una transformación posterior (usando la operación matemática inversa de la transformación empleada) para hacer una correcta interpretación.

1.7.4.5 Evaluación de coeficientes individuales en los modelos

En cada modelo, se realiza ANOVA para evaluar el significado de los términos, comparando la variación en la respuesta con la variación generada por errores aleatorios. Los términos no significativos suelen ser eliminados para obtener un modelo más sencillo que describa el sistema. Para esta evaluación, existen diferentes estrategias. En la eliminación hacia atrás, se construye inicialmente un modelo completo y luego se evalúa cada término mediante ANOVA, eliminando los menos significativos. Este proceso se detiene cuando todos los términos restantes cumplen con un criterio predefinido. En la selección hacia adelante, se ajustan inicialmente todos los bloques y términos a los datos, y luego se agregan los términos con la menor probabilidad parcial al modelo, basándose en su correlación con la respuesta. En diseños con factores categóricos, los términos se añaden jerárquicamente. La regresión por etapas combina ambas estrategias. Se equipan inicialmente todos los bloques y condiciones forzadas a los datos, luego se usa un modelo de regresión simple con el término que presenta la mayor correlación con la respuesta. A medida que se agregan, eliminan o modifican términos, el procedimiento se detiene cuando no se consigue una mejora adicional. El ajuste del modelo obtenido, incluyendo los términos significativos y los que se mantienen por jerarquía, se analiza nuevamente mediante ANOVA para evaluar la falta de ajuste. Por último, el modelo ajustado se puede evaluar en forma lineal, con interacción, cuadrática o cúbica [157].

1.7.4.6 Localización óptima

La ubicación óptima de la respuesta se puede determinar visualmente mediante la representación gráfica del modelo. Esto se realiza a través de la gráfica RSM en tres dimensiones y las curvas de nivel, que representan líneas de respuesta constante proyectadas en un plano [159]. Cada contorno corresponde a una altura específica de la superficie y la respuesta se muestra como una función de dos factores. Dependiendo del criterio de optimización, ya sea maximizar, minimizar o alcanzar un valor específico, el valor óptimo se puede identificar mediante la observación del gráfico. Sin embargo, cuando se analizan más de dos factores, los factores no trazados deben mantenerse

constantes, lo que limita la visualización del óptimo en el gráfico. Por lo tanto, el valor de la variable constante se debe seleccionar con mucho criterio. La superposición de gráficos de contorno construidos con combinaciones de tres factores permite identificar visualmente la respuesta óptima. Sin embargo, si se analizan más de tres factores, la visualización se vuelve más compleja y puede ser necesario utilizar un enfoque analítico más formal, como la RSM de segundo orden en k dimensiones. Es importante calcular una región de confianza para el punto estacionario, lo cual proporciona una estimación de la calidad de dicho punto. El tamaño y dirección de esta región permiten considerar los niveles de los factores que generan una respuesta significativamente similar al punto estacionario, lo que facilita realizar cambios en los niveles de los factores sin afectar la calidad de la respuesta [163].

1.7.5 Aplicación en métodos analíticos

El DOE ha sido ampliamente aplicado a una gran variedad de métodos analíticos. En general ha sido utilizado para resolver ciertos inconvenientes en técnicas de separación cromatográfica en las cuales suele realizarse la optimización de respuestas múltiples [174]. Esto es debido a que varias respuestas son con frecuencia de interés, según las características analíticas del método, como separación entre picos de analitos, tiempo de análisis y características del pico (como el ancho y la simetría). Por otro lado, un gran número de métodos analíticos basados en técnicas de microextracción han sido optimizados mediante la aplicación de diseño experimental con el objetivo de reducir el número de experimentos y por lo tanto el consumo de reactivos y generación de residuos. Se ha reportado en la literatura, métodos basados en la aplicación de DOE utilizando un MIL como solvente de extracción en DLLME para la determinación de As en muestras de miel [175], además en la técnica HF-LPME para el análisis de especiación y preconcentración de ultra trazas de telurio inorgánico y selenio en muestras ambientales [176] y la técnica SPME para la separación y preconcentración de especies de estaño seguido de su determinación por ETAAS en bebidas y diferentes muestras de alimentos [177].

1.8 Referencias capítulo 1

- [1] R.J. Howell, C.N. Alpers, H.E. Jamieson, D.K. Nordstrom, J. Majzlan, The environmental geochemistry of arsenic—an overview—, *Reviews in mineralogy and geochemistry* 79 (2014) 1-16. DOI: 10.2138/rmg.2014.79.1.
- [2] B. Radke, G. Dembska, G. Pazikowska-Sapota, K. Galer-Tatarowicz, Many faces of arsenic, *Oceanological and Hydrobiological Studies* 48 (2019) 90-104. DOI: 10.1515/ohs-2019-0010.
- [3] R.C. Rancourt, J.R. Richardson, D.L. Laskin, J.D. Laskin, Chemical Weapons. In: Lippmann M, Leikauf GD, editors. *Environmental toxicants: human exposures and their health effects*: John Wiley & Sons Inc, 2020.
- [4] A.C. Grijalba, E.F. Fiorentini, L.D. Martinez, R.G. Wuilloud, A comparative evaluation of different ionic liquids for arsenic species separation and determination in wine varieties by liquid chromatography–hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Journal of Chromatography A* 1462 (2016) 44-54. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.07.069.
- [5] S. Paul, S. Chakraborty, M.N. Ali, D. Ray, Arsenic distribution in environment and its bioremediation: A review, *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology* 8 (2015) 189. DOI: 10.5958/2230-732X.2015.00025.X.
- [6] K. Salazar, *Mineral Commodity Summaries 2013: US Geological Survey (USGS)*, US Geological Survey, 2013.
- [7] O.D. Pórfido, E. Butler, E. de Titto, P. Issaly, R. Benítez, *Los plaguicidas en la República Argentina*, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina (2014).
- [8] D.C. Adriano, *Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals*, 2nd edn, Springer SBM, New York, 2001, pp. 219-261.
- [9] L. Hsueh, Beyond regulations: Industry voluntary ban in arsenic use, *Journal of Environmental Management* 131 (2013) 435-446. DOI: 10.1016/j.jenvman.2013.09.042.
- [10] Y. Arai, Arsenic and antimony, P.S. Hooda (Ed.), *Trace Elements in Soils*, John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 2010.
- [11] C. Wang, S. Bai, C. Zhao, W. Yu, Y. Yang, Y. Chen, C.-Y. Niu, Arsenic K4 crystal: A new stable direct-gap semiconductor allotrope, *Solid State Communications* 323 (2021) 114128. DOI: 10.1016/j.ssc.2020.114128.
- [12] G. Ungureanu, S. Santos, R. Boaventura, C. Botelho, Arsenic and antimony in water and wastewater: overview of removal techniques with special reference to latest advances in adsorption, *Journal of Environmental Management* 151 (2015) 326-342. DOI: 10.1016/j.jenvman.2014.12.051.
- [13] J. Sanz-Asensio, M. Martínez-Soria, M. Plaza-Medina, M.P. Clavijo, Determination of monomethylarsenous acid by hydride generation–gas phase molecular absorption spectrometry, *Analytica chimica acta* 381 (1999) 331-339. DOI: 10.1016/S0003-2670(98)00750-8.

- [14] H. Hou, W. Cui, Q. Xu, Z. Tao, Y. Guo, T. Deng, Arsenic species analysis at trace level by high performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry, *International Journal of Analytical Chemistry* 2019 (2019). DOI: 10.1155/2019/3280840.
- [15] S. Wang, X. Zhao, On the potential of biological treatment for arsenic contaminated soils and groundwater, *Journal of Environmental Management* 90 (2009) 2367-2376. DOI: 10.1016/j.jenvman.2009.02.001.
- [16] S. Zheng, W. Jiang, Y. Cai, D.D. Dionysiou, K.E. O'Shea, Adsorption and photocatalytic degradation of aromatic organoarsenic compounds in TiO₂ suspension, *Catalysis Today* 224 (2014) 83-88. DOI: 10.1016/j.cattod.2013.09.040.
- [17] M.B. Shakoor, R. Nawaz, F. Hussain, M. Raza, S. Ali, M. Rizwan, S.-E. Oh, S. Ahmad, Human health implications, risk assessment and remediation of As-contaminated water: a critical review, *Science of The Total Environment* 601 (2017) 756-769. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.223.
- [18] X. Wang, G. Xu, X. Guo, X. Chen, J. Duan, Z. Gao, B. Zheng, Q. Shen, Effervescent tablets containing magnetic ionic liquids as a non-conventional extraction and dispersive agent for speciation of arsenite and arsenate in vegetable samples, *Journal of Molecular Liquids* 272 (2018) 871-877. DOI: 10.1016/j.molliq.2018.10.112.
- [19] R. Cornelis, J.A. Caruso, H. Crews, K.G. Heumann, *Handbook of elemental speciation II: species in the environment, food, medicine and occupational health*, John Wiley & Sons, 2005.
- [20] Z. Ma, L. Lin, M. Wu, H. Yu, T. Shang, T. Zhang, M. Zhao, Total and inorganic arsenic contents in seaweeds: Absorption, accumulation, transformation and toxicity, *Aquaculture* 497 (2018) 49-55. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.07.040.
- [21] U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). Minor clarification of national primary drinking water regulation for arsenic, *Fed. Regist.* 68 (2003) 14501-14507.
- [22] WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee, *Guidelines for Drinking-Water Quality: 4th edn, Incorporating the First Addendum*, World Health Organization, Geneva, 2017.
- [23] H. Rasheed, R. Slack, P. Kay, Human health risk assessment for arsenic: a critical review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 46 (2016) 1529-1583. DOI: 10.1080/10643389.2016.1245551.
- [24] S.J.S. Flora, *Handbook of arsenic toxicology*, Academic Press, 2014.
- [25] Y.-S. Hong, K.-H. Song, J.-Y. Chung, Health effects of chronic arsenic exposure, *Journal of Preventive Medicine and Public Health* 47 (2014) 245. DOI: 10.3961/jpmph.14.035.
- [26] S.M. Tareq, S.N. Islam, M.M. Rahmam, D.A. Chowdhury, Arsenic pollution in groundwater of Southeast Asia: an overview on mobilization process and health effects, *Bangladesh Journal of Environmental Research* 8 (2010) 47-67.
- [27] J.-Y. Chung, S.-D. Yu, Y.-S. Hong, Environmental source of arsenic exposure, *Journal of Preventive Medicine and Public Health* 47 (2014) 253. DOI: 10.3961/jpmph.14.036

- [28] G.F. Nordberg, B.A. Fowler, M. Nordberg, Handbook on the Toxicology of Metals, Academic press, 2014.
- [29] K.S.M. Abdul, S.S. Jayasinghe, E.P. Chandana, C. Jayasumana, P.M.C. De Silva, Arsenic and human health effects: A review, Environmental toxicology and pharmacology 40 (2015) 828-846. DOI: 10.1016/j.etap.2015.09.016.
- [30] E.C.V. Lepori, Hidroarsenicismo crónico regional endémico en Argentina, Acta bioquímica Clínica Latinoamericana 49 (2015) 83-104.
- [31] M.F. Hughes, B.D. Beck, Y. Chen, A.S. Lewis, D.J. Thomas, Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective, Toxicological Sciences 123 (2011) 305-332. DOI: 10.1093/toxsci/kfr184.
- [32] D.M. Templeton, H. Fujishiro, Terminology of elemental speciation—an IUPAC perspective. Coordination Chemistry Reviews, 352 (2017) 424-431. DOI: 410.1016/j.ccr.2017.1002.1002.
- [33] F. Ardini, G. Dan, M. Grotti, Arsenic speciation analysis of environmental samples, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 35 (2020) 215-237. DOI: 10.1039/C9JA00333A.
- [34] P.M. Leal, E.V. Alonso, M.L. Guerrero, M.S. Cordero, J.C. Pavón, A.G. de Torres, Speciation analysis of inorganic arsenic by magnetic solid phase extraction on-line with inductively coupled mass spectrometry determination, Talanta 184 (2018) 251-259. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.03.019.
- [35] B. Radke, L. Jewell, J. Namieśnik, Analysis of arsenic species in environmental samples, Critical Reviews in Analytical Chemistry 42 (2012) 162-183. DOI: 10.1080/10408347.2011.634637.
- [36] J. Werner, T. Grześkowiak, A. Zgoła-Grześkowiak, E. Stanisiz, Recent trends in microextraction techniques used in determination of arsenic species, TrAC Trends in Analytical Chemistry 105 (2018) 121-136. DOI: 10.1016/j.trac.2018.05.006.
- [37] V.G. Mihucz, Toward fast and simple yet reliable alternative arsenic speciation methods, Brazilian Journal of Analytical Chemistry 8 (2021) 9-10. DOI: 10.30744/brjac.2179-3425.
- [38] X. Wang, G. Xu, P. Chen, X. Liu, Y. Fang, S. Yang, G. Wang, Arsenic speciation analysis in environmental water, sediment and soil samples by magnetic ionic liquid-based air-assisted liquid–liquid microextraction, RSC Advances 6 (2016) 110247-110254. DOI: 10.1039/C6RA21199B.
- [39] B. Sadee, M. Foulkes, S. Hill, Coupled techniques for arsenic speciation in food and drinking water: a review, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 30 (2015) 102-118. DOI: 10.1039/C4JA00269E.
- [40] W.H. Organization, Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on the Risks and Benefits of Fish Consumption: Rome, 25-29 January 2010, World Health Organization, 2011.
- [41] M. Sigrist, N. Hilbe, L. Brusa, D. Campagnoli, H. Beldoménico, Total arsenic in selected food samples from Argentina: estimation of their contribution to inorganic arsenic dietary intake, Food Chemistry 210 (2016) 96-101. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.04.072.

- [42] W.H. Organization, Preventing disease through healthy environments: exposure to arsenic: a major public health concern, World Health Organization, 2019.
- [43] F.C. Da Rosa, M.A.G. Nunes, F.A. Duarte, É.M. de Moraes Flores, F.B. Hanzel, A.S. Vaz, D. Pozebon, V.L. Dressler, Arsenic speciation analysis in rice milk using LC-ICP-MS, *Food Chemistry: X* 2 (2019) 100028. DOI: 10.1016/j.fochx.2019.100028.
- [44] S.A. Maratta Martínez, Micropreconcentración y especiación de As y Sb empleando una aguja cargada con nanotubos de carbono en un sistema de microextracción en fase sólida, (2019).
- [45] C.S. Koehler, Chemistry Chronicles Heavy Metal Medicine Metals and minerals have been used in pharmacology since the Renaissance, *Today's Chemist at Work* 10 (2001) 61-65.
- [46] R. McCallum, Captain James Cook's Antimony Cup, *Revue officielle de la Societe Internationale d'Histoire de la Medecine Acta Internationalia Historiae Medicinae* (2001) 62.
- [47] C.G. Anderson, The metallurgy of antimony, *Chemie der Erde* 72 (2012) 3-8. DOI: 10.1016/j.chemer.2012.04.001.
- [48] G. Okkenhaug, Y.-G. Zhu, L. Luo, M. Lei, X. Li, J.J.E.P. Mulder, Distribution, speciation and availability of antimony (Sb) in soils and terrestrial plants from an active Sb mining area, *Environmental Pollution* 159 (2011) 2427-2434. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.06.028.
- [49] P.A. Nishad, A. Bhaskarapillai, Antimony, a pollutant of emerging concern: A review on industrial sources and remediation technologies, *Chemosphere* 277 (2021) 130252. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130252.
- [50] U. Schwarz-Schampera, Antimony. G. Gunn (Ed.), *Critical Metals Handbook*, British Geological Survey - American Geophysical Union - Wiley, 2014.
- [51] S. Schlecht, C. Erk, M. Yosef, Nanoscale zinc antimonides: synthesis and phase stability, *Inorganic Chemistry* 45 (2006) 1693-1697. DOI: 10.1021/ic051808t.
- [52] A. Chung, A.E. Giuliano, Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer, *The Breast*, 5th edn, Elsevier, 2018.
- [53] I. Herath, M. Vithanage, J. Bundschuh, Antimony as a global dilemma: Geochemistry, mobility, fate and transport, *Environmental Pollution* 223 (2017) 545-559. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.01.057.
- [54] Z. Ge, C. Wei, Simultaneous analysis of SbIII, SbV and TMSb by high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma–mass spectrometry detection: Application to antimony speciation in soil samples, *Journal of Chromatographic Science* 51 (2013) 391-399. DOI: 10.1093/chromsci/bms153.
- [55] C.A. Tylenda, D.W. Sullivan Jr, B.A. Fowler, Antimony, *Handbook on the Toxicology of Metals*, Elsevier, 2015, pp. 565-579.
- [56] W. Shotyk, M. Krachler, B. Chen, Contamination of Canadian and European bottled waters with antimony from PET containers, *Journal of Environmental Monitoring* 8 (2006) 288-292. DOI: 10.1039/B517844B.

- [57] USEPA, Antimony: An Environmental and Health Effects Assessment, US Environmental Protection Agency, Office of Drinking Water, Washington, DC, (1984).
- [58] CEC (Council of the European Communities), Council Directive Relating to the Quality of Water Intended for Human Consumption, 80 (1980) 778.
- [59] M. Patriarca, A. Menditto, B. Rossi, T. Lyon, G. Fell, Environmental exposure to metals of newborns, infants and young children, *Microchemical Journal* 67 (2000) 351-361. DOI: 10.1016/S0026-265X(00)00088-6.
- [60] Z. Lai, M. He, C. Lin, W. Ouyang, X.J.E. Liu, E. Safety, Interactions of antimony with biomolecules and its effects on human health, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 233 (2022) 113317. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.113317.
- [61] S. Sundar, J. Chakravarty, p. health, Antimony toxicity, *International Journal of Environmental Research* 7 (2010) 4267-4277. DOI: 10.3390/ijerph7124267.
- [62] J.A. Vilensky, K. Redman, British anti-Lewisite (dimercaprol): an amazing history, *Annals of Emergency Medicine* 41 (2003) 378-383. DOI: 10.1067/mem.2003.72.
- [63] S.L. Ferreira, W.N. dos Santos, I.F. dos Santos, M.M. Junior, L.O. Silva, U.A. Barbosa, F.A. de Santana, A.F.d.S. Queiroz, Strategies of sample preparation for speciation analysis of inorganic antimony using hydride generation atomic spectrometry, *Microchemical Journal* 114 (2014) 22-31. DOI: 10.1016/j.microc.2013.11.019.
- [64] X. Wang, M. He, J. Xi, X. Lu, Antimony distribution and mobility in rivers around the world's largest antimony mine of Xikuangshan, Hunan Province, China, *Microchemical Journal* 97 (2011) 4-11. DOI: 10.1016/j.microc.2010.05.011.
- [65] M. Tschan, B.H. Robinson, R. Schulin, Antimony in the soil-plant system—a review, *Environmental Chemistry* 6 (2009) 106-115. DOI: 10.1071/EN08111.
- [66] C.A. Johnson, H. Moench, P. Wersin, P. Kugler, C. Wenger, Solubility of antimony and other elements in samples taken from shooting ranges, *Journal of Environmental Quality* 34 (2005) 248-254. DOI: 10.2134/jeq2005.0248.
- [67] D. Sánchez-Rodas, L. Alsioufi, A.M.S. de la Campa, Y. González-Castanedo, Antimony speciation as geochemical tracer for anthropogenic emissions of atmospheric particulate matter, *Journal of Hazardous Materials* 324 (2017) 213-220. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.10.051.
- [68] J. Tian, T. Huang, J. Lu, Speciation of inorganic antimony in food and water samples by flow injection on-line nano γ -alumina micro-column solid-phase extraction coupled with slotted tube atom trapping flame atomic absorption spectrometry, *Food Analytical Methods* 6 (2013) 1080-1089. DOI: 10.1007/s12161-012-9513-4.
- [69] N. Altunay, R. Gürkan, Simultaneous determination of antimony and boron in beverage and dairy products by flame atomic absorption spectrometry after separation and pre-concentration by cloud-point extraction, *Food Additives & Contaminants: Part A* 33 (2016) 271-281. DOI: 10.1080/19440049.2015.1131335.
- [70] M.A.G. Cantellano, L.M.M. Zetina, La espectroscopia y su tecnología: Un repaso histórico y su importancia para el siglo XXI, *Latin-American Journal of Physics Education* 9 (2015) 13.

- [71] S. Koirtyohann, A history of atomic absorption spectroscopy from an academic perspective, *Analytical Chemistry* 63 (1991) 1024A-1031A. DOI: 10.1021/ac00021a001.
- [72] B. L'vov, Fifty years of atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Chemistry* 60 (2005) 382-392. DOI: 10.1007/s10809-005-0103-0.
- [73] B. Welz, M. Sperling, *Atomic absorption spectrometry*, John Wiley & Sons, 2008.
- [74] D.A. Skoog, F.J. Holler, S.R. Crouch, *Principles of instrumental analysis*, Cengage learning, 2017.
- [75] A.T. Van Loon, *Analytical atomic absorption spectroscopy: selected methods*, Elsevier, 2012.
- [76] S.L. Ferreira, M.A. Bezerra, A.S. Santos, W.N. dos Santos, C.G. Novaes, O.M. de Oliveira, M.L. Oliveira, R.L. Garcia, Atomic absorption spectrometry—A multi element technique, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 100 (2018) 1-6. DOI: 10.1016/j.trac.2017.12.012.
- [77] L. Ebdon, A.S. Fisher, S. Hill, *An introduction to analytical atomic spectrometry*, John Wiley & Sons, 1998.
- [78] A. Varma, *CRC handbook of furnace atomic absorption spectroscopy*, CRC press, 2019.
- [79] A.F. Lagalante, Atomic absorption spectroscopy: A tutorial review, *Applied Spectroscopy Reviews* 34 (2004) 173-189. DOI: 10.1081/ASR-100100844.
- [80] V. Círka, L. Vlková, S. Relich, M. Hájek, Microwave photochemistry IV: Preparation of the electrodeless discharge lamps for photochemical applications, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 179 (2006) 229-233. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2005.08.020.
- [81] B. Welz, High-resolution continuum source AAS: the better way to perform atomic absorption spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381 (2005) 69-71. DOI: 10.1007/s00216-004-2891-8.
- [82] S.J. Hill, T.A. Arowolo, O.T. Butler, J.M. Cook, M.S. Cresser, C. Harrington, D.L. Miles, Atomic spectrometry update. Environmental analysis, *Journal of analytical atomic spectrometry* 18 (2003) 170-202. DOI: 10.1039/b212655a.
- [83] D.Q. Hung, O. Nekrassova, R.G. Compton, Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review, *Talanta* 64 (2004) 269-277. DOI: 10.1016/j.talanta.2004.01.027.
- [84] P. Worsfold, A. Townshend, C.F. Poole, M. Miró, *Encyclopedia of analytical science*, Elsevier, 2019.
- [85] L. Lajunen, *Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission*, Royal Society of Chemistry, 2007.
- [86] J.A. Broekaert, *Analytical atomic spectrometry with flames and plasmas*, John Wiley & Sons, 2006.
- [87] G.L. Moore, *Introduction to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*, Elsevier, Amsterdam, 2012.

- [88] D. Potter, A commercial perspective on the growth and development of the quadrupole ICP-MS market, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (2008) 690-693. DOI: 10.1039/B717322A.
- [89] S.C. Wilschefski, M.R. Baxter, Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects, *The Clinical Biochemist Reviews* 40 (2019) 115. DOI: 10.33176/AACB-19-00024.
- [90] M.F. Al-Hakkani, Guideline of inductively coupled plasma mass spectrometry "ICP-MS": Fundamentals, practices, determination of the limits, quality control, and method validation parameters, *SN Applied Sciences* 1 (2019) 791. DOI: 10.1007/s42452-019-0825-5.
- [91] J.A. Burgener, Y. Makonnen, Nebulization systems, *Nebulization systems*. D. Beauchemin (Ed.), *Sample Introduction Systems in ICP-MS and ICP-OES*, Elsevier, Amsterdam, 2020, pp. 57-142. DOI: 10.1016/B978-0-444-59482-2.00002-6.
- [92] R. Thomas, *Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners*, 2013.
- [93] L. Teodorof, A. Burada, C. Despina, A. Ene, S.-O. Daniela, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) for environmental analysis, *Common Borders. Common Solutions* (2021) 45.
- [94] F. Vanhaecke, P. Degryse, (Eds.), *Isotopic analysis: fundamentals and applications using ICP-MS*. John Wiley & Sons-VCH Verlag & Co, Weinheim, Germany, 2012.
- [95] V. Balaram, Strategies to overcome interferences in elemental and isotopic geochemical analysis by quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry: A critical evaluation of the recent developments, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 35 (2021) e9065. DOI: 10.1002/rcm.9065.
- [96] K. Kumari, P. Singh, G.K. Mehrotra, Ionic liquid: Best alternate to organic solvent to carry out organic synthesis, *International Journal of Green Nanotechnology* 4 (2012) 262-276. DOI: 10.1080/19430892.2012.706122.
- [97] T. Welton, Ionic liquids: a brief history, *Biophysical reviews* 10 (2018) 691-706. DOI: 10.1007/s12551-018-0419-2.
- [98] Suresh, J.S. Sandhu, Reviews, Recent advances in ionic liquids: green unconventional solvents of this century: part I, *Green Chemistry Letters* 4 (2011) 289-310. DOI: 10.1080/17518253.2011.572294.
- [99] L.B. Escudero, A.C. Grijalba, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, Bioanalytical separation and preconcentration using ionic liquids, *Analytical and bioanalytical chemistry* 405 (2013) 7597-7613. DOI: 10.1007/s00216-013-6950-x.
- [100] I. Lomako, *Electrochemistry and spectroscopy of niobium in ionic liquids*, uniwien, 2012.
- [101] R. Caminiti, L. Gontrani, *The structure of ionic liquids*, 1st edn, Springer International Publishing, Switzerland, 2014.
- [102] N. Meksi, A. Moussa, A review of progress in the ecological application of ionic liquids in textile processes, *Journal of Cleaner Production* 161 (2017) 105-126. DOI: 10.1016/j.jclepro.2017.05.066.

- [103] K. Yavir, K. Konieczna, Ł. Marcinkowski, A. Kloskowski, Ionic liquids in the microextraction techniques: the influence of ILs structure and properties, *Trends in Analytical Chemistry* (2020) 115994. DOI: 10.1016/j.trac.2020.115994.
- [104] A. Berthod, M. Ruiz-Ángel, S. Carda-Broch, Recent advances on ionic liquid uses in separation techniques, *Journal of Chromatography A* 1559 (2018) 2-16.
- [105] M. Llaver, M.N. Oviedo, E.F. Fiorentini, P.Y. Quintas, R.G. Wuilloud, Analytical developments and applications of ionic liquids for environmental studies, *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 31 (2021) e00131. DOI: 10.1016/j.teac.2021.e00131.
- [106] D. Coleman, N. Gathergood, Biodegradation studies of ionic liquids, *Chemical Society Reviews* 39 (2010) 600-637. DOI: 10.1039/B817717C.
- [107] S. Mallakpour, M. Dinari, Ionic liquids as green solvents: progress and prospects, *Green solvents II: properties and applications of ionic liquids* (2012) 1-32. DOI: 10.1007/978-94-007-2891-2_1.
- [108] P. Wasserscheid, T. Welton, *Ionic liquids in synthesis*, John Wiley & Sons, 2008.
- [109] B. Clare, A. Sirwardana, D.R. MacFarlane, *Synthesis, purification and characterization of ionic liquids*, Springer, Verlag, Berlin, Heidelberg, 2010.
- [110] A. Ray, B. Saruhan, Application of ionic liquids for batteries and supercapacitors, *Materials* 14 (2021) 2942. DOI: 10.3390/ma14112942.
- [111] D.L.H.T.X. Yun, W.J.C.L.C. Guoxu, Ionic Liquids as Novel Lubricants, *Progress in Chemistry* 22 (2010) 298.
- [112] L. Lozano, C. Godínez, A. De Los Rios, F. Hernández-Fernández, S. Sánchez-Segado, F.J. Alguacil, Recent advances in supported ionic liquid membrane technology, *Journal of Membrane Science* 376 (2011) 1-14. DOI: 10.1016/j.memsci.2011.03.036.
- [113] V.A. Cocalia, J.D. Holbrey, K.E. Gutowski, N.J. Bridges, R.D. Rogers, technology, Separations of metal ions using ionic liquids: the challenges of multiple mechanisms, *Tsinghua science and technology* 11 (2006) 188-193. DOI: 10.1016/S1007-0214(06)70174-2.
- [114] P. Pirkwieser, J.A. López-López, W. Kandioller, B.K. Keppler, C. Moreno, F. Jirsa, Novel 3-hydroxy-2-naphthoate-based task-specific ionic liquids for an efficient extraction of heavy metals, *Frontiers in chemistry* 6 (2018) 172. DOI: 10.3389/fchem.2018.00172.
- [115] M. Sajid, Magnetic ionic liquids in analytical sample preparation: A literature review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 113 (2019) 210-223. DOI: 10.1016/j.trac.2019.02.007.
- [116] K.D. Clark, O. Nacham, H. Yu, T. Li, M.M. Yamsek, D.R. Ronning, J.L. Anderson, Extraction of DNA by magnetic ionic liquids: tunable solvents for rapid and selective DNA analysis, *Analytical chemistry* 87 (2015) 1552-1559. DOI: 10.1021/ac504260.
- [117] A. Joseph, G. Żyła, V.I. Thomas, P.R. Nair, A. Padmanabhan, S. Mathew, Paramagnetic ionic liquids for advanced applications: A review, *Journal of Molecular Liquids* 218 (2016) 319-331. DOI: 10.1016/j.molliq.2016.02.086.

- [118] E. Santos, J. Albo, A. Irabien, Magnetic ionic liquids: synthesis, properties and applications, *Rsc Advances* 4 (2014) 40008-40018. DOI: 10.1039/C4RA05156D.
- [119] N. Deng, M. Li, L. Zhao, C. Lu, S.L. de Rooy, I.M. Warner, Highly efficient extraction of phenolic compounds by use of magnetic room temperature ionic liquids for environmental remediation, *Journal of hazardous materials* 192 (2011) 1350-1357. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2011.06.053.
- [120] R.F. Frade, S. Simeonov, A.A. Rosatella, F. Siopa, C.A. Afonso, Toxicological evaluation of magnetic ionic liquids in human cell lines, *Chemosphere* 92 (2013) 100-105. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.047.
- [121] B. Mallick, B. Balke, C. Felser, A.V. Mudring, Dysprosium room-temperature ionic liquids with strong luminescence and response to magnetic fields, *Angewandte Chemie International Edition* 47 (2008) 7635-7638. DOI: 10.1002/anie.200802390.
- [122] A.-V. Mudring, A. Babai, S. Arenz, R. Giernoth, K. Binnemans, K. Driesen, P. Nockemann, compounds, Strong luminescence of rare earth compounds in ionic liquids: Luminescent properties of lanthanide (III) iodides in the ionic liquid 1-dodecyl-3-methylimidazolium bis (trifluoromethanesulfonyl) imide, *Journal of alloys* 418 (2006) 204-208. DOI: 10.1016/j.jallcom.2005.10.069.
- [123] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A. Afonso, A. Irabien, Synthesis and characterization of magnetic ionic liquids (MILs) for CO₂ separation, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 89 (2014) 866-871. DOI: 10.1002/jctb.4323.
- [124] X. Feng, X. Xu, Z. Liu, S. Xue, L. Zhang, Novel functionalized magnetic ionic liquid green separation technology coupled with high performance liquid chromatography: A rapid approach for determination of estrogens in milk and cosmetics, *Talanta* 209 (2020) 120542. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120542.
- [125] R.E. Del Sesto, T.M. McCleskey, A.K. Burrell, G.A. Baker, J.D. Thompson, B.L. Scott, J.S. Wilkes, P. Williams, Structure and magnetic behavior of transition metal based ionic liquids, *Chemical Communications* (2008) 447-449. DOI: 10.1039/B711189D.
- [126] T. Bäcker, O. Breunig, M. Valldor, K. Merz, V. Vasylyeva, A.-V. Mudring, In-situ crystal growth and properties of the magnetic ionic liquid [C₂mim][FeCl₄], *Crystal growth and design* 11 (2011) 2564-2571. DOI: 10.1021/cg200326n.
- [127] R.H. Herber, I. Nowik, M.E. Kostner, V. Kahlenberg, C. Kreutz, G. Laus, H. Schottenberger, Mössbauer spectroscopy and x-ray diffraction study of ⁵⁷Fe-labeled tetrachloroferrate (III)-based magnetic ionic liquids, *International Journal of Molecular Sciences* 12 (2011) 6397-6406. DOI: 10.3390/ijms12106397.
- [128] K.D. Clark, O. Nacham, J.A. Purslow, S.A. Pierson, J.L. Anderson, Magnetic ionic liquids in analytical chemistry: a review, *Analytica chimica acta* 934 (2016). DOI: 10.1016/j.aca.2016.06.011.
- [129] D.K. Bwambok, M.M. Thuo, M.B. Atkinson, K.A. Mirica, N.D. Shapiro, G.M. Whitesides, Paramagnetic ionic liquids for measurements of density using magnetic levitation, *Analytical chemistry* 85 (2013) 8442-8447. DOI: 10.1021/ac401899u.
- [130] M.A. Farajzadeh, A. Mohebbi, A. Pazhohan, M. Nemati, M.R.A. Mogaddam, Air-assisted liquid-liquid microextraction; principles and applications with analytical

instruments, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 122 (2020) 115734. DOI: 10.1016/j.trac.2019.115734.

[131] J. Płotka-Wasyłka, N. Szczepańska, M. de La Guardia, J. Namieśnik, Modern trends in solid phase extraction: new sorbent media, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 77 (2016) 23-43. DOI: 10.1016/j.trac.2015.10.010.

[132] S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 71 (2015) 2-8. DOI: 10.1016/j.trac.2014.12.011.

[133] B. Hu, M. He, B. Chen, Nanometer-sized materials for solid-phase extraction of trace elements, *Analytical and bioanalytical chemistry* 407 (2015) 2685-2710. DOI: 10.1007/s00216-014-8429-9.

[134] A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena, Dispersive micro-solid phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019) 226-233. DOI: 10.1016/j.trac.2018.12.005.

[135] M. Sajid, M.K. Nazal, I. Ihsanullah, Novel materials for dispersive (micro) solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples: A review, *Analytica Chimica Acta* 1141 (2021) 246-262. DOI: 10.1016/j.aca.2020.07.064.

[136] M. Adeel, M. Bilal, T. Rasheed, A. Sharma, H.M. Iqbal, Graphene and graphene oxide: Functionalization and nano-bio-catalytic system for enzyme immobilization and biotechnological perspective, *International journal of biological macromolecules* 120 (2018) 1430-1440. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.144.

[137] M. Llaver, M.N. Oviedo, P.Y. Quintas, R.G. Wuilloud, Analytical Methods for the Determination of Heavy Metals in Water, in: Springer (Ed.), *Remediation of Heavy Metals*, 2021, pp. 1-50.

[138] C. Hanson, *Recent advances in liquid-liquid extraction*, Elsevier, 2013.

[139] H. Cumming, C. Rücker, Octanol–water partition coefficient measurement by a simple ¹H NMR method, *ACS Omega* 2 (2017) 6244-6249. DOI: 10.1021/acsomega.7b01102.

[140] E. Stanisz, J. Werner, A. Zgoła-Grzeškowiak, Liquid-phase microextraction techniques based on ionic liquids for preconcentration and determination of metals, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 61 (2014) 54-66. DOI: 10.1016/j.trac.2014.06.008.

[141] E.M. Martinis, P. Berton, R.G. Wuilloud, Ionic liquid-based microextraction techniques for trace-element analysis, *Trends in Analytical Chemistry* 60 (2014) 54-70. DOI: 10.1016/j.trac.2014.04.012.

[142] B. Hashemi, P. Zohrabi, K.-H. Kim, M. Shamsipur, A. Deep, J. Hong, Recent advances in liquid-phase microextraction techniques for the analysis of environmental pollutants, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 97 (2017) 83-95. DOI: 10.1016/j.trac.2017.08.014.

[143] S. Tang, T. Qi, P.D. Ansah, J.C.N. Fouemina, W. Shen, C. Basheer, H.K. Lee, Single-drop microextraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 108 (2018) 306-313. DOI: 10.1016/j.trac.2018.09.016.

- [144] V. Sharifi, A. Abbasi, A. Nosrati, Application of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid–liquid microextraction techniques in analytical toxicology, *Journal of food and drug analysis* 24 (2016) 264-276. DOI: 10.1016/j.jfda.2015.10.004.
- [145] M. Rezaee, Y. Yamini, M. Faraji, Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method, *Journal of Chromatography A* 1217 (2010) 2342-2357. DOI: 10.1016/j.chroma.2009.11.088.
- [146] E.F. Fiorentini, M.B. Botella, R.G. Wuilloud, A simple preconcentration method for highly sensitive determination of Pb in bee products by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Food Composition and Analysis* 95 (2021) 103661. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103661.
- [147] Y. Wang, Y. Sun, B. Xu, X. Li, R. Jin, H. Zhang, D. Song, Magnetic ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of triazine herbicides in vegetable oils by liquid chromatography, *Journal of Chromatography A* 1373 (2014) 9-16. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.11.009.
- [148] X. Wang, P. Chen, L. Cao, G. Xu, S. Yang, Y. Fang, G. Wang, X. Hong, Selenium speciation in rice samples by magnetic ionic liquid-based up-and-down-shaker-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Food Analytical Methods* 10 (2017) 1653-1660. DOI: 10.1007/s12161-016-0727-8.
- [149] M.J. Trujillo-Rodríguez, J.L. Anderson, In situ formation of hydrophobic magnetic ionic liquids for dispersive liquid-liquid microextraction, *Journal of Chromatography A* 1588 (2019) 8-16. DOI: 10.1016/j.chroma.2018.12.032.
- [150] L.B. Escudero, E.M. Martinis, R.A. Olsina, R.G. Wuilloud, Arsenic speciation analysis in mono-varietal wines by on-line ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction, *Food chemistry* 138 (2013) 484-490. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.10.054.
- [151] V.A. Lemos, Sistema em linha para pré-concentração e determinação de cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica com chama utilizando minicoluna de espuma de poliuretano impregnada com 2-(2'-benzotiazolilazo)-p-cresol, (2016).
- [152] M. Gawin, J. Konefał, B. Trzewik, S. Walas, A. Tobiasz, H. Mrowiec, E. Witek, Preparation of a new Cd(II)-imprinted polymer and its application to determination of cadmium (II) via flow-injection-flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 80 (2010) 1305-1310. DOI: 10.1016/j.talanta.2009.09.021.
- [153] V.A. Lemos, D.G. da Silva, A.L. de Carvalho, D. de Andrade Santana, G. dos Santos Novaes, A.S. dos Passos, Synthesis of amberlite XAD-2-PC resin for preconcentration and determination of trace elements in food samples by flame atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal* 84 (2006) 14-21. DOI: 10.1016/j.microc.2006.03.006.
- [154] L. Mousavi, Z. Tamiji, M.R. Khoshayand, Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid–liquid microextraction method—A review, *Talanta* 190 (2018) 335-356. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.08.002.

- [155] M.A. Bezerra, R.E. Santelli, E.P. Oliveira, L.S. Villar, L.A. Escaleira, Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, *Talanta* 76 (2008) 965-977. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- [156] S.A. Weissman, N.G. Anderson, Design of experiments (DoE) and process optimization. A review of recent publications, *Organic Process Research and Development* 19 (2015) 1605-1633. DOI: 10.1021/op500169m.
- [157] R.H. Myers, D.C. Montgomery, C.M. Anderson-Cook, Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, John Wiley & Sons, 2016.
- [158] G. Hanrahan, R. Montes, F.A. Gomez, Chemometric experimental design based optimization techniques in capillary electrophoresis: a critical review of modern applications, *Analytical and bioanalytical chemistry* 390 (2008) 169-179. DOI: 10.1007/s00216-007-1619-y.
- [159] M. Yolmeh, S.M. Jafari, Applications of response surface methodology in the food industry processes, *Food and Bioprocess Technology* 10 (2017) 413-433. DOI: 10.1007/s11947-016-1855-2.
- [160] Z.K. Awad, T. Aravinthan, Y. Zhuge, F. Gonzalez, A review of optimization techniques used in the design of fibre composite structures for civil engineering applications, *Materials and Design* 33 (2012) 534-544. DOI: 10.1016/j.matdes.2011.04.061.
- [161] H.J. Seltman, Experimental design and analysis, Carnegie Mellon University Pittsburgh, 2012.
- [162] V. Cerdà, J.L. Cerdà, A.M. Idris, Optimization using the gradient and simplex methods, *Talanta* 148 (2016) 641-648. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.05.061.
- [163] L.V. Candiotti, M.M. De Zan, M.S. Cámara, H.C. Goicoechea, Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development, *Talanta* 124 (2014) 123-138. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.01.034.
- [164] A.L. Müller, J.A. de Oliveira, O.D. Prestes, M.B. Adaime, R. Zanella, Design of experiments and method development, *Solid-Phase Extraction*, Amsterdam, Elsevier, 2020, pp. 589-608.
- [165] A.M.C.T.B. No, & Analytical Methods Committee, Experimental design and optimisation (4): Plackett–Burman designs, *Analytical Methods* 5 (2013) 1901-1903. DOI: 10.1039/C3AY90020G.
- [166] S.L. Ferreira, V.A. Lemos, V.S. de Carvalho, E.G. da Silva, A.F. Queiroz, C.S. Felix, D.L. da Silva, G.B. Dourado, R.V. Oliveira, Multivariate optimization techniques in analytical chemistry-an overview, *Microchemical Journal* 140 (2018) 176-182. DOI: 10.1016/j.microc.2018.04.002.
- [167] H. Gutiérrez, R. De La Vara, Análisis y diseño de experimentos, McGraw-Hill Interamericana, México DF: McGraw-Hill Interamericana, (2008).
- [168] J. Miller, J.C. Miller, Statistics and chemometrics for analytical chemistry, 6th edn, Pearson Education, Harlow, UK, 2010.

- [169] R.E. Bruns, I.S. Scarminio, B. de Barros Neto, *Statistical design-chemometrics*, Elsevier, 2006.
- [170] S. Walfish, A review of statistical outlier methods, *Pharmaceutical technology* 30 (2006) 82.
- [171] J. Osborne, Improving your data transformations: Applying the Box-Cox transformation, *Practical Assessment, Research, and Evaluation* 15(1) (2010) 12. DOI: 10.7275/qbpc-gk17.
- [172] P. McCullagh, *Generalized linear models*, Routledge, 2018.
- [173] G.E. Box, D.R. Cox, An analysis of transformations, *Journal of the Royal Statistical Society: Series B* 26 (1964) 211-243. DOI: 10.1111/j.2517-6161.1964.tb00553.x.
- [174] D.B. Hibbert, Experimental design in chromatography: a tutorial review, *Journal of chromatography B* 910 (2012) 2-13. DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.01.020.
- [175] E.F. Fiorentini, B.V. Canizo, R.G. Wuilloud, Determination of As in honey samples by magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta* 198 (2019) 146-153. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.01.091.
- [176] E. Ghasemi, N.M. Najafi, F. Raofie, A. Ghassempour, Simultaneous speciation and preconcentration of ultra traces of inorganic tellurium and selenium in environmental samples by hollow fiber liquid phase microextraction prior to electrothermal atomic absorption spectroscopy determination, *Journal of hazardous materials* 181 (2010) 491-496. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.05.040.
- [177] R.A. Zounr, M. Tuzen, B. Hazer, M.Y. Khuhawar, Solid-phase microextraction and determination of tin species in beverages and food samples by using poly (ϵ -caprolactone-b-4-vinylbenzyl-g-dimethylaminoethylmethacrylate) polymer in syringe system: a multivariate study, *Food Analytical Methods* 11 (2018) 2538-2546. DOI: 10.1007/s12161-018-1237-7.

Capítulo 2

Materiales

y

métodos

2.1 Instrumentación y materiales

2.1.1 Instrumentos

2.1.1.1 Espectrómetro de absorción atómica electrotérmica

Para las determinaciones de los analitos estudiados se empleó un espectrómetro de absorción atómica marca Perkin-Elmer Modelo 5100ZL (Überlingen, Alemania), cuya imagen se puede observar en la Figura 2.1.1. El equipo se compone de un atomizador de horno de grafito pirolítico con calentamiento transversal y sistema de corrección de fondo por efecto Zeeman. Como fuente de radiación se utilizó una lámpara de descarga sin electrodos (EDL) (Perkin-Elmer) para As y una lámpara de cátodo hueco (HCL) (Perkin-Elmer) para Sb. El monocromador del sistema de detección se configuró con un ancho de banda espectral de 0,7 nm para todas las determinaciones. La corriente de funcionamiento de cada lámpara y la longitud de onda utilizadas para cada elemento fueron: As (300 mA; 193,7 nm), Sb (25 mA; 217,6 nm).



Figura 2.1.1 Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer 5100 PC utilizado en la presente Tesis.

2.1.1.2 Espectrómetro de masas con fuente de plasma acoplado inductivamente

Se realizó la medición de Sb con un espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) marca Perkin-Elmer SCIEX, ELAN DRG-e (Thornhill, Canadá), cuya imagen se presenta en la Figura 2.1.2. El gas argón con una pureza mínima del 99,996% fue suministrado por Air Liquid (Córdoba, Argentina). El equipo

dispone de un nebulizador de teflón microconcéntrico de alto rendimiento y resistente al HF modelo PFA-ST acoplado a una cámara de atomización ciclónica de cuarzo con deflector interno y línea de drenaje enfriada con el sistema PC3 de ESI (Omaha, NE, EE. UU.) para la introducción de la muestra. Se utilizaron conos de muestreo y skimmer de níquel. Además, se usaron mangueras de Tygon negro/negro 0,76 mm i.d. de 40 cm de longitud para la bomba peristáltica de introducción de muestras. En la Tabla 2.1.1 se resumen las condiciones instrumentales óptimas para la determinación de Sb.



Figura 2.1.2 Espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente marca Perkin-Elmer SCIEX, ELAN DRC-e utilizado en la presente Tesis.

Tabla 2.1.1 Condiciones instrumentales óptimas para la determinación de Sb por ICP-MS.

Condiciones de ICP-MS	
Potencia RF (W)	1100
Caudal de gas Ar (L min ⁻¹)	Plasma: 15,0 Auxiliar: 1,32 Nebulizador: 0,80
Conos (de muestreo y skimmer)	Níquel
Isótopo monitoreado	¹²¹ Sb
Modo de escaneo	Salto de pico
Tiempo de permanencia (ms)	50 en modo estándar
Número de réplicas	3
Flujo Ingreso muestra (μL min ⁻¹)	150

2.1.1.3 Espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier

La caracterización de todos los MILs, el GO y GO@MILs sintetizados se realizó mediante un espectrómetro de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR), marca Perkin-Elmer modelo Spectrum Two, mediante la configuración de ATR.

2.1.1.4 Microscopio electrónico de transmisión

Para la caracterización del GO y GO@MILs sintetizados en la sección 3.3, se utilizó un microscopio electrónico de transmisión (TEM) Carl Zeiss EM900 (Jena, Alemania). Las imágenes TEM se obtuvieron preparando dispersiones acuosas secas de los materiales sobre grillas de cobre, a 80 kV, con una cámara CCD SC1000–832 de alta resolución (Gatan Inc., Nuffield, Reino Unido).

2.1.1.5 Dispositivo de interferencia cuántica superconductora

Se realizó el estudio de la susceptibilidad magnética de los MILs sintetizados mediante el dispositivo de interferencia cuántica superconductora (SQUID) (Quantum Design XL7 Inc., San Diego, CA, EE.UU.).

2.1.1.6 Espectrómetro de absorción UV-Vis

Los MILs sintetizados fueron también caracterizados mediante la utilización de un espectrómetro de absorción UV-Vis, marca Shimadzu modelo UV-1800 (Kyoto, Japón), empleando cubetas de cuarzo.

2.1.1.7 Balanza analítica

El pesaje con precisión de los reactivos sólidos empleados fue realizado con una balanza analítica marca Ohaus modelo Pioneer (Nueva Jersey, Estados Unidos), con resolución de 0,0001g.

2.1.1.8 Peachímetro

Las mediciones de pH de las diferentes soluciones se llevaron a cabo con un pHmetro marca Horiba modelo F-51 (Kyoto, Japón), provisto de electrodo combinado de vidrio modelo 9611-10D, con solución interna de cloruro de potasio (KCl) de concentración 3 mol L⁻¹. Para su calibración diaria se emplearon soluciones estándar (Merck, Darmstadt, Alemania) de pH 4 (ácido cítrico/hidróxido de sodio/ácido

clorhídrico), pH 7 (fosfato ácido de sodio/fosfato diácido de potasio) y pH 10 (ácido bórico/KCl/hidróxido de sodio).

2.1.2 Aparatos

2.1.2.1 Sistema de centrifugación

Para la etapa de limpieza de las muestras ambientales se realizó la separación de fases mediante el uso de una centrífuga marca Luguimac modelo LC 15 (Buenos Aires, Argentina), de revolución variable, con capacidad para dieciséis tubos de centrífuga de 15 mL, rango de programación de 0 a 99 minutos con resolución de 1 minuto y variador electrónico de velocidad con rango de programación de 0 a 3600 rpm con resolución de 1 rpm.

2.1.2.2 Estufa de secado

Los vestigios de CHCl_3 presentes en la solución de síntesis de los MILs fueron eliminados por evaporación con estufa de secado marca San Jor serie SL SBD (Buenos Aires, Argentina), la cual presenta un rango de temperaturas que abarca de los 50 a los 200 °C con resolución de 0,1 °C.

2.1.2.3 Plancha calefactora

La síntesis de GO requirió la utilización de plancha calefactora marca Dragon Lab (Beijing, China), cuyo rango de temperatura abarca desde los 25 a los 550 °C.

2.1.2.4 Rotavapor

La preparación de los MILs requirió el uso de un rotavapor marca Senco modelo R206B (Shanghai, China). Contiene un matraz de evaporación de 100 mL, una velocidad de rotación máxima de 200 rpm y una temperatura máxima de 99 °C.

2.1.2.5 Sistema de agitación

Las soluciones de muestra y estándares fueron agitadas utilizando un agitador vortex marca Boeco modelo Bio Vortex V1 (Hamburgo, Alemania) y unidad de ultrasonido marca Testlab (Buenos Aires, Argentina) que posee un control de temperatura. Además, para la síntesis de los MILs se empleó un agitador magnético marca Thorbell (Santa Fe, Argentina).

2.1.2.6 Micropipetas

Se pipetearon microvolúmenes soluciones con micropipetas automáticas de succión de volumen variable. Para volúmenes de 2-20 μL se utilizó una micropipeta marca Dragon Lab, para volúmenes de 20-100 μL una micropipeta marca Gilson (Wisconsin, Estados Unidos), mientras que para volúmenes de 100-1000 μL se usaron micropipetas marca Dragon Lab, Gilson y Eppendorf (Hamburgo, Alemania).

2.1.2.7 Destilador de agua y equipo de agua ultrapura

La destilación de agua se realizó mediante un destilador de vidrio marca Figmay (Córdoba, Argentina) el cual evita el contacto del destilado con parte metálicas, evitando de este modo una potencial contaminación. El agua destilada obtenida fue purificada mediante un equipo de agua ultrapura marca Apema modelo Osmoion-U-0.5 (Buenos Aires, Argentina).

2.1.3 Materiales

2.1.3.1 Material de vidrio

Se utilizaron materiales de vidrio volumétrico y de uso general, los cuales fueron lavados previo a su uso por inmersión durante 24 horas en solución al 5% (v/v) de ácido nítrico (HNO_3 , 65% (v/v), Merck) seguido de lavado con agua destilada y finalmente agua ultrapura.

2.1.3.2 Imanes

Para evaluar la atracción magnética de los MILs sintetizados se utilizaron imanes de neodimio (50 de largo \times 30 de alto \times 10 mm de ancho) con campo magnético de 1,17 T y varillas magnéticas de neodimio (4 mm de diámetro \times 12 cm de largo) con campo magnético de 0,25 T. Además, se emplearon buzos magnéticos para la agitación de las soluciones de síntesis.

2.2 Reactivos

2.2.1 Agua ultrapura

Para el desarrollo experimental de esta tesis se utilizó agua ultrapura para la preparación de todas las soluciones acuosas utilizadas. La calidad de la misma se evaluó comprobando un valor de resistividad igual o menor a 18 MΩ cm.

2.2.2 Preparación de soluciones patrón

2.2.2.1 Soluciones patrón de As

Se prepararon soluciones patrón de 1000 mg L⁻¹ de As(III) y As(V) disolviendo 0,1751 g de (meta)arsenito de sodio (AsNaO₂, 99%, Fluka, Buchs, Suiza) y 0,4160 g de arseniato ácido de sodio heptahidratado (Na₂HAsO₄·7H₂O, 99,99%, Sigma-Aldrich, Milwaukee, Estados Unidos) en agua ultrapura llevándose a volumen final de 100 mL en matraz aforado, respectivamente. Se ajustó el medio con HCl (37% v/v, Merck) a una concentración final de 0,1 mol L⁻¹. Las soluciones de menor concentración fueron preparadas mediante la dilución de la solución patrón de 1000 mg L⁻¹ con agua ultrapura y manteniendo la concentración de HCl a un valor constante de 0,1 mol L⁻¹.

Las soluciones patrón de concentración de 1000 mg L⁻¹ de MMA y DMA se prepararon disolviendo 0,397 g de metilarseniato de sodio (CH₃AsNa₂O₃·6H₂O, 98%, Fluka) y de 0,186 g de ácido dimetilarseniato (C₂H₇AsO₂) (98,6%, Fluka) en agua ultrapura, respectivamente, llevándose a volumen final de 100 mL en matraz aforado para finalmente conservarse en frasco color ámbar a 4°C.

2.2.2.2 Soluciones patrón de Sb

Las soluciones patrón de Sb(III) y Sb(V) se prepararon mediante la disolución de 0,252 g de tartrato de potasio y antimonio (III) hidratado (C₈H₄K₂O₁₂Sb₂·H₂O, 99,99%, Sigma-Aldrich) y 0,220 g de hexahidroxoantimoniato (V) de potasio ((KSb(OH)₆, 99,0%, Fluka)) en agua ultrapura, respectivamente, llevándose a volumen final de 100 mL en matraz aforado. La solución patrón de Sb(V) tuvo una concentración final de HCl de 0,3 mol L⁻¹. Las soluciones de menor concentración fueron preparadas mediante la dilución de la solución patrón de 1000 mg L⁻¹ con agua ultrapura y en caso de las soluciones de Sb(V) se mantuvo la concentración de HCl a un valor constante de 0,3 mol L⁻¹.

2.2.3 Preparación de modificadores químicos de matriz para ETAAS

Se preparó una solución de Pd(II) de 500 mg L⁻¹ disolviendo 31,3 mg de nitrato de paladio dihidratado (Pd(NO₃)₂·2H₂O, ≥ 99,99%, Fluka) en 25 mL de una solución acuosa de HNO₃ al 5% (v/v).

Además, se preparó una solución de Mg(II) de 750 mg L⁻¹ disolviendo 79,14 mg de Mg(NO₃)₂·6H₂O (99,99%, Merck) en 10 mL de agua ultrapura al 5% (v/v) de HNO₃. Las soluciones de menor concentración fueron preparadas mediante la dilución de la solución de magnesio de 750 mg L⁻¹ con agua ultrapura.

Se preparó una solución de Ni(II) de 250 mg L⁻¹ disolviendo 10,86 mg de Ni(NO₃)₂·4H₂O (Sigma-Aldrich) de 99,9% de pureza en 10 mL de agua ultrapura al 5%(v/v) de HNO₃.

2.2.4 Reactivos utilizados como agentes complejantes

Se prepararon soluciones de: a) 1,5-7,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ de dietilditiocarbamato de sodio ((C₂H₅)₂NCSSNa·3H₂O, DDTC) de 99,0% (Sigma-Aldrich) b) 0,025-25 x 10⁻³ mol L⁻¹ de dietilditiofosfato de amonio (C₂H₅O)₂P(S)SNH₄, DDTP) con una pureza de 95,0%, (Sigma-Aldrich), y c) 1-5 x 10⁻³ mol L⁻¹ de amonio pirrolidinditiocarbamato (C₅H₉NS₂NH₃, APDC) de 99,0% (Sigma-Aldrich) en 10 mL de metanol (99,8% (v/v), Sintorgan, Buenos Aires, Argentina).

Se preparó una solución de molibdato de amonio 0,08 mol L⁻¹ disolviendo 4,9 g de (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (99,0%, Fluka) en agua ultrapura, llevándose a volumen final de 50 mL en matraz aforado.

Además, se prepararon soluciones de 1 x 10⁻³ mol L⁻¹ de: a) 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino)-fenol (5-Br-PADAP) pesando 18,0 mg de C₁₅H₁₇BrN₄O (98,0%, Sigma-Aldrich), b) 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) pesando 12,8 mg de C₁₅H₁₁N₃O (97,0%, Sigma-Aldrich) y c) 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR) pesando 11,2 mg de C₁₁H₉N₃O₂ (96,0%, Sigma-Aldrich) y disolviendo las respectivas cantidades en metanol, llevándose a volumen final de 50 mL en matraz aforado.

2.2.5 Preparación de soluciones reguladoras

Se preparó una solución reguladora de pH formada por los pares ácido cítrico-citrato de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ a partir de una solución $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido cítrico (99,5%, Sigma-Aldrich) y ajustada a pH entre 3 y 4 con $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH (98,0%, Sigma-Aldrich).

Se preparó una solución reguladora de pH formada por los pares ácido acético-acetato de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ a partir de una solución $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético (99,7%, Merck) y ajustada a pH 4, 5 y 6 con solución $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH.

Se preparó una solución reguladora de pH TRIS: 2-amino-2-hidroximetilpropano-1,3-diol y su ácido conjugado a partir de una solución $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de TRIS (99,8%, J.T. Baker, New Jersey, Estados Unidos), y ajustada a pH entre 7 y 7,5 con $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH.

Además, se preparó una solución reguladora de pH Borax de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a partir de una solución $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) (99,5%, Merck) y ajustada a pH 9,5 con solución $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl.

2.2.6 Preparación de reactivo utilizado como agente reductor

La solución del agente reductor ioduro de potasio (KI) 50% (p/v) se preparó disolviendo 12,5 g de KI (99,9%, J. T. Baker) en 25 mL de agua ultrapura.

2.2.7 Preparación de reactivos utilizados para ajustar la fuerza iónica

Las siguientes sales fueron empleadas para ajustar la fuerza iónica de las soluciones de muestra y estándares durante las técnicas de microextracción aplicadas en la presente tesis: a) cloruro de sodio (NaCl) al 30% (p/v) pesando 7,5 g de NaCl ($\geq 99,9\%$, Merck), b) nitrato de sodio (NaNO_3) al 50% (p/v) pesando 12,5 g de NaNO_3 (99,0%, Sigma-Aldrich), c) perclorato de sodio (NaClO_4) al 50% (p/v) pesando 12,5 g de NaClO_4 (99,0%, Merck) y d) bicarbonato de sodio (NaHCO_3) al 10% (p/v) pesando 2,5 g de NaHCO_3 (99,0%, Biopack, Buenos Aires, Argentina). Las respectivas cantidades se disolvieron en 25 mL de agua ultrapura.

2.2.8 Reactivos usados como diluyentes y dispersantes

Se utilizaron los siguientes solventes orgánicos como diluyentes y/o dispersantes de la fase de MIL en los métodos propuestos: acetonitrilo (99,9%), acetona

(99,8%) y CHCl_3 (99,0%) de JT Baker, diclorometano (99,8%) de Sigma, metanol (99,8%) y etanol (99,0%) de Sintorgan.

2.2.9 Cationes o aniones interferentes

Para la evaluación de potenciales interferentes, las soluciones de aniones y cationes fueron preparadas a partir de reactivos de calidad pro-análisis o superior y desde soluciones patrones de 1000 mg L^{-1} , se llevaron a cabo las diluciones necesarias para obtener las concentraciones deseadas en cada caso. Todos los reactivos que se utilizaron para el desarrollo experimental de la presente tesis doctoral fueron de calidad "reactivo analítico" o superior.

2.2.10 Reactivos utilizados para síntesis de MILs

Se utilizaron los siguientes ILs clásicos como reactivos de partida para la síntesis de los MILs estudiados en la presente tesis. Cloruro de 1-octil-3-metilimidazolio ($[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$) y cloruro de trihexil(tetradecil)fosfonio ($[\text{P}_{6,6,6,14}]\text{Cl}$) (95,0%) de Sigma-Aldrich, mientras que el bromuro de 1-dodecil-3-metilimidazolio ($[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$) fue sintetizado en nuestro laboratorio según la metodología propuesta por Baltazar y colaboradores, a partir de metilimidazolio y bromuro de dodecilo [1]. Por otro lado, se utilizaron las siguientes sales de Sigma-Aldrich como reactivos de partida para la síntesis de MILs: cloruro de hierro (III) hexahidrato ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) al 98,0% de pureza, cloruro de cobalto (II) hexahidrato ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) al 97,0%, cloruro de manganeso (II) monohidrato ($\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) al 97,0%, cloruro de disprosio (III) hexahidratado ($\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) al 99,9% y hexacianoferrato de potasio ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$).

2.2.11 Reactivos utilizados para la síntesis de GO

Para la síntesis de GO se utilizaron los siguientes reactivos: polvo de grafito comercial (99,9%, Sigma-Aldrich), H_2SO_4 (95,0%, Merck), KMnO_4 (99,0%, Sigma-Aldrich) y H_2O_2 (30,0%, Sigma-Aldrich).

2.3 Síntesis y caracterización de líquidos iónicos magnéticos

2.3.1 Síntesis de líquidos iónicos magnéticos con catión imidazolio

Los MILs tetracloroferrato (III) de 1-octil-3-metil imidazolio ($[\text{C}_8\text{mim}][\text{FeCl}_4]$) y tetracloroferrato (III) de 1-dodecil-3-metil imidazolio ($[\text{C}_{12}\text{mim}][\text{FeCl}_4]$) fueron sintetizados en base al método reportado por Wang y colaboradores [2]. Brevemente, se prepararon mezclas estequiométricas de solución de cloruro de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ o $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ al 50% (v/v) en CHCl_3 con $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disuelto en una solución de HCl 5 mol L^{-1} . La mezcla se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Luego los productos fueron lavados con agua ultrapura para eliminar el exceso de FeCl_3 . Finalmente, los MILs fueron secados al vacío a 90 °C durante 48 h. Por otro lado, los MILs hexacianoferrato (III) de 1-octil-3-metil imidazolio ($[\text{C}_8\text{mim}]_3[\text{FeCN}_6]$) y hexacianoferrato (III) de 1-dodecil-3-metil imidazolio ($[\text{C}_{12}\text{mim}]_3[\text{FeCN}_6]$) fueron preparados según el método reportado por Jiang y colaboradores [3], realizando el mismo procedimiento descrito anteriormente, pero con la utilización de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ disuelto en una solución de HCl 5 mol L^{-1} . Todos los MILs tipo imidazolio obtenidos fueron solubles en agua, lo que dificultó la formación de un sistema bifásico que permitiera potencialmente una eficiente separación de fases y una alta recuperación del analito presente en una muestra acuosa. La estructura química y propiedades de los MILs tipo imidazolio sintetizados se muestran en la Tabla 2.3.1. Además, en la Figura 2.3.1a, se puede observar un esquema de la reacción de síntesis.

2.3.2 Síntesis de líquidos iónicos magnéticos con catión fosfonio

Los MILs tetracloroferrato (III) de trihexil(tetradecil)fosfonio ($[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$), hexaclorodisprosiato (III) de trihexil(tetradecil)fosfonio ($[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$), tetracloromanganeso (II) de trihexil(tetradecil)fosfonio ($[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$) y tetraclorocobalto (II) de trihexil(tetradecil)fosfonio ($[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$) se sintetizaron siguiendo el método previamente reportado por Del Sesto y colaboradores [4]. Brevemente, consistió en mezclar cantidades estequiométricas de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y $\text{DyCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (disueltos en HCl 5 mol L^{-1}) con $[\text{P}_{6,6,6,14}]\text{Cl}$ al 50% (p/v) en CHCl_3 . La mezcla se mantuvo en agitación constante utilizando un agitador magnético durante 24 h a temperatura ambiente. Luego, se realizaron varios lavados

con agua ultrapura con el fin de eliminar el exceso de ácido y sales. Posteriormente, el exceso de CHCl_3 se eliminó utilizando un evaporador rotatorio y el producto obtenido se secó durante 12 h a $60\text{ }^\circ\text{C}$. Los MILs obtenidos fueron insolubles en agua. La estructura química y propiedades de los MILs tipo imidazolio sintetizados se muestran en la Tabla 2.2. Además, en la Figura 2.3.1b, se puede observar un esquema de la reacción de síntesis.

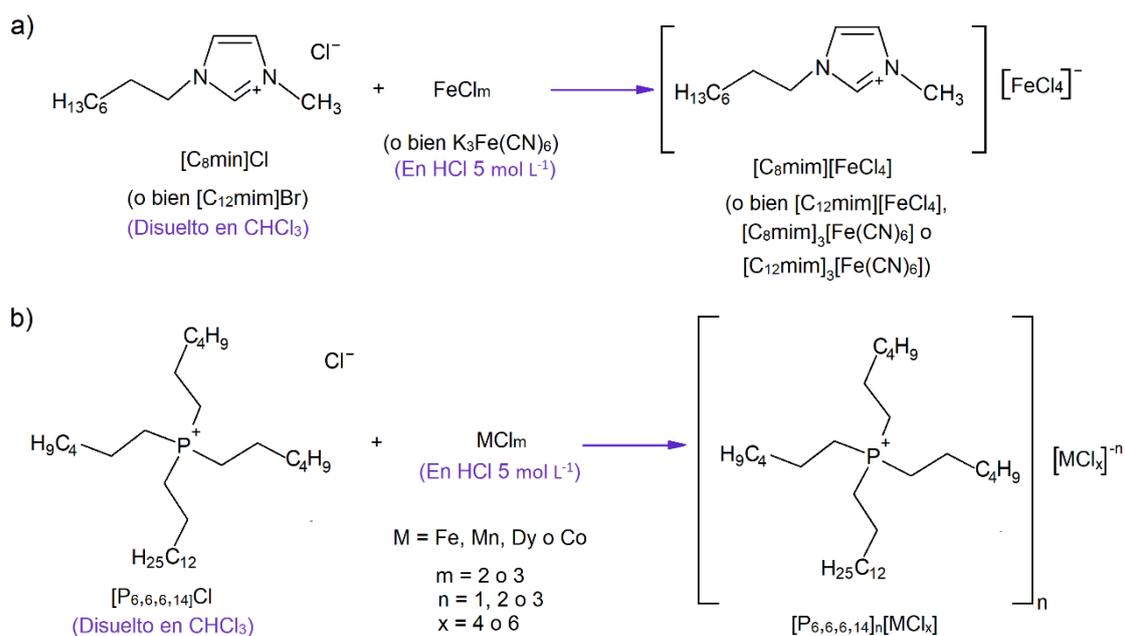
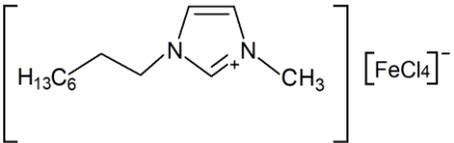
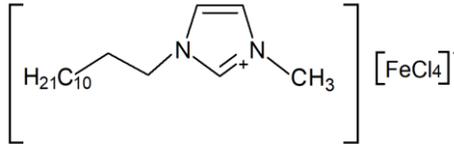
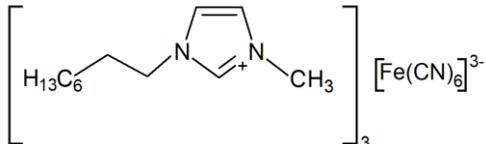


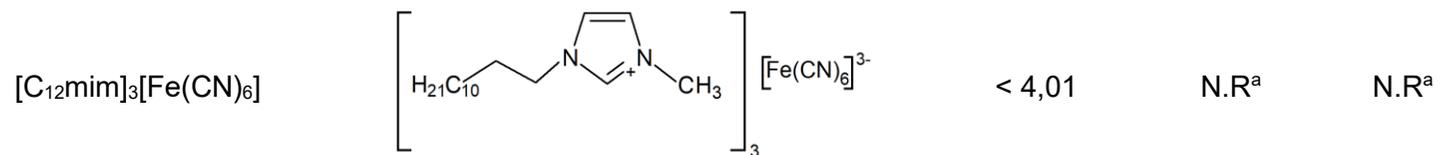
Figura 2.3.1 Reacciones de síntesis para los MILs evaluados. (a) Tipo imidazolio y (b) tipo fosfonio.

Tabla 2.3.1 Estructura química y propiedades de los MILs sintetizados.

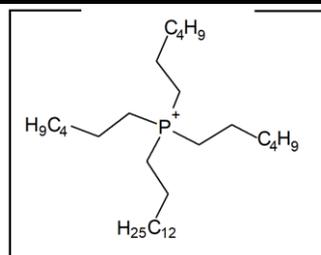
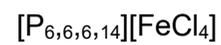
Fórmula química	Estructura química	Suceptibilidad magnética (emu K mol ⁻¹)	Densidad (g cm ⁻³) 25 °C	Viscosidad (cP) 25 °C
-----------------	--------------------	--	--	-----------------------------

MILs tipo imidazolio [4, 5]

[C ₈ mim][FeCl ₄]		4,01	1,39	77
[C ₁₂ mim][FeCl ₄]		4,01	N.R ^a	N.R ^a
[C ₈ mim] ₃ [Fe(CN) ₆]		< 4,01	~ 1,39	~ 77



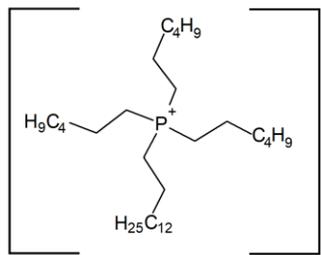
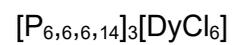
MILs tipo fosfonio [6, 7]



4,29

1,008

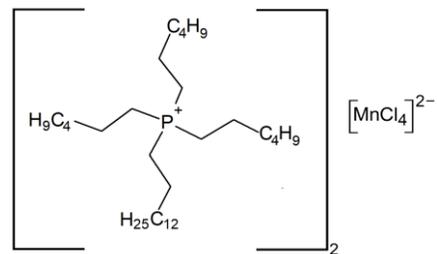
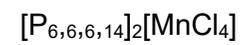
650



6,51

0,981

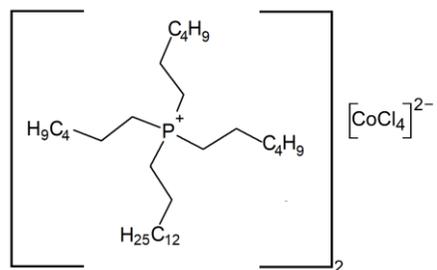
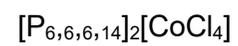
18390



4,23

0,949

75230



2,10

0,962

83450

^aN.R.: No reportado

2.3.3 Caracterización de líquidos iónicos magnéticos

Todos los MILs sintetizados fueron caracterizados por FTIR-ATR. Los principales grupos funcionales se confirmaron en cada MIL. Además, se comparó la información espectral con la reportada por otros autores [8-10]. En la Figura 2.3.2 y 2.3.3, se observan los espectros obtenidos para los MILs de tipo imidazolio y fosfonio, respectivamente. Las frecuencias de absorción de grupos funcionales encontradas fueron: C-H (cadenas carbonadas) en rangos de $3100\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$, $1600\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ y $750\text{--}600\text{ cm}^{-1}$, P-C (enlace de P de fosfonio con cadena de carbono) a aproximadamente 1465 cm^{-1} , C-N (grupo ciano) en el rango de $2100\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ y N-C (enlace de N imidazolio con cadena de carbono) en el rango de $1600\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$.

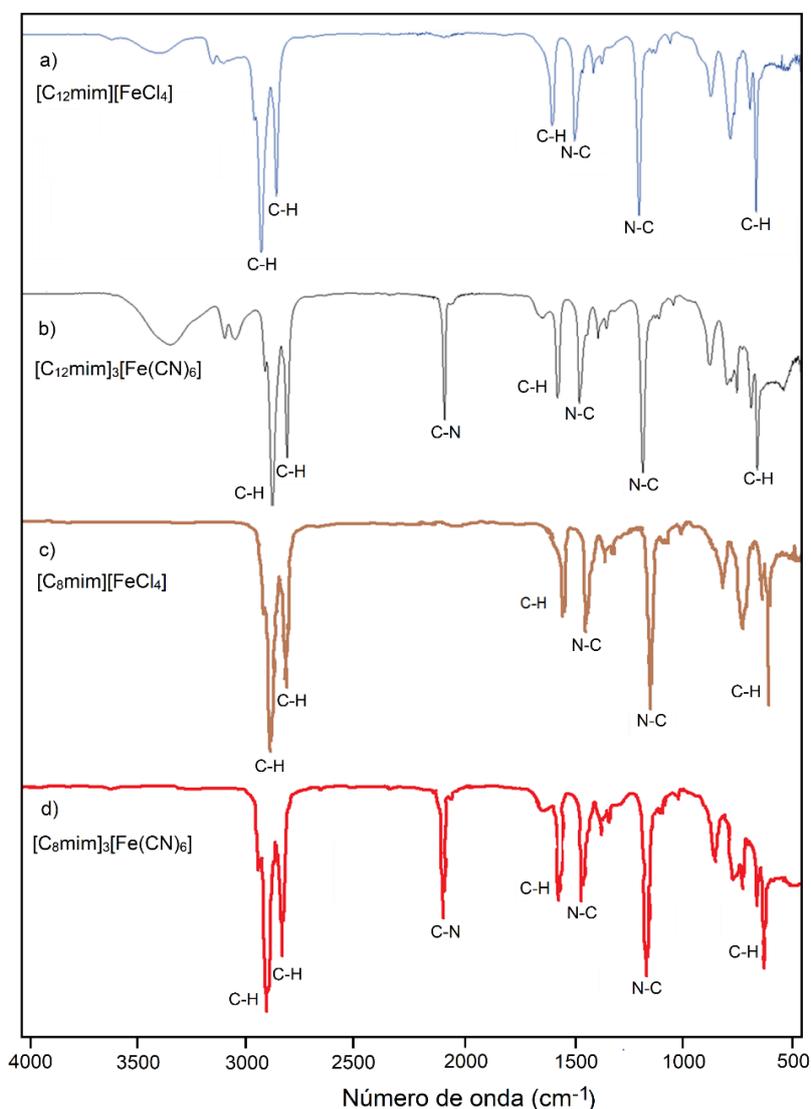


Figura 2.3.2 Espectros IR de MILs tipo imidazolio sintetizados. (a) $[\text{C}_{12}\text{mim}][\text{FeCl}_4]$, (b) $[\text{C}_{12}\text{mim}]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, (c) $[\text{C}_8\text{mim}][\text{FeCl}_4]$ y (d) $[\text{C}_8\text{mim}]_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

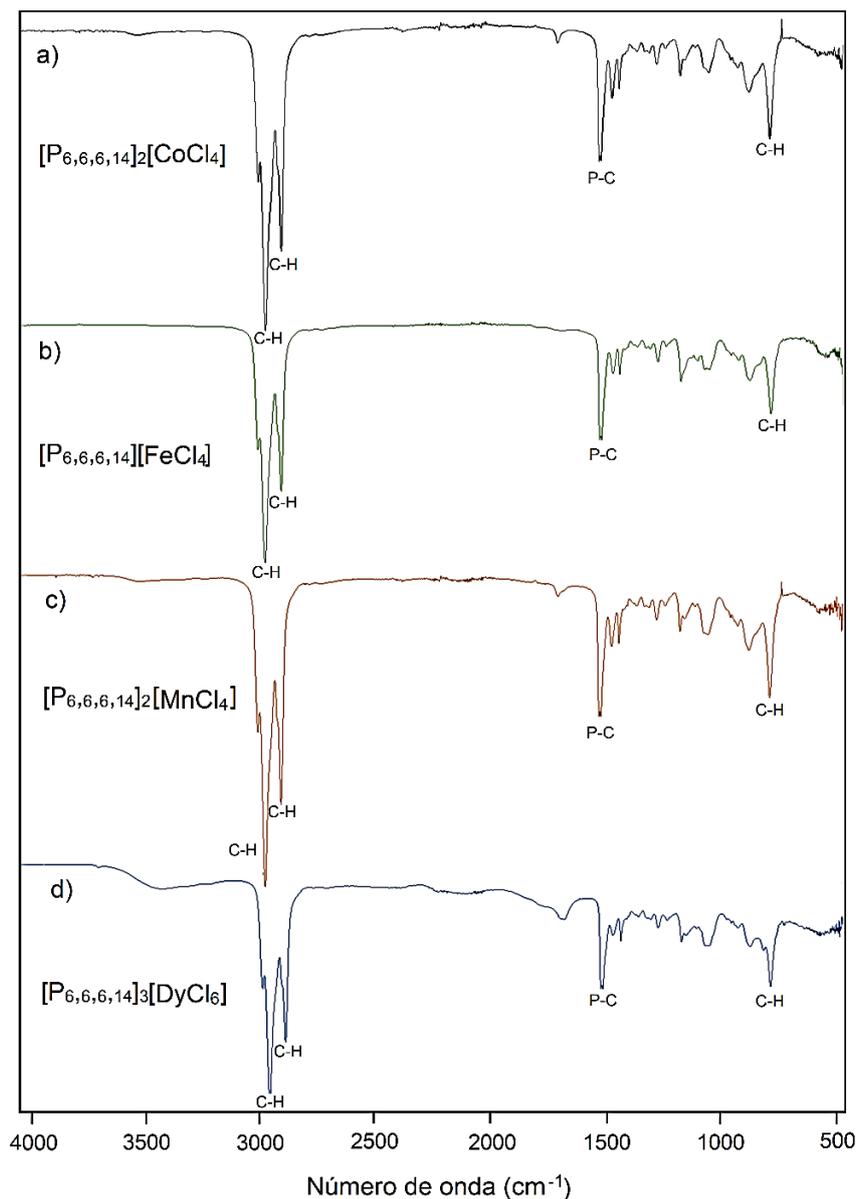


Figura 2.3.3 Espectros IR de MILs tipo fosfonio sintetizados. (a) $[P_{6,6,6,14}]_2[CoCl_4]$, (b) $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$, (c) $[P_{6,6,6,14}]_2[MnCl_4]$ y (d) $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$.

Además, los MILs se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Vis. Esta técnica analítica es ampliamente utilizada para estudiar la interacción entre la materia y la radiación electromagnética en esa región del espectro. Se basa en la capacidad de las moléculas de absorber radiación electromagnética a ciertos valores de longitud de onda, lo que genera información valiosa sobre su estructura y composición. Cuando los compuestos inorgánicos que contienen iones metálicos con electrones desapareados en orbitales d o f, por ejemplo, los metales de transición 3d (Mn, Fe, Co), interactúan con la radiación UV-Vis, ocurren transiciones electrónicas. Los ligandos de un complejo metálico influyen en las propiedades electrónicas del metal central, lo que da lugar a

diferentes transiciones electrónicas que pueden ser observadas mediante espectroscopía UV-Vis [11].

Para realizar este estudio, se prepararon las siguientes soluciones preparadas en acetonitrilo: 3 mg mL^{-1} de los MILs $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ y $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$, 3 mg mL^{-1} del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$ diluyéndolo en una relación 1:3 y $0,32 \text{ mg mL}^{-1}$ del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ diluyéndolo en una relación 1:10. En los espectros UV-Vis de los MILs tipo fosfonio, se observaron dos bandas de absorción en la región de 500–700 nm correspondientes al anión $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ (Figura 2.3.4a), dos bandas de absorción en la región de 300–450 nm para el $[\text{FeCl}_4]^-$ (Figura 2.3.4b) y bandas de absorción en la región de 200–400 nm correspondientes a los aniones $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ y $[\text{DyCl}_6]^{3-}$ (Figura 2.3.4c y 2.3.4d), los cual son comparables con los espectros correspondientes reportados previamente en la literatura [12]. Los espectros de los MILs tipo imidazolio fueron similares al espectro observado en la Figura 2.3.4b, debido a que poseen el mismo anión $[\text{FeCl}_4]^-$.

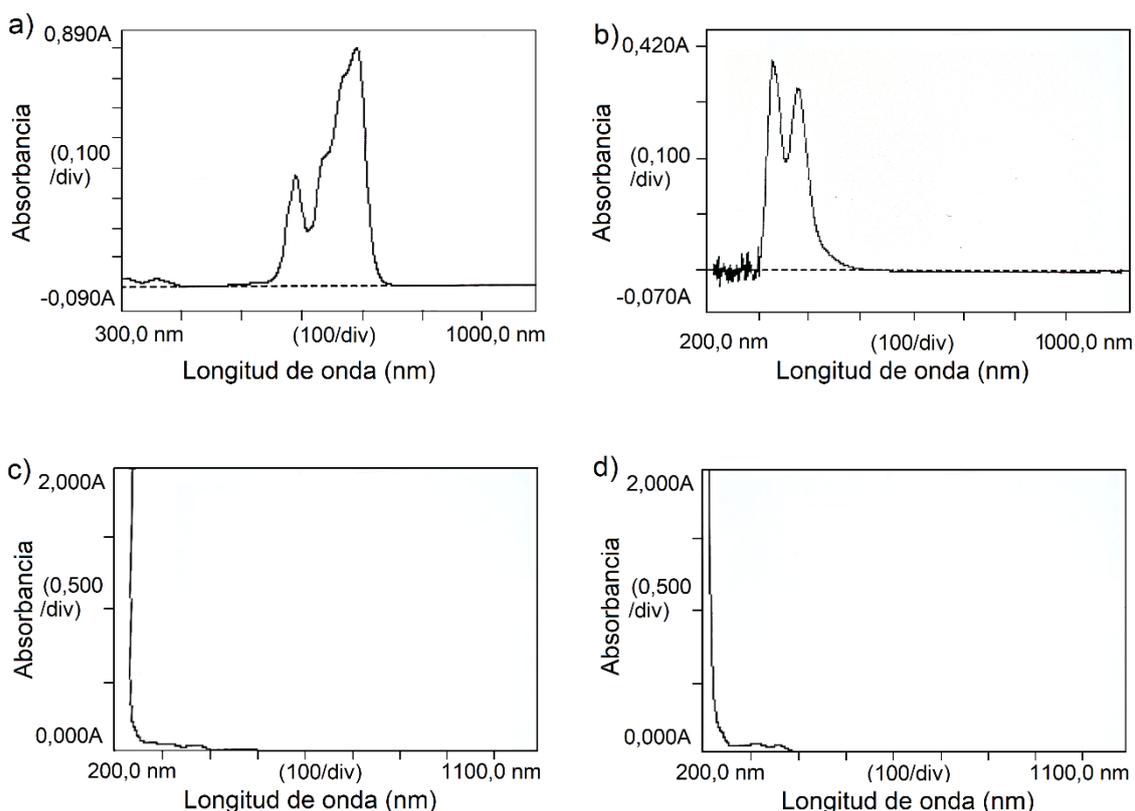


Figura 2.3.4 Espectros UV-Vis correspondientes a los MILs: (a) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$, (b) $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, (c) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ y (d) $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$.

Finalmente, en la presente Tesis Doctoral se evaluó la susceptibilidad magnética de los MILs tipo fosfonio, debido a que fueron los que se pudieron aplicar y estudiar en los diferentes métodos propuestos. Como se indicó en la sección 1.5 de la presente Tesis, esta propiedad mide el grado de magnetización exhibido por un material en respuesta a un campo magnético aplicado [13], como se describe en la siguiente ecuación:

$$\chi = M / H$$

donde χ es la susceptibilidad magnética, M es la magnetización del material y H es el campo magnético aplicado.

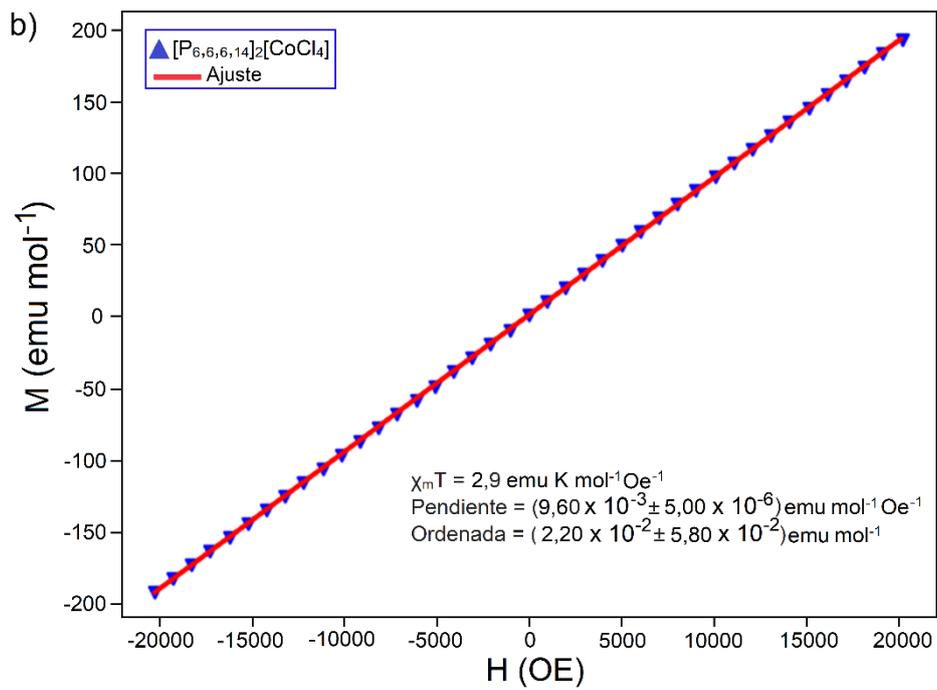
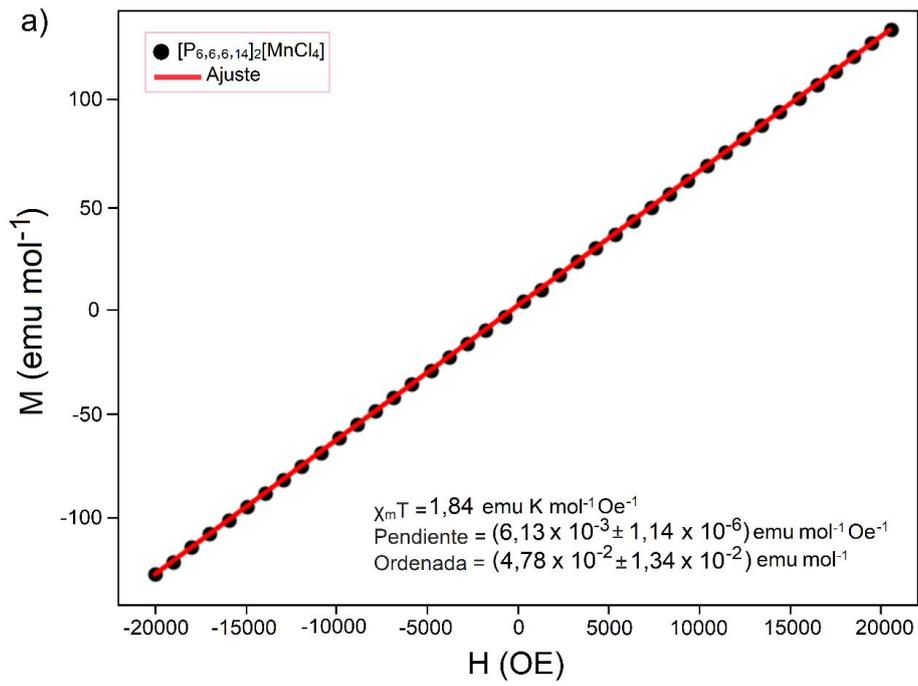
Esta propiedad se estudió utilizando el equipo SQUID, el cual es uno de los detectores más sensibles para medir el flujo magnético alcanzando resoluciones de 10^{-17} T o mejores [14]. Su elevada versatilidad le permite cuantificar campos magnéticos, gradientes de campo magnético, corrientes, voltajes, desplazamientos y susceptibilidad magnética. En consecuencia, los SQUID tienen utilidades en diversos ámbitos para medir desde diminutos campos magnéticos creados por el cerebro humano hasta campos geomagnéticos variables en lugares distantes, además de captar ondas gravitacionales y analizar el ruido de espín en un conjunto de núcleos magnéticos [15]. Estos magnetómetros generalmente operan en una amplia gama de temperaturas de entre 1,8 y 330K, aplicando grandes campos de hasta 7 T [16]. Sin embargo, su principal limitación radica en los costos operativos, ya que un solo análisis de temperatura o intensidad de campo puede extenderse durante horas, implicando un consumo considerable de helio líquido, un producto costoso [13].

El magnetómetro SQUID utiliza un sistema de bobinas y cables superconductores para transmitir corriente desde la muestra al detector SQUID. La muestra se desplaza verticalmente en bobinas captadoras superconductoras, lo que induce corriente debido al cambio en el flujo magnético. Esta corriente fluye a la bobina de entrada del SQUID a través de cables superconductores, formando un circuito cerrado que relaciona la corriente con el flujo magnético de la muestra. El sensor SQUID se encuentra en un entorno protegido, generalmente un escudo de niobio sumergido en helio líquido, aislado de la cámara de muestra [17]. Este aislamiento permite ajustar las condiciones internas sin limitaciones impuestas por materiales superconductores. Estos, cuando se enfrían más allá de su temperatura crítica (T_c), transportan corriente constante sin resistencia ni alimentación externa. En SQUID industriales, los materiales superconductores predominantes son el niobio y el óxido superconductor $YBa_2Cu_3O_{7-x}$. El niobio, con una T_c de 9,25 K, se enfría mediante inmersión en helio líquido (con punto

de ebullición de 4,7 K). Por otro lado, el $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7-x}$, con una T_c de 93 K, se enfría con nitrógeno líquido, que tiene un punto de ebullición más alto que el helio líquido, siendo más accesible y económico [18].

La bobina de entrada del SQUID conecta la corriente transportada desde el transformador de flujo a un anillo superconductor. Este anillo tiene "uniones débiles" llamadas Uniones Josephson, que permiten el flujo de corriente sin resistencia. En un anillo superconductor enfriado por debajo de la T_c con un campo magnético aplicado, el campo se expulsa del circuito, pero permanece en el centro del anillo. Al quitar el campo aplicado, la corriente crítica fluye en la superficie interior del anillo, manteniendo el campo atrapado en el centro y permitiendo su cuantificación [13].

Para la evaluación de la susceptibilidad magnética de los MILs, se colocaron 80 mg del MIL de $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$, 24,1 mg del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$, 119,8 mg del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$, y 17,35 mg del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ en cápsulas de gelatina transparentes. Se obtuvo una dependencia lineal de la magnetización con el campo magnético a 300 K con un intervalo de campo magnético de $\pm 20\,000$ Oe, obteniendo valores de 1,84; 2,90 y 3,90 emu K mol^{-1} para los MILs $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$, $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$ y $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, respectivamente (Figuras 2.3.5), en concordancia con los valores reportados anteriormente en la literatura [6, 7]. En contraste, en el caso del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$, no fue posible determinar la susceptibilidad magnética de manera cuantitativa, cuyo valor reportado es de 12,9 emu K mol^{-1} [19]. No obstante, se logró evaluar y corroborar esta propiedad mediante la utilización de un imán de neodimio. Además, en la sección 2.3 de esta Tesis, se confirma la correcta funcionalización y magnetización del GO con el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ mediante los resultados obtenidos de los espectros IR y la observación de las imágenes TEM. En este caso, el sorbente magnetizado pudo ser separado y recolectado con una varilla magnética tal como se muestra en la Figura 3.3.8 del capítulo 3.3 de la presente Tesis.



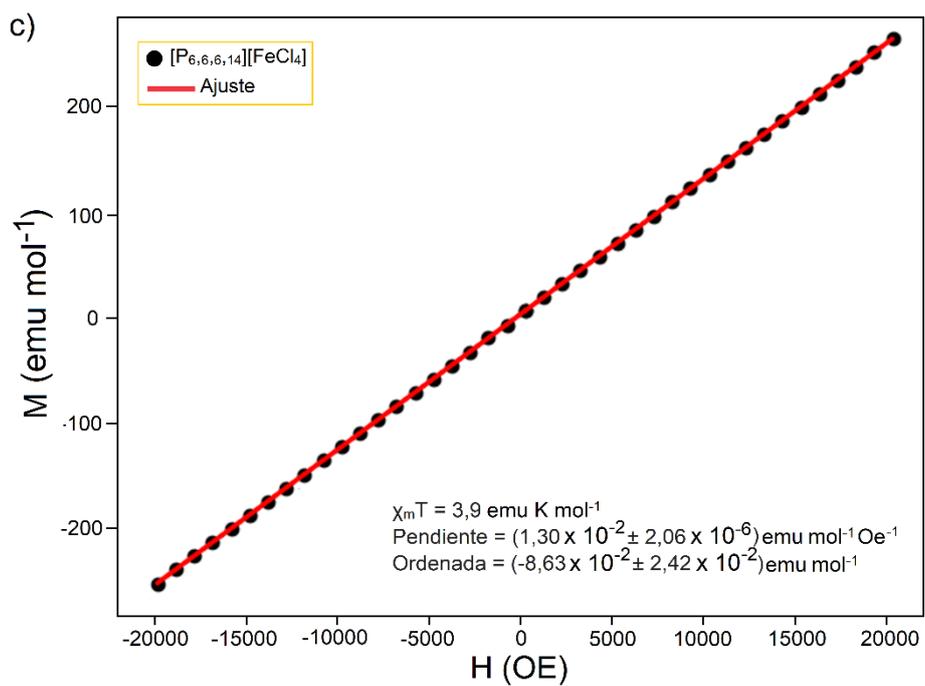


Figura 2.3.5 Curvas de M en función de H para calcular la susceptibilidad magnética de a) $[P_{6,6,6,14}]_2[MnCl_4]$, b) $[P_{6,6,6,14}]_2[CoCl_4]$ y c) $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$.

2.4 Síntesis y caracterización de óxido de grafeno

2.4.1 Síntesis de óxido de grafeno

En la Figura 2.4.1 se esquematiza la síntesis de GO siguiendo una versión modificada del método de Hummer [20]. Brevemente, a un volumen de 50 mL de H_2SO_4 concentrado se le añadió una cantidad de 1,0 g de polvo de grafito comercial en un baño de agua con hielo a 10 °C. Luego, se incorporaron gradualmente a la mezcla 4,0 g de KMnO_4 bajo constante agitación. Se mantuvo la agitación durante 2 h a 10 °C, luego se retiró el baño y la mezcla se agitó a 35 °C durante 1 h. Posteriormente, la solución obtenida se dejó enfriar durante 15 min y luego se agregaron lentamente 100 mL de agua ultrapura en un baño de hielo. Luego de eso, la mezcla se agitó durante 1 h y posteriormente se diluyó a 300 mL con agua ultrapura. Para reducir el exceso de KMnO_4 se añadieron 10 mL de H_2O_2 al 30% (v/v) y se dejó reposar la solución durante la noche. Después de la separación de fases, el sólido se depositó en el fondo y la solución acuosa superior se eliminó usando una pipeta de transferencia. En la siguiente etapa, el material de sorción se lavó con 400 mL de HCl al 5% (v/v) para eliminar los iones metálicos contaminantes, seguido de varios pasos de lavado con agua ultrapura hasta que el valor de pH del sobrenadante fue de 5,0. Se eliminó el sobrenadante y el nanomaterial se secó en estufa a 60 °C durante 5 h.

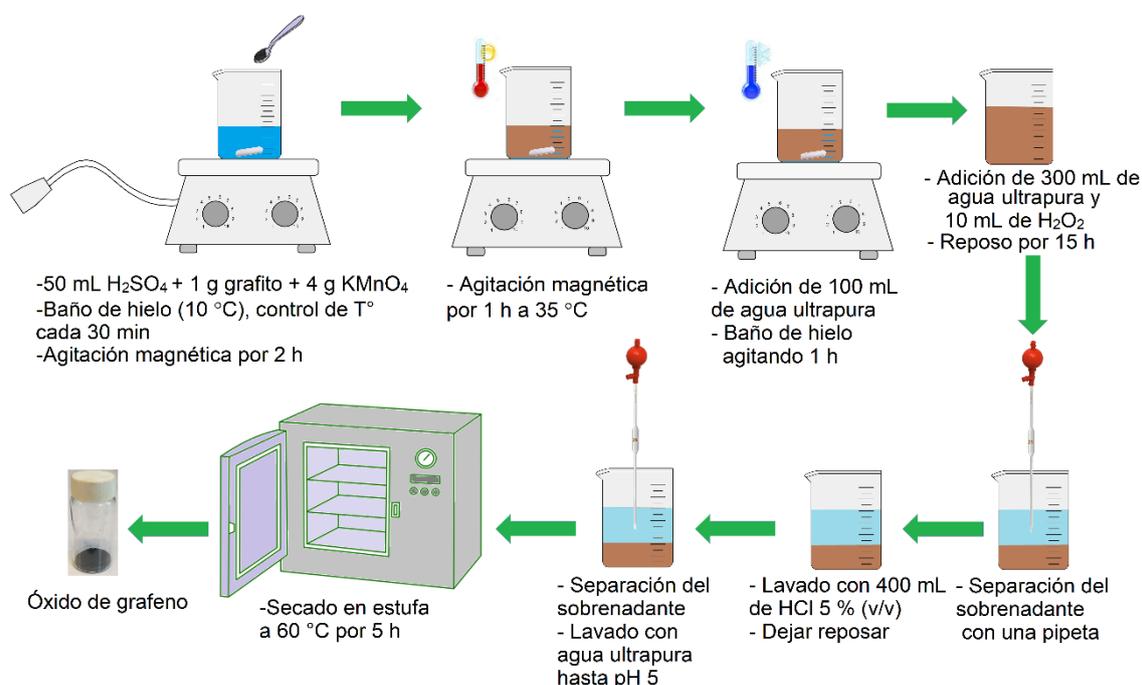


Figura 2.4.1 Esquema general de la síntesis de GO mediante el método de Hummer modificado.

2.4.2 Caracterización de GO y GO@MIL

Se realizó la caracterización mediante la técnica FT-IR en modo de ATR del GO, el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ y GO@MIL evaluados en la sección 3.3 de la presente Tesis. Se obtuvieron espectros en el rango de $4000-400\text{ cm}^{-1}$ con una resolución de $0,5\text{ cm}^{-1}$ (Figura 2.4.2). El espectro obtenido del MIL fue comparable con otros reportados en la literatura [10, 21]. En la Figura 2.4.2a, se pueden observar varias bandas correspondientes al catión fosonio de los MILs a 2955 cm^{-1} , 2854 cm^{-1} y 720 cm^{-1} atribuidas al estiramiento C-H y una banda a 1465 cm^{-1} atribuida al estiramiento P-C. En cuanto al espectro obtenido del GO, fue similar a otros reportados anteriormente [22, 23]. Las bandas de grupos funcionales característicos de GO: C=O ($1750-1850\text{ cm}^{-1}$), C=C ($1500-1600\text{ cm}^{-1}$), C-O and C-O-C ($1000-1280\text{ cm}^{-1}$) se muestran en la Figura 2.4.2b. En comparación con los espectros individuales obtenidos del MIL y el GO, el espectro GO@MIL evidenció los principales picos que corresponden a ambos componentes, pero ligeramente desplazados debido a los diferentes entornos químicos, lo que confirmó la funcionalización de la superficie del GO con el MIL (Figura 2.4.2c). Esto podría sugerir que el MIL se adsorbió sobre la superficie del GO, lo que podría ocurrir a través de interacciones iónicas, electrostáticas y de Van der Waals, debido a la naturaleza iónica del MIL y a la presencia de grupos funcionales cargados en la superficie del GO.

Por otro lado, para la caracterización TEM, se agregaron 1,5 mg de GO a 4 mL de agua ultrapura y se dispersaron por ultrasonido durante 5 min a temperatura ambiente. Además, también se prepararon mezclas de 1,5 mg de GO y 20 μL de cada MIL sintetizado en 4 mL de agua ultrapura para los MILs que contenían Mn y Dy, y en una solución de HCl $0,1\text{ mol L}^{-1}$ para el MIL que contenía Fe con el fin de mantener el Fe(III) estable en solución acuosa [21]. Sin embargo, no se lograba dispersar las soluciones de forma eficiente debido a que las nanopartículas se magnetizaban y se atraían entre sí. Luego, se colocó una gota de cada dispersión directamente sobre una rejilla de cobre y se secó a temperatura ambiente. En la Figura 2.4.3a, se muestran láminas delgadas y transparentes de GO, generalmente dispersas en una sola capa. En cuanto a las imágenes TEM de GO@MIL, se observó que las nanopartículas se agrupaban formando grandes clusters posiblemente debido a la atracción magnética entre ellas, verificando así que los MILs estaban adsorbidos en la superficie del GO (Figura 2.4.3b, 2.4.3c y 2.4.3d).

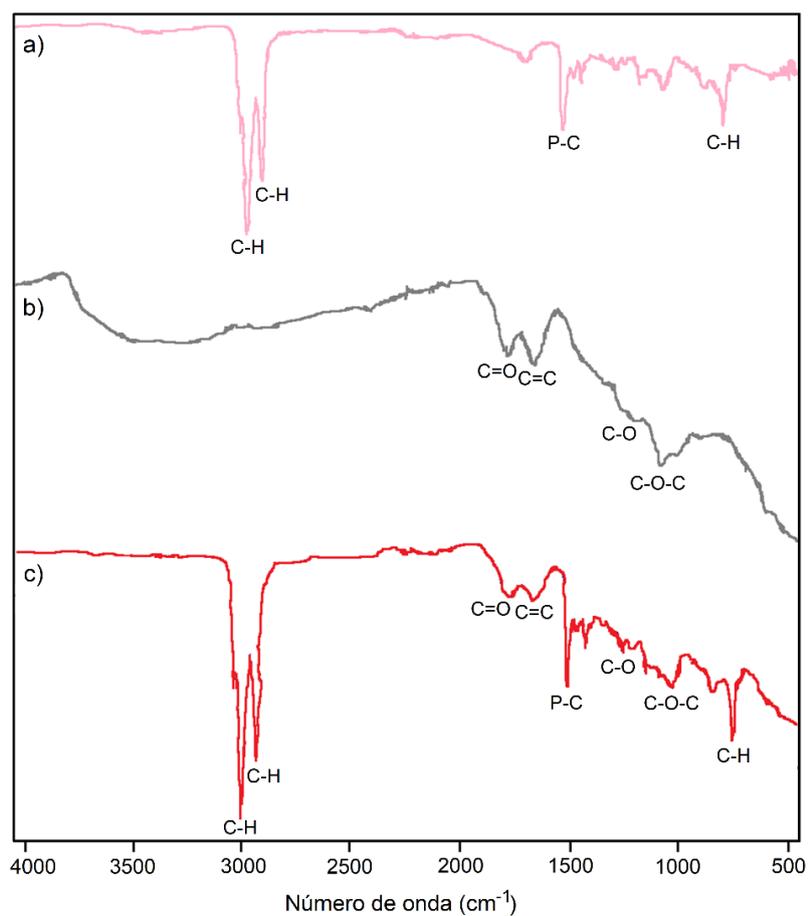


Figura 2.4.2 Espectros FTIR de: (a) MIL ($[P_{6,6,6,14}]_3DyCl_6$), (b) GO y (c) GO@MIL.

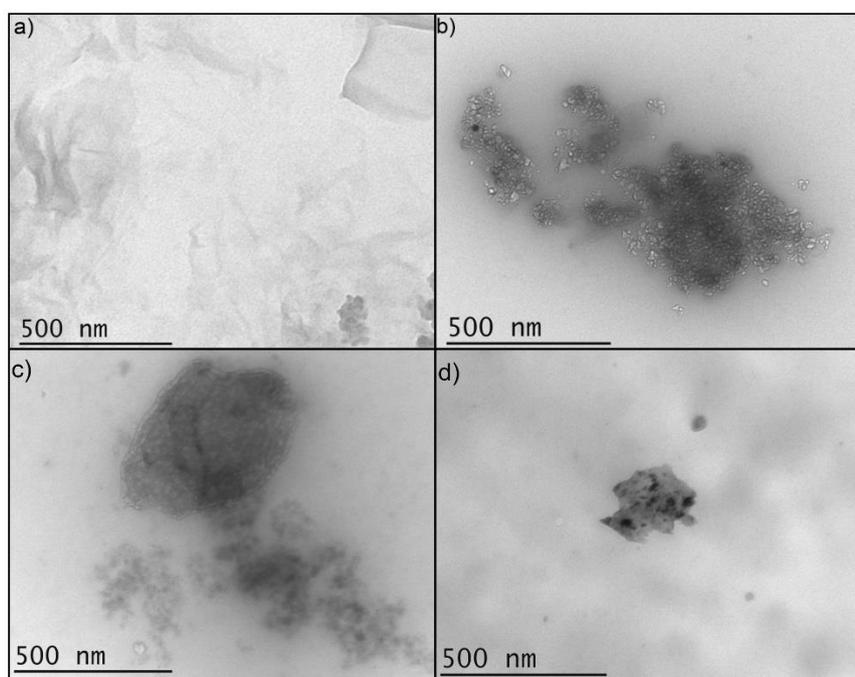


Figura 2.4.3 Imágenes TEM de: (a) GO, (b) GO@[$P_{6,6,6,14}$] $_3[DyCl_6]$, (c) GO@[$P_{6,6,6,14}$][$FeCl_4$] y (d) GO@[$P_{6,6,6,14}$] $_2[MnCl_4]$.

2.5 Recolección y preparación de las muestras

Todos los materiales de muestreo se lavaron previamente durante toda la noche con HNO_3 al 5% (v/v) y luego se enjuagaron con agua ultrapura. Todas las muestras se recolectaron en botellas limpias de polietileno de alta densidad (HDPE) lavadas con HNO_3 , las cuales se enjuagaron tres veces con la muestra antes del muestreo.

2.5.1 Recolección y preparación de las muestras de agua, suelo y sedimento

2.5.1.1 Muestras de agua

Para el muestreo de agua del grifo, se recogió un volumen aproximado entre 0,5 y 1 L de agua en una botella de HDPE de un grifo doméstico. Previamente, el agua se dejó correr durante 20 min a los efectos de evitar contaminaciones localizadas debido a las cañerías y conexiones. La muestra de agua de grifo se analizó inmediatamente después de la etapa de muestreo. Asimismo, se recogió un volumen de entre 1 a 1,5 L de muestras de agua de mar, de río, mineral, de humedal, de pozo, de dique, de lluvia. El agua de mar se obtuvo en las costas de la ciudad de Viña del Mar (Valparaíso, Chile). La muestra de agua de río se tomó del río Mendoza (Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina). La muestra de agua mineral embotellada se obtuvo de un supermercado local. Por otro lado, el agua de humedal se obtuvo en la ciudad de Las Heras (Mendoza, Argentina). Además, se extrajo agua subterránea de un pozo en la ciudad de Guaymallén (Mendoza, Argentina) y el agua de dique se obtuvo de la ciudad de Potrerillos (Mendoza, Argentina). Finalmente, la muestra de agua de lluvia fue recolectada durante un evento de lluvia ocurrido en la ciudad de Mendoza (Mendoza, Argentina). Luego, las alícuotas de cada muestra fueron filtradas con filtros de membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) de tamaño de poro de $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore Corporation, Bedford, MA, EE. UU.) y se almacenaron a 4°C .

2.5.1.2 Muestras de suelo y sedimento

Se tomaron muestras de suelo de diferentes lugares de la ciudad de Mendoza (Mendoza, Argentina) y se recogieron muestras de sedimentos del dique de la ciudad de Potrerillos (Mendoza, Argentina). Las muestras se transportaron inicialmente en bolsas de almacenamiento y se secaron a 80°C durante 1 h antes del almacenamiento. Los lixiviados de suelo y sedimentos se prepararon de acuerdo con el método reportado

por Casiot et al [24] para extraer la fracción soluble en agua del As (Figura 2.5.1). Brevemente, se mezclaron 50 mL de agua desionizada y 10 g de muestra sólida seca. La mezcla se agitó durante 2 h por agitación magnética y luego se centrifugó a 3500 rpm durante 40 min. Finalmente, los sobrenadantes se filtraron empleando papel de filtro de poros de 14 μm (J. Prolab, modelo Qualy, São José dos Pinhais, Brasil) antes del análisis.

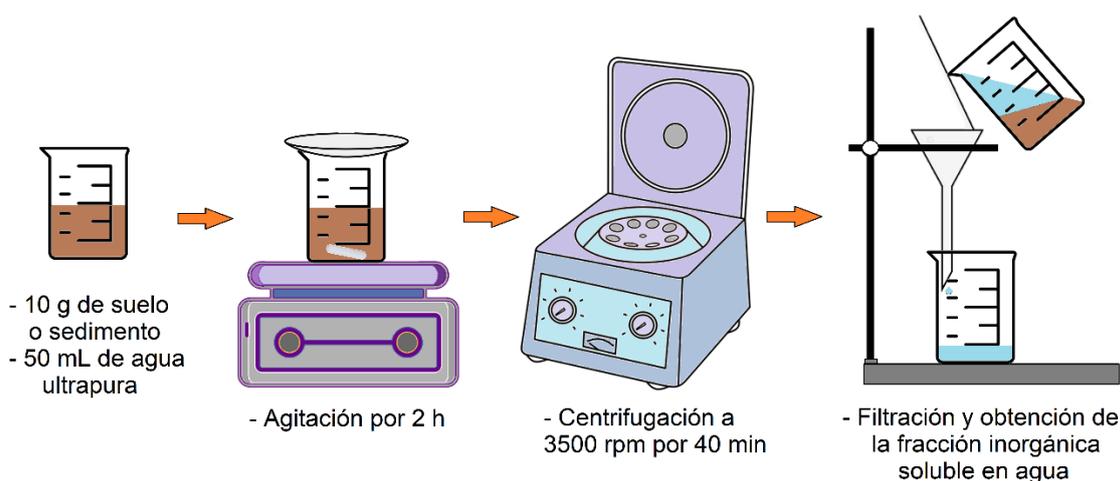


Figura 2.5.1 Representación esquemática del procedimiento de lixiviado de suelo y sedimento.

2.5.2 Procedimiento de limpieza de muestras de agua, suelo y sedimento

Antes de aplicar el procedimiento de MIL-LLME propuesto en el capítulo 3.1, se realizó un proceso de limpieza (clean up) de las muestras siguiendo el método propuesto por Fiorentini et al. [25] pero con algunas modificaciones (Figura 2.5.2). Un volumen de 4 mL de muestra o de una solución conteniendo $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de patrón de As(III) y $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de patrón de As(V), se ajustó a pH 9,5 con 1 mL de solución tampón de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ y se mezcló con $500 \mu\text{L}$ de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de solución del agente complejante para interferencias metálicas 5-Br-PADAP. La solución se dejó reposar durante 5 min. Luego, se añadieron $500 \mu\text{L}$ de CHCl_3 para extraer los complejos formados con los metales concomitantes presentes en los lixiviados. Después, la mezcla se agitó mediante vórtex durante 6 min y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min. Finalmente, el sobrenadante se transfirió a otro tubo con una pipeta de transferencia para continuar con el análisis de especiación de As inorgánico.

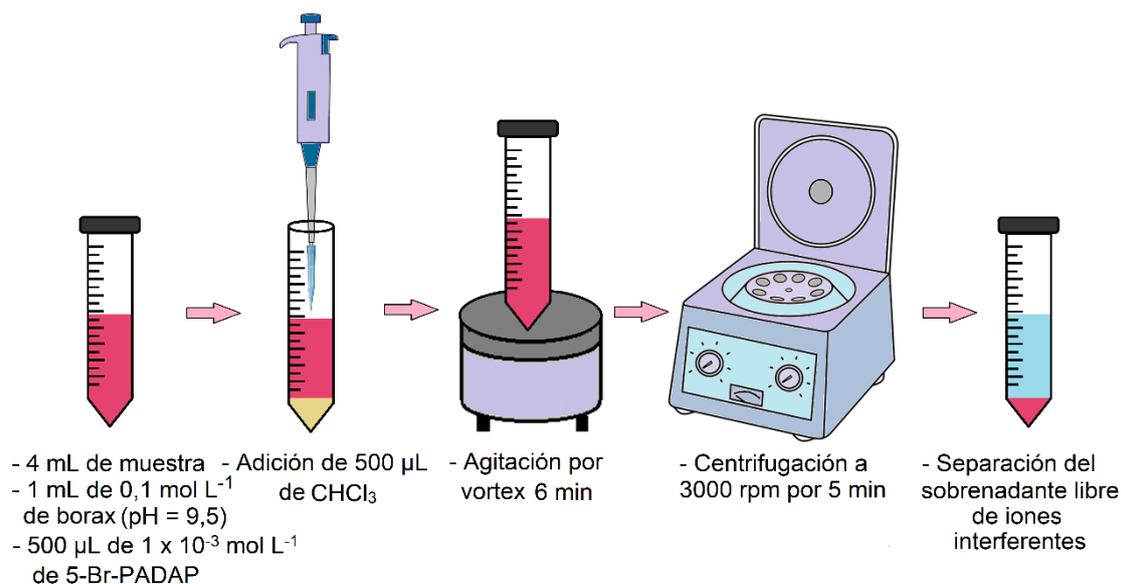


Figura 2.5.2 Diagrama ilustrativo del proceso de limpieza de las muestras.

2.5.3 Recolección y preparación de las muestras de té y miel

Las muestras de miel e infusiones de té evaluadas en el capítulo 3.3 de la presente Tesis fueron preparadas de la siguiente manera: Las muestras de miel se compraron en mercados locales de la ciudad de Mendoza y se almacenaron inmediatamente a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Para la clasificación según la escala de Pfund, se prepararon soluciones de muestra de miel como se informó anteriormente y se determinó su tonalidad por espectrofotometría a 635 nm [26]. Debido a su alta viscosidad, las muestras de miel se diluyeron con agua ultrapura en una relación 1:100 (p/v) antes del análisis por el método propuesto. Las muestras de hojas de té de hierbas también se obtuvieron de los mercados de la ciudad de Mendoza. Para la preparación de infusiones de té, 1 bolsa de hojas de té de hierbas (aproximadamente 2 g) se mantuvo en contacto durante 3 min con 200 mL (una taza) de agua ultrapura hirviendo, según el procedimiento de preparación de té recomendado por el fabricante. Las alícuotas de muestra se filtraron con el uso de filtros de membrana de PTFE con un tamaño de poro de $0,45 \mu\text{m}$.

2.6 Referencias capítulo 2

- [1] Q.Q. Baltazar, J. Chandawalla, K. Sawyer, J.L. Anderson, Interfacial and micellar properties of imidazolium-based monocationic and dicationic ionic liquids, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 302 (2007) 150-156. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2007.02.012.
- [2] J. Wang, H. Yao, Y. Nie, X.P. Zhang, J. Li, Synthesis and characterization of the iron-containing magnetic ionic liquids, *Journal of Molecular Liquids* 169 (2012) 152-155. DOI: 10.1016/j.molliq.2012.02.005.
- [3] W. Jiang, W. Zhu, Y. Chang, H. Li, Y. Chao, J. Xiong, H. Liu, S. Yin, Oxidation of aromatic sulfur compounds catalyzed by organic hexacyanoferrates in ionic liquids with a low concentration of H₂O₂ as an oxidant, *Energy & Fuels* 28 (2014) 2754-2760. DOI: 10.1021/ef500082y.
- [4] R.E. Del Sesto, T.M. McCleskey, A.K. Burrell, G.A. Baker, J.D. Thompson, B.L. Scott, J.S. Wilkes, P. Williams, Structure and magnetic behavior of transition metal based ionic liquids, *Chemical Communications* (2008) 447-449. DOI: 10.1039/B711189D.
- [5] K.D. Clark, O. Nacham, J.A. Purslow, S.A. Pierson, J.L. Anderson, Magnetic ionic liquids in analytical chemistry: a review, *Analytica chimica acta* 934 (2016) 9-21. DOI: 10.1016/j.aca.2016.06.011.
- [6] E. Santos, J. Albo, A. Irabien, Magnetic ionic liquids: synthesis, properties and applications, *Rsc Advances* 4 (2014) 40008-40018. DOI: 10.1039/C4RA05156D.
- [7] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A. Afonso, A. Irabien, Synthesis and characterization of magnetic ionic liquids (MILs) for CO₂ separation, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 89 (2014) 866-871. DOI: 10.1002/jctb.4323.
- [8] G. Baysal, Removal of 4-Nitrophenol from aqueous solution by organo-montmorillonites modified with ionic liquids, *Asian Journal of Chemistry* 28 (2016) 871-876. DOI: 10.14233/ajchem.2016.19542.
- [9] L. Wang, S. Tricard, L. Cao, Y. Liang, J. Zhao, J. Fang, W. Shen, Prussian blue/1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate–Graphite felt electrodes for efficient electrocatalytic determination of nitrite, *Sensors and Actuators B: Chemical* 214 (2015) 70-75. DOI: 10.1016/j.snb.2015.03.009.
- [10] E. Fiorentini, M. Botella, R. Wuilloud, A simple preconcentration method for highly sensitive determination of Pb in bee products by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Food Composition and Analysis* 95 (2021) 103661. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103661.
- [11] M. Picollo, M. Aceto, T. Vitorino, UV-Vis spectroscopy, *Physical sciences reviews* 4(4) (2018) 20180008. DOI: 10.1515/psr-2018-0008.
- [12] X. Feng, X. Xu, Z. Liu, S. Xue, L. Zhang, Novel functionalized magnetic ionic liquid green separation technology coupled with high performance liquid chromatography: A rapid approach for determination of estrogens in milk and cosmetics, *Talanta* 209 (2020) 120542. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120542.

- [13] S. Bennington-Gray, Magnetic characterisation of nanostructured magnetic systems using SQUID magnetometry, Doctoral dissertation, Queen's University Belfast. Faculty of Engineering and Physical Sciences, 2019.
- [14] S. Shrivastava, Application of high-T_c superconducting Josephson junction devices, 6 (2019) 517-523.
- [15] H. Weinstock, SQUID sensors: fundamentals, fabrication and applications. Springer Science & Business Media, Berlin, Germany, 2012.
- [16] V. Babizhetskyy, J. Bauer, Interaction of lanthanum with boron and carbon: phase diagram and structural chemistry, Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly 145 (2014). DOI: 10.1007/s00706-014-1172-2.
- [17] M. Sawicki, W. Stefanowicz, A. Ney, Sensitive SQUID magnetometry for studying nanomagnetism, Semiconductor Science and Technology 26 (2011). DOI: 10.1088/0268-1242/26/6/064006.
- [18] V. Rathod, P. Banerjee, Y. Deng, Low Field Methods (GMR, Hall Probes, etc.). In Handbook of Advanced Non-Destructive Evaluation; Ida, N., Meyendorf, N., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2019.
- [19] J. Alvarez-Vicente, S. Dandil, D. Banerjee, H.Q.N. Gunaratne, S. Gray, S. Felton, G. Srinivasan, A.M. Kaczmarek, R. Van Deun, P. Nockemann, Easily accessible rare-earth-containing phosphonium room-temperature ionic liquids: EXAFS, luminescence, and magnetic properties, The Journal of Physical Chemistry B 120(23) (2016) 5301-5311. DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b03870.
- [20] A.C. Sotolongo, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, An easily prepared graphene oxide–ionic liquid hybrid nanomaterial for micro-solid phase extraction and preconcentration of Hg in water samples, Analytical Methods 10 (2018) 338-346. DOI: 10.1039/C7AY02201H.
- [21] M.N. Oviedo, E.F. Fiorentini, A.A. Lemos, R.G. Wuilloud, Ultra-sensitive Sb speciation analysis in water samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction and multivariate optimization, Analytical Methods 13 (2021) 1033-1042. DOI: 10.1039/D0AY02276D.
- [22] A.C. Sotolongo, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, An easily prepared graphene oxide–ionic liquid hybrid nanomaterial for micro-solid phase extraction and preconcentration of Hg in water samples, Anal. Methods 10 (2018) 338-346, 10.1039/C7AY02201H.
- [23] D. Chen, H. Feng, J. Li, Graphene oxide: preparation, functionalization, and electrochemical applications, Chem. Rev. 112 (2012) 6027-6053, 10.1021/cr300115g.
- [24] C. Casiot, O. Donard, M. Potin-Gautier, Optimization of the hyphenation between capillary zone electrophoresis and inductively coupled plasma mass spectrometry for the measurement of As-, Sb-, Se- and Te-species, applicable to soil extracts, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 57 (2002) 173-187. DOI: 10.1016/S0584-8547(01)00365-2.
- [25] E.F. Fiorentini, B.V. Canizo, R.G. Wuilloud, Determination of As in honey samples by magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, Talanta 198 (2019) 146-153. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.01.091.

[26] E. Fiorentini, M. Oviedo, R. Wuilloud, Ultra-trace Cr preconcentration in honey samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 169 (2020) 105879. DOI: 10.1016/j.sab.2020.105879.

Capítulo 3

Resultados

y

discusión

3.1 Análisis de especiación de As en muestras ambientales asistido por dos líquidos iónicos magnéticos

3.1.1 Introducción

El As es un metaloide altamente tóxico que puede estar presente en el agua, suelo, sedimentos, alimentos, la atmósfera y en los organismos vivos. Las diversas fuentes naturales (por ejemplo, actividad volcánica) y antropogénicas (por ejemplo, actividad minera) pueden aumentar la presencia de As en el ambiente [1]. Sin embargo, la movilidad del As en el ambiente varía según la forma química del elemento. Por ejemplo, las especies de As(V) generalmente forman precipitados con Cu, Fe y Al en los suelos, por lo tanto, pueden movilizarse con menos facilidad que las especies de As(III). Sin embargo, la movilidad de ambas especies puede variar según las condiciones específicas del suelo, como el pH y la presencia de otros minerales o iones [2]. Por otro lado, la toxicidad de As en los sistemas ambientales y biológicos depende en gran medida de la naturaleza química de sus especies. En este sentido, las especies inorgánicas de As son más tóxicas que sus compuestos orgánicos, mientras que la toxicidad del As aumenta considerablemente cuando su estado de oxidación se reduce de As(V) a As(III) [3]. Por lo tanto, el análisis de especiación de este metaloide es muy importante para los estudios ambientales y biológicos. Las vías de exposición al As pueden diferir entre regiones, dependiendo de las características geológicas del acuífero y las actividades locales, como el consumo de agua subterránea y la ingestión de mariscos y pescados contaminados con As. Muchos efectos en la salud como hiperqueratosis, enfermedad pulmonar restrictiva, enfermedad vascular periférica y gangrena, se atribuyen a la ingesta prolongada de agua y alimentos contaminados con As [1]. Además, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasificó a este elemento como carcinógeno para los humanos, perteneciente al grupo I [4].

El análisis de especiación de As generalmente implica la combinación de técnicas cromatográficas o no cromatográficas para la separación eficiente de las diferentes especies químicas del elemento seguido de la detección mediante una técnica suficientemente sensible [5]. Sin embargo, algunas de estas técnicas altamente sensibles, como HPLC-ICP-MS, siguen siendo costosas para algunos laboratorios analíticos de rutina y su acceso es limitado. Por otro lado, la técnica ETAAS se ha

utilizado ampliamente debido a su simplicidad, sensibilidad, robustez y por ser menos costosa que ICP-MS [6]. Además, ETAAS permite la inyección directa de unos pocos μL de muestra o solventes orgánicos, lo que representa una de las principales ventajas cuando se usa como detector elemental combinado con técnicas de LLME. Estas técnicas de preconcentración implican una metodología de preparación de muestra miniaturizada con un volumen muy pequeño de solvente extractante en relación con el volumen de muestra [7].

Los ILs han sido un buen reemplazo de los solventes orgánicos clásicos en las técnicas de LLME para la determinación de As en diferentes muestras usando varios detectores, como por ejemplo, la HG-AAS [8], ETAAS [3], AFS [9] y HPLC-ICP-MS [10]. Estos solventes evitan muchos problemas asociados a la contaminación ambiental que pueden ocurrir potencialmente con solventes orgánicos volátiles. Sin embargo, se requieren ILs con mayor densidad que el agua para lograr una efectiva separación de la fase extractante después de la extracción del analito. Además, la separación de fases generalmente requiere una etapa de centrifugación, lo cual incide desfavorablemente en los costos y en la frecuencia del análisis [11]. Hoy en día, la utilización de MILs en diferentes aplicaciones analíticas ha sido de gran utilidad para resolver los inconvenientes que presentan los ILs clásicos. Los MILs mantienen las propiedades específicas de los ILs, pero además, pueden ser atraídos por un campo magnético externo [12]. El magnetismo intrínseco de los MILs le confiere la capacidad de separar la fase sedimentada de la fase superior utilizando simplemente un imán, eliminando así los pasos que requieren mucho tiempo para la separación de fases, como la centrifugación y/o filtración [13]. El MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ se ha aplicado en técnicas de LLME generalmente para la extracción de biomoléculas y compuestos orgánicos [14, 15]. Sin embargo, estos solventes han sido poco explorados como fases de extracción para iones metálicos [16, 17] y menos aún en el análisis de especiación química [3, 18].

En esta parte del trabajo de tesis doctoral, se desarrolló un método basado en la aplicación de dos MILs mediante LLME para la determinación sensible y selectiva de especies inorgánicas de As en muestras de origen ambiental, particularmente agua, suelo y sedimento. En el método propuesto, el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ se empleó para separar el As(III) de la solución acuosa después de la formación de un complejo con APDC. Posteriormente, se aplicó un segundo MIL ($[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$) para la extracción y preconcentración de las especies de As(V) que permanecieron en la fase acuosa, pero sin usar un agente complejante. Se estudiaron y optimizaron cuidadosamente los diferentes parámetros para las etapas de separación y extracción, como la formación del complejo entre As(III) y APDC, volumen de MIL, concentración de HCl, fuerza iónica y tipo y tiempo de

agitación. El método MIL-LLME propuesto fue asistido por la detección elemental mediante ETAAS para la determinación de As, evitando el empleo de instrumentación más costosa como HPLC-ICP-MS, lo que permitiría el análisis de especiación de As en laboratorios analíticos de rutina. Además, se evaluó la sustentabilidad del método propuesto y se comparó con otros trabajos reportados en la literatura basados en MIL-LLME-ETAAS para la extracción y determinación de As, con el uso del software Analytical GREENness calculator (AGREE) [19].

3.1.2 Método desarrollado para el análisis de especiación de As en muestras de origen ambiental

A continuación, se presenta el procedimiento analítico al cual se arribó en este trabajo de tesis doctoral para la determinación de especies inorgánicas de As y posteriormente, en secciones subsiguientes, se realiza la discusión de los experimentos implicados para su desarrollo. Básicamente, se tomó un volumen de 5 mL de sobrenadante obtenido mediante el tratamiento de limpieza de la muestra detallado en la sección 2.5.2, se mezcló con 45 μL de HCl al 37% (v/v) (alcanzando una acidez final de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) y 4 μL de $3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de solución de APDC, dejando reposar durante 5 min para lograr la formación del complejo As(III)-APDC. Posteriormente, se añadieron 100 μL del solvente extractante $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ al 33% (p/v) en CHCl_3 para extraer el complejo. Después, la mezcla se agitó durante 7 min formando una solución turbia que luego se centrifugó a 3000 rpm por 5 min. Finalmente, la fase acuosa superior que contenía solo la especie As(V) se transfirió a otro tubo con una pipeta de transferencia (las condiciones óptimas se muestran en la Tabla 3.1.1).

Luego se adicionaron 790 μL de HCl al 37% para ajustar la acidez del sobrenadante a una concentración de 2 mol L^{-1} y se realizó la extracción y preconcentración de As(V) agregando 60 μL del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$. Después de agitar durante 8 min por vórtex, la fase orgánica se recogió completamente sumergiendo una varilla magnética y posteriormente diluyendo la fase MIL recolectada en 100 μL de CHCl_3 . Luego, se inyectaron 20 μL de esta solución en el horno de grafito de ETAAS para la determinación de As (condiciones que se muestran en la Tabla 3.1.1). La calibración se realizó con estándares acuosos preparados en las mismas condiciones y sometidos a los métodos de limpieza y extracción que las soluciones de muestra analizadas en este trabajo. En la Figura 3.1.1 se puede observar un esquema del método MIL-LLME-ETAAS propuesto para el análisis de especiación de As inorgánico.

3.1.2.1 Determinación de As inorgánico total

El As inorgánico total se determinó siguiendo el mismo procedimiento indicado para las especies de As(V) usando el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ como fase de extracción. Sin embargo, en este caso, fue necesario ajustar la acidez del medio a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl para lograr la misma eficiencia de extracción para As(III) y As(V). Así, se logró la extracción simultánea de ambas especies sin la necesidad de oxidar el As(III) a As(V). Las condiciones óptimas se muestran en la Tabla 3.1.1.

3.1.2.2 Determinación de As(III)

La concentración de As(III) se obtuvo por la diferencia entre la concentración de As inorgánico total y la concentración de As(V).

Tabla 3.1.1 Condiciones experimentales para el análisis de especiación de As.

Condiciones para la extracción de As(III)	
Volumen de muestra	5 mL
Concentración de HCl	$0,1 \text{ mol L}^{-1}$
Concentración de APDC	$2,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$
Tipo y concentración de MIL	100 μL (33 mg de $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ en 100 μL de $CHCl_3$)
Tipo y tiempo de agitación	Vórtex, 7 min
Condiciones para la extracción de As(V)	
Concentración de HCl	2 mol L^{-1}
Volumen de diluyente	100 μL de $CHCl_3$
Tipo y volumen de MIL	$[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$, 60 μL
Tipo y tiempo de agitación	Vórtex, 8 min
Condiciones para la extracción de As inorgánico total	
Concentración de HCl	$0,5 \text{ mol L}^{-1}$
Volumen de muestra	5 mL
Volumen de diluyente	100 μL de $CHCl_3$
Tipo y volumen de MIL	$[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$, 60 μL
Tipo y tiempo de agitación	Vórtex, 8 min

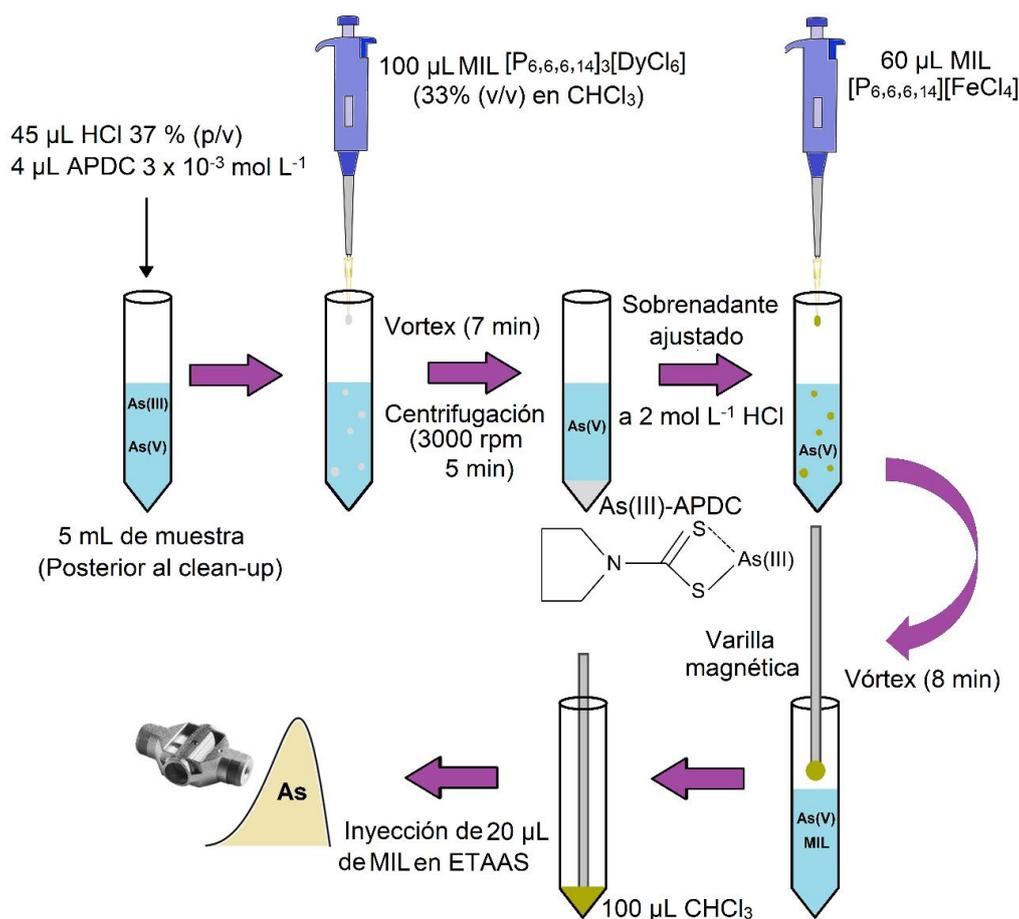


Figura 3.1.1 Diagrama esquemático del método MIL-LLME-ETAAS propuesto para la determinación de especies inorgánicas de As en agua, suelo y sedimento.

3.1.3 Selección del líquido iónico magnético para la extracción de especies de As

En general los MILs que contienen Fe(III) en sus estructuras químicas presentan mayor susceptibilidad magnética que los MILs conteniendo Fe(II) [16]. El hecho de que los MILs con Fe(III) presentan un valor de susceptibilidad magnética más elevado y, por lo tanto, presentan una mayor atracción hacia un campo magnético externo que aquellos con Fe(II), se debe a que el Fe(III) forma complejos de alto espín con 5 electrones no apareados en su orbital más externo, mientras que los complejos de Fe(II) tienen 4 electrones no apareados. El mismo fenómeno se observa con MILs que contienen Mn(II) y Dy(III), porque estos elementos tienen 5 y 7 electrones no apareados en su orbital más externo, respectivamente. Por otro lado, los MILs que contienen Co(II) muestran una menor susceptibilidad magnética porque este elemento tiene 3 electrones no apareados en su orbital d más externo [20]. Además, los MILs que contienen Cl^- tienen una mayor

susceptibilidad magnética ya que el Cl^- genera una baja diferencia de energía octaédrica, por lo tanto, un mayor número de electrones no están apareados, generando compuestos altamente paramagnéticos [21]. El comportamiento descrito se indica en la Figura 3.1.2.

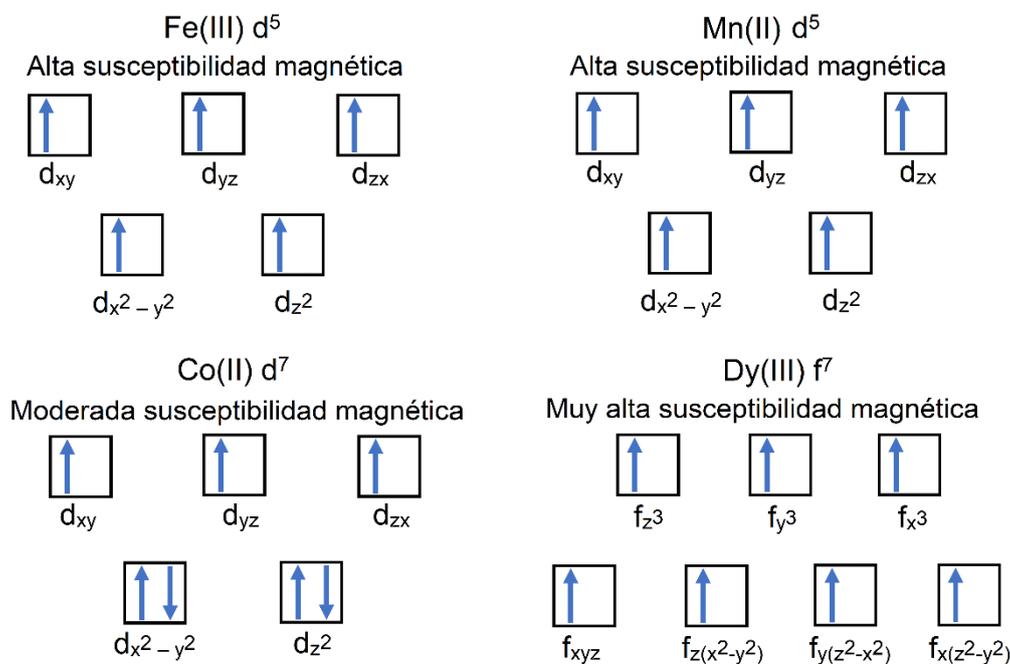


Figura 3.1.2 Representación gráfica de la susceptibilidad magnética exhibida por Fe(III), Mn(II), Co(II) y Dy(III).

La selección de la fase de extracción se realizó mediante la evaluación de la eficiencia de extracción alcanzada con diferentes MILs conteniendo el catión fosfonio en condiciones de acidez ajustadas a 1 mol L^{-1} de HCl y sin el uso de agentes complejantes externos para la derivatización del analito. Después de agitar mediante vórtex, el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{CoCl}_4]$ se disolvió completamente en medio acuoso, formando una solución rosa característica debida a la presencia de Co(II) en solución acuosa. Por otro lado, se observó que las especies As(III) y As(V) no se extrajeron con el uso de los MILs $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ y $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$. Sin embargo, se alcanzaron eficiencias de extracción del 71% y 84% para As(III) y As(V), respectivamente, con $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$. La posible explicación de la extracción de ambas especies de As mediante la implementación del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ se argumentará en la sección 3.1.6. Por lo tanto, ninguno de los solventes estudiados era adecuado para la separación selectiva de especies inorgánicas de As.

Considerando que el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ extrajo ambas especies y, por lo tanto, no fue selectivo, se evaluó el uso de los MILs $[P_{6,6,6,14}]_2[MnCl_4]$ y $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ en combinación con reactivos complejantes para disminuir la polaridad de las especies de manera que su partición hacia la fase MIL sea más eficiente y así obtener una alta selectividad. Para este estudio se evaluaron los siguientes agentes quelantes a valores de pH que favorecían la formación del complejo con las especies de As de acuerdo a lo reportado en la literatura [22-25]: DDTC (a pH 4, usando buffer acético/acetato), APDC y DDTP (a pH 1, 0,1 mol L⁻¹ de HCl) a una relación molar de 1:45 de As(III): reactivo complejante (logrando una concentración final de $2,4 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de reactivo) (Figura 3.1.3a), y $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ a pH 1 a una relación molar de 1:1 x 10⁴ de As(V): reactivo complejante (logrando una concentración final de $0,53 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ de reactivo) (Figura 3.1.3b).

De acuerdo a los resultados, con el uso del MIL de Mn(II), las especies de As(III) se extrajeron con baja eficiencia de extracción cuando se utilizaron APDC, DDTC o DDTP, mientras que As(V) no se extrajo en absoluto. Además, se lograron eficiencias de extracción de 16% y 95% para As(III) y As(V), respectivamente, con $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ como agente complejante. Por otro lado, la aplicación combinada del MIL de Dy(III) y APDC produjo un 85% de eficiencia de extracción para As(III), mientras que As(V) no se extrajo. Este último conjunto de condiciones se aplicó para lograr una selectividad total hacia la determinación de las especies de As en este trabajo. Sin embargo, debe mencionarse que debido a una disminución significativa de la señal de As causado por el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$, la determinación de este elemento en esta matriz orgánica no pudo realizarse por la técnica ETAAS. Por lo tanto, este solvente de extracción era adecuado solo para extraer As(III) y separar las especies.

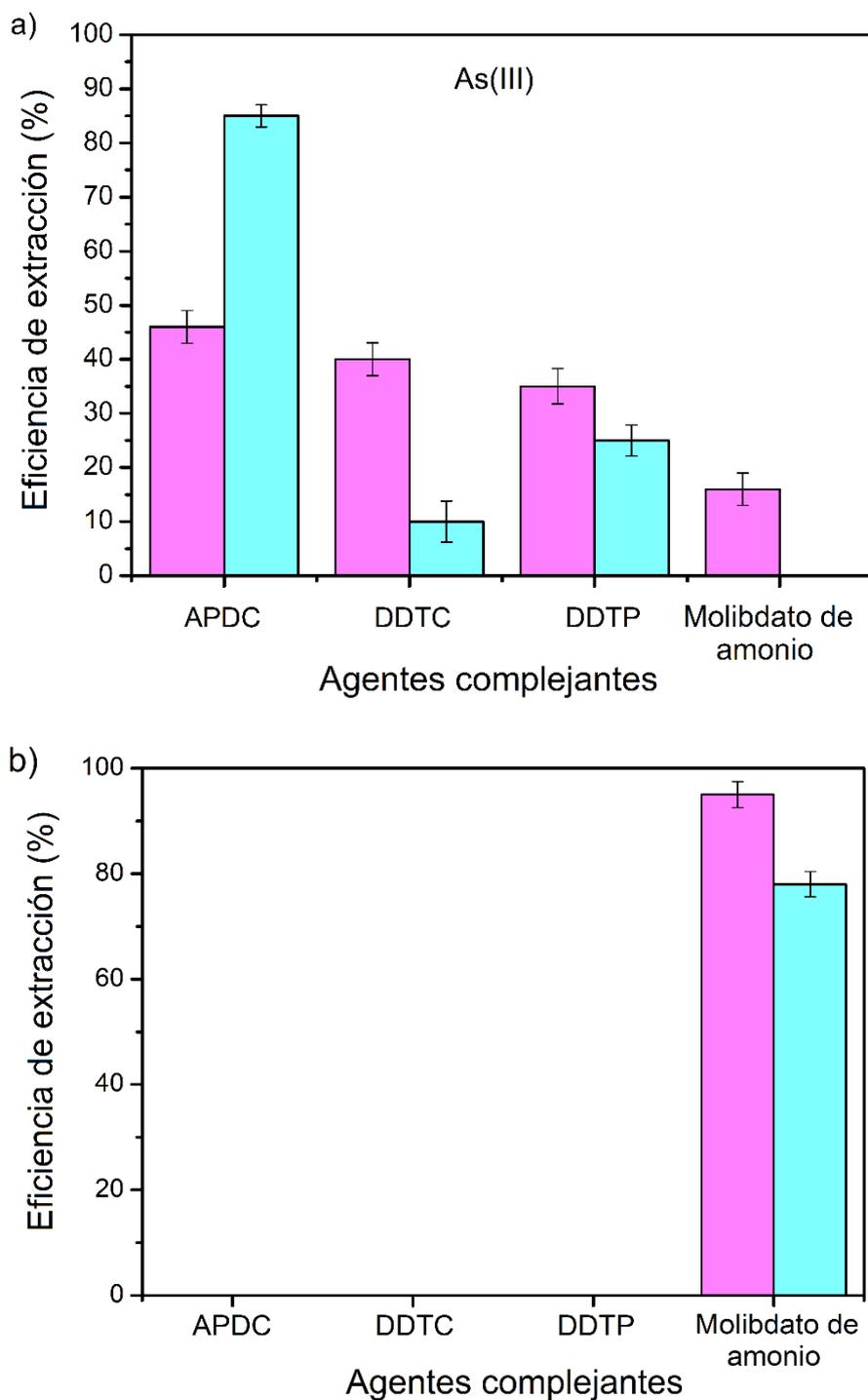


Figura 3.1.3 Efecto de diferentes agentes complejantes en (a) eficiencia de extracción As(III) y (b) eficiencia de extracción de As(V) (5 mL de muestra a 0,1 mol L⁻¹ HCl). ■ [P_{6,6,6,14}]₂[MnCl₄] y ■ [P_{6,6,6,14}]₃[DyCl₆]. Otras condiciones experimentales se exhiben en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.1.4 Optimización de las variables involucradas en la separación de especies de As

En esta sección, se evaluaron diversas variables con el fin de optimizar la eficiencia de extracción de As(III) utilizando APDC como reactivo quelante y el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ como fase de extracción. En primer lugar, se estudiaron el pH y la concentración del agente complejante, dado que desempeñan un papel crucial en la formación y estabilidad del complejo As(III)-APDC. Además, se evaluó el volumen de muestra, el cual es considerado una variable fundamental en el desarrollo de los métodos de preconcentración, debido a que altos volúmenes de muestra generalmente permiten obtener elevados factores de preconcentración y de refuerzo de la sensibilidad. Por último, se evaluó el tipo y tiempo de agitación con el propósito de incrementar la transferencia del analito a la fase MIL y obtener la máxima eficiencia de extracción en el menor tiempo posible.

Debido a la alta viscosidad del MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$, se evaluaron diferentes solventes orgánicos para facilitar su manipulación. Se disolvieron 50 mg del MIL en 150 μ L de diferentes solventes orgánicos. Utilizando acetona, acetonitrilo, metanol y diclorometano se observó la solubilización parcial del MIL. Por otro lado, el MIL se disolvió completamente en $CHCl_3$. Por lo tanto, se estudiaron diferentes volúmenes de este solvente en un rango entre 50 μ L y 150 μ L, resultando óptimo 150 μ L para la disolución completa de la fase MIL. Una vez seleccionado el tipo de agente quelante, se realizó un estudio de pH en un rango de 1 a 7, considerando que el complejo As(III)-APDC es estable en un rango de 0 a 6 [22]. De acuerdo a los resultados se obtuvo una máxima eficiencia de extracción a pH 1 (Figura 3.1.4). Asimismo, la concentración de reactivo quelante es otra variable crítica para ser optimizada en estas metodologías. Además, es un punto crítico establecer la concentración mínima de reactivo para la formación total del complejo mientras se logra la mayor eficiencia de extracción. El efecto de la concentración de APDC se investigó en el rango de 0,8 a 4×10^{-6} mol L^{-1} . Según los resultados, la concentración mínima requerida para lograr la máxima eficiencia de extracción en este punto del desarrollo experimental del trabajo fue de $2,4 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} de APDC (Figura 3.1.5). Esto podría explicarse considerando que a concentraciones más bajas que $2,4 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} , los moles de APDC disponibles para formar el complejo con As(III) pudieron haber sido insuficientes para alcanzar una eficiente formación y extracción, mientras que a una concentración mayor podría presentarse una competencia entre el complejo As(III)-APDC y el APDC libre en solución por la extracción en la fase MIL.

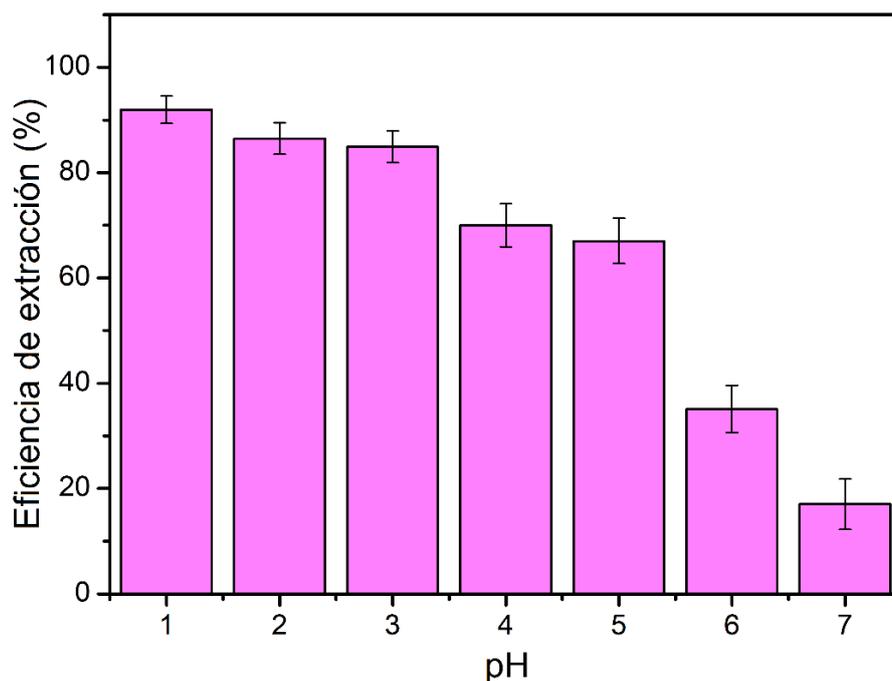


Figura 3.1.4 Estudio de pH para la extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) con APDC y el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$. Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

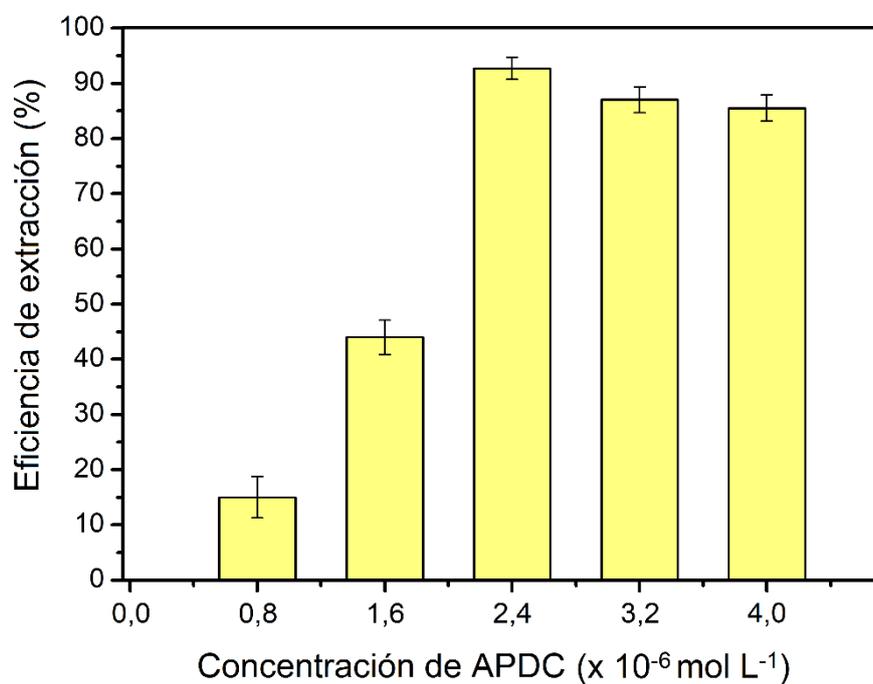


Figura 3.1.5 Influencia de la concentración de APDC en la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) utilizando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$. Otras condiciones experimentales se describen en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

El efecto del volumen de muestra se estudió en un rango de 4-10 mL. De esta manera, se obtuvo una eficiencia de extracción máxima del 92,7% con 5 mL (Figura 3.1.6), mientras que la señal de As comenzó a disminuir para volúmenes de muestra superiores a ese valor. Este fenómeno puede explicarse debido a una dispersión limitada de la fase orgánica influenciada por una agitación ineficaz ante un mayor volumen de solución [26]. La agitación de la solución de muestra facilita el proceso de transferencia de masa del analito desde la fase acuosa a la fase orgánica e incrementa la eficiencia de extracción. En este trabajo, se evaluaron dos modos de agitación, por vórtex y por ultrasonido, por tiempo de 1 a 10 min. La eficiencia de extracción aumentó hasta el 98,0% con vórtex por 7 min y luego se redujo ligeramente (Figura 3.1.7). Este efecto podría explicarse considerando una descomposición parcial del complejo As(III)-APDC durante un tiempo de agitación prolongado, lo que podría favorecer la transferencia de As libre desde el MIL hacia la fase acuosa. Esta descomposición fue más marcada ante la agitación por ultrasonido la cual se considera más energética que vórtex [27], explicando entonces las eficiencias de extracción menores.

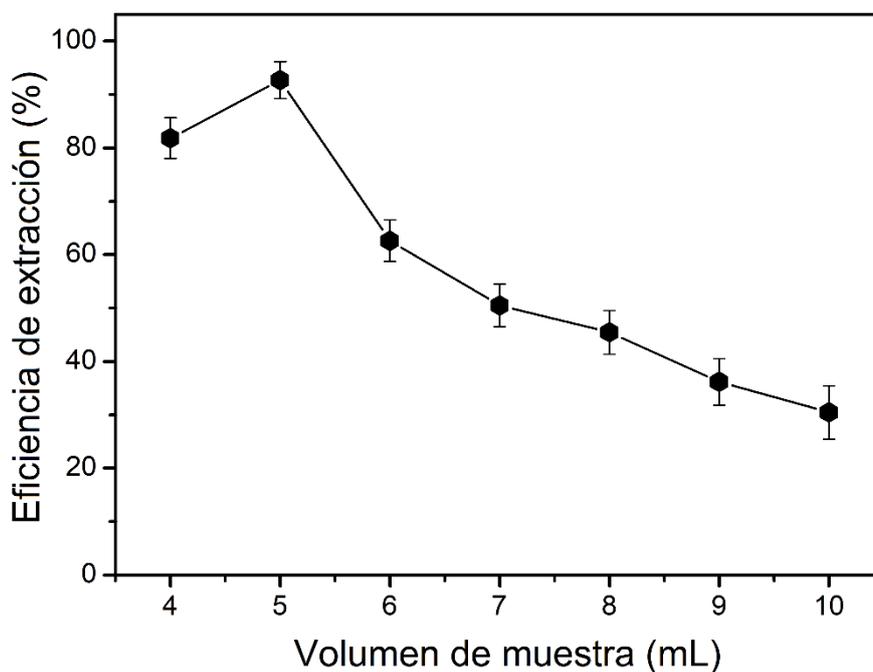


Figura 3.1.6 Efecto del volumen de muestra durante la separación de As(III) y As(V). Otras condiciones experimentales se indican en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

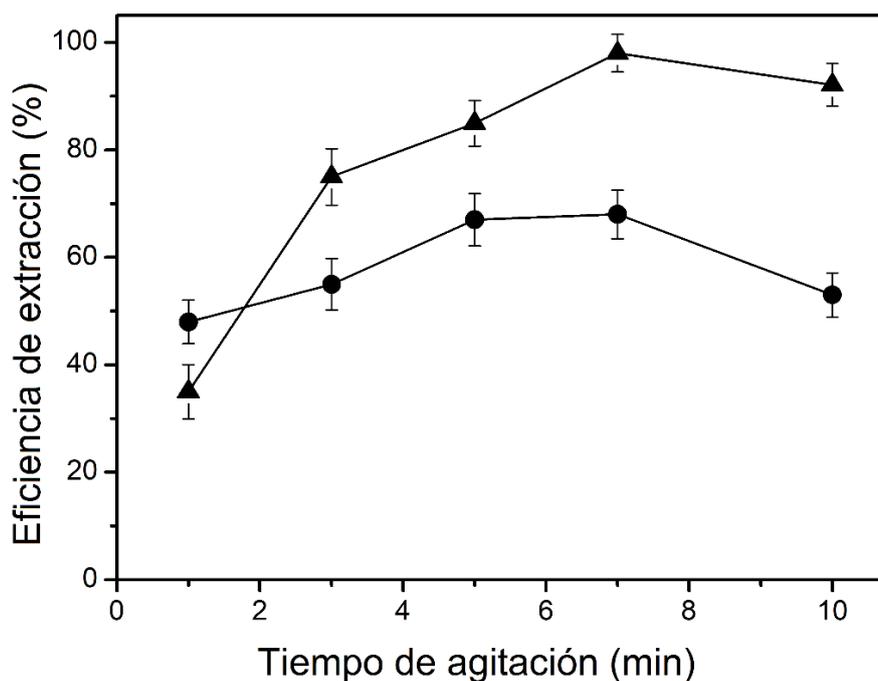


Figura 3.1.7 Efecto del tipo y tiempo de agitación sobre la eficiencia de extracción. (▲) Vórtex y (●) ultrasonido. Otras condiciones experimentales se detallan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.1.5 Estudio de las condiciones para la extracción y determinación de As(V)

Como se mencionó anteriormente en esta sección, tanto la especie As(III) como As(V) pudieron extraerse con el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ sin la aplicación de un agente complejante. Por lo tanto, después de la separación de As(III), este MIL se utilizó para la extracción y preconcentración de As(V) que aún permanecía en la fase acuosa. Sin embargo, dado que la estabilidad química del MIL podría verse comprometida a valores de pH superiores a 2 por la presencia de altas concentraciones de Fe(III) y la posible formación de un precipitado de $Fe(OH)_3$ [16], la eficiencia de extracción se evaluó en condiciones fuertemente ácidas. Se evaluó la concentración de HCl en un rango de 0,1 a 3 mol L⁻¹ y se obtuvo un óptimo resultado a 2 mol L⁻¹ (Figura 3.1.8). Además, se estudió la influencia del tipo y el tiempo de agitación usando vórtex y ultrasonido en el rango de 0 a 10 min. En este caso, la mayor eficiencia de extracción (85,0%) se alcanzó con agitación por vórtex durante 8 min (Figura 3.1.9).

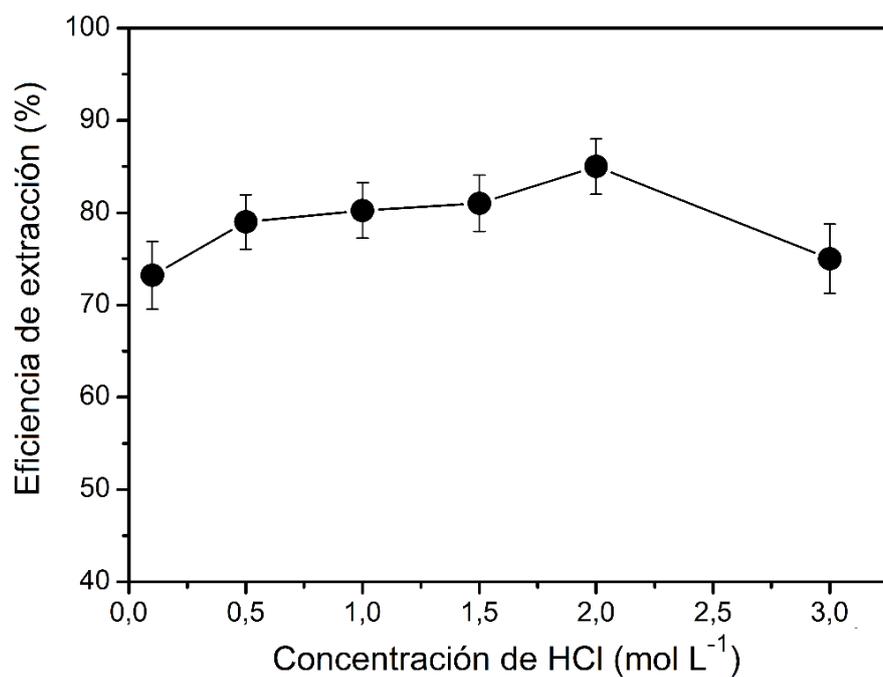


Figura 3.1.8 Efecto de la concentración de HCl sobre la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) usando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ para 5 mL de solución de muestra. Otras condiciones experimentales se exhiben en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

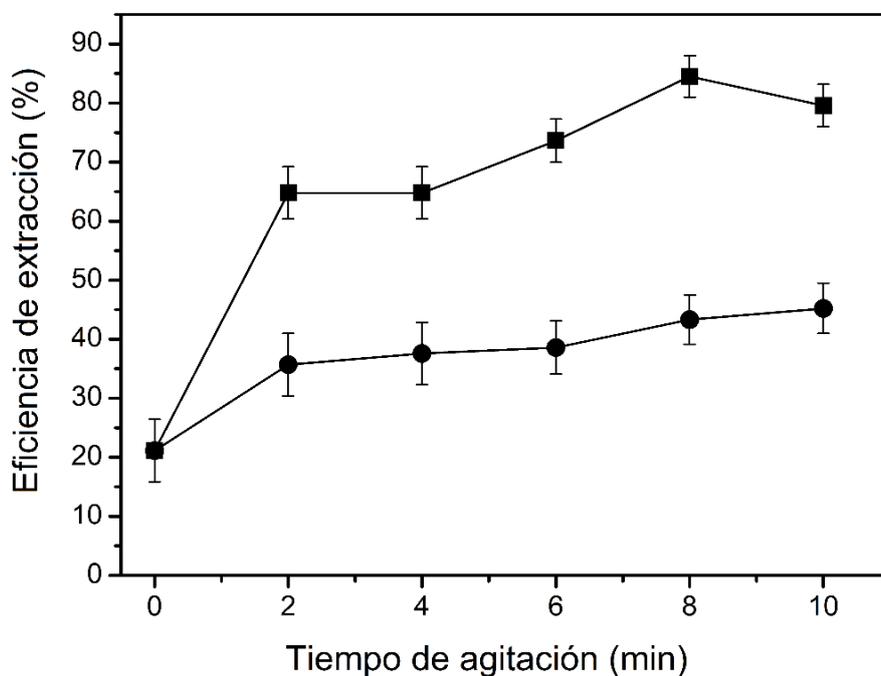


Figura 3.1.9 Efecto del tipo y tiempo de agitación sobre la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). (■) Vórtex y (●) ultrasonido. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

El volumen de la fase extractante es una variable crítica en técnicas de LLME ya que condiciona fuertemente tanto la eficiencia de extracción como el factor de refuerzo de la sensibilidad obtenido después de la preconcentración [28]. En este trabajo, se propuso el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ como solvente de extracción para la especie As(V) debido a su alta hidrofobicidad, y por lo tanto, su capacidad para formar sistemas bifásicos [12]. Sin embargo, la alta viscosidad de la fase de extracción de MIL, especialmente observada después de que el MIL se colectara con la varilla magnética, hizo que su inyección directa en el horno de grafito de ETAAS fuera un procedimiento ineficiente. Por lo tanto, se evaluaron diferentes volúmenes de $CHCl_3$ en un rango de 50-250 μL (utilizando en todos los casos 50 μL de MIL) para la dilución parcial de la fase MIL. De esta manera, se obtuvo una máxima señal de absorbancia con 100 μL de $CHCl_3$, considerando que, a volúmenes menores y mayores, la señal disminuyó por un posible efecto de matriz tanto del MIL como del $CHCl_3$ (Figura 3.1.10). Después de la optimización del diluyente, se evaluaron distintos volúmenes de la fase MIL entre 30 y 70 μL , diluidos en 100 μL de $CHCl_3$ después de la separación con la varilla magnética. Como se muestra en la Figura 3.1.11, la eficiencia de extracción aumentó cuando el volumen MIL aumentó hasta 60 μL . Sin embargo, para volúmenes de MIL superiores a 60 μL la señal se redujo, más probablemente por la fuerte influencia de la matriz orgánica sobre la señal de absorbancia del As.

Es importante mencionar que, en un trabajo previo del grupo en el que se desarrolló la presente tesis doctoral, se evaluó el efecto de la interferencia espectral causada por el Fe en la señal de As durante las mediciones por ETAAS. Para este estudio, se inyectaron 20 μL de una solución acuosa conteniendo 100 $\mu g L^{-1}$ de estándar de As(III) en presencia de diferentes cantidades de Fe (similar a las inyectadas en 20 μL de fase de MIL) [16]. En ese estudio se concluyó que el Fe interfirió fuertemente en la señal de As a partir de una solución conteniendo una masa de 0,2 mg de Fe. Sin embargo, esa masa de Fe fue significativamente menor que la contribución realizada cuando se inyectó la fase del MIL (0,8 mg de Fe en 20 μL solución al 50% (p/v) de $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ en $CHCl_3$). Adicionalmente, dicha masa de Fe fue también menor que la contribución correspondiente a la inyección de la fase MIL en este trabajo de la tesis (0,6 mg de Fe en una alícuota de 20 μL de una solución compuesta por 60 μL del MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ y 100 μL de $CHCl_3$). Una posible explicación a estos resultados podría deberse a un comportamiento térmico diferente de la fase de MIL comparado con una solución acuosa de Fe, debido a que los ILs tienen la capacidad de volatilizarse en forma de pares iónicos estables [16].

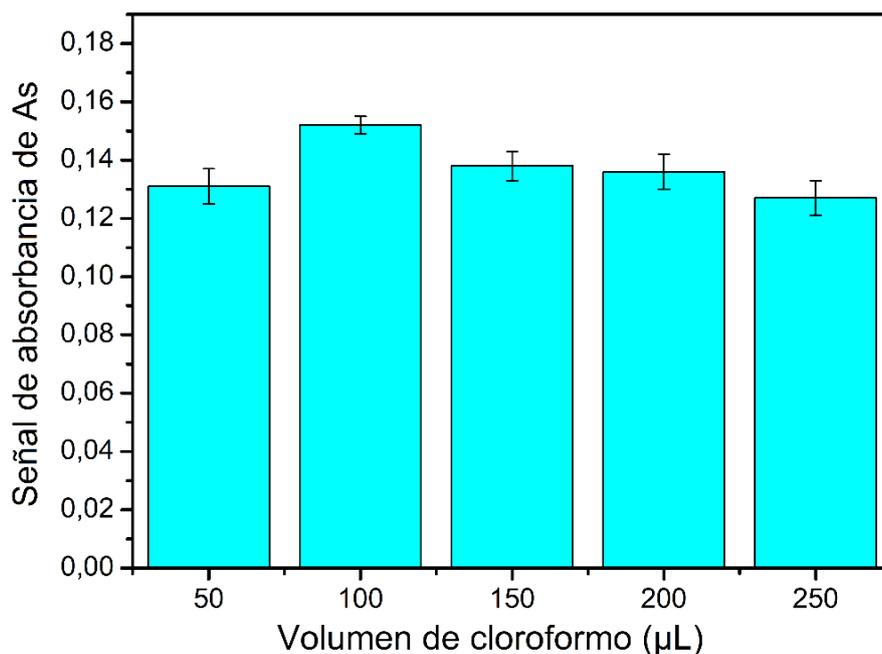


Figura 3.1.10 Influencia del volumen de CHCl_3 como diluyente de la fase MIL en la señal de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As. Otras condiciones experimentales se reportan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

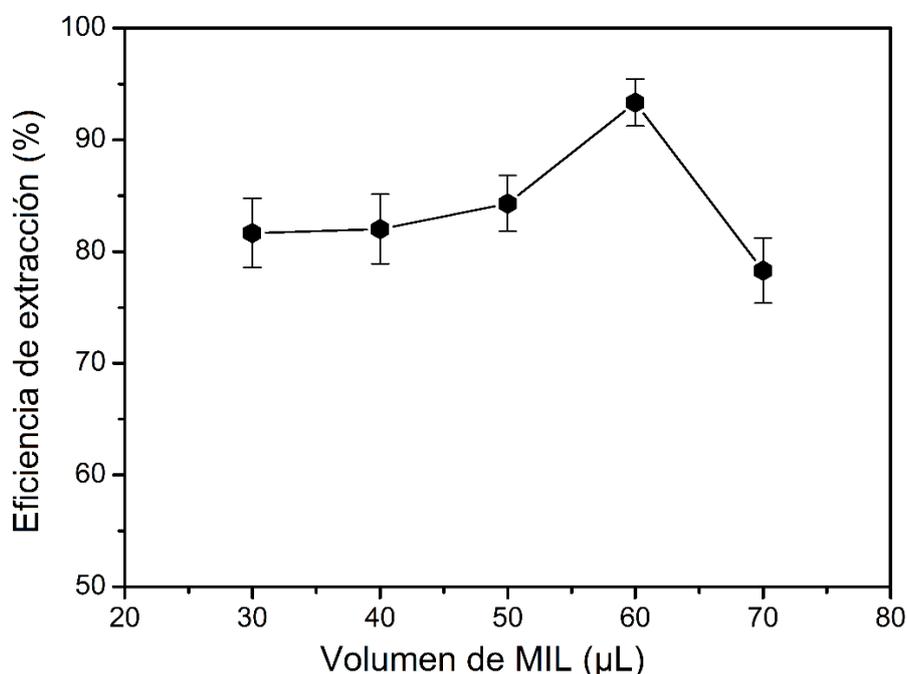


Figura 3.1.11 Efecto del volumen del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ sobre la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) para 5 mL de solución de muestra. Otras condiciones experimentales se detallan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

Para la dispersión de la fase MIL, se usaron tres solventes: metanol, etanol y acetonitrilo como agentes dispersantes en un rango de 50 a 150 μL . Sin embargo, no existieron diferencias significativas con respecto a la eficiencia de extracción obtenida sin la adición de dispersantes, por lo tanto, el uso de estos solventes se descartó para los siguientes estudios (Figura 3.1.12), lo cual además permitió reducir la cantidad de solventes requeridos para el método propuesto e incrementó su sustentabilidad ambiental. Por otro lado, el estudio de la fuerza iónica juega un papel importante en los métodos de extracción convencionales. En este caso, se evaluaron concentraciones en un rango de 1-4% de NaCl , NaNO_3 y NaClO_4 . Los resultados mostraron que la adición de sales no tuvo un efecto significativo sobre la eficiencia de extracción. Por lo tanto, los siguientes experimentos se realizaron sin el agregado de sales al sistema de extracción (Figura 3.1.13).

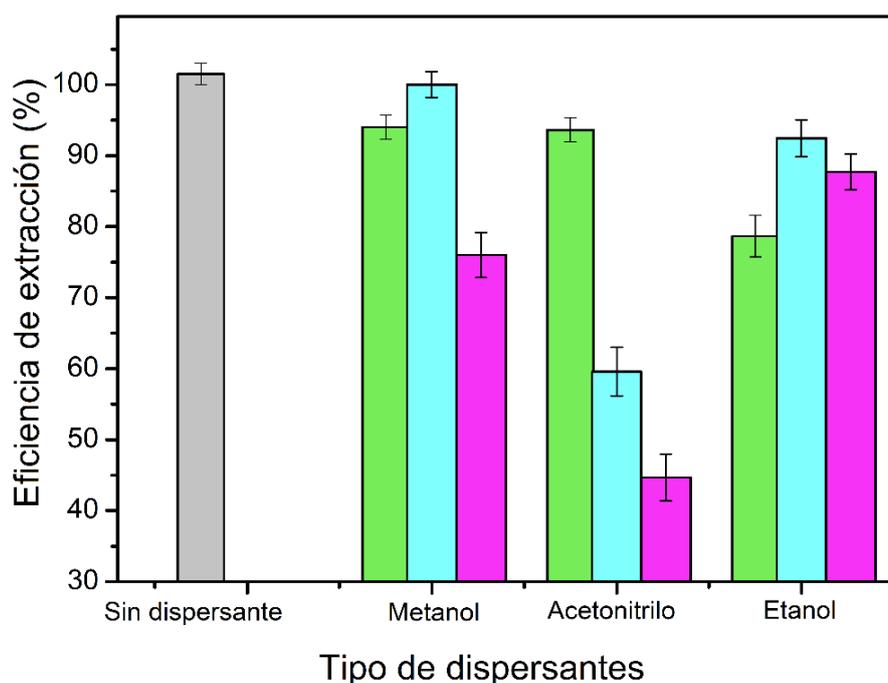


Figura 3.1.12 Influencia del tipo de dispersante en la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) . \square 0 μL , \blacksquare 50 μL , \square 100 μL y \blacksquare 150 μL . Otras condiciones experimentales se exhiben en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

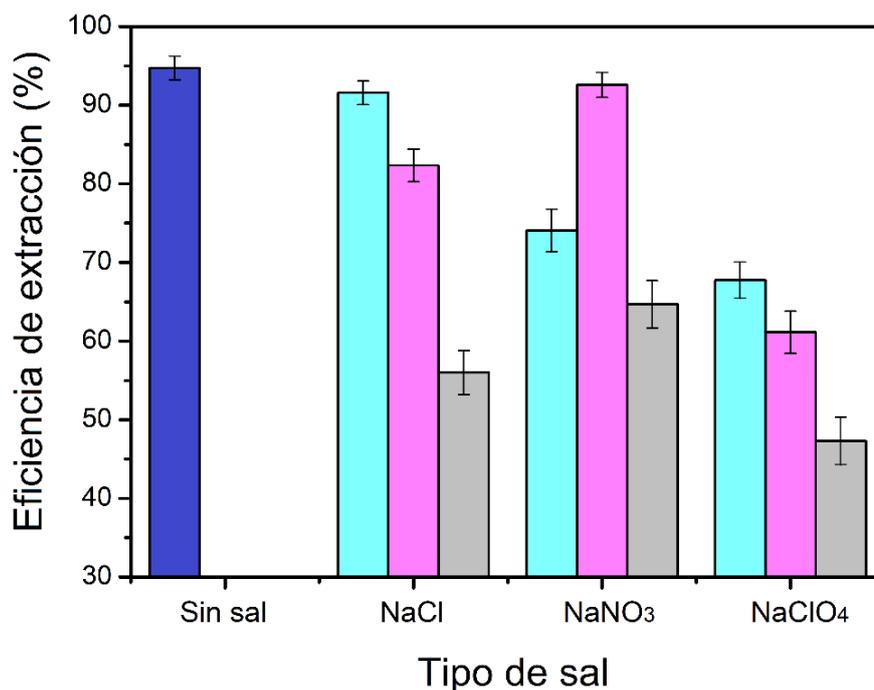


Figura 3.1.13 Estudio del tipo de sal en la eficiencia de extracción de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V).
 ■ 0%, ■ 1%, ■ 2% y ■ 3%. Otras condiciones experimentales se indican en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.1.6 Optimización de la extracción y determinación de As inorgánico total

En este trabajo, se observó que ambas especies inorgánicas de As se extrajeron conjuntamente y con alta eficiencia de extracción, cuando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ se utilizó como solvente de extracción y sin la necesidad de agregar un agente complejante. Con el fin de encontrar las condiciones adecuadas para obtener la misma eficiencia de extracción para ambas especies y poder trazar una única curva de calibración para la cuantificación de ambas especies de As, se estudió la influencia de la concentración de HCl en la determinación de As total. Según los resultados, las especies As(III) y As(V) se extrajeron simultáneamente con una eficiencia de extracción de aproximadamente el 85,0%, a una concentración de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, como se muestra en la Figura 3.1.14. Este fenómeno podría explicarse debido a la formación de complejos neutros protonados de las especies inorgánicas de As en un medio fuertemente ácido, tal como se observa en las Figuras 1.1.1 y 1.1.2 del capítulo 1 de la presente tesis doctoral, favoreciendo su partición hacia la fase MIL [29].

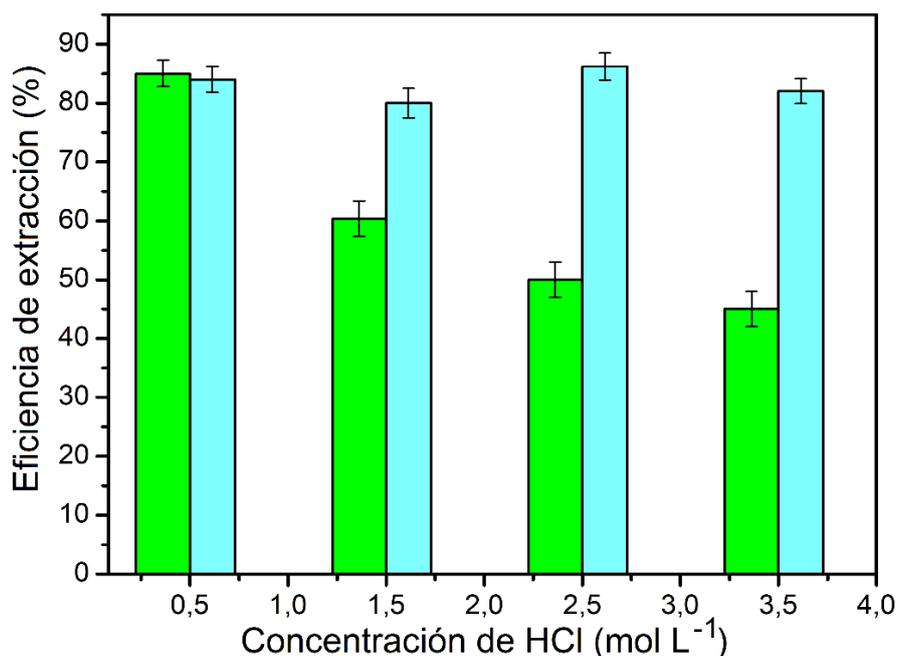


Figura 3.1.14 Influencia de la concentración de HCl en la eficiencia de extracción de As total ($4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) y $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V)) usando $60 \mu\text{L}$ del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$. ■ As(III) y ■ As(V). Otras condiciones experimentales se describen en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.1.7 Estudio de las condiciones operacionales de ETAAS para la detección de As en líquidos iónicos magnéticos

Después de definir los parámetros para la separación y preconcentración de las especies de As, se realizó una completa optimización de las condiciones de medición por la técnica ETAAS (Figura 3.1.15). En primer lugar, se evaluó el efecto de modificadores de matriz para disminuir posibles interferencias y maximizar la sensibilidad analítica. Se realizaron inyecciones de diferentes volúmenes ($10\text{-}20 \mu\text{L}$) de modificadores de matriz (300mg L^{-1} Mg, 500mg L^{-1} Pd y 250mg L^{-1} Ni). Los resultados demostraron que con la mezcla de $10 \mu\text{L}$ de Pd y $10 \mu\text{L}$ de Mg se obtuvo una mayor señal de absorbancia. Posteriormente, se evaluaron diferentes volúmenes de inyección ($5\text{-}30 \mu\text{L}$) de la fase MIL (diluida en CHCl_3). En base a estos experimentos, se obtuvo la señal de absorbancia más alta cuando se inyectaron $20 \mu\text{L}$ de MIL. Por el contrario, los volúmenes superiores a $20 \mu\text{L}$ produjeron un fondo espectral considerable. Este efecto se atribuyó a la interferencia espectral causada por una cantidad significativa de Fe presente en la fase MIL inyectada en el horno de grafito [30]. Por otro lado, la optimización del programa de horno de grafito se realizó evaluando diferentes temperaturas y rampas de pirólisis y atomización. De esta manera, se realizó la

aplicación de etapas secuenciales de pirólisis para permitir una degradación y eliminación gradual de la materia orgánica presente en la matriz del MIL. En un rango de 400 a 550 °C (etapa de pirólisis 1) y de 1200 a 1350 °C (etapa de pirólisis 2), las temperaturas óptimas de pirólisis fueron 500 °C y 1250 °C, respectivamente. Después de seleccionar las temperaturas de pirólisis, se estudió el efecto de la temperatura de atomización sobre la absorbancia de As en el rango de 2150 a 2300 °C. La temperatura de atomización óptima fue 2200 °C. Otras condiciones de detección se muestran en la Tabla 3.1.2.

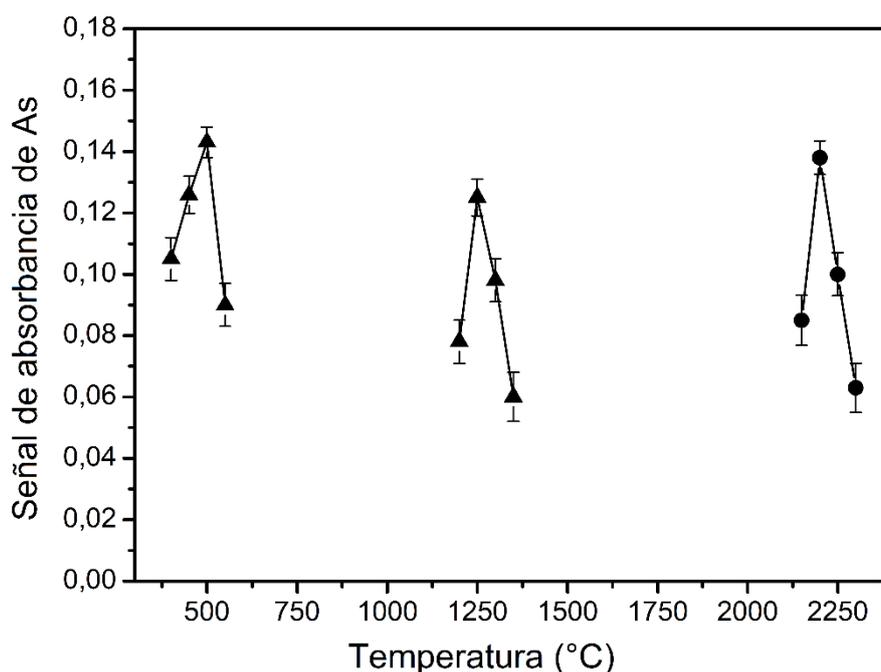


Figura 3.1.15 Evaluación de las curvas de temperatura de pirólisis (▲) y atomización (●) inyectando 20 μL de una solución de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V). (I) Etapa de pirólisis 1, (II) Etapa de pirólisis 2 y (III) Etapa de atomización. Otras condiciones experimentales se reportan en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

En la Figura 3.1.16 se puede observar la señal obtenida en las condiciones óptimas de extracción aplicando el método MIL-LLME-ETAAS propuesto a una solución de estándar de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de As.

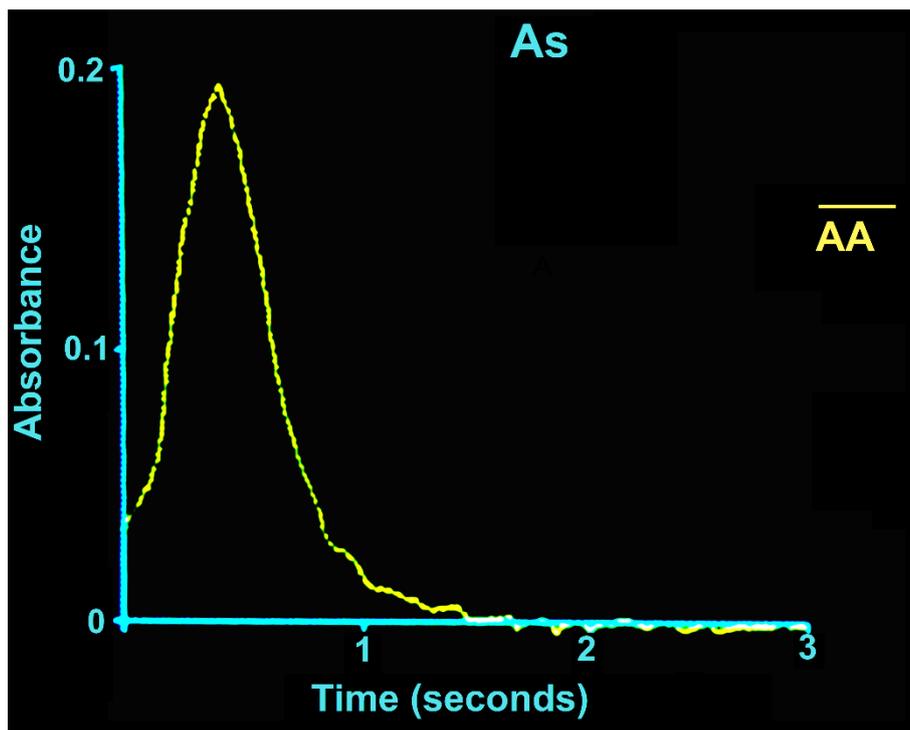


Figura 3.1.16 Señal obtenida tras la inyección de 20 μL de la fase MIL en CHCl_3 , luego de aplicar el método MIL-LLME-ETAAS propuesto en condiciones óptimas a una solución de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As.

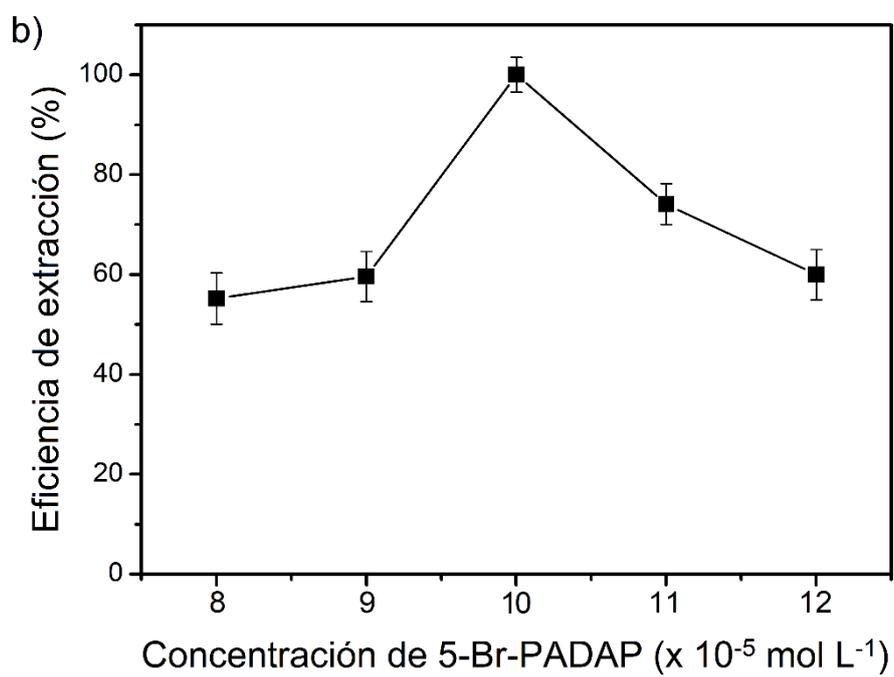
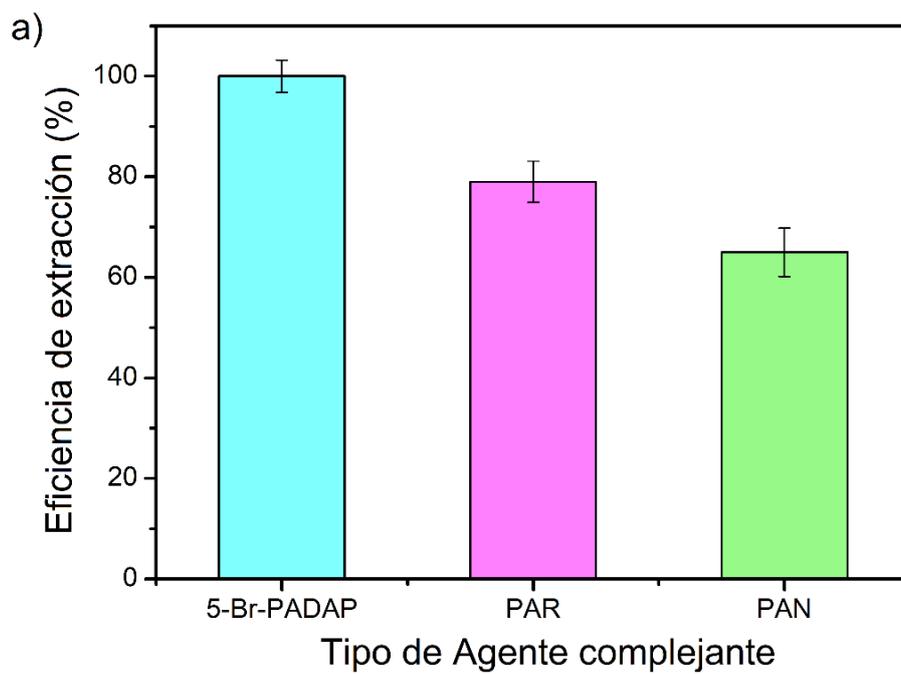
Tabla 3.1.2 Condiciones instrumentales óptimas en ETAAS para la determinación de As.

Condiciones instrumentales				
Longitud de onda				193,7 nm
Ancho de banda espectral				0,7 nm
Corriente de la lámpara de descarga sin electrodo				300 mA
Volumen de Inyección de MIL				20 μL
Modificadores de matriz				10 $\mu\text{g Pd}(\text{NO}_3)_2$ 6 $\mu\text{g Mg}(\text{NO}_3)_2$
Programa de temperatura del horno de grafito				
Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de espera (s)	Flujo argón (mL min ⁻¹)
Secado 1	110	15	30	250

Secado 2	130	15	15	250
Pirólisis 1	500	15	20	250
Pirólisis 2	1250	10	20	250
Atomización	2200	0	3	0
Limpieza	2400	1	2	250

3.1.8 Evaluación de especies potencialmente interferentes

La metodología de extracción propuesta en este trabajo se aplicó a muestras de lixiviado de suelo y sedimento que se obtuvieron mediante el procedimiento presentado en la sección 2.5.1.2 y muestras de agua. Sin embargo, bajo condiciones de los lixiviados se obtuvo una baja eficiencia de extracción (menos del 60%). Por lo tanto, se evaluó la aplicación de una etapa de limpieza previo a la determinación de As, centrada en las interferencias de metales que pueden ocurrir en altas concentraciones (por ejemplo, Fe, Al etc.) y podrían interferir principalmente en la complejación de As o bien en un valor elevado de fuerza iónica que condicionara tanto la complejación como la extracción del analito. Primero, se estudiaron diferentes agentes complejantes del tipo piridilazo que son conocidos por sus excelentes capacidades de complejación de varios elementos a excepción del As. Se incluyeron en el estudio los reactivos PAN, PAR y 5-Br-PADAP a una concentración final de 10^{-4} mol L⁻¹ y a pH 6, 7 y 9,5 respectivamente, para la complejación y extracción de estas interferencias en un pequeño volumen de CHCl₃. Estos reactivos complejantes podrían reaccionar con varios metales bajo dichas condiciones, pero no con especies de As [31]. En este estudio, se alcanzó una máxima eficiencia de extracción del 100% utilizando 5-Br-PADAP como agente complejante (Figura 3.1.17a). Luego, se analizaron diferentes concentraciones de 5-Br-PADAP de 8 a 12×10^{-5} mol L⁻¹. La concentración óptima del agente quelante fue 10^{-4} mol L⁻¹ (Figura 3.1.17b). Además, se evaluó el volumen de la fase extractante para la eliminación de interferentes usando diclorometano y CHCl₃ (200-600 µL) con un tiempo de agitación por vórtex de 2 a 10 min. Los resultados óptimos fueron obtenidos con 500 µL de CHCl₃ y 6 min de vórtex, respectivamente (Figura 3.1.17c y 3.1.17d).



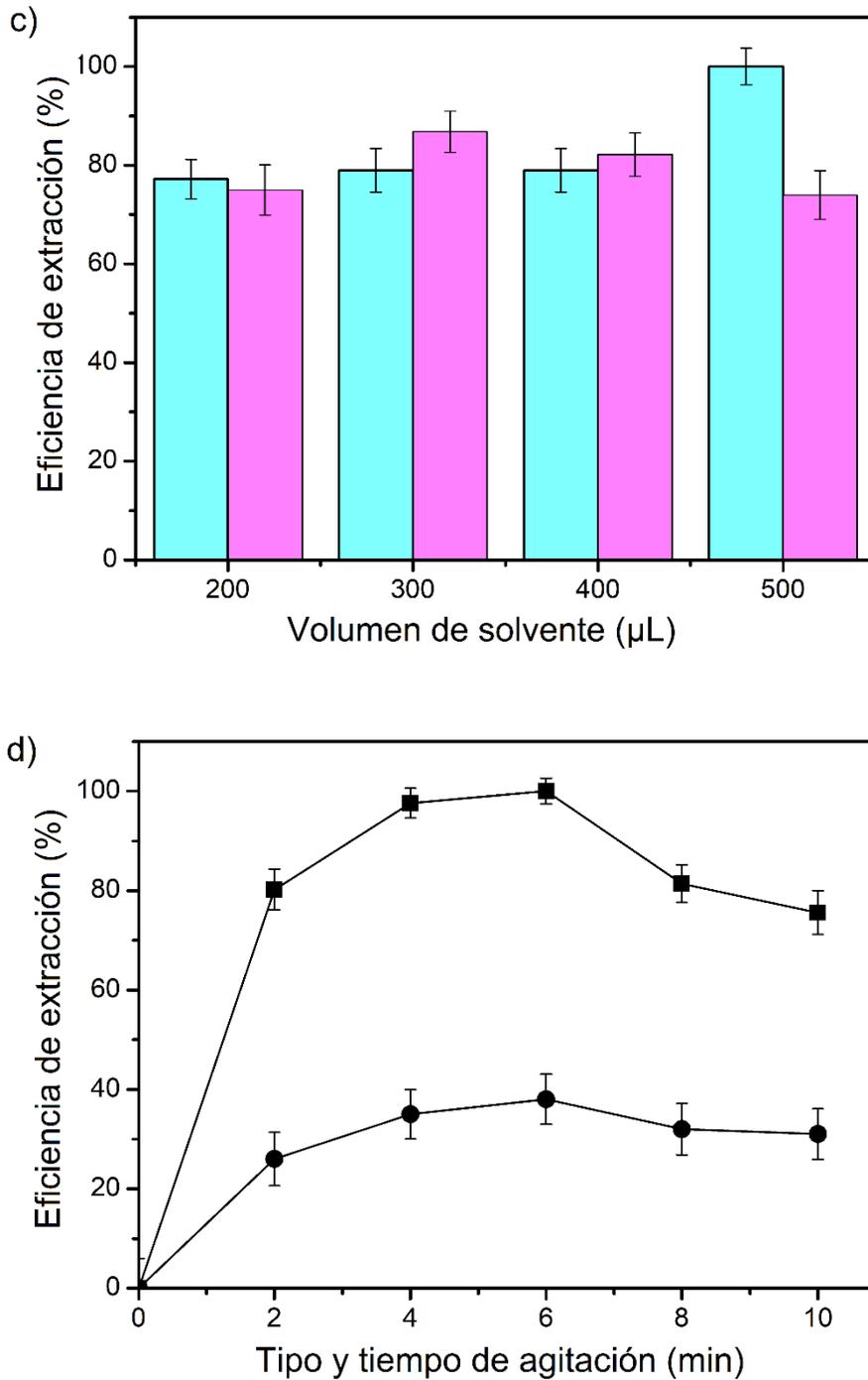


Figura 3.1.17 Evaluación de las variables involucradas en la etapa de limpieza de las muestras de agua, suelo y sedimento. (a) Tipo de agente complejante, (b) Concentración de 5-Br-PADAP, (c) Tipo y volumen de agente de extracción: volumen de ■ CHCl₃ y ■ diclorometano, (d) Tipo y tiempo de agitación: (■) vórtex y (●) ultrasonido.

Varios iones, incluyendo Fe³⁺, Zn²⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Na⁺, K⁺ y Mg²⁺, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ a los niveles de concentración que se encuentran generalmente en las muestras en estudio, se agregaron a una solución estándar de 4 µg L⁻¹ As(V) y se aplicó

el procedimiento descrito anteriormente. Se consideró que los iones concomitantes interfieren cuando causan una variación de la señal analítica en $\pm 5\%$. La recuperación del analito no fue influenciada por cationes de hasta $300 \mu\text{g L}^{-1}$ y por aniones de hasta $2000 \mu\text{g L}^{-1}$. Sin embargo, algunos iones de metales pesados pueden formar complejos hidrofóbicos con APDC [32] y posteriormente podrían co-extraerse con As(III). Sin embargo, en este trabajo se utilizó una cantidad en exceso de agente complejante, además, se aplicó un proceso de limpieza para extraer esos metales y reducir su interferencia. Por lo tanto, no se observaron efectos significativos de interferencia.

3.1.9 Selectividad del método para la determinación de As(III) y As(V)

Se evaluó la selectividad del método MIL-LLME propuesto para la determinación de As(V) y As(III). Se analizaron soluciones estándar acuosas conteniendo las dos especies a diferentes relaciones de concentración. Como se mencionó anteriormente, el As(V) se extrajo en condiciones de 2 mol L^{-1} de HCl usando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ y luego de la separación de As(III) con APDC empleando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$. Por otro lado, el As inorgánico total se determinó mediante extracción mutua de As(III) y As(V) con el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl. Por lo tanto, la concentración de As(III) se obtuvo por diferencia entre la concentración del As inorgánico total y el As(V). El estudio se realizó con concentraciones de ambas especies de As en el rango de $0,15\text{-}3 \mu\text{g L}^{-1}$, resultando en relaciones de As(V)/As(III) en el rango de $0,05\text{-}20$. Se obtuvo una elevada selectividad en condiciones experimentales óptimas, con valores de recuperación entre $93,0\%$ y 100% (Tabla 3.1.3).

En este trabajo, se observó que la selectividad del método propuesto podría verse comprometida cuando las especies orgánicas de As (por ejemplo, MMA y DMA) estuvieran presentes en la misma solución que las inorgánicas. De hecho, las especies orgánicas de As se extrajeron conjuntamente (57% para MMA y $65,1\%$ para DMA) junto con As(V) cuando se utilizó el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$. Lo más probable es que esto se deba, al igual que las inorgánicas de As(III) y As(V), a la protonación de MMA y DMA en condiciones ácidas fuertes, lo que llevó a obtener especies menos polares que se extrajeron en el solvente [33]. Sin embargo, se obtuvieron especies de As inorgánico en la fracción soluble en agua resultante del tratamiento de lixiviación aplicado a las muestras de suelo y sedimentos. Este procedimiento proporcionó la selectividad necesaria para la determinación de As(III) y As(V).

Tabla 3.1.3 Selectividad del método propuesto para las especies inorgánicas de As.

As(V)/As(III) relación	As(V)			As(III)		
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
20	3	$2,97 \pm 0,08$	99,0	0,15	$0,14 \pm 0,02$	93,0
10	2,5	$2,40 \pm 0,05$	96,0	0,25	$0,24 \pm 0,02$	96,0
1	1	$1,00 \pm 0,04$	100	1	$0,99 \pm 0,04$	99,0
0,5	1	$0,99 \pm 0,04$	99,0	2	$1,97 \pm 0,06$	98,5
0,05	0,15	$0,15 \pm 0,02$	100	3	$2,96 \pm 0,08$	99,0

3.1.10 Rendimiento analítico

El factor de refuerzo de la sensibilidad (EF) se obtuvo a partir de la relación de las curvas de calibración antes y después de la aplicación del método MIL-LLME propuesto para un volumen de muestra de 5 mL. La curva de calibración sin preconcentración se realizó mediante la inyección directa de 20 μL de solución estándar de As en ETAAS a diferentes concentraciones. La ecuación de regresión para la curva de calibración desarrollada sin preconcentración fue:

$$A = 0,0012 C + 0,0007 \quad (1)$$

donde A es la absorbancia y C es la concentración de As en $\mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,9958. La curva de calibración obtenida después de la preconcentración para la determinación de As por ETAAS en muestras de agua, suelo y sedimento fue lineal de 0,05 a 13 $\mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,9975 (Figura 3.1.18). La ecuación de regresión fue:

$$A = 0,0431 C + 0,034 \quad (2)$$

Por lo tanto, se obtuvo un EF de 35. Los límites de detección (LODs) y cuantificación (LOQs) se calcularon en función de la señal en la intersección más tres veces la desviación estándar de la solución en blanco en la ecuación de regresión [34]. Los LODs fueron 17 ng L^{-1} , 0,11 ng g^{-1} y 0,13 ng g^{-1} para As(V) y 20 ng L^{-1} , 0,13 ng g^{-1} y 0,14 ng g^{-1} para As(III) en muestras de agua, suelo y sedimento, respectivamente. Asimismo, los LOQs fueron 56 ng L^{-1} , 0,38 ng g^{-1} y 0,41 ng g^{-1} para As(V) y 66 ng L^{-1} , 0,43 ng g^{-1} y 0,46 ng g^{-1} para As (III) en muestras de agua, suelo y sedimento, respectivamente. En las condiciones optimizadas, las desviaciones estándar relativas (RSDs) resultantes del análisis de 6 réplicas de 5 mL de solución estándar de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As fueron 3,1% y 3,9% para As(V) y As(III), respectivamente. Finalmente se obtuvo una eficiencia de extracción del 99% después de la optimización de todas las variables involucradas en el método propuesto (Tabla 3.1.1).

Además, los resultados del método MIL-LLME propuesto y otros que utilizan ILs clásicos como solventes de extracción se presentan en la Tabla 3.1.4. El método propuesto presenta un rango lineal más extendido que otros métodos LLME para As. Además, la metodología desarrollada obtuvo LODs que son comparables o mejores que otros trabajos reportados anteriormente.

Adicionalmente, se estudió el grado de sustentabilidad del método propuesto y se comparó con los trabajos indicados en la Tabla 3.1.4 utilizando el software AGREE, el cual se basa en los 12 principios de la química analítica verde [19]. Para el análisis,

se consideraron las etapas de tratamiento de la muestra, separación y extracción de las especies y detección elemental. AGREE establece un valor numérico de penalización (de 0 a 1, siendo 1 el puntaje más alto posible de sustentabilidad) a factores relacionados con todo el proceso analítico, incluidas las cantidades y toxicidad de los solventes o reactivos utilizados, generación de residuos, muestras analizadas por hora, automatización y miniaturización. De acuerdo a los resultados se obtuvo un valor de 0,36 el cual es igual o comparable con respecto a los métodos reportados en la literatura detallados en la Tabla 3.1.4. Los bajos valores obtenidos en estos trabajos podrían explicarse por el hecho de que, aunque se aplicaron métodos miniaturizados y se sustituyeron los solventes orgánicos volátiles e inflamables por ILs como fase de extracción, se necesitaron solventes orgánicos para diluir la fase extractante o como agentes dispersantes. Además, no se emplearon reactivos obtenidos a partir de fuentes renovables y optaron por la técnica de detección ETAAS, la cual consume una cantidad significativa de energía. Por lo tanto, resulta crucial considerar para las tendencias futuras el desarrollo de métodos automatizados, que consuman poca energía y hagan uso de reactivos biodegradables, a fin de mejorar su eficiencia y sostenibilidad.

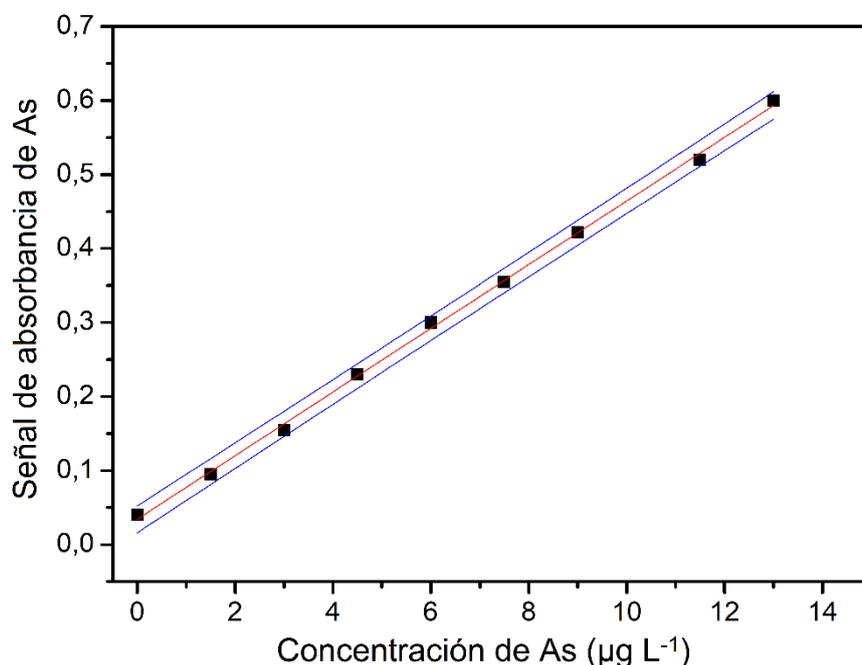


Figura 3.1.18 Gráfica de calibración para As obtenida con el método de preconcentración propuesto y bajo las condiciones experimentales indicadas en la Tabla 3.1.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

Tabla 3.1.4 Métodos analíticos reportados en la literatura para la determinación de As por IL-LLME-ETAAS.

Extractante (cantidad)	Agente quelante	Dispersante (volumen)	Análisis de especiación	Separación magnética	LOD (ng L ⁻¹)	RSD (%)	EF ^a	Rango lineal (μg L ⁻¹)	Muestra (volumen)	Gráfico (AGREE)	Ref.
[P _{6,6,6,14}]Cl (10 μL)	MHPA ^e	N.R. ^b	Si	No	2,0	4,1	125	0,01-3,8	Agua de mar, mineral, subterránea, grifo y río (5 mL)		[35]
[C ₈ mim][PF ₆] ^c (40 mg)	DDTC	Metanol (100 μL)	Si	No	5	4,7	46	0,05-6	Vino (4 mL)		[28]
[P _{6,6,6,14}][FeCl ₄] (50 μL)	DDTP	Acetonitrilo (100 μL)	No	Si	12	3,9	110	0,02-5	Miel (5 mL)		[16]
[C ₄ mim][FeCl ₄] ^d (75 μL)	APDC	N.R. ^b	Si	Si	29	2,5	N.R. ^b	0,05-10	Agua, suelo y sedimento (10 mL)		[18]
[C ₄ mim][FeCl ₄] (65 μL)	MHPA	N.R. ^b	Si	Si	7	2,9	166,7	0,02-10	Vegetales (10 mL)		[3]

[P _{6,6,6,14}][FeCl ₄] (60 µL)	APDC	N.R. ^b	Si	Si	17	3,1	35	0,05-13	Agua, suelo y sedimento (5 mL)		Método propuesto
---	------	-------------------	----	----	----	-----	----	---------	--------------------------------------	---	---------------------

^aEF: calculado como la relación de las pendientes de las curvas de calibración para As con y sin el paso de preconcentración.

^bN.R.: No reportado

^cHexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazolio

^dTetracloroferrato de 1-butil-3-metilimidazolio

^eHeteropoliácido de molibdeno

3.1.11 Estudios de exactitud y determinación de As en muestras de agua, suelo y sedimento

La metodología analítica propuesta se empleó para la determinación de As(III) y As(V) en varias muestras de agua, suelo y sedimento con matrices de diversa composición. Las concentraciones halladas estuvieron en el rango de 1,20-2,71 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(III) y $<\text{LOD}$ -1,60 $\mu\text{g L}^{-1}$ para As(V) (Tabla 3.1.5). El método propuesto fue confiable y eficiente para el análisis de especiación de As inorgánico, incluso en matrices complejas como las de agua de mar, suelo y lixiviado de sedimento. Cabe mencionar también, que las concentraciones encontradas en este trabajo coincidieron con las reportadas previamente por otros autores para muestras de agua, suelo y sedimentos con matrices similares [18, 24, 36].

Además, se realizó un estudio de recuperación como una alternativa válida en el análisis de especiación elemental para evaluar el efecto de matriz [37]. Por tanto, se realizaron estudios de recuperación a tres niveles de concentración de As en todas las muestras en estudio. Los valores de recuperación obtenidos en este trabajo estuvieron en el rango de 90,0-105% para As(III) y 91,1-105% para As(V) (Tabla 3.1.5), lo que indicó que el método MIL-LLME fue selectivo y confiable para la determinación de especies inorgánicas de As en muestras de agua, suelo y sedimento.

Tabla 3.1.5 Resultados del análisis de especiación de As en muestras de agua, suelo y sedimento.

Muestra	As(III)			As(V)		
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%) ^a	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%) ^a
Agua de mar	0	1,55 ± 0,10	---	0	N.D. ^b	---
	3	4,71 ± 0,18	105	3	2,78 ± 0,11	92,7
	6	7,55 ± 0,29	100	6	5,60 ± 0,17	93,3
	9	10,7 ± 0,41	102	9	8,54 ± 0,26	94,9
Agua de río	0	1,73 ± 0,11	---	0	0,95 ± 0,10	---
	3	4,85 ± 0,18	104	3	4,10 ± 0,12	105
	6	7,47 ± 0,29	95,7	6	7,13 ± 0,22	103
	9	10,8 ± 0,42	101	9	9,95 ± 0,30	100
Agua de grifo	0	2,21 ± 0,13	---	0	N.D. ^b	---
	3	5,15 ± 0,20	98,0	3	3,14 ± 0,13	105
	6	7,99 ± 0,31	96,3	6	6,15 ± 0,19	102
	9	11,2 ± 0,43	99,9	9	9,30 ± 0,28	103
	0	1,30 ± 0,12	---	0	1,60 ± 0,12	---

Agua de dique	3	4,30 ± 0,16	100	3	4,57 ± 0,14	99,0
	6	7,19 ± 0,28	98,2	6	7,6 ± 0,23	100
	9	10,2 ± 0,39	98,9	9	10,3 ± 0,32	96,7
	0	1,20 ± 0,15	---	0	1,60 ± 0,10	---
Agua subterránea	3	3,90 ± 0,18	90,0	3	4,40 ± 0,15	93,3
	6	7,00 ± 0,26	96,7	6	7,30 ± 0,22	95,0
	9	9,39 ± 0,36	91,0	9	9,80 ± 0,30	91,1
	0	2,71 ± 0,13	---	0	N.D. ^b	---
Lixiviado de sedimento	3	5,80 ± 0,22	103	3	3,04 ± 0,11	101
	6	8,77 ± 0,34	101	6	5,98 ± 0,18	99,7
	9	11,7 ± 0,44	99,9	9	9,10 ± 0,28	101
	0	2,04 ± 0,11	---	0	N.D. ^b	---
Lixiviado de suelo	3	5,01 ± 0,19	99,0	3	3,05 ± 0,13	102
	6	7,76 ± 0,30	95,3	6	6,15 ± 0,19	102
	9	10,8 ± 0,41	97,3	9	9,10 ± 0,28	101

^a[(Hallado-Base)/Adición] x 100

^bNo detectado

3.1.12 Conclusiones específicas

En este trabajo se presenta un método eficiente basado en la técnica LLME y la implementación combinada de dos MILs para separar y determinar las especies de As(III) y As(V) en diferentes tipos de muestras complejas de agua, suelo y sedimento. La metodología propuesta proporcionó una alta eficiencia de extracción y LODs en el orden de unos pocos ng L⁻¹. Además, la técnica de LLME asociada con ETAAS fue altamente selectiva y sensible para la separación de especies inorgánicas de As ante el empleo del MIL [P_{6,6,6,14}]₃[DyCl₆] y APDC como agente complejante de As(III).

Adicionalmente, se demostró que el MIL [P_{6,6,6,14}][FeCl₄] es un excelente solvente de extracción para ambas especies inorgánicas de As sin requerir agentes complejantes orgánicos para la derivatización del analito. Esto además evitó la aplicación de etapas tediosas para el tratamiento de muestras previo a la determinación de As inorgánico total, tales como el uso de reactivos oxidantes o tratamientos térmicos. Asimismo, la aplicación del MIL [P_{6,6,6,14}][FeCl₄] aportó simplicidad al método debido a que se pudo separar fácilmente de la solución acuosa por acción de un campo magnético externo proporcionado por una varilla magnética, evitando así una de las etapas más lentas de la aplicación de la técnica LLME como es la centrifugación para alcanzar la separación de las fases. De esta manera, el método propuesto puede considerarse una herramienta valiosa para el análisis de especiación de As a niveles ultratrazas, especialmente en laboratorios de rutina dedicados al control ambiental, en donde se requieren métodos prácticos, de bajo costo y con posibilidad de ser realizados por analistas con una formación básica.

3.2 Análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua asistido por un líquido iónico magnético

3.2.1 Introducción

El Sb es un elemento tóxico que se encuentra en el ambiente y se origina a partir de fuentes naturales y antropogénicas. La exposición prolongada a este elemento genera diversos efectos como daño en el sistema respiratorio, incluyendo neumoconiosis y cáncer de pulmón [38]. Con respecto a sus especies, el Sb(III) se adsorbe más fuertemente que el Sb(V) sobre la superficie de diversos minerales, especialmente óxidos e hidróxidos que contienen Fe(III) y Mn(IV) a valores de pH entre 2 y 10. En consecuencia, la movilidad y la biodisponibilidad de Sb(V) en el ambiente es mayor que la observada para Sb(III) [39]. Con respecto a la toxicidad del elemento, ha sido reportado que las especies inorgánicas de Sb son más tóxicas que sus compuestos orgánicos. Además, el Sb(III) es al menos 10 veces más tóxico que Sb(V). Considerando entonces la dependencia que existe en el comportamiento del Sb en el ambiente, sus efectos en sistemas biológicos, acumulación y toxicidad, entre otros aspectos, con sus diferentes especies químicas, queda claro que el análisis de especiación de este elemento es muy necesario para evaluar completamente los riesgos potenciales asociados a su presencia en diversos sistemas. Más aún, la determinación de Sb desde bajos niveles de concentración es un aspecto de suma relevancia y que demanda tener disponibilidad de métodos analíticos de alta sensibilidad y selectividad [38].

Con el objetivo de realizar una determinación exacta y sensible de Sb a niveles de ultratraza (concentración de este elemento que suele hallarse en muestras de agua), se requiere un paso de preconcentración acoplado a una técnica de detección instrumental. De hecho, se han reportado varios métodos analíticos basados en técnicas de LLME para la preconcentración de Sb utilizando diferentes detectores, incluidos fluorescencia de rayos X de reflexión total (TXRF) [40], vaporización electrotérmica acoplado a ICP-MS (ETV-ICP-MS) [41], ICP-OES [42] y ETAAS [43]. Se han utilizado diferentes solventes y materiales en fase sólida para la preparación de muestras para análisis elemental. Sin embargo, se han propuesto ILs como solventes alternativos en técnicas de microextracción para la determinación de metales, evitando el gran consumo y generación de compuestos volátiles e inflamables [44].

Sin embargo, la mayoría de los métodos de microextracción para la determinación de Sb reportados en la literatura requieren un paso de centrifugación para la separación de fases, lo que aumenta el tiempo total de análisis. Consecuentemente, los MILs se han propuesto como solventes de extracción alternativos en LLME debido a que pueden recolectarse y separarse fácilmente de la matriz líquida mediante un imán externo, evitando así un paso de centrifugación [12]. Los MILs han sido ampliamente utilizados en técnicas de LLME para la preconcentración y determinación de biomoléculas y analitos orgánicos [14, 15]. Además, se han aplicado MILs de tipo fosfonio como solventes de extracción en LLME para la preconcentración de metales [16, 45]. Sin embargo, el uso de esta clase de MIL ha sido escasamente explorado en el análisis de especiación [46] mientras que varios trabajos han informado solo el uso del MIL basado en el catión imidazolio para el análisis de especiación elemental [3, 18].

En la presente sección del trabajo de tesis doctoral, se presenta el desarrollo de un método analítico basado en la técnica LLME empleando un MIL para la eficiente y selectiva determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua por la técnica ETAAS. En la metodología propuesta, se utilizó DDTP como agente complejante para Sb(III) y el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ para la extracción y preconcentración del complejo Sb(III)-DDTP presente en la solución acuosa. La óptima eficiencia de extracción se obtuvo mediante la realización de un estudio multivariado, minimizando el número de experimentos y, por lo tanto, el consumo de reactivos, costo y tiempo necesarios. Este trabajo informa la primera aplicación de MIL para la exitosa determinación de especies inorgánicas de Sb a niveles ultratrazas en muestras de agua de diversos orígenes. Adicionalmente, se evaluó el grado de sustentabilidad del método propuesto y se comparó con otros trabajos reportados en la literatura basados en la aplicación de ILs para la extracción y determinación de Sb, con el uso del software AGREE [19].

3.2.2 Microextracción y preconcentración de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua

Se presenta a continuación el procedimiento analítico implementado en este trabajo de tesis doctoral para la separación y determinación de especies inorgánicas de Sb. Las siguientes secciones se dedican a discutir en profundidad los experimentos relacionados con su desarrollo. Básicamente, se mezcló un volumen de 6 mL de muestra o $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de solución estándar de Sb(III) con 1 mL de HCl al 37% (v/v) (concentración final de HCl de 2 mol L^{-1}) y 12 μL de solución de DDTP $3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, dejando reposar por 5 min para obtener el complejo Sb(III)-DDTP. Posteriormente, se añadieron 20 μL de NaCl al 30% (p/v) y 10 μL de acetonitrilo para ajustar la fuerza iónica

y dispersar la fase de extracción, respectivamente. Luego, se realizó la extracción y preconcentración de Sb(III) utilizando 45 μL del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, los cuales fueron agregados rápidamente a la solución de muestra mediante una micropipeta. Después de agitar con vórtex durante 4 min, la fase MIL se recogió completamente sumergiendo una varilla magnética directamente en la solución de muestra. Posteriormente, la varilla se transfirió a otro tubo para diluir la fase MIL en 140 μL de CHCl_3 . Luego, se inyectaron 15 μL de esta solución en el horno de grafito de ETAAS para la detección de Sb (condiciones que se muestran en la Tabla 3.2.1). La calibración se realizó con estándares acuosos preparados en las mismas condiciones y sometidos al procedimiento de extracción que las soluciones muestra analizadas en este trabajo. En la Figura 3.2.1 se puede observar un esquema del método MIL-LLME-ETAAS propuesto para el análisis de especiación de Sb inorgánico.

3.2.2.1 Determinación de Sb inorgánico total

La reducción selectiva de Sb(V) a Sb(III) se realizó previamente al paso de preconcentración. Se añadió un volumen de 120 μL de solución de KI al 50% (p/v) a los 6 mL de muestra. Se dejó reposar la mezcla durante 5 min y se determinó el Sb inorgánico total siguiendo el mismo método indicado para el Sb(III). Las condiciones optimizadas se resumen en la Tabla 3.2.1.

3.2.2.2 Determinación de Sb(V)

El Sb(V) se determinó mediante la diferencia entre la concentración de Sb inorgánico total y la concentración de Sb(III).

Tabla 3.2.1 Condiciones experimentales para el análisis de especiación de Sb.

Condiciones de extracción para Sb(III)	
Volumen de muestra	6 mL
Concentración de HCl	2 mol L ⁻¹
Concentración de DDTP	6 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹
Tipo y volumen de MIL	$[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, 45 μL
Volumen de diluyente	140 μL de CHCl_3
Tipo y tiempo de agitación	Vórtex, 4 min
Tipo y volumen de dispersante	Acetonitrilo, 10 μL
Tipo y concentración de sal	NaCl, 0,1% (p/v)
Concentración de KI	1% (p/v) (solo para extracción total de Sb)

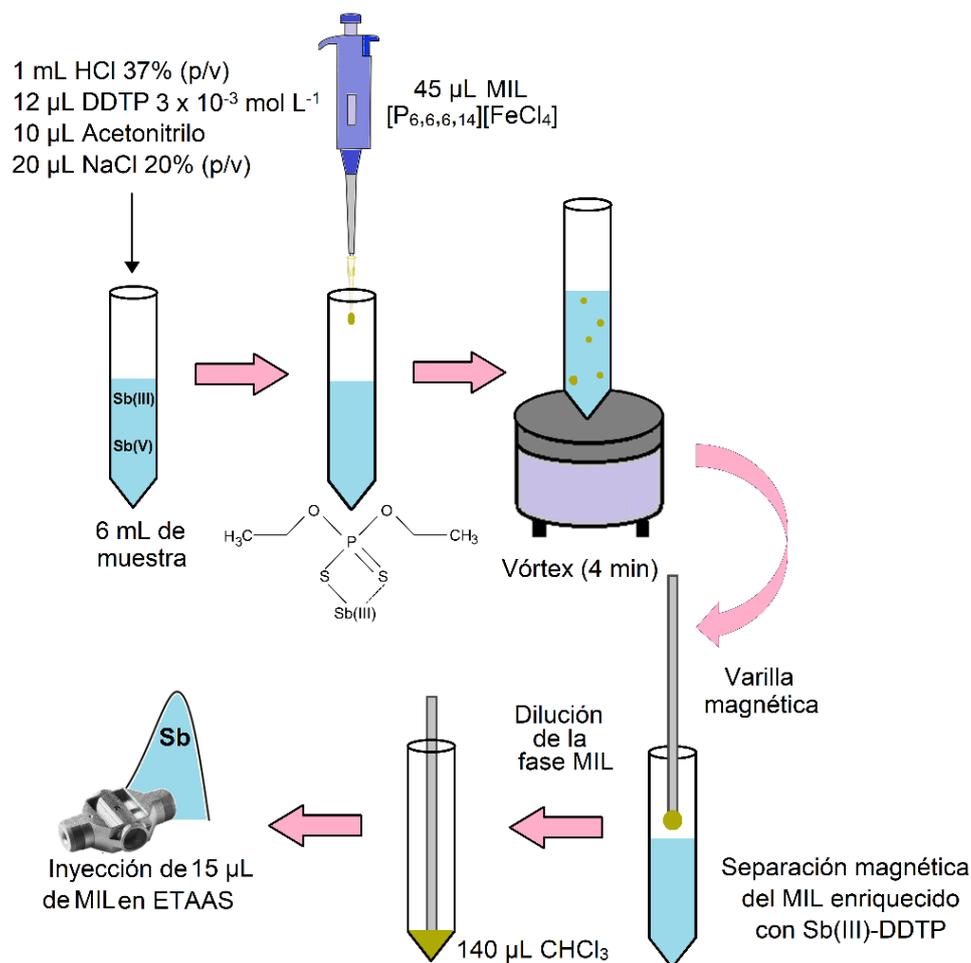


Figura 3.2.1 Diagrama esquemático del método MIL-LLME-ETAAS desarrollado para la determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua.

3.2.3 Estudio comparativo y selección de líquidos iónicos magnéticos

En este trabajo, se evaluó el rendimiento alcanzado por diferentes MILs de tipo fosfonio conteniendo diversos aniones con elementos paramagnéticos, incluidos $[\text{FeCl}_4]^-$, $[\text{DyCl}_6]^{3-}$ y $[\text{MnCl}_4]^{2-}$ (que proporcionan alta susceptibilidad magnética) [47], los cuales fueron estudiados como solventes de extracción. Las extracciones se desarrollaron a diferentes concentraciones de HCl entre 0,1 y 3 mol L^{-1} , utilizando APDC (a una concentración de $6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) como agente quelante de Sb(III) y los MILs $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$, $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ y $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$. Se observó en este punto del desarrollo del método que las eficiencias máximas de extracción logradas para cada MIL a la concentración óptima de HCl fueron aproximadamente 85% a 2 mol L^{-1} HCl, 70% a 0,5 mol L^{-1} HCl y 60% a 0,5 mol L^{-1} HCl, respectivamente (Figura 3.2.2).

Por otro lado, la especie Sb(V) no fue extraída por ninguno de los MILs ensayados en este trabajo, lo cual expuso la selectividad de la metodología que luego fue evaluada y sus resultados más adelante en esta sección del trabajo de tesis. Este resultado puede explicarse ya que la complejación por APDC solo es selectiva hacia la especie Sb(III) pero además se confirmó que la interacción directa entre los MILs y la especie Sb(V) no ocurrió [48]. En este sentido, los resultados indicaron que el Sb no formó pares iónicos con los MILs en estudio y, por ende, la extracción directa de Sb no fue factible. Por otro lado, es importante mencionar que las altas viscosidades de $[P_{6,6,6,14}]_3[DiCl_6]$ y $[P_{6,6,6,14}]_2[MnCl_4]$ hicieron impráctica sus aplicaciones (dispersión, manipulación, separación), por lo que debieron disolverse en un solvente orgánico apropiado. Por lo tanto, la extracción de la fase orgánica utilizando dichos MILs se volvió compleja con el uso de un imán y fue necesaria la aplicación de un paso de centrifugación para la separación completa de la fase MIL. Por lo tanto, el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ fue seleccionado para desarrollar el método propuesto basado en la técnica DLLME. En la Figura 3.2.3, se muestra la separación del MIL de Fe con una varilla magnética.

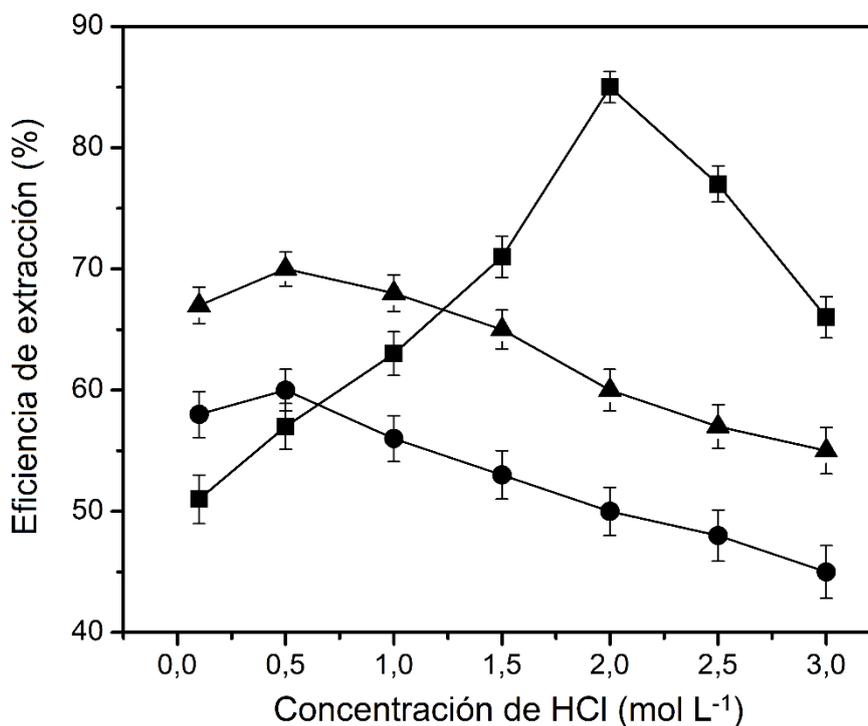


Figura 3.2.2 Efecto de la concentración de HCl en la eficiencia de extracción de Sb(III) utilizando $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ (■), $[P_{6,6,6,14}]_3[DiCl_6]$ (▲) y $[P_{6,6,6,14}]_2[MnCl_4]$ (●) como solventes de extracción. Otras condiciones se mencionan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

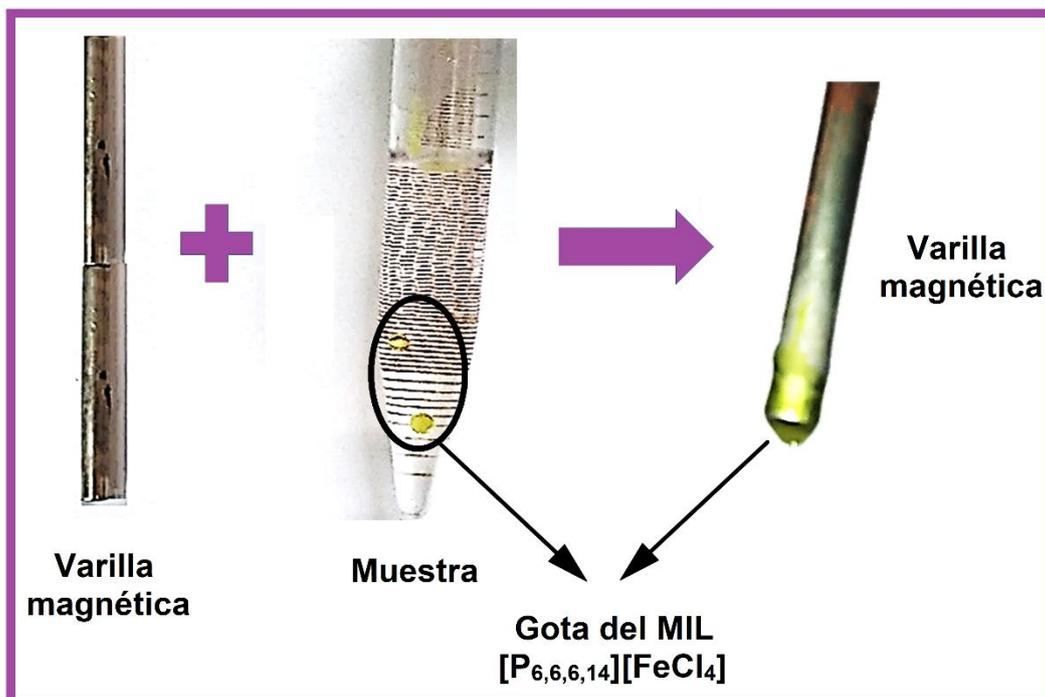


Figura 3.2.3 Separación de las gotas del MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ con una varilla magnética.

3.2.4 Selección del reactivo quelante

Para lograr una alta selectividad y aumentar la hidrofobicidad de los analitos haciendo factible su partición en la fase MIL, se evaluaron diferentes reactivos quelantes, incluidos APDC, DDTC y DDTP a una concentración de $6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (aproximadamente una relación molar de analito a reactivo 1:100). Este estudio fue desarrollado con el uso del MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ como fase extractante a 2 mol L^{-1} de HCl. Se obtuvieron eficiencias de extracción de 83,1%, 86,0% y 93,8% para Sb(III) con DDTC, APDC y DDTP, respectivamente (Figura 3.2.4) mientras que la especie de Sb(V) no se extrajo. Aunque no hubo diferencias notables en la eficiencia de extracción de Sb entre los reactivos quelantes utilizados en este trabajo, es importante señalar que el DDTP tiene una alta estabilidad en medios ácidos en comparación con los dietilcarbamatatos [49]. Por lo tanto, se seleccionó DDTP como reactivo complejante para experimentos posteriores.

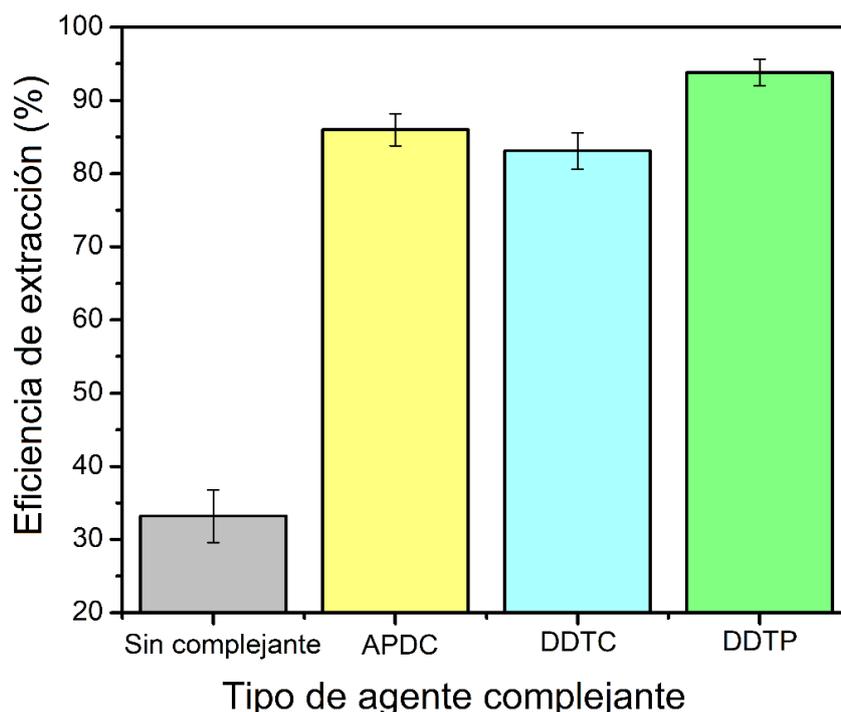


Figura 3.2.4 Efecto de diferentes agentes complejantes en la eficiencia de extracción de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) (a 2 mol L^{-1} de HCl). Otras condiciones se indican en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

El efecto del pH sobre la formación del complejo Sb(III)-DDTP se estudió en condiciones fuertemente ácidas con el uso de HCl o H_2SO_4 en el rango de 0,5 a 3 mol L^{-1} . El MIL se descompuso y se solubilizó completamente en la solución acuosa en todas las concentraciones de H_2SO_4 , probablemente debido a la mayor reactividad química que presente este ácido con respecto al HCl. Por otro lado, se obtuvo una óptima eficiencia de extracción de 93,8% ajustando el medio a 2 mol L^{-1} de HCl (Figura 3.2.5). Como se mencionó anteriormente en este trabajo, el complejo Sb(III)-DDTP es estable en medio de HCl, mientras se conoce que el Fe(III), uno de los principales componentes del MIL utilizado para la extracción, es estable a valores de pH inferiores a 2 [16]. Por lo tanto, se seleccionó una concentración de HCl de 2 mol L^{-1} para los siguientes experimentos.

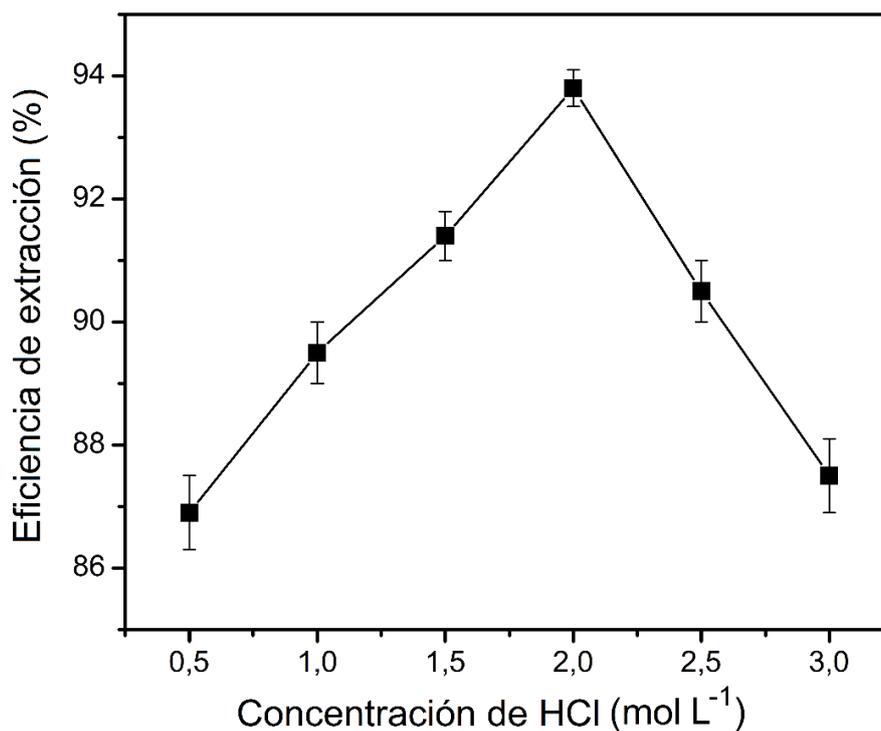


Figura 3.2.5 Efecto de la concentración de HCl sobre la eficiencia de extracción de Sb(III) del método MIL-DLLME. Otras condiciones se indican en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

Entre todos los agentes complejantes ensayados en este trabajo, el DDTP produjo una mayor eficiencia de extracción que otros quelantes. Sin embargo, la concentración del agente complejante es otro parámetro crucial que debe optimizarse en los métodos basados en DLLME. En este trabajo, se evaluó el efecto de la concentración de DDTP para determinar la completa formación del complejo desde una concentración de $0,05$ a 50×10^{-6} mol L⁻¹ (equivalente al rango de relación molar de analito a reactivo de 1:1–1:1000). La mayor eficiencia de extracción se obtuvo con una concentración de 6×10^{-6} mol L⁻¹ de DDTP, lo cual equivalió a una relación molar de analito a reactivo de 1:100 aproximadamente (Figura 3.2.6). De este modo, a concentraciones más bajas, es posible que no se alcance una formación completa del complejo Sb(III)-DDTP debido a que una concentración más elevada del reactivo complejante es necesaria para el desplazamiento del equilibrio. Por otro lado, concentraciones mayores del reactivo complejante podrían causar efectos de interferencia durante las mediciones en ETAAS debido al mayor aporte de materia orgánica en los extractos o incluso podría deberse a un efecto competitivo entre el complejo y el reactivo por su extracción en el MIL.

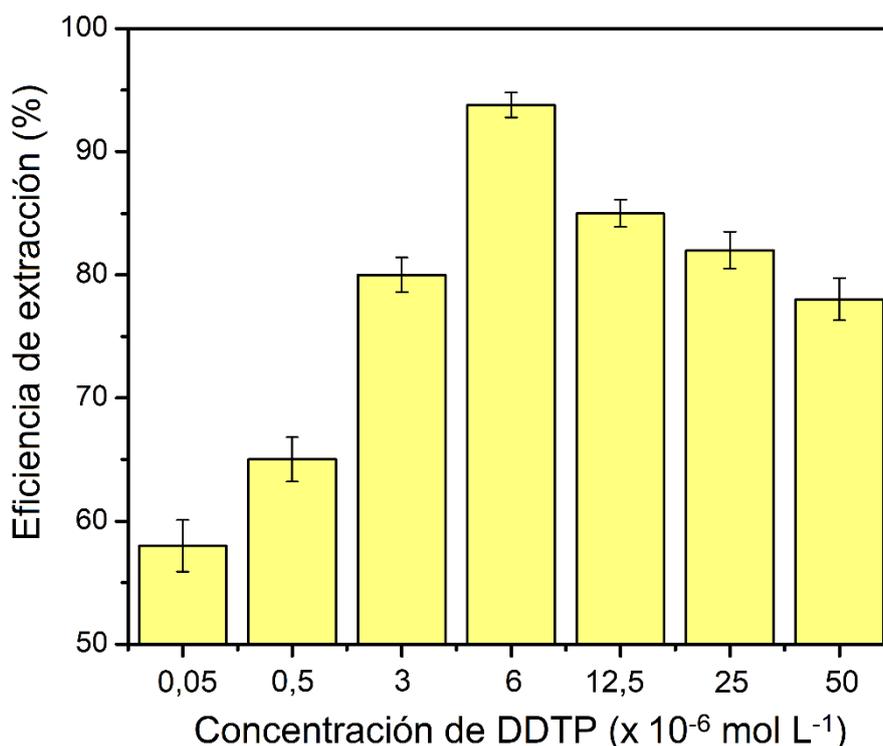


Figura 3.2.6 Influencia de la concentración de DDTP sobre la eficiencia de extracción de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III) utilizando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ como fase de extracción en 6 mL de muestra. Otras condiciones se mencionan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.2.5 Optimización multivariada de los parámetros de microextracción

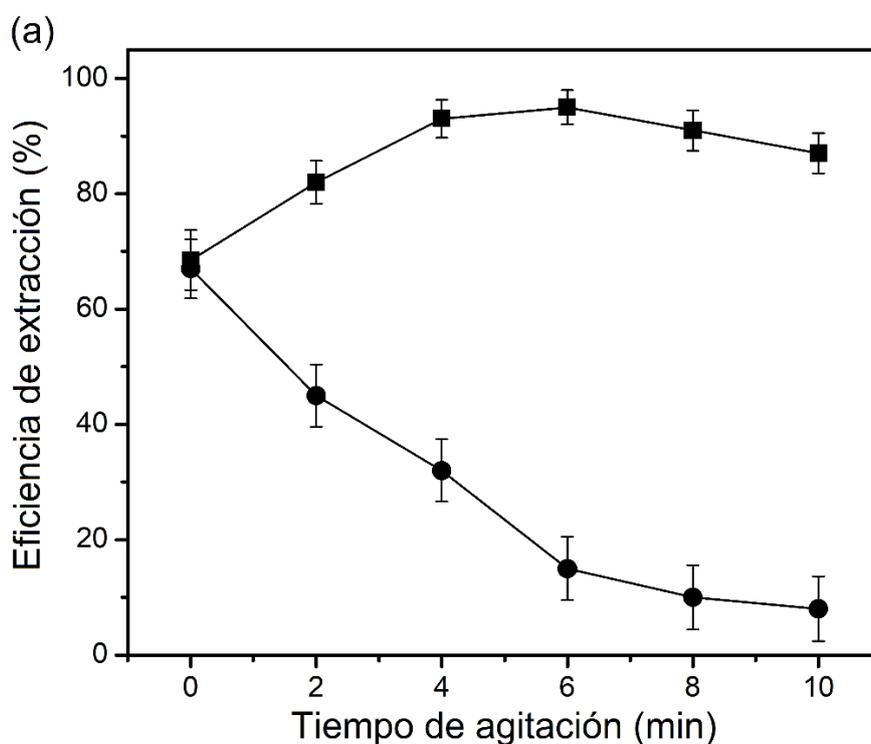
En este trabajo se desarrolló un estudio multivariado de diferentes variables que potencialmente podrían influir sobre la eficiencia de extracción de Sb(III) utilizando el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$. Se aplicó el software Design Expert® 7.0 (StatEase Inc., Minneapolis, USA) para procesar todos los resultados y realizar el análisis estadístico.

3.2.5.1 Estudio de variables categóricas

Se aplicaron diversas pruebas para preseleccionar los factores óptimos de cada variable categórica que podrían afectar la eficiencia de extracción de Sb(III) con el método propuesto. Se estudió el efecto del tipo de agitación (vórtex y ultrasonido) en el rango de 0 a 10 min y luego se analizaron diferentes agentes dispersantes (acetona, acetonitrilo, etanol y metanol) en el rango de 0 a 50 μL . En una etapa final, se investigó la influencia de la fuerza iónica, debido a que la adición de sal puede incrementar el rendimiento de extracción de algunos analitos en función del efecto de desplazamiento

salino [50]. En este caso, se ensayaron diferentes sales (NaCl, NaClO₄ y NaNO₃) a una concentración final de 1,5% (p/v) cada una.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la agitación con vórtex (6 min), acetonitrilo (25 µL) como agente dispersante y NaCl (0,5% (p/v)) para ajustar la fuerza iónica, fueron las variables seleccionadas como categóricas. Otras condiciones experimentales fueron las indicadas en la Tabla 3.2.1. Como se observa en la Figura 3.2.7a, la agitación por ultrasonido fue ineficaz a diferencia de la agitación por vórtex. El efecto de la radiación ultrasónica generó alteraciones visibles en la fase MIL, incluyendo cambio de color de amarillo a blanco, solubilización parcial, pérdida del magnetismo intrínseco, reduciendo así la eficiencia de extracción. Por otro lado, el acetonitrilo aumentó la eficiencia de extracción en comparación con el resultado obtenido sin dispersante. La eficiencia de extracción alcanzada cuando se utilizó el resto de los dispersantes fue menor debido a la sobredispersión del solvente de extracción (Figura 3.2.7b). Finalmente, entre las sales ensayadas para ajustar la fuerza iónica, solo el NaCl aumentó significativamente la eficiencia de extracción en comparación con la situación experimental en ausencia de sal (Figura 3.2.7c). Después de realizar estos estudios, la eficiencia de extracción se incrementó de 93,8 a 95,0%.



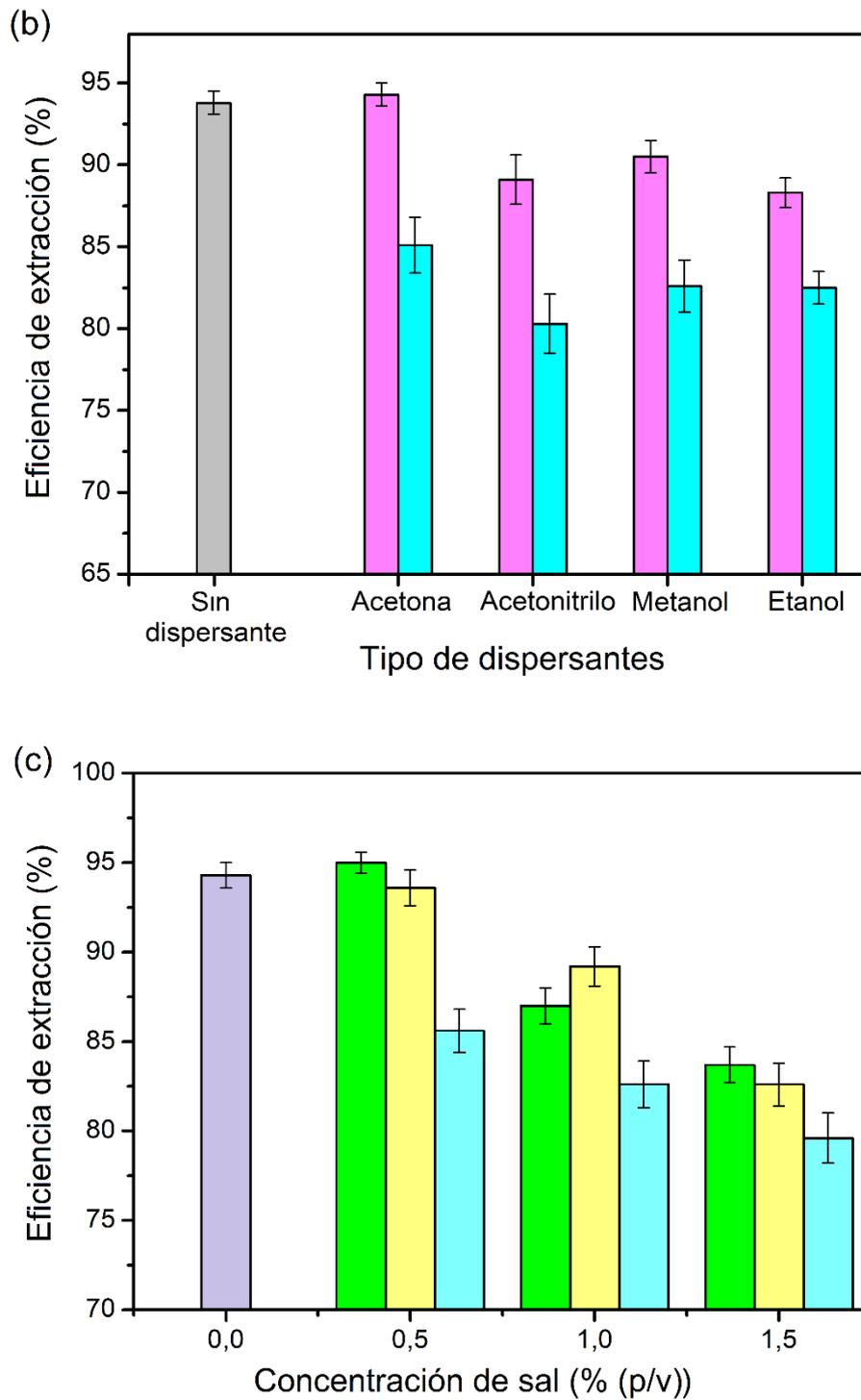


Figura 3.2.7 Estudio de los factores categóricos involucrados en el método propuesto. (a) Tipo de agitación: (■) vórtex y (●) ultrasonido. (b) Volumen de dispersantes: ■ 25 µL y ■ 50 µL. (c) Fuerza iónica: ■ Sin sal, ■ NaCl, ■ NaNO₃ y ■ NaClO₄. Otras condiciones se muestran en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.2.5.2 Selección de factores estadísticamente significativos

En la siguiente etapa, se analizaron diferentes variables numéricas mediante un estudio multivariado. Los factores e intervalos definidos para este estudio fueron: tiempo de agitación (3 a 6 min), concentración de NaCl (0 a 0,5% (p/v)), volumen de dispersante (10 a 40 μL de acetonitrilo), volumen de MIL (30 a 60 μL) y volumen de muestra (5 a 8 mL). Se determinó la especie Sb(III) midiendo la altura máxima de las señales de absorbancia obtenidas después de la preconcentración de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III). El modelo elegido en el software fue Plackett Burman y requirió un total de 15 experimentos (Tabla 3.2.2). Mediante un orden lineal se obtuvo un modelo significativo y concéntrico, cuya falta de ajuste no fue significativa. Además, no se requirió transformación de respuesta.

Tabla 3.2.2 Condiciones experimentales para la selección de factores significativos.

Ensayo	Tiempo de agitación (min)	Concentración de NaCl (% (p/v))	Volumen de dispersante (μL)	Volumen de MIL (μL)	Volumen de muestra (mL)	Respuesta
1	4,5	0,25	25	45	6,5	0,254
2	6	0	40	60	5	0,284
3	4,5	0,25	25	45	6,5	0,247
4	3	0,5	40	60	5	0,251
5	3	0,5	40	30	8	0,171
6	6	0,5	10	30	5	0,266
7	6	0	40	60	8	0,186
8	3	0,5	10	60	8	0,224
9	6	0,5	10	60	8	0,239
10	4,5	0,25	25	45	6,5	0,261
11	6	0,5	40	30	5	0,268
12	3	0	10	30	5	0,188
13	3	0	40	30	8	0,131
14	3	0	10	60	5	0,201
15	6	0	10	30	8	0,217

Luego de realizar el ensayo de ANOVA y el diagrama de Pareto proporcionados por el software, se seleccionaron las variables con efectos significativos en el modelo. Como se muestra en la Figura 3.2.8, el volumen de MIL y el volumen de dispersante no fueron variables significativas. Por lo tanto, se decidió utilizar 45 μL de MIL y minimizar el volumen de acetonitrilo como dispersante (10 μL) para los siguientes estudios. La concentración de NaCl fue una variable probablemente significativa y mostró un efecto positivo sobre la señal. Por otro lado, el tiempo de agitación y el volumen de la muestra fueron variables significativas donde el tiempo de agitación mostró un efecto positivo en la señal y el volumen de la muestra mostró un efecto negativo en la señal. Estos resultados se pueden explicar considerando que cuanto mayor sea el tiempo de agitación, se promueve una mayor transferencia de masa del analito. Por otro lado, altos volúmenes de muestra pueden causar una agitación ineficaz, disminuyendo así la eficiencia de extracción.

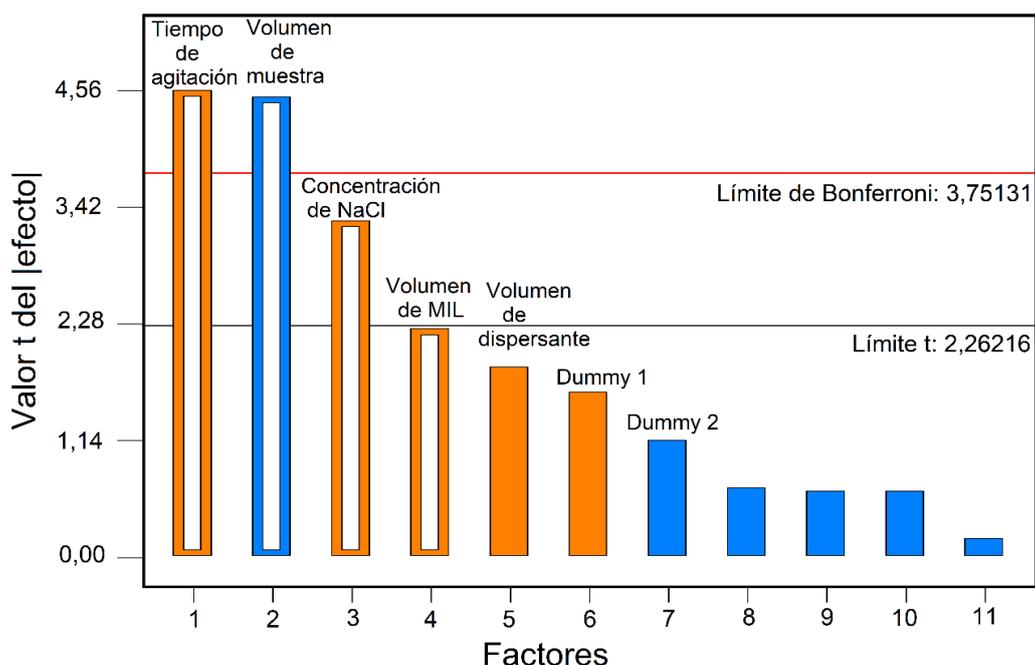


Figura 3.2.8 Diagrama de Pareto para determinar los efectos significativos de las variables en la eficiencia de extracción de Sb(III). ■ Efecto significativo positivo y ■ efecto significativo negativo. Las condiciones experimentales óptimas se enumeran en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.2.5.3 Análisis de superficie de respuesta

De acuerdo con el comportamiento del modelo obtenido en la etapa anterior, se estudiaron las variables significativas y probablemente significativa en los siguientes rangos: tiempo de agitación (4 a 6 min), volumen de muestra (5 a 7 mL) y concentración de NaCl (0,1 a 0,5% (p/v)). Se seleccionó el diseño Box-Behnken y requirió 15 experimentos (Tabla 3.2.3). Con un modelo de orden cúbico se obtuvo un modelo concéntrico y significativo. No se requirió transformación de respuesta y se obtuvo un coeficiente de variación de 1,07% con R^2 de 0,9982 y R^2 ajustado de 0,9871, demostrando una buena correlación entre la información experimental y el modelo ajustado.

Tabla 3.2.3 Condiciones experimentales para la superficie de respuesta.

Ensayo	Tiempo de agitación (min)	Volumen de muestra (mL)	Concentración de NaCl (% (p/v))	Eficiencia de extracción (%)
1	4	7	0,3	93,3
2	5	5	0,5	89,6
3	6	5	0,3	90,0
4	5	7	0,5	71,6
5	6	6	0,5	68,3
6	5	5	0,1	95,0
7	6	7	0,3	90,3
8	5	7	0,1	94,5
9	4	5	0,3	89,6
10	5	6	0,3	85,0
11	4	6	0,1	96,6
12	5	6	0,3	86,3
13	4	6	0,5	83,6
14	6	6	0,1	80,3
15	5	6	0,3	84,5

La superficie de respuesta obtenida para el sistema se presenta en la Figura 3.2.9. Los resultados mostraron que la eficiencia de extracción máxima fue de 98,0%, minimizando el tiempo de agitación a 4 min, con una concentración de NaCl de 0,1% (p/v) y usando el punto central del volumen de la muestra de 6 mL. Por lo tanto, se desarrollaron diferentes experimentos con las nuevas condiciones de extracción para verificar la eficiencia de extracción de Sb(III). Además, cabe destacar que la especie

Sb(V) no se extrajo en las condiciones experimentales previamente seleccionadas para lograr la máxima eficiencia de extracción, lo que confirma una vez más la selectividad del método.

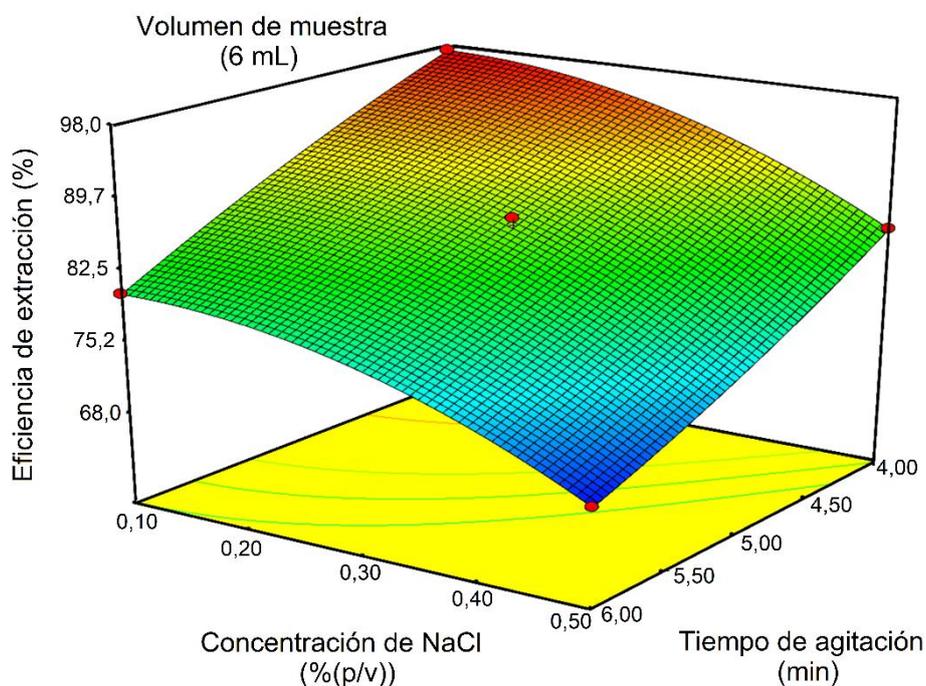


Figura 3.2.9 Gráfico de superficie de respuesta para la determinación de Sb(III). Influencia de la concentración de NaCl (% p/v) y el tiempo de agitación (min) en la eficiencia de extracción (%) de Sb con un volumen de muestra inicial constante de 6 mL. Las condiciones experimentales óptimas se muestran en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.2.6 Estudio del volumen de diluyente

Debido a la elevada viscosidad de la fase MIL, su inyección directa en el horno de grafito de ETAAS fue poco reproducible. Consecuentemente, durante la metodología fue necesario diluir dicha fase en un solvente orgánico adecuado para facilitar su inyección en el horno. Por lo tanto, una vez optimizadas las condiciones de microextracción y preconcentración, se evaluó el mezclado de la fase del MIL (45 μ L) con diferentes volúmenes de CHCl_3 dentro de un rango de 95-155 μ L para la dilución de la fase MIL. De acuerdo con los resultados, se obtuvo una máxima señal de absorbancia con 140 μ L de CHCl_3 (Figura 3.2.10).

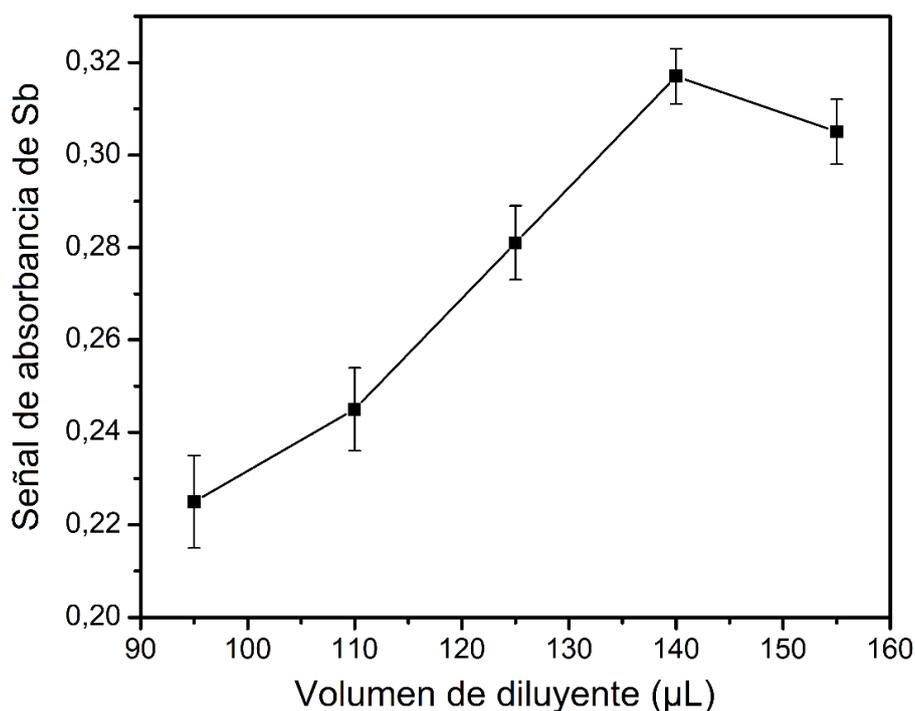


Figura 3.2.10 Estudio de la influencia del volumen de CHCl_3 como diluyente de la fase MIL sobre la señal de Sb(III). Otras condiciones se mencionan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.2.7 Reducción de Sb(V) a Sb(III)

Una vez optimizadas las condiciones de extracción, se evaluó la aplicación de KI como agente reductor para obtener el Sb presente bajo la forma de la especie Sb(III) y con el objeto permitir la extracción bajo la forma del complejo Sb(III)-DDTP para la determinación de Sb total [49]. En este estudio, se prepararon soluciones de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) que luego se sometieron al método de preconcentración propuesto. El efecto de la concentración de KI se en un rango de 0,5 a 1,5% (p/v). Se observó que las concentraciones de KI inferiores al 1% (p/v) no eran suficientes para reducir completamente el Sb(V), probablemente debido a la presencia de otras especies interferentes que podrían coexistir en la solución de muestra y pudiese reaccionar con el reductor mencionado, mientras que concentraciones superiores al 1% (p/v) de KI generaron picos de absorbancia de una forma no gaussiana. Finalmente, se seleccionó una concentración de 1% (p/v) de KI para la óptima reducción, extracción y detección del analito (Figura 3.2.11).

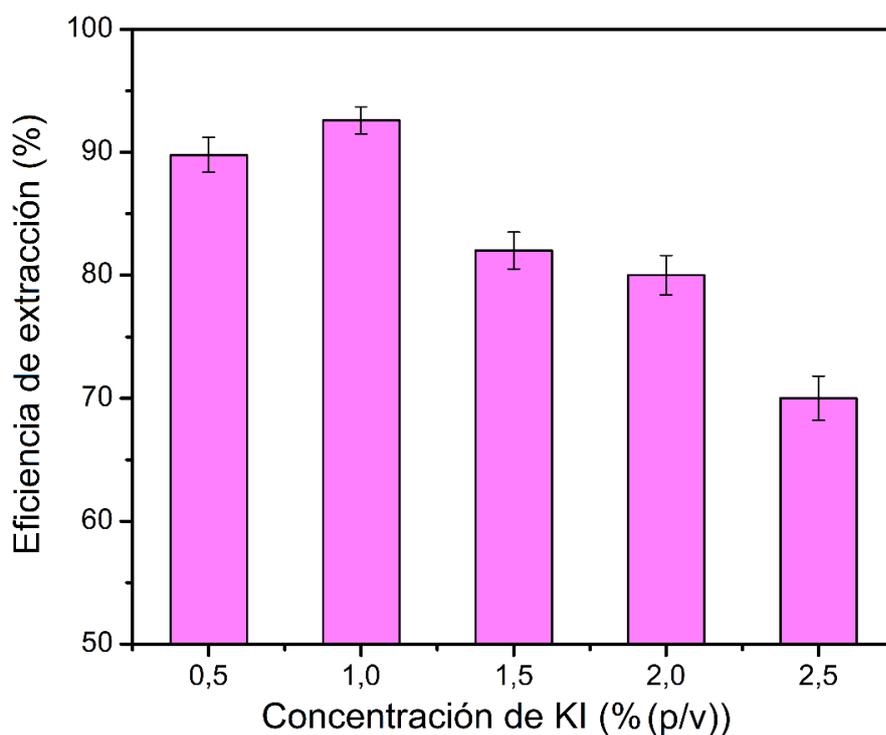


Figura 3.2.11 Efecto de la concentración de KI sobre la eficiencia de extracción de Sb total aplicando el método MIL-LLME-ETAAS. Otras condiciones se reportan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.2.8 Efecto del líquido iónico magnético sobre la detección de Sb por la técnica ETAAS

Después de haber seleccionado los valores adecuados de las variables para la óptima preconcentración y microextracción de especies inorgánicas de Sb, la optimización de las condiciones de ETAAS tuvo que realizarse con atención debido a la alta complejidad de la matriz de la fase MIL conteniendo el analito. Primero, se investigó el efecto de los modificadores químicos para reducir la interferencia espectral y aumentar la exactitud analítica. Se inyectaron diferentes volúmenes (10 a 30 μL) de diferentes modificadores químicos (300 mg L^{-1} de Mg y 500 mg L^{-1} de Pd). Por lo tanto, se seleccionó un volumen de 10 μL de Pd para este estudio, ya que normalmente proporciona una correcta estabilización térmica de Sb en el horno de grafito [30]. Posteriormente se ensayaron diferentes volúmenes de inyección de la fase MIL (diluida con 140 μL μL de CHCl_3) entre 15 y 30 μL . Durante estos experimentos, la señal de absorbancia más alta se obtuvo con 15 μL de MIL, mientras que cuando los volúmenes fueron superiores a 25 μL , se obtuvo un fondo espectral significativo. Este resultado se puede explicar debido a la interferencia espectral producida por la considerable cantidad

de Fe presente en el MIL inyectado en el horno de grafito junto con el Sb. Por tanto, se realizó un estudio para evaluar la influencia de la concentración de Fe en la señal de absorbancia de Sb a los efectos de explicar este comportamiento. Se inyectó un volumen de 15 μL de una solución acuosa estándar de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ Sb(III) con diferentes masas de Fe (similares a las inyectadas en 15 μL de fase MIL disuelta en CHCl_3). Los resultados mostraron que valores de masa superiores a 0,15 mg de Fe provocaron un efecto de interferencia en la señal de Sb (Figura 3.2.12).

Es importante mencionar que el efecto interferente se evidenció a partir de una masa de Fe de 0,15 mg, inyectada en este estudio, la cual fue menor que la masa de Fe presente cuando se inyectó la fase MIL en un horno de grafito (es decir, 0,3 mg de Fe en 15 μL de una solución conformada por 45 μL de MIL y 140 μL de CHCl_3). Este fenómeno podría explicarse al considerar que el Fe pudiese presentar un comportamiento térmico diferente dependiendo de si se inyecta en solución acuosa o si se lo hace en presencia de la fase MIL. Refuerza esta hipótesis, observaciones previas reportadas en relación a los ILs y su capacidad de volatilizarse a altas temperaturas en forma de pares iónicos estables [51]. Por tanto, la volatilización del MIL durante la etapa de pirólisis del programa de temperatura ETAAS podría ser responsable de la eliminación parcial del Fe, evitando así un efecto de interferencia significativo durante la determinación de Sb. Además, el efecto de matriz potencial causado por la alta carga orgánica de la fase MIL se superó mediante una optimización cuidadosa del programa de temperatura del horno de grafito.

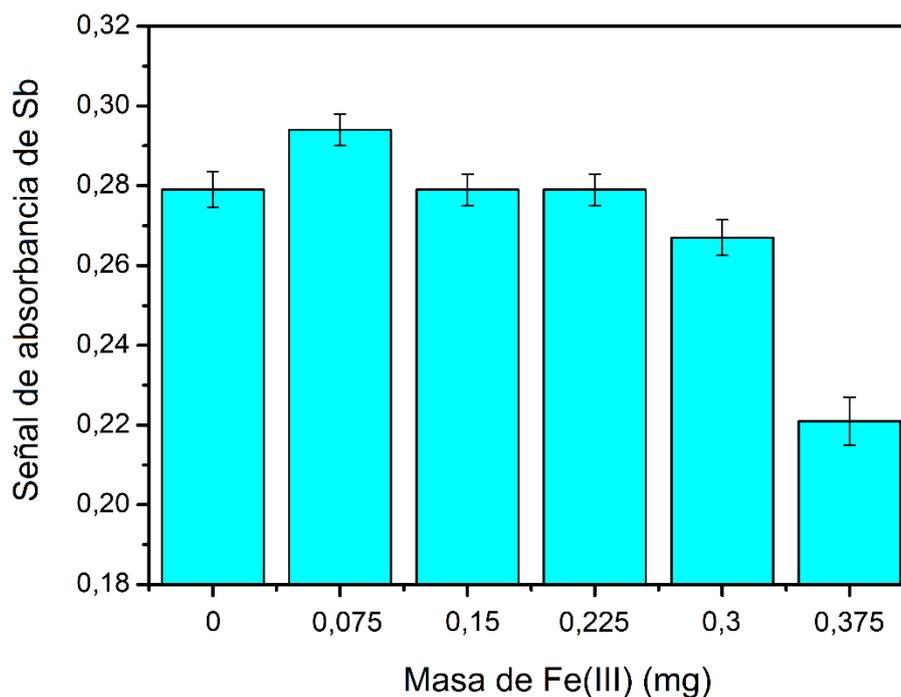


Figura 3.2.12 Efecto de la masa de Fe(III) sobre la señal de absorbancia de Sb. Se inyectó un volumen de 20 μL de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de solución estándar acuosa de Sb. Las condiciones instrumentales de ETAAS se indican en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

Para eliminar la matriz orgánica de forma gradual, sin pérdida de Sb, se estudiaron diferentes temperaturas y rampas de pirólisis y atomización del programa de horno de grafito. En un rango de 450 a 650 $^{\circ}\text{C}$ (paso de pirólisis 1) y de 1250 a 1450 $^{\circ}\text{C}$ (paso de pirólisis 2), las temperaturas óptimas de pirólisis fueron 650 $^{\circ}\text{C}$ y 1350 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente (Figura 3.2.13). En este estudio, fueron necesarias dos etapas de pirólisis para permitir una degradación gradual de la compleja matriz del MIL inyectado junto con el analito. Posteriormente, se investigó el efecto de la temperatura de atomización sobre la absorbancia de Sb en el intervalo de 2000 a 2200 $^{\circ}\text{C}$ y los mejores resultados se obtuvieron a 2100 $^{\circ}\text{C}$ (Figura 3.2.13). Se pueden observar todas las condiciones de detección en la Tabla 3.2.4. En la Figura 3.2.13 se puede observar la señal de absorbancia obtenida en las condiciones óptimas de extracción aplicando el método MIL-LLME-ETAAS propuesto sobre una solución estándar de 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb.

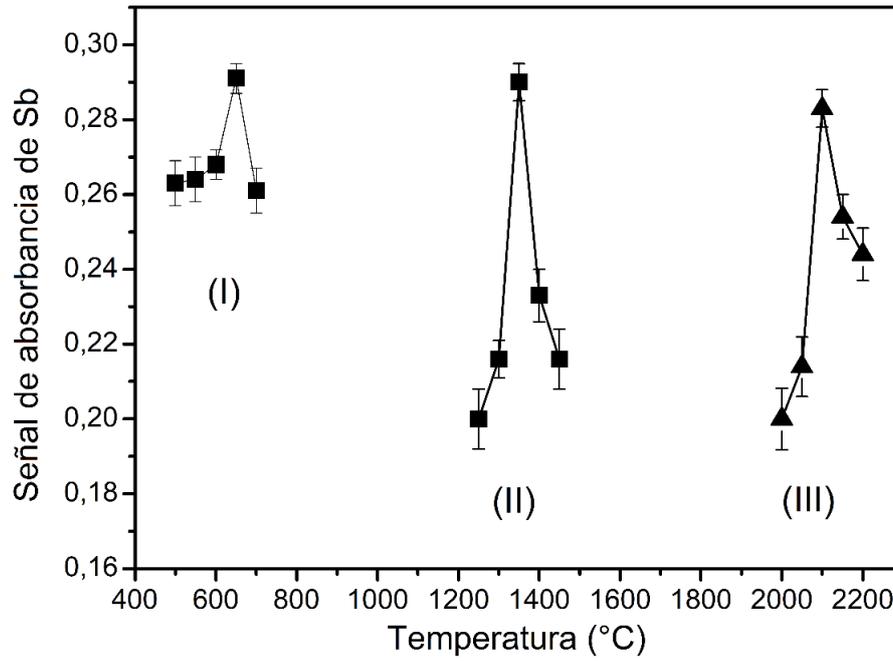


Figura 3.2.13 Evaluación de las curvas de temperatura de pirólisis (■) y atomización (▲) para una solución de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ Sb(III). (I) Etapa de pirólisis 1, (II) Etapa de pirólisis 2 y (III) Etapa de atomización. Otras condiciones se observan en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

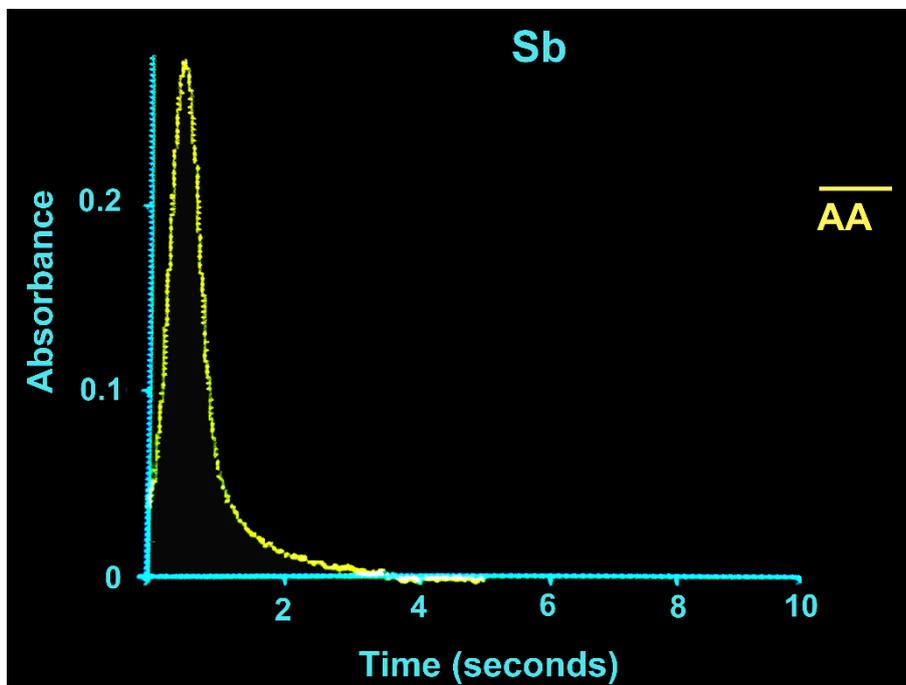


Figura 3.2.14 Señal de absorbancia obtenida al aplicar el método MIL-LLME-ETAAS propuesto en condiciones óptimas a una solución de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb.

Tabla 3.2.4 Condiciones instrumentales de la técnica ETAAS para la determinación de Sb.

Condiciones instrumentales	
Longitud de onda	217,6 nm
Ancho de banda espectral	0,7 nm
Corriente de la lámpara de cátodo hueco	25 mA
Volumen de Inyección de MIL	15 μ L
Modificadores de matriz	5 μ g Pd [como Pd(NO ₃) ₂] (10 μ L de solución de 500 mg L ⁻¹ de Pd)

Programa de temperatura del horno de grafito				
Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de espera (s)	Flujo argón (mL min ⁻¹)
Secado 1	110	1	30	250
Secado 2	130	15	30	250
Pirólisis 1	650	15	20	250
Pirólisis 2	1350	15	20	250
Atomización	2100	0	5	0
Limpieza	2400	1	2	250

3.2.9 Estudio de especies potencialmente interferentes

En el presente trabajo de tesis doctoral, se evaluó el efecto de especies potencialmente interferentes sobre la determinación de Sb realizada con el método propuesto. Para ello, se analizaron soluciones estándar de 6 μ g L⁻¹ Sb(III) conteniendo diferentes iones concomitantes que posiblemente podían encontrarse en las muestras analizadas y a las concentraciones que normalmente pueden presentarse en ellas. Se consideró que los iones concomitantes interferían si causaban una variación de \pm 5% en la señal analítica. Luego de los experimentos, los resultados obtenidos indicaron que la recuperación analítica no se vio influenciada por la presencia de los iones concomitantes hasta 100 mg L⁻¹ de Fe³⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻ y NO₃⁻. De esta manera, no se observaron efectos interferentes significativos en la determinación de Sb mediante el método MIL-LLME-ETAAS propuesto.

3.2.10 Selectividad del método analítico para la determinación de Sb(III) y Sb(V)

En este trabajo se ensayó la selectividad del método propuesto para la preconcentración y determinación de Sb(III) en presencia de Sb(V). Como se ha mencionado anteriormente, el Sb(III) se extrajo con DDTP como agente complejante a una concentración de 2 mol L^{-1} de HCl y con el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ como solvente de extracción. Por otro lado, la reducción selectiva de Sb(V) a Sb(III) se realizó con KI para determinar el Sb total, por lo que la concentración de Sb(V) se obtuvo restando de la concentración de Sb total la concentración de Sb(III). Este estudio fue desarrollado con concentraciones de ambas especies de Sb en el rango de $0,25$ a $6 \mu\text{g L}^{-1}$, resultando en relaciones molares Sb(III)/Sb(V) en el rango de $0,04$ a 24 (Tabla 3.2.5). Los resultados obtenidos evidenciaron valores de recuperación entre $94,0\%$ y 100% , lo que demuestra la alta selectividad del método MIL-LLME-ETAAS propuesto.

Tabla 3.2.5 Selectividad del método MIL-LLME-ETAAS para la determinación de especies de Sb(III) y de Sb(V).

Relación molar Sb(III)/Sb(V)	Sb(III)			Sb(V)		
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)
24	6	$5,97 \pm 0,07$	99,5	0,25	$0,25 \pm 0,02$	100
7	3,5	$3,40 \pm 0,06$	97,1	0,5	$0,47 \pm 0,04$	94,0
1	2	$2,00 \pm 0,04$	100	2	$1,99 \pm 0,04$	99,5
0,5	1	$0,95 \pm 0,03$	95,0	2	$1,96 \pm 0,05$	98,0
0,14	0,5	$0,48 \pm 0,02$	96,0	3,5	$3,44 \pm 0,08$	98,3
0,04	0,25	$0,24 \pm 0,02$	96,0	6	$5,94 \pm 0,08$	99,0

3.2.11 Rendimiento analítico

El EF se calculó a partir de la relación de pendiente de las curvas de calibración antes y después de la aplicación de la metodología MIL-DLLME propuesta. La curva de calibración obtenida correspondiente al análisis sin preconcentración se obtuvo mediante inyección directa en el horno de grafito del equipo de ETAAS de 15 μL de soluciones estándar de Sb a diferentes concentraciones. La ecuación de regresión para la curva de calibración realizada sin preconcentración fue:

$$A = 0,0006 C + 0,0001 \quad (3)$$

donde A es la absorbancia y C es la concentración de Sb en $\mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,998. Por otro lado, la curva de calibración obtenida luego de la preconcentración para la determinación de Sb por ETAAS en muestras de agua fue lineal de 0,08 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,9971 (Figura 3.2.15). La ecuación de regresión fue:

$$A = 0,0209 C + 0,0105 \quad (4)$$

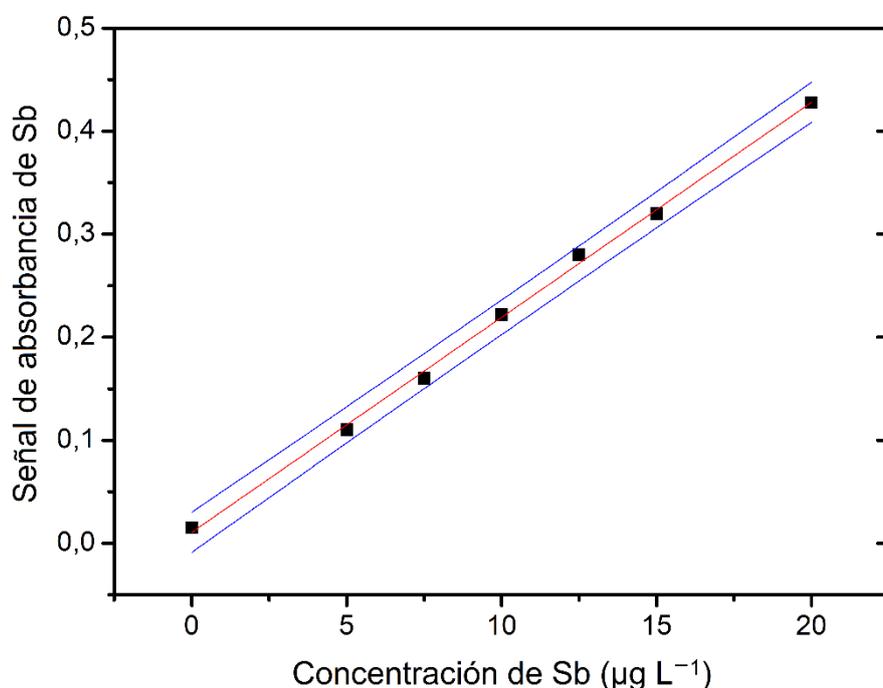


Figura 3.2.15 Curva de calibración obtenida para la determinación de Sb con el método de extracción y preconcentración propuesto y bajo las condiciones experimentales indicadas en la Tabla 3.2.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

Con base en estos resultados, se obtuvo un EF de 35 con el método propuesto. Los LODs y LOQs se obtuvieron de acuerdo con la señal en la intersección más tres veces la desviación estándar de la solución en blanco en la ecuación de regresión [34]. El LOD y LOQ fueron $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,066 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sb(III). Las RSDs resultantes del análisis de seis réplicas de 6 mL de solución estándar con $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb fueron 3,1% para Sb(III) y 3,5% para Sb(V). Además, se lograron valores de recuperación de 98,0% y 92,6% para Sb(III) y Sb(V) respectivamente, bajo las condiciones experimentales óptimas mencionadas en la Tabla 3.2.1.

La recuperación de extracción eficiencia de extracción (ER), definida como el porcentaje de analito total extraído en la fase MIL, se calculó de la siguiente manera:

$$ER = \frac{m_{MIL}}{m_{ac}} \times 100 = \frac{C_{MIL} \times V_{MIL}}{C_{ac} \times V_{ac}} \times 100 \quad (5)$$

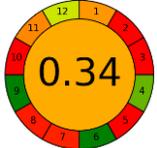
donde m_{MIL} y m_{aq} son la masa de analito en la fase MIL final y en la fase acuosa inicial, respectivamente. C_{MIL} y V_{MIL} son la concentración y el volumen del analito en la fase MIL, respectivamente, mientras C_{ac} y V_{ac} son la concentración y el volumen del analito en la solución acuosa, respectivamente [26].

Además, el rendimiento del método MIL-LLME propuesto se comparó con otros reportados en la literatura utilizando ILs como extractantes (Tabla 3.2.6). Este método proporcionó un LOD comparable o mejor que otros trabajos reportados anteriormente. Además, este trabajo informó la primera aplicación de un MIL para el análisis de especiación de Sb. El uso del magnetismo intrínseco de este compuesto simplificó la separación de fases debido a que evitó la aplicación del clásico paso de centrifugación el cual consume mucho tiempo. Además, fue posible realizar el análisis de especiación elemental sin necesidad de usar técnicas costosas y que implican un elevado consumo de solventes y tiempo como es el caso de la técnica HPLC-ICP-MS que normalmente se utiliza para los estudios de especiación.

Por último, se evaluó el grado de sustentabilidad del método propuesto y se comparó con los trabajos indicados en la Tabla 3.2.6 utilizando el software AGREE [19]. Para este estudio, se consideraron las etapas de preparación de la muestra y detección elemental. Según los resultados, se obtuvo un valor de 0,41 el cual es mejor o comparable con respecto a los métodos reportados en la literatura, los cuales se detallan en la Tabla 2.3.6. En este trabajo, se emplearon solventes a la escala de microlitros, lo que permitió minimizar la generación de residuos y, además, se utilizó un MIL en reemplazo de solventes orgánicos volátiles e inflamables para la extracción del analito. Sin embargo, es importante señalar que la técnica de detección empleada, ETAAS,

conlleva un alto consumo de energía. Además, se utilizaron acetonitrilo como agente dispersante y HCl para generar un medio fuertemente ácido, por lo tanto, estas condiciones afectaron negativamente en la sustentabilidad del método.

Tabla 3.2.6 Métodos analíticos reportados para la determinación de Sb basados en diferentes ILs y detectores.

Extractante (cantidad)	Análisis de especiación	Separación magnética	Técnica de detección	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	EF ^a	Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Muestra (volumen)	Gráfico AGREE	Ref.
[C ₄ mim][PF ₆] ^b (300 μL)	No	No	AFS	0,1	5,7	N.R. ^f	N.R. ^e	Solución acuosa (10 μL)		[52]
Aliquat 336 ^c (40% v/v)	No	No	ICP-OES	0,0025	2,5	250	0,0083-250	Bebidas (10 mL)		[42]
[C ₄ mim][PF ₆] (5 μL)	No	No	ETAAS	0,01	4,2	112	0,02-50	Agua mineral, de río y grifo (1,9 mL)		[53]
EPBED ^d	No	No	HG-AFS	0,084	<9	28	0,20-100	Agua mineral, de grifo y subterránea (100 mL)		[54]

[P _{6,6,6,14}][FeCl ₄] (45 µL)	Si	Si	ETAAS	0,02	3,1	35	0,08-20	Agua de grifo, dique, mineral, humedal, subterránea, lluvia y río (6 mL)		Método propuesto
---	----	----	-------	------	-----	----	---------	---	---	---------------------

^aEF: calculado como la relación de las pendientes de las curvas de calibración para Sb con y sin el paso de preconcentración.

^bHexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio

^cCloruro de tricaprililmetilamonio

^dBromuro de 3-(1-etilimidazolio-3-il)propil-metacrilamido y dimetacrilato de etileno

^eN.R.: No reportado

3.2.12 Determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua

El método propuesto desarrollado en esta parte del trabajo de tesis doctoral se aplicó para la determinación de Sb(III) y Sb(V) en muestras de agua con diversa composición y complejidad matricial. Se analizaron muestras de agua mineral, agua de grifo, agua de dique, agua de humedal, agua subterránea, agua de lluvia y agua de río (Tabla 3.2.7) cuyos sitios de muestreo se detallan en la sección 2.5.1.1. Las concentraciones halladas se encontraron en el rango de $<LOD-2,76 \mu g L^{-1}$ para Sb(III) y $<LOD-2,24 \mu g L^{-1}$ para Sb(V). Estos resultados concuerdan con aquellos previamente reportados por otros autores para muestras de agua con matrices similares.

La exactitud del método analítico propuesto se evaluó mediante la determinación de Sb total en un CRM, en este caso se analizó agua natural NIST SRM 1643e "Oligoelementos en agua" con una concentración declarada de Sb de $58,30 \pm 0,61 \mu g L^{-1}$. Dado que el valor de concentración certificado en el CRM fue superior al límite superior del rango lineal obtenido en este trabajo, se tuvo que aplicar una dilución de 10 veces previo al análisis. En este trabajo, la concentración total de Sb encontrada en el CRM por el método MIL-LLME-ETAAS desarrollado fue de $58,17 \pm 0,69 \mu g L^{-1}$, demostrándose una exactitud satisfactoria del método. De esta forma, dicho valor de concentración de Sb en el CRM no fue estadísticamente diferente del valor de Sb declarado en el CRM (t-student; $\alpha = 0,05$). Adicionalmente, se realizó un estudio de recuperación para evaluar la exactitud del método frente a las diferentes matrices de las muestras bajo estudio [37].

Los resultados obtenidos tras el análisis de las muestras y los estudios de recuperación realizados a tres niveles de concentración de Sb en todas las muestras en estudio se informan en la Tabla 3.2.7. Como puede apreciarse, se obtuvieron valores de recuperación en el rango de 94,5-101% para Sb(III) y 95,0-102% para Sb(V), lo que demuestra la confiabilidad del método propuesto para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua de diferentes orígenes y composiciones.

Tabla 3.2.7 Resultados del análisis de especiación Sb en muestras de agua (intervalo de confianza del 95%; n = 6).

Muestra	Sb(III)			Sb(V)		
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%) ^a	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%) ^a
Agua de dique	0	1,24 ± 0,10	---	0	1,51 ± 0,12	---
	2	3,18 ± 0,29	97,0	2	3,47 ± 0,32	98,0
	6	7,20 ± 0,71	99,3	6	7,49 ± 0,73	99,7
	10	11,2 ± 0,95	99,6	10	11,5 ± 0,96	99,9
Agua mineral	0	N.D. ^b	---	0	N.D. ^b	---
	2	1,92 ± 0,15	96,0	2	1,94 ± 0,16	97,0
	6	5,93 ± 0,55	98,8	6	5,97 ± 0,56	99,5
	10	9,97 ± 0,90	99,7	10	10,2 ± 0,91	102
Agua de lluvia	0	1,98 ± 0,17	---	0	2,15 ± 0,20	---
	2	3,89 ± 0,37	95,5	2	4,05 ± 0,39	95,0
	6	7,85 ± 0,77	97,8	6	8,01 ± 0,79	97,7
	10	11,8 ± 0,97	98,2	10	12,0 ± 0,98	98,5
	0	1,21 ± 0,09	---	0	1,45 ± 0,11	---

Agua de río	2	3,14 ± 0,28	96,5	2	3,40 ± 0,31	97,5
	6	7,15 ± 0,69	99,0	6	7,38 ± 0,72	98,8
	10	11,3 ± 0,95	101	10	11,4 ± 0,95	99,5
	0	N.D. ^b	---	0	N.D. ^b	---
Agua de grifo	2	1,98 ± 0,30	99,0	2	1,97 ± 0,28	98,5
	6	5,91 ± 0,68	98,5	6	5,95 ± 0,80	99,2
	10	9,90 ± 0,88	99,0	10	10,0 ± 0,90	100
	0	2,76 ± 0,25	---	0	2,24 ± 0,21	---
Agua subterránea	2	4,65 ± 0,43	94,5	2	4,14 ± 0,40	95,0
	6	8,60 ± 0,85	97,3	6	8,11 ± 0,79	97,8
	10	12,6 ± 0,99	98,4	10	12,1 ± 0,98	98,6
	0	1,67 ± 0,13	---	0	1,33 ± 0,11	---
Agua de humedal	2	3,60 ± 0,33	96,5	2	3,28 ± 0,30	97,5
	6	7,57 ± 0,74	98,3	6	7,22 ± 0,70	98,2
	10	11,6 ± 0,97	99,3	10	11,2 ± 0,96	98,7

^a $[(\text{Hallado}-\text{Base})/\text{Adición}] \times 100$

^bN.D.: No detectado

3.2.13 Conclusiones específicas

En esta parte del trabajo de tesis doctoral se desarrolló un método simple y eficaz para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua de diferentes orígenes utilizando el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ como una excelente fase de extracción, junto con el uso de DDTP como agente complejante para aportar selectividad. Luego de la optimización de diversos factores relacionados con el proceso de extracción mediante la aplicación de un estudio multivariado, se obtuvieron excelentes valores de LOD y recuperación para la determinación de Sb(III) y Sb(V) en muestras de agua mineral, agua de grifo, agua de dique, agua de humedal, agua subterránea, agua de lluvia y agua de río. Asimismo, la aplicación combinada de la técnica multivariada para la optimización del rendimiento del método analítico propuesto y la correcta selección de los valores de las variables, permitió también reducir los experimentos necesarios y acortar significativamente el tiempo involucrado en dicha tarea, minimizando además costos y contribuyendo a una menor generación de residuos.

Este método representa la primera aplicación de un MIL para la extracción y preconcentración de Sb. El uso de este solvente como fase extractante puede considerarse una alternativa ecológica puesto que evitó el uso de disolventes orgánicos volátiles, inflamables y potencialmente tóxicos. Además, la separación de la fase MIL enriquecida con el analito se realizó sin necesidad de aplicar una etapa de centrifugación y simplemente se requirió un imán, simplificando el método, reduciendo el tiempo de análisis y evitando la necesidad de instrumentación adicional en el laboratorio. Por lo tanto, el método analítico desarrollado en esta parte del trabajo de tesis doctoral puede considerarse una excelente alternativa para el análisis sensible y selectivo de especies inorgánicas de Sb y cuya aplicación puede ser de alto beneficioso para la realización de análisis, especialmente en laboratorios de rutina dedicados al control ambiental.

3.3 Método simple y sustentable para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua, té y miel combinando óxido de grafeno y un líquido iónico magnético

3.3.1 Introducción

El Sb es un metaloide tóxico distribuido de forma ubicua en el ambiente que genera preocupación a nivel mundial por su contaminación y el impacto en la salud humana [41]. Diversos efectos sobre la salud humana se producen por el consumo prolongado de agua de bebida y alimentos contaminados con Sb y sus compuestos [55]. Además, como se ha mencionado en el capítulo 3.2., su toxicidad, movilidad y biodisponibilidad están fuertemente influenciadas por sus formas químicas inorgánicas y orgánicas, además de los diferentes estados de oxidación en las cuales se presente el Sb en un determinado sistema ambiental o biológico. De esta manera, las especies inorgánicas de Sb son reconocidas por ser más tóxicas que las orgánicas, mientras que la toxicidad del Sb(III) es superior a la del Sb(V) [56]. Por lo tanto, es de gran importancia identificar y determinar las diferentes especies de este elemento para evaluar sus posibles riesgos para la salud y el impacto ambiental. Además, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado al Sb_2O_3 como posiblemente cancerígeno para los humanos (Grupo 2B), mientras que los efectos cancerígenos del Sb_2S_3 en humanos no han sido identificados (Grupo 3) [57].

El Sb se encuentra naturalmente en agua potable y alimentos en concentraciones inferiores a $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ y $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, mientras que las concentraciones de sus diferentes especies se encuentra en el orden de los ng L^{-1} [58]. Por lo tanto, se requieren técnicas de detección analítica de alta sensibilidad para su exacta cuantificación. La técnica ICP-MS es una de las más útiles para la determinación de elementos a nivel de trazas debido a su muy alta sensibilidad, amplio rango lineal, información isotópica y análisis multielemental, en comparación con otras técnicas como la AAS [59]. Sin embargo, el análisis de especiación elemental directo por ICP-MS no es factible y es necesaria una etapa de separación previa.

Se han reportado diversos métodos de preconcentración y separación para la determinación de especies de Sb basados en diferentes técnicas, incluyendo LLME [60, 61], SPME [62] y MSPE [63]. Como se mencionó en el capítulo 1.6, la técnica D- μ -SPE

consiste en la dispersión de pocos μg o ng de un sorbente sólido de tamaño nanométrico en una muestra acuosa. El uso de nanomateriales en SPE aumenta el contacto entre la solución de muestra y el sorbente, minimizando así el consumo de reactivos y reduciendo el impacto ambiental del método [64]. El grafeno es un nanomaterial a base de carbono ampliamente utilizado en D- μ -SPE debido a su elevada área superficial y, además, su superficie puede modificarse con el fin de incorporar grupos funcionales para interacciones útiles [65]. En este sentido, el GO se obtiene como resultado de la oxidación del grafeno y este nanomaterial es muy propicio para la aplicación como sorbente ya que al poseer grupos carboxilo e hidroxilo éstos pueden interactuar con los compuestos que contienen nitrógeno y oxígeno a través de un enlace de hidrógeno o interacciones electrostáticas [66]. Sin embargo, este tipo de nanomaterial tiene un tamaño de partícula pequeño y forma dispersiones estables en soluciones acuosas. Por lo tanto, su separación y recolección suelen ser complejas y requieren una etapa de centrifugación, lo cual aumenta el tiempo total de análisis [67].

Por otro lado, los MILs al tener un elemento paramagnético (por ejemplo, Co, Dy, Fe, Mn) en sus estructuras, les proporcionan un magnetismo intrínseco, por lo que se pueden separar fácilmente de las soluciones acuosas usando un imán [11]. Además, podrían retenerse en la superficie del GO para agregar magnetismo y hacer posible la recolección del material de sorción mediante un campo magnético externo.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método basado en la aplicación combinada de GO y el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ para el análisis de especiación de Sb inorgánico. La implementación de GO como material sorbente proporcionó una elevada área superficial y una fase sólida de extracción altamente dispersada en la solución acuosa, mientras que por otro lado el MIL facilitó significativamente la etapa de recolección y separación del nanomaterial una vez enriquecido con el analito. Los diferentes factores que afectaron la separación y extracción de especies de Sb se optimizaron mediante un estudio multivariado, reduciendo así el número de experimentos y consumo de reactivos. El método analítico propuesto se aplicó con éxito para la separación sensible y selectiva y la determinación de Sb(III) y Sb(V) en muestras de agua de grifo, infusiones de té y miel. Finalmente, se evaluó la sustentabilidad del método D- μ -SPE-ICP-MS y se comparó con otros trabajos reportados en la literatura con el uso del software AGREE [19].

3.2.2 Separación y determinación de especies inorgánicas de Sb en las muestras bajo estudio

A continuación, se detalla el procedimiento analítico empleado en este trabajo de tesis doctoral para el análisis de especiación de Sb en muestras de agua de grifo, infusiones de té y miel. En secciones posteriores, se describen y discuten los experimentos necesarios para su desarrollo. En resumen, una alícuota de 8 mL de muestra (o $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Sb(III) y $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Sb(V) de soluciones estándar para los estudios de optimización) se ajustó a pH 6 mediante el agregado de 200 μL de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de buffer ácido acético–acetato. Luego, se agregaron 96 μL de solución de DDTC $3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (dejando reposar 1 min para la formación del complejo Sb(III)-DDTC), y 64 μL de NaNO_3 al 50% (p/v) para ajustar la fuerza iónica. Posteriormente, se realizó la extracción del complejo agregando 3 mg de GO y agitando la mezcla continuamente mediante vórtex durante 10 min. Luego, se agregaron 40 μL del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ para magnetizar las nanopartículas de GO. Después de agitar la mezcla por vórtex 1 min, el sorbente magnetizado con el MIL se recogió por completo introduciendo una varilla magnética en la solución. Finalmente, se determinó de forma directa el Sb(V) que quedaba libre en la solución acuosa colocando el tubo de centrifuga en el automuestreador del instrumento ICP-MS para la determinación del elemento. Una representación esquemática del método propuesto se detalla en la Figura 3.3.1. Las condiciones experimentales óptimas se describen en la Tabla 3.3.1.

La concentración de Sb inorgánico total se cuantificó mediante la introducción directa de la muestra en el equipo de ICP-MS, sin el paso previo de separación de las especies de Sb mediante la implementación del GO@MIL. Así, la concentración de Sb(III) se calculó restando la concentración de Sb(V) a la concentración Sb inorgánico total.

Tabla 3.3.1 Condiciones experimentales para la separación y determinación de especies inorgánicas de Sb en agua, té y miel.

Condiciones óptimas para la extracción y separación de Sb(III)	
Volumen de muestra	8 mL
pH	6,0
Concentración de DDTC	$3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$
Tipo y concentración de sal	0,4% (p/v) de NaNO_3
Masa de sorbente	3 mg de GO
Tipo y volumen de MIL	40 μL del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$
Tipo y tiempo de agitación	Vórtex, 10 min

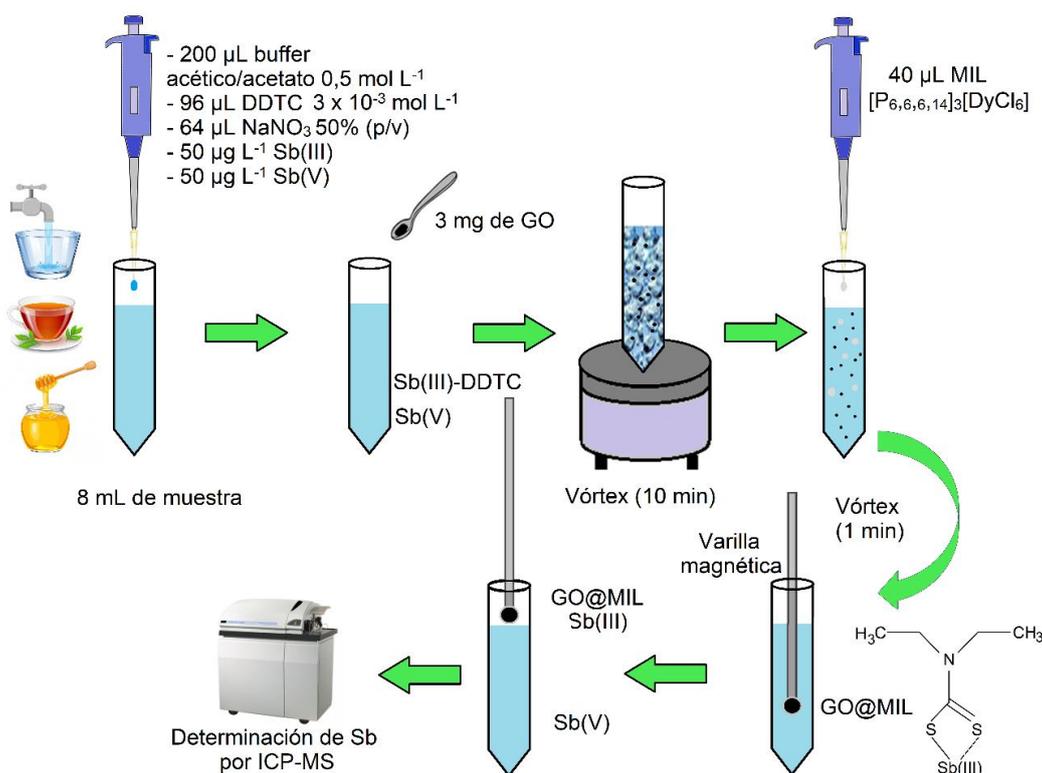


Figura 3.3.1 Diagrama esquemático del método propuesto para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua, té y miel.

3.3.3 Selección de agentes complejantes para la extracción selectiva de Sb

Las propiedades hidrofóbicas/hidrofílicas del GO permiten la adsorción de analitos orgánicos a través de interacciones no covalentes (electrostática, enlace H e interacción de electrones π - π deslocalizados), mientras que los iones metálicos interactúan con grupos funcionales en la superficie del GO por coordinación e interacciones electrostáticas [68]. Sin embargo, en este trabajo se obtuvo una eficiencia de extracción de 38,6% para Sb(III) utilizando 5 mg de GO como sorbente extractante. Debido a la baja eficiencia de extracción obtenida, fue necesaria la adición de un reactivo quelante específico que derivatizara la especie Sb(III) a los efectos de disminuir su polaridad y aumentar su absorción en la superficie del GO. En este sentido, se investigaron tres complejantes a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ en condiciones de pH donde la formación de los complejos con Sb(III) fue estable y selectiva de acuerdo a lo reportado en la literatura [49, 69]: APDC y DDTC a pH 4 y DDTP a 2 mol L^{-1} HCl. Según los resultados, se obtuvieron eficiencias de extracción del 81,5%, 89,7% y 82,9% utilizando APDC, DDTC y DDTP, respectivamente (Figura 3.3.2).

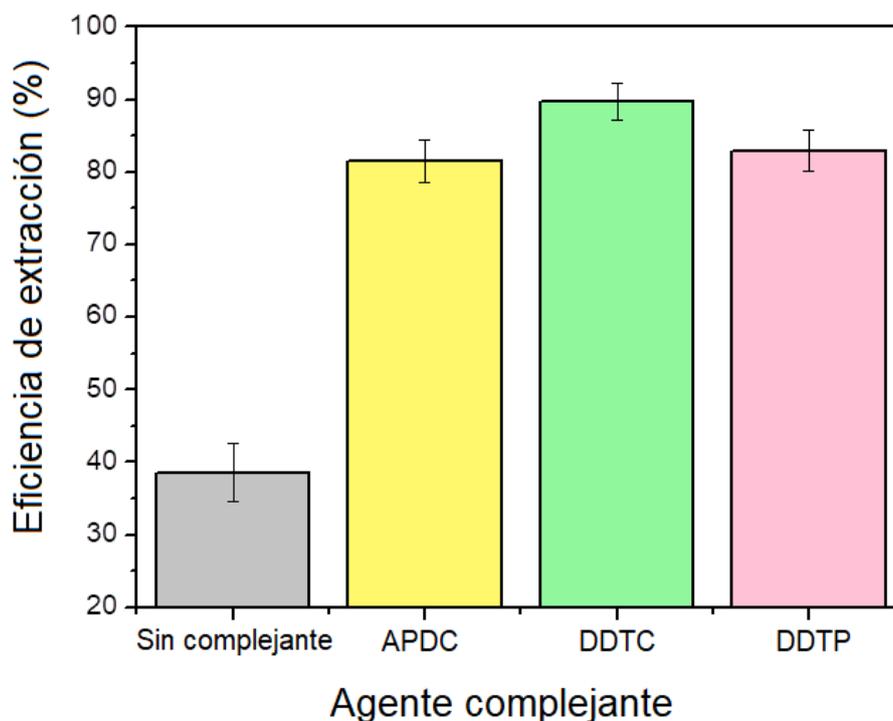


Figura 3.3.2 Efecto de diferentes reactivos quelantes sobre la eficiencia de extracción de Sb(III). Otras condiciones se muestran en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

Posteriormente se realizó un estudio de pH en un rango de 3 a 7 debido a que este parámetro puede influir significativamente tanto en la formación como en la estabilidad del complejo Sb(III)-DDTC. De acuerdo con los resultados, se seleccionó un pH de 6 como óptimo para la extracción selectiva de Sb(III) (Figura 3.3.3), mientras que no se produjo la extracción de Sb(V) debido a que esta especie no forma complejo con DDTC en las condiciones estudiadas [70]. Además, como se observa en la Figura 1.2.1 de la sección 1.2 de la presente Tesis, el Sb(V) está presente bajo formas aniónicas a pH 6 por lo que tampoco interaccionaría, para favorecer su extracción, con los grupos funcionales oxigenados con carga negativa del GO. De esta forma, se demostró la selectividad del método.

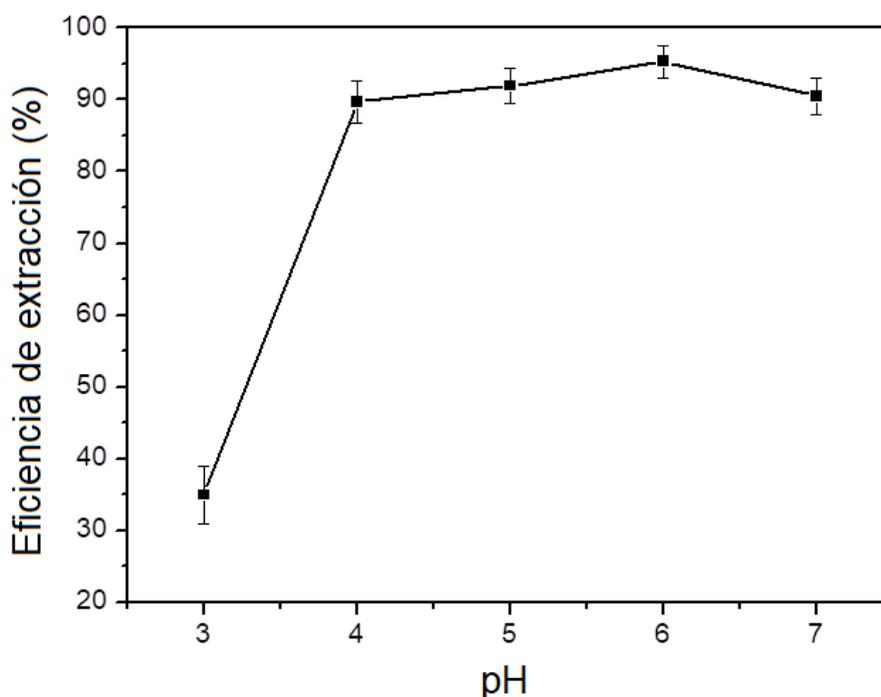


Figura 3.3.3 Influencia del pH en la eficiencia de extracción de Sb(III) utilizando DDTC como agente complejante y GO como sorbente extractante. Otras condiciones se pueden observar en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

Adicionalmente, se evaluó el efecto de la concentración de DDTC en el rango $1,8-9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para incrementar la eficiencia de extracción del complejo. Como se muestra en la Figura 3.3.4, las concentraciones inferiores a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ no fueron suficientes para lograr la formación completa del complejo Sb(III)-DDTC. Por otro lado, concentraciones superiores a $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ disminuyeron la eficiencia de extracción. Esto podría explicarse por el hecho de que el exceso de reactivo quelante podría extraerse directamente sobre la superficie del sorbente, reduciendo los sitios

disponibles para la adsorción del complejo. Por lo tanto, se seleccionó una concentración de $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de DDTC (relación molar de analito a reactivo de aproximadamente 1:100) para los siguientes experimentos.

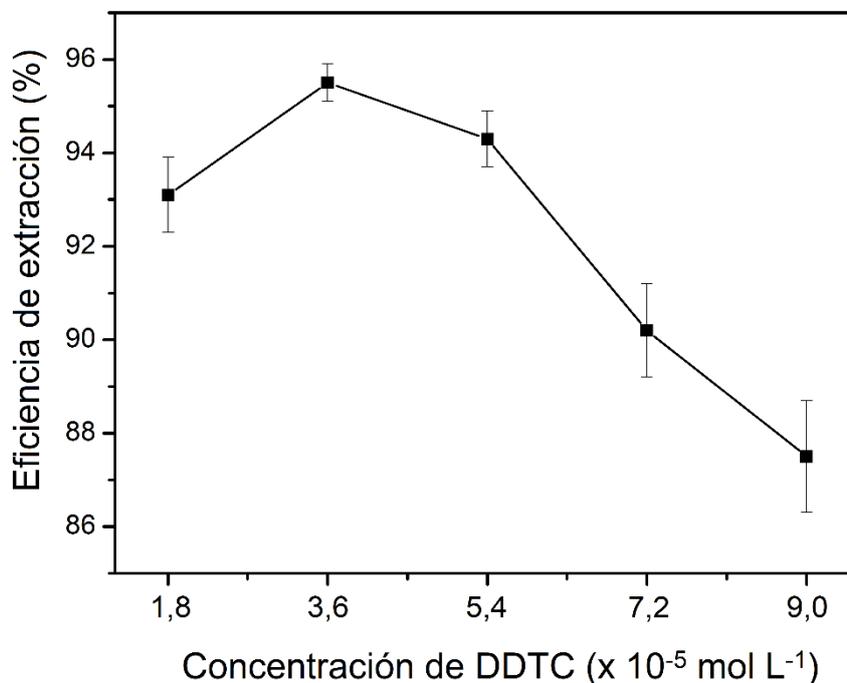


Figura 3.3.4 Evaluación del efecto de la concentración de DDTC sobre la eficiencia de extracción de Sb(III) a pH 6 para un volumen de 8 mL de muestra. Otras condiciones de extracción fueron las que se muestran en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.3.4 Optimización multivariada de las variables de extracción

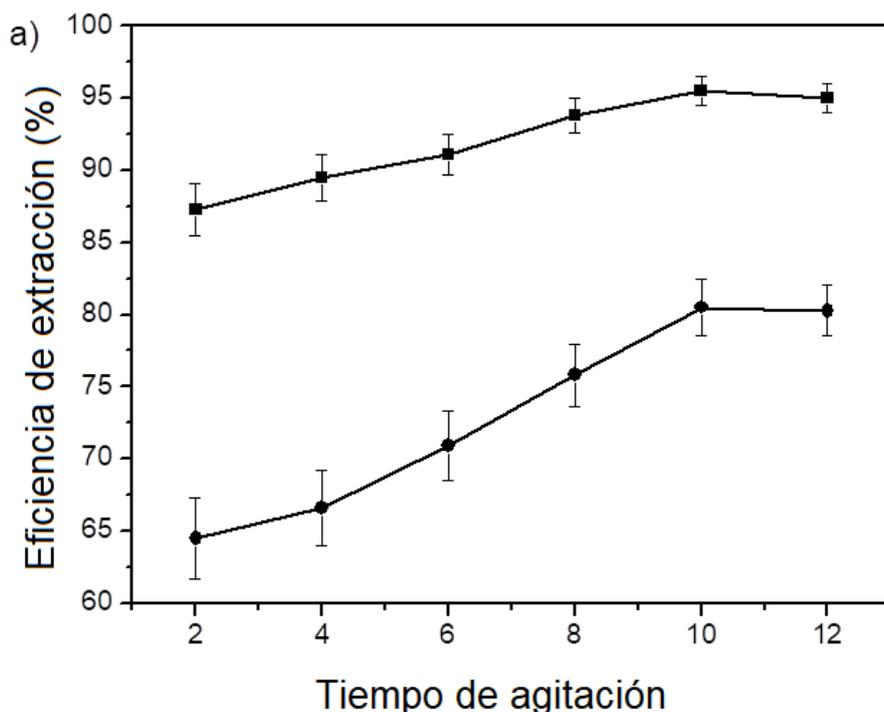
En el presente trabajo de investigación se desarrolló un estudio multivariado, en el cual se evaluaron diferentes variables que influyen en la extracción de Sb(III). El procesamiento de los resultados propuestos en dicho diseño y el análisis estadístico se realizaron mediante el software Design-Expert 7.0.

3.3.4.1 Análisis de las variables categóricas

En una primera instancia, se evaluaron las variables categóricas del sistema de extracción propuesto con el objetivo de preseleccionar sus factores óptimos. Se estudió el efecto del tipo de agitación por vórtex y por ultrasonido en el rango de 2 a 10 min. Posteriormente se estudió la influencia de la fuerza iónica debido a que la adición de sal puede aumentar la eficiencia de extracción de determinados analitos en función del

efecto salino [11]. Para ello se utilizaron las siguientes sales: NaCl, NaHCO₃, NaNO₃ y NaClO₄, a una concentración final de 1,0% (p/v). Con base en los resultados obtenidos, se seleccionaron la agitación por vórtex y el NaNO₃ para estudios posteriores. Otras condiciones experimentales fueron las indicadas en la Tabla 3.3.1. Como se muestra en la Figura 3.3.5a, la agitación por ultrasonido fue menos eficiente en comparación con la agitación por vórtex, resultando las máximas eficiencias de extracción (80,5% y 95,5%, respectivamente) a los 10 min. Este fenómeno podría explicarse por la posible degradación parcial del complejo Sb(III)-DDTC provocada por la alta energía del ultrasonido [71].

Por otro lado, entre las sales evaluadas para ajustar la fuerza iónica (Figura 3.3.5b) solo el NaNO₃ al 1,0% (p/v) mejoró la eficiencia de extracción (hasta un 97,5%) con respecto a la ausencia de sal (95,5%), mientras que el resto de las sales en estudio disminuyeron la eficiencia de extracción del analito. Estos resultados podrían deberse a que, entre todos los aniones evaluados, el NO₃⁻ es el más caotrópico, es decir, rompe la estructura del agua. Por lo tanto, la superficie del GO estaría menos rodeada de moléculas de agua y habría más sitios disponibles para interactuar con el analito [45, 72].



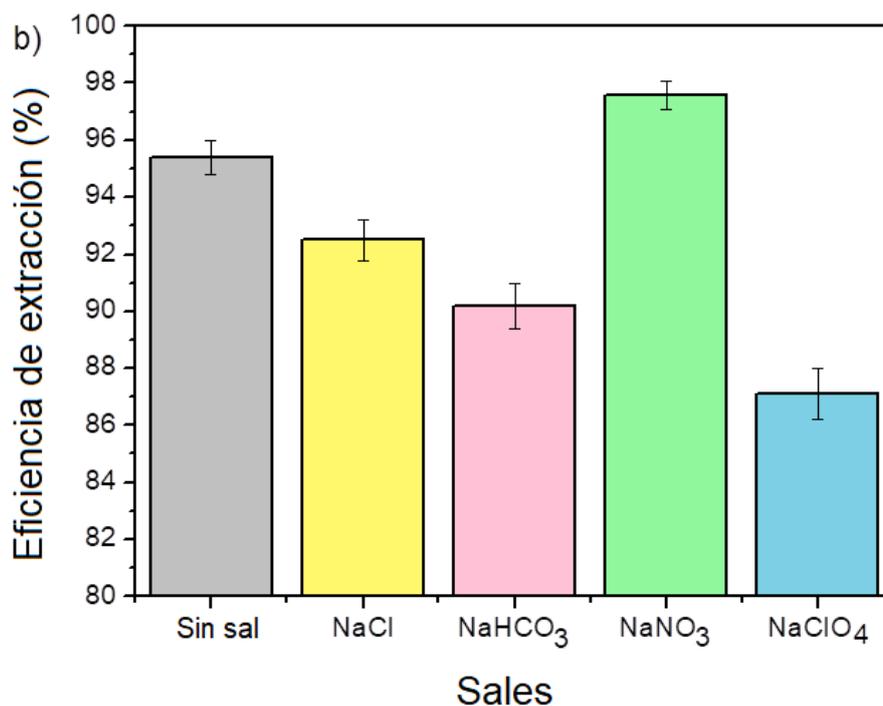


Figura 3.3.5 (a) Estudio del tipo y tiempo de agitación sobre la eficiencia de extracción de Sb(III). (■) Vórtex y (●) ultrasonido. (b) Fuerza iónica. Otras condiciones fueron las mencionadas en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.3.4.2 Estudio de la selección de factores

La siguiente etapa consistió en el análisis de diferentes variables numéricas involucradas en el proceso de extracción mediante una técnica multivariada. Los factores e intervalos evaluados fueron los siguientes: volumen de muestra (5-8 mL), masa sorbente (3-7 mg), tiempo de agitación vórtex (8-12 min) y concentración de NaNO₃ (0-0,5% (p/v)). Se utilizó un modelo factorial fraccionado de dos niveles, que requirió un total de 11 experimentos, de los cuales 3 correspondieron a puntos centrales del sistema (Tabla 3.3.2). Se utilizó un modelo factorial considerando interacciones dobles, el cual fue predictivo, concéntrico y con falta de ajuste no significativa. Por otro lado, no se requirió ninguna transformación de la respuesta.

Tabla 3.3.2 Parámetros experimentales para la identificación de factores significativos.

Ensayo	Volumen de muestra (mL)	Masa de sorbente (mg)	Tiempo de agitación (min)	Concentración de NaCl (% (p/v))	Eficiencia de extracción (%)
1	6,50	5	10	0,25	97,3
2	8,0	3	8	0,50	97,6
3	5,0	7	12	0,00	96,7
4	6,5	5	10	0,25	97,2
5	8,0	3	12	0,00	94
6	5,0	3	12	0,50	96,2
7	6,5	5	10	0,25	97
8	8,0	7	12	0,50	96,8
9	5,0	7	8	0,50	95,3
10	5,0	3	8	0,00	96,2
11	8,0	7	8	0,00	97,2

Mediante el estudio ANOVA proporcionado por el software utilizado, se obtuvo un diagrama de Pareto que permitió determinar las variables con efectos significativos en el modelo. En la Figura 3.3.6, se puede observar que la masa de sorbente fue una variable no significativa. En base a este resultado, se seleccionaron 3 mg de GO para estudios adicionales con el fin de minimizar el consumo de reactivos. Por otro lado, las 3 variables restantes formaban parte de interacciones significativas y por tanto requerían un estudio más exhaustivo con el objetivo de optimizar sus valores.

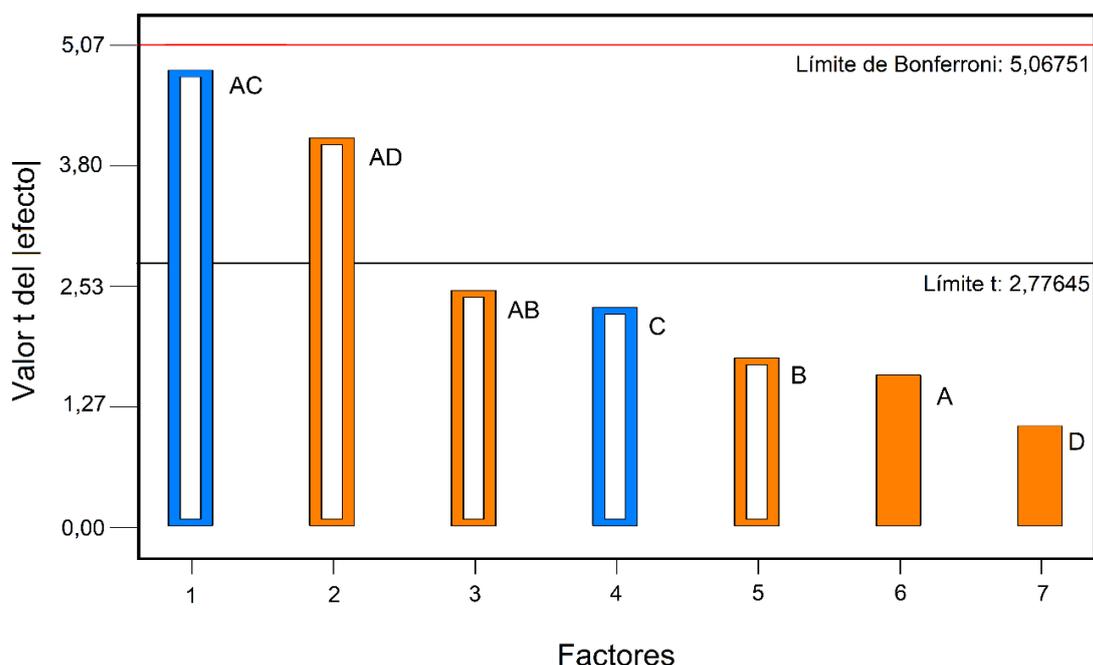


Figura 3.3.6 Gráfico de Pareto utilizado para determinar factores significativos involucrados en la eficiencia de extracción de Sb(III). A: Volumen de muestra, B: Masa absorbente, C: Tiempo de agitación, D: Concentración de sal. ■ Efecto significativo positivo y ■ efecto significativo negativo. Otras condiciones fueron las mencionadas en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, n = 6).

3.3.4.3 Superficie de respuesta

De acuerdo con los resultados obtenidos previamente, las variables significativas del modelo se analizaron en los siguientes rangos: volumen de muestra de 5 a 8 mL, tiempo de agitación en vórtex de 6 a 10 min y concentración de NaNO_3 de 0,4 a 0,8% (p/v). Se seleccionó un diseño tipo Box-Behnken, el cual requirió 15 ensayos (Tabla 3.3.3). En consecuencia, se obtuvo un modelo concéntrico y significativo al elegir un orden cúbico, que no requirió una transformación de la respuesta. Se obtuvo un excelente coeficiente de variación de 0,1% con R^2 de 0,9971 y R^2 ajustado de 0,9896, demostrando una buena correlación entre los datos experimentales y el modelo ajustado. La superficie de respuesta obtenida para el sistema propuesto se puede ver en la Figura 3.3.7. Se logró una eficiencia de extracción máxima del 99,7% con 10 min de tiempo de agitación, 0,4% (p/v) de concentración de sal y 8 mL de volumen de muestra. Además, se comprobó nuevamente la selectividad del método propuesto ya que la especie Sb(V) no se extrajo en las condiciones optimizadas.

Tabla 3.3.3 Parámetros experimentales para la superficie de respuesta.

Ensayo	Volumen de muestra (mL)	Tiempo de agitación (min)	Concentración de NaCl (% (p/v))	Eficiencia de extracción (%)
1	6,5	10	0,8	97,1
2	6,5	10	0,4	96,7
3	8	10	0,6	98
4	6,5	8	0,6	95,5
5	6,5	8	0,6	96,5
6	5	10	0,6	96,4
7	5	8	0,8	97,8
8	6,5	6	0,4	96,6
9	6,5	6	0,8	97,9
10	5	8	0,4	97,4
11	8	6	0,6	98,5
12	8	8	0,4	97,7
13	5	6	0,6	97,6
14	8	8	0,8	97,4
15	6,5	8	0,6	96,3

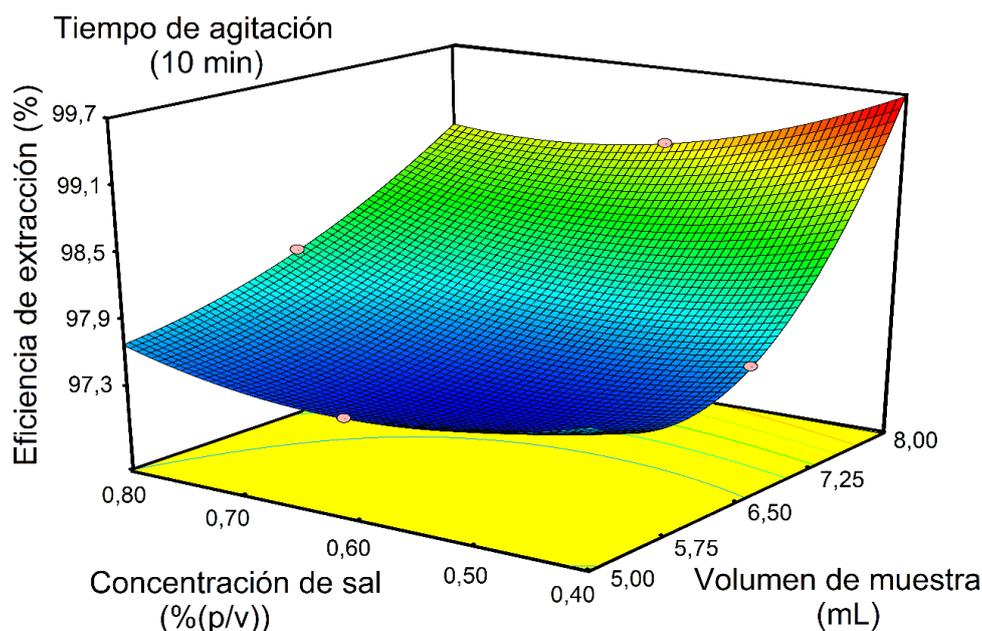


Figura 3.3.7 Gráfica de superficie de respuesta correspondiente para determinar las condiciones óptimas de extracción. Influencia de la concentración de NaNO_3 (% (p/v)) y el volumen de muestra (mL) en la eficiencia de extracción de Sb con un tiempo de agitación inicial constante de 10 min. Las condiciones experimentales óptimas se indican en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

3.3.5 Estudio del tipo y volumen de MIL

Todos los MILs de tipo fosfonio sintetizados en este trabajo contenían elementos paramagnéticos (Dy, Fe, Mn) los cuales otorgan altas susceptibilidades magnéticas. Por lo tanto, estos MILs fueron evaluados para magnetizar la superficie del GO y promover una recolección rápida y simple del sorbente desde una solución acuosa usando simplemente una varilla magnética. Sin embargo, considerando que el valor de pH elegido como óptimo en el estudio previo fue 6, el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{FeCl}_4]$ no fue capaz de magnetizar la superficie de las nanopartículas debido a que el Fe(III) presente en su estructura, es estable hasta pH 2 [61]. Por otro lado, la alta viscosidad del MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$ hizo poco práctica su implementación [47]. Por lo tanto, el MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}]_3[\text{DyCl}_6]$ fue seleccionado como óptimo ya que es estable a pH 6 y su susceptibilidad magnética es mayor que la de los otros dos MILs en estudio. Posteriormente, se investigó el volumen de MIL requerido para magnetizar la superficie de GO en un rango de 20 a 60 μL . Según los resultados, 40 μL del MIL de Dy fue el volumen mínimo necesario para recolectar por completo las nanopartículas GO de la solución de muestra (Figura 3.3.8).

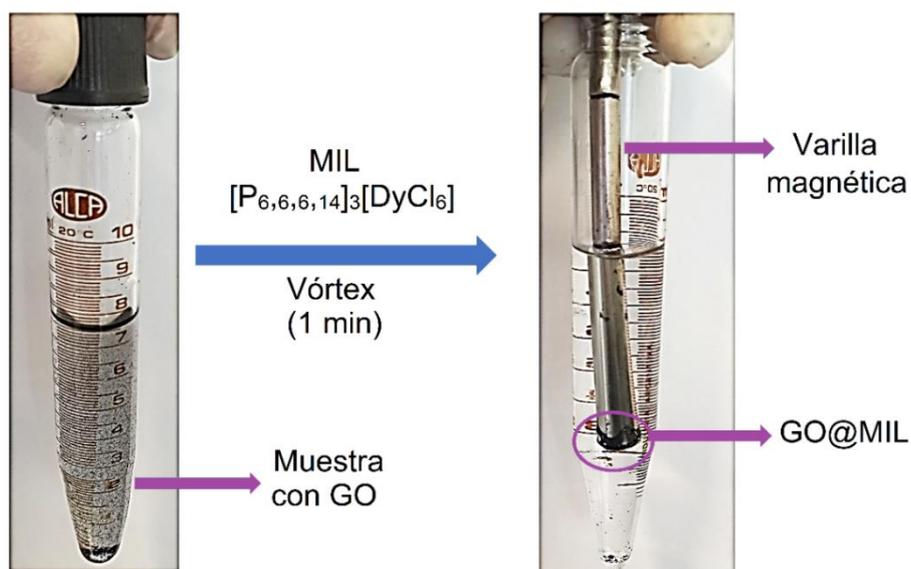


Figura 3.3.8 Magnetización de las nanopartículas de GO cuando se combinan con el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$.

3.3.6 Evaluación del tipo y concentración de eluyente

La selección del mejor eluyente necesario para la desorción del complejo de GO@MIL se realizó con 2 mL de soluciones de entre 1 a 5% (v/v) de HNO_3 , HCl o H_2SO_4 . Además, fue necesaria la adición de 400 μL de un solvente orgánico (metanol) para favorecer la disolución completa del MIL. Las mezclas se agitaron en vórtex durante 10 min y luego se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 min. Finalmente, el sobrenadante se separó con una pipeta de transferencia y se analizó por ICP-MS. De acuerdo con este procedimiento, el Sb(III) no fue retroextraído en las condiciones estudiadas. Por lo tanto, para simplificar la metodología y evitar el uso de solventes orgánicos y ácidos concentrados que pudieran afectar negativamente la sustentabilidad del procedimiento de extracción, en el método propuesto se determinó Sb(V) en la solución acuosa directamente por ICP-MS.

3.3.7 Estudio de potenciales interferencias

Se evaluó el efecto de los posibles iones interferentes en la determinación de Sb por el método propuesto. Se midieron por ICP-MS soluciones estándar de 50 $\mu g L^{-1}$ de Sb(V) en presencia de cada ion concomitante a los niveles de concentración que normalmente se encuentran en las muestras en estudio. Se consideró que los iones concomitantes interferían cuando provocaban una variación de la señal analítica de $\pm 5\%$. Según los resultados, cationes como K^+ y Na^+ fueron tolerados en concentraciones

hasta 3000 mg L⁻¹, Mg²⁺ y Ca²⁺ hasta 1500 mg L⁻¹, Cu²⁺, Fe³⁺, Zn²⁺, Al³⁺, Pb²⁺, Mn²⁺ hasta 20 mg L⁻¹ sin efecto en la recuperación de Sb. Además, aniones como Cl⁻, NO₃⁻ fueron tolerados en concentraciones de hasta 2000 mg L⁻¹, PO₄³⁻ y SO₄²⁻ hasta 1000 mg L⁻¹ sin efecto significativo en la determinación de Sb. Por lo tanto, no se observaron efectos interferentes en la determinación de Sb por el método propuesto.

3.3.8 Selectividad analítica del método para la determinación de especies de Sb

Con el fin de evaluar la selectividad del método propuesto para la separación y determinación de especies de Sb, se realizó un estudio de recuperación. Como se mencionó anteriormente, a pH 6 solo se extrajo Sb(III) usando DDTC como reactivo quelante y GO como material de sorción. Esto se debió esencialmente a la selectividad mostrada por DDTC para la formación de un complejo con Sb(III), pero también porque el complejo fue altamente retenido en la superficie del material de sorción. En este estudio, se lograron diferentes relaciones molares Sb(V)/Sb(III) que van de 0,7 a 20 con concentraciones en el rango de 0,4-5,0 µg L⁻¹ para Sb(III) y 3,5-8,0 µg L⁻¹ para Sb(V). En condiciones experimentales óptimas se obtuvo alta selectividad y buena exactitud con valores de recuperación entre 97,0% y 103% para Sb(III) y entre 97,1% y 101% para Sb(V) (Tabla 3.3.4).

Tabla 3.3.4 Selectividad del método propuesto para la determinación de las especies Sb(III) y Sb(V).

Relación molar Sb(V)/Sb(III)	Sb(III)			Sb(V)		
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación n (%)
20	0,4	0,39 \pm 0,01	97,5	8	8,10 \pm 0,06	101
10	0,75	0,76 \pm 0,03	101	7,5	7,48 \pm 0,05	99,7
7,0	1,0	1,03 \pm 0,03	103	7,0	6,80 \pm 0,04	97,1
3,5	2,0	2,04 \pm 0,04	102	7,0	6,82 \pm 0,03	97,4
2,5	2,0	1,94 \pm 0,03	97,0	5,0	5,04 \pm 0,03	100
1,5	3,0	3,10 \pm 0,04	103	4,5	4,38 \pm 0,02	97,3
1,0	3,5	3,52 \pm 0,04	100	3,5	3,52 \pm 0,02	100
0,7	5,0	4,86 \pm 0,05	97,2	3,5	3,55 \pm 0,01	101

3.3.9 Rendimiento analítico del método propuesto

La curva de calibración obtenida luego de la cuantificación de 6 soluciones estándar de calibración de Sb mostró un rango lineal de 0,01 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 3.3.9). La ecuación de regresión para la curva de calibración con el método propuesto fue:

$$A = 2110 C - 1104,1 \quad (5)$$

donde A es la señal obtenida y C es la concentración de Sb en $\mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,9997. El LOD y el LOQ se calcularon como las concentraciones correspondientes a la señal en la intersección más tres veces la desviación estándar de la solución en blanco en la ecuación de regresión [34]. Los LODs y LOQs alcanzados fueron de 0,005 $\mu\text{g L}^{-1}$ y 0,016 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Sb(III) y de 0,003 $\mu\text{g L}^{-1}$ y 0,010 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Sb(V), respectivamente. Las RSDs se calcularon realizando seis determinación réplicas de 8 mL de solución estándar conteniendo 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb, lo que resultó en 3,2% para Sb(III) y 2,9% para Sb(V). Además, se obtuvo una eficiencia de extracción del 99,7% para Sb(III) en las condiciones óptimas mencionadas en la Tabla 3.3.1. La frecuencia analítica, definida como el número de muestras que se pueden analizar por hora, es otro parámetro importante en las metodologías analíticas. [73]. En este trabajo, todo el procedimiento de extracción, incluida la complejación del metal, la extracción del complejo con el GO, la magnetización del sorbente con el MIL y la posterior separación de fases con un imán, podría llevar unos 14 min. Sin embargo, debido a que fue posible tratar un alto número de muestras simultáneamente con el uso de varias varillas magnéticas, y utilizando una técnica de detección elemental de introducción de muestras continua como ICP-MS, se alcanzó una frecuencia de análisis de 18 muestras por h.

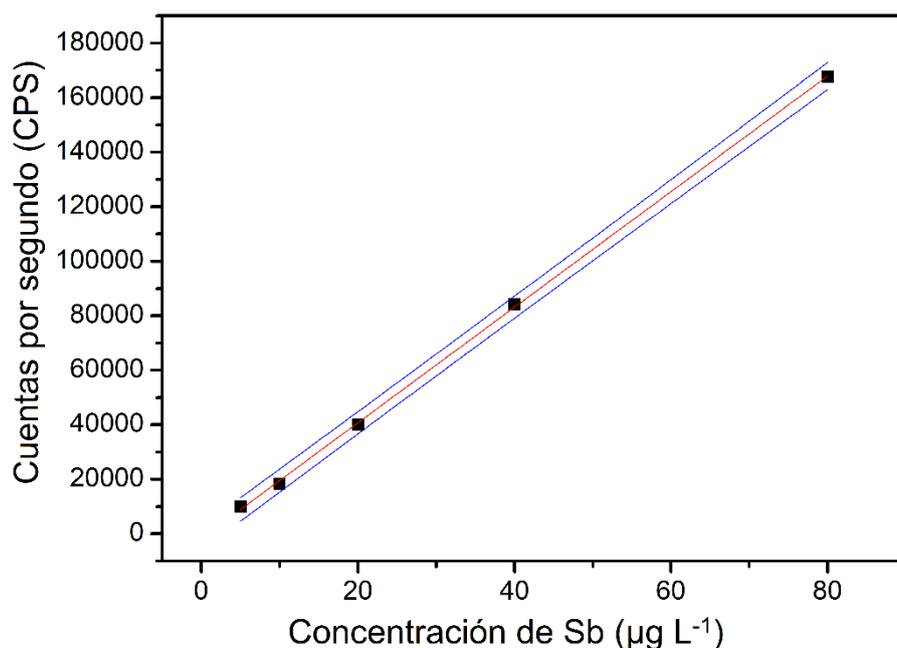


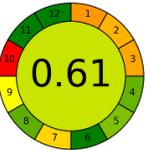
Figura 3.3.9 Curva de calibración para Sb obtenida bajo las condiciones experimentales indicadas en la Tabla 3.3.1 (intervalo de confianza del 95%, $n = 6$).

Además, en la Tabla 3.3.5. se indica un estudio comparativo del rendimiento analítico obtenido en el método propuesto con respecto a otros reportados en la literatura basados en la determinación de Sb por la técnica ICP-MS. Algunas cifras analíticas de mérito obtenidas en este trabajo incluyendo el LOD y el rango lineal de la curva de calibración son comparables o mejores que otros informados anteriormente. Además, la frecuencia analítica obtenida en este trabajo fue superior a las reportadas en la Tabla 3.3.5. Esto podría ser de especial valor para laboratorios de rutina como los dedicados al control de alimentos, que suelen demandar tiempos de análisis cortos. Además, la magnetización fácil y rápida de la superficie del GO mediante la adición del MIL simplificó la técnica D- μ -SPE, evitando así pasos para la separación de fases (por ejemplo, centrifugación) que aumentan el tiempo de la metodología. Es importante mencionar que, si bien las nanopartículas magnéticas (p. ej., Fe_3O_4) han sido ampliamente utilizadas para magnetizar la superficie de materiales adsorbentes, estos nanomateriales presentan ciertos problemas asociados con la inestabilidad de los sistemas coloidales (agregación o precipitación), comprometiendo así la separación magnética [74]. Por otra parte, en este trabajo se demuestra que la aplicación de MILs en lugar de nanopartículas magnéticas es un procedimiento de separación de fases más eficiente. Adicionalmente, el método propuesto se aplicó a muestras complejas como té y miel, en comparación con las mencionadas en la Tabla 3.3.5.

Finalmente, se evaluó el grado de sustentabilidad del método propuesto y se comparó con los mencionados en la Tabla 3.3.5 utilizando el software AGREE [19]. Para ello se analizó el tratamiento de la muestra y la técnica de detección. Como se mencionó en la sección 3.1.10, el software considera factores relacionados con todo el proceso analítico, incluidas las cantidades y toxicidad de los solventes o reactivos empleados, la generación de residuos, cantidad de muestras analizadas por hora, posibilidad de automatización y miniaturización. En base a dichas características y de acuerdo a los resultados, se obtuvo un valor de 0,61 para el método propuesto, el cual es comparable o incluso superior a los reportados en la literatura sobre la determinación de Sb por ICP-MS. Además, es importante destacar que se evitó el uso de solventes orgánicos tóxicos y el tratamiento térmico de las muestras. Por lo tanto, podría considerarse que el método analítico propuesto presenta un grado de sustentabilidad elevado.

Tabla 3.3.5 Datos de rendimiento analítico informados en la literatura y análisis AGREE para la determinación de Sb por ICP-MS.

Extractante/sorbente (cantidad)	Técnica de extracción	Análisis de especiación	Separación magnética	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Frecuencia de análisis (h^{-1})	Muestra (cantidad)	Gráfico (AGREE)	Ref.
Resina de gel DPTH ^a	SPE	No	No	0,011	1,4	LOQ-60	12	Agua de lago fortificada y agua de mar (5,7 mL)		[75]
TDNFs ^b (6 mg) y CHCl ₃ (15 μL)	D- μ -SPE y DLLME	Si	No	0,019 x 10 ⁻³	5,7	N.R. ^h	N.R. ^h	Hojas de té (0,1 g)		[41]
Fe ₃ O ₄ ^c (C8-Fe ₃ O ₄ @SiO ₂) (20 mg)	MSPE ^f	Si	Si	0,001	3,4	0,05-10,0	N.R. ^h	Agua de lago, río y grifo y aguas residuales (100 mL)		[63]

Columna monolítica poli(SH-GMA-EDMA) ^d	CME ^g	Si	No	0,004	5,2	0,015-20	N.R. ^h	Agua de río y lago (1 mL)		[59]
PSTH-cpg ^e	SPE	Si	No	0,013	3,0	0,05-80	9	Agua de mar (2,2 mL)		[76]
GO (3 mg)	D-μ-SPE	Si	Si	0,005 (Sb(III)) 0,003 (Sb(V))	2,9	0,01-80	18	Agua de grifo, infusiones de té y miel (8 mL)		Método propuesto

^aDPTH-gel: 1,5-bis(di-2-piridil)metileno tiocarbonhidrazida unida a gel de sílice

^bTDNFs: Nanofibras de dióxido de titanio

^cFe₃O₄ (C8-Fe₃O₄@SiO₂): Nanopartículas magnéticas recubiertas de sílice inmovilizadas con octilo

^dpoli(SH-GMA-EDMA): Capilar monolítico de poli(metacrilato de glicidilo-dimetacrilato de etileno) funcionalizado con cistamina

^ePSTH-cpg: Resina quelante [1,5-bis(2-piridil)-3-sulfofenil metileno] tiocarbonhidrazida inmovilizada en vidrio poroso controlado con aminopropilo

^fMSPE: Extracción en fase sólida magnética

^gCME: Microextracción capilar

^hN.R.: No reportado

3.3.10 Determinación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua, té y miel

El método propuesto se aplicó para la determinación de Sb(III) y Sb(V) en muestras de diferente composición y complejidad. Se analizaron muestras de agua de grifo, diversos tipos de té y miel de diferentes tonalidades (Tabla 3.3.6). Las concentraciones de Sb encontradas en las muestras analizadas fueron del orden de niveles de trazas y ultratrazas, de acuerdo con otros autores que analizaron muestras similares [55, 77] y por debajo de los límites máximos permisibles establecidos por las autoridades internacionales de control [78, 79].

La exactitud del método propuesto se evaluó determinando el Sb en un CRM de agua natural (NIST SRM 1643e "Trace Elements in Water"), con una concentración de Sb total declarada de $58,30 \pm 0,61 \mu\text{g L}^{-1}$. La concentración encontrada con el método analítico propuesto fue de $58,23 \pm 0,55 \mu\text{g L}^{-1}$, demostrando una exactitud aceptable ya que no difería estadísticamente del valor declarado en el CRM (t-student; $\alpha = 0,05$). Asimismo, es importante mencionar que CRMs de té y miel aún no se comercializan debido a la gran diversidad de tipos de té que se consumen y problemas de homogeneidad en la composición de la miel [55, 80]. Adicionalmente, en este trabajo se realizó un estudio de recuperación a tres niveles, como una herramienta válida para estudiar el efecto de matriz [37]. Se encontraron valores de recuperación en el rango de 96,0-101% para Sb(III) y 97,0-100% para Sb(V), demostrando así una aplicación confiable del método analítico propuesto, basado en la combinación de GO y MIL, y su incorporación en la técnica D- μ -SPE asociada a la detección ICP-MS para el análisis de especiación de Sb inorgánico en muestras de agua, infusiones de té y miel (Tabla 3.3.6).

Tabla 3.3.6 Resultados del análisis de especiación de Sb inorgánico en las muestras en estudio (95% intervalo de confianza; n = 6).

Muestra	Sb(III)			Sb(V)		
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%) ^a	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Hallado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%) ^a
Agua de grifo	0	1,58 ± 0,12	---	0	0,54 ± 0,05	---
	1	2,56 ± 0,18	98,0	1	1,52 ± 0,11	98,0
	5	6,52 ± 0,50	98,8	5	5,49 ± 0,41	99,0
	10	11,5 ± 0,95	99,2	10	10,5 ± 0,82	99,6
Té de manzanilla	0	0,76 ± 0,06 (0,152) ^b	---	0	0,20 ± 0,03 (0,040) ^b	---
	1	1,74 ± 0,14	98,0	1	1,18 ± 0,09	98,0
	5	5,67 ± 0,43	98,2	5	5,12 ± 0,38	98,4
	10	10,6 ± 0,83	98,4	10	10,1 ± 0,80	99,0
Té verde	0	1,04 ± 0,07 (0,208) ^b	---	0	0,19 ± 0,02 (0,038) ^b	---
	1	2,01 ± 0,16	97,0	1	1,16 ± 0,08	97,0
	5	5,92 ± 0,46	97,6	5	5,08 ± 0,37	97,8
	10	10,9 ± 0,84	98,6	10	10,0 ± 0,79	98,1

Té negro	0	1,36 ± 0,10 (0,273) ^b	---	0	0,21 ± 0,03 (0,042) ^b	---
	1	2,32 ± 0,17	96,0	1	1,18 ± 0,09	97,0
	5	6,21 ± 0,48	97,0	5	5,07 ± 0,37	97,2
	10	11,1 ± 0,92	97,4	10	9,96 ± 0,77	97,5
Miel ámbar extra clara	0	0,32 ± 0,04 (0,032) ^b	---	0	0,07 ± 0,01 (0,007) ^b	---
	1	1,31 ± 0,09	99,0	1	1,06 ± 0,07	99,0
	5	5,30 ± 0,39	99,6	5	5,04 ± 0,36	99,4
	10	10,4 ± 0,81	101	10	10,1 ± 0,79	100
Miel ámbar clara	0	0,35 ± 0,04 (0,035) ^b	---	0	0,11 ± 0,02 (0,011) ^b	---
	1	1,33 ± 0,10	98,0	1	1,09 ± 0,08	98,0
	5	5,28 ± 0,38	98,6	5	5,05 ± 0,36	98,8
	10	10,3 ± 0,81	99,5	10	10,0 ± 0,79	98,9
Miel ámbar	0	0,39 ± 0,04 (0,039) ^b	---	0	0,14 ± 0,02 (0,014) ^b	---

1	1,36 ± 0,12	97,0	1	1,11 ± 0,08	97,0
5	5,25 ± 0,37	97,2	5	5,01 ± 0,35	97,4
10	10,2 ± 0,80	98,1	10	9,92 ± 0,75	97,8

^a(Hallado-Base)/Adición × 100

^bConcentración de Sb expresada como µg Sb g⁻¹ de té y miel.

3.3.11 Conclusiones específicas

En este último trabajo realizado en el contexto de la tesis doctoral, se presentó la primera aplicación de GO combinado con un MIL para la extracción y determinación de especies de Sb. Se desarrolló un método analítico eficiente basado en la combinación de técnicas D- μ -SPE y ICP-MS, en el uso de GO y MIL, para la separación y cuantificación de especies inorgánicas de Sb en muestras de agua de grifo, infusiones de té y miel. El método analítico propuesto fue altamente selectivo hacia la especie Sb(III) en base al empleo del reactivo quelante DDTC para la formación del complejo Sb(III)-DDTC correspondiente seguido de su posterior extracción y separación por adsorción sobre la superficie de una fase sólida de alta superficie como fue el GO. Además, fue posible realizar una magnetización efectiva de la superficie del GO a través de un simple paso de funcionalización con el MIL [P_{6,6,6,14}][DyCl₆]₃, que a su vez resultó en una recolección práctica y rápida del nanomaterial sorbente, evitándose la necesidad de instrumentación adicional para la separación de fases.

Adicionalmente, la técnica D- μ -SPE puede considerarse una alternativa respetuosa con el ambiente ya que no se requirió el uso de solventes orgánicos volátiles y la realización de un estudio multivariado permitió reducir significativamente el número de experimentos y, por tanto, el consumo de reactivos y generación de residuos. Finalmente, este método puede ser considerado como una herramienta rápida, selectiva y exacta para ser aplicado en el análisis de especiación de Sb a niveles de ultratrazas, especialmente en aquellos laboratorios enfocados en el control de calidad de alimentos.

Referencias capítulo 3

- [1] N.J. Raju, Arsenic in the geo-environment: A review of sources, geochemical processes, toxicity and removal technologies, *Environmental Research* 203 (2022) 111782. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111782.
- [2] P. Kumarathilaka, S. Seneweera, A. Meharg, J. Bundschuh, Arsenic speciation dynamics in paddy rice soil-water environment: sources, physico-chemical, and biological factors - A review, *Water Research* 140 (2018) 403-414. DOI: 10.1016/j.watres.2018.04.034.
- [3] X. Wang, G. Xu, X. Guo, X. Chen, J. Duan, Z. Gao, B. Zheng, Q. Shen, Effervescent tablets containing magnetic ionic liquids as a non-conventional extraction and dispersive agent for speciation of arsenite and arsenate in vegetable samples, *Journal of Molecular Liquids* 272 (2018) 871-877. DOI: 10.1016/j.molliq.2018.10.112.
- [4] International Agency for Cancer Research (IARC), "Some drinking-water disinfectants and contaminants, including arsenic," in *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, vol. 84, International Agency for Cancer Research (IARC), Lyon, France, 2004.
- [5] J. Werner, T. Grześkowiak, A. Zgoła-Grześkowiak, E. Stanisiz, Recent trends in microextraction techniques used in determination of arsenic species, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 105 (2018) 121-136. DOI: 10.1016/j.trac.2018.05.006.
- [6] N. Laur, R. Kinscherf, K. Pomytkin, L. Kaiser, O. Knes, H.-P. Deigner, ICP-MS trace element analysis in serum and whole blood, *PloS one* 15 (2020) e0233357. DOI: 10.1371/journal.pone.0233357.
- [7] M. Sajid, Magnetic ionic liquids in analytical sample preparation: A literature review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 113 (2019) 210-223. DOI: 10.1016/j.trac.2019.02.007.
- [8] S. Rabieh, M. Bagheri, B. Planer-Friedrich, Speciation of arsenite and arsenate by electrothermal AAS following ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction, *Microchimica Acta* 180(5-6) (2013) 415-421. DOI: 10.1007/s00604-013-0946-2.
- [9] A.C. Grijalba, E.F. Fiorentini, L.D. Martinez, R.G. Wuilloud, A comparative evaluation of different ionic liquids for arsenic species separation and determination in wine varieties by liquid chromatography-hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Journal of Chromatography A* 1462 (2016) 44-54. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.07.069.
- [10] X. Guo, B. Chen, M. He, B. Hu, X. Zhou, Ionic liquid based carrier mediated hollow fiber liquid liquid liquid microextraction combined with HPLC-ICP-MS for the speciation of phenylarsenic compounds in chicken and feed samples, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28(10) (2013) 1638-1647. DOI: 10.1039/c3ja50243k.
- [11] E.F. Fiorentini, M.B. Botella, R.G. Wuilloud, A simple preconcentration method for highly sensitive determination of Pb in bee products by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Food Composition and Analysis* 95 (2021) 103661. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103661.

- [12] K.D. Clark, O. Nacham, J.A. Purslow, S.A. Pierson, J.L. Anderson, Magnetic ionic liquids in analytical chemistry: a review, *Analytica Chimica Acta* 934 (2016) 9-21. DOI: 10.1016/j.aca.2016.06.011.
- [13] M.J. Trujillo-Rodríguez, O. Nacham, K.D. Clark, V. Pino, J.L. Anderson, J.H. Ayala, A.M. Afonso, Magnetic ionic liquids as non-conventional extraction solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Analytica Chimica Acta* 934 (2016) 106-113. DOI: 10.1016/j.aca.2016.06.014.
- [14] H. Yu, J. Merib, J.L. Anderson, Faster dispersive liquid-liquid microextraction methods using magnetic ionic liquids as solvents, *Journal of Chromatography A* 1463 (2016) 11-19. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.08.007.
- [15] K.D. Clark, O. Nacham, H. Yu, T. Li, M.M. Yamsek, D.R. Ronning, J.L. Anderson, Extraction of DNA by magnetic ionic liquids: tunable solvents for rapid and selective DNA analysis, *Analytical Chemistry* 87 (2015) 1552-1559. DOI: 10.1021/ac504260t.
- [16] E.F. Fiorentini, B.V. Canizo, R.G. Wuilloud, Determination of As in honey samples by magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta* 198 (2019) 146-153. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.01.091.
- [17] A. Beiraghi, M. Shokri, S. Seidi, B.M. Godajdar, Magnetomotive room temperature dicationic ionic liquid: A new concept toward centrifuge-less dispersive liquid-liquid microextraction, *Journal of Chromatography A* 1376 (2015) 1-8. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.12.004.
- [18] X. Wang, G. Xu, P. Chen, X. Liu, Y. Fang, S. Yang, G. Wang, Arsenic speciation analysis in environmental water, sediment and soil samples by magnetic ionic liquid-based air-assisted liquid-liquid microextraction, *RSC Advances* 6 (2016) 110247-110254. DOI: 10.1039/C6RA21199B.
- [19] F. Pena-Pereira, W. Wojnowski, M. Tobiszewski, AGREE—Analytical GREENness metric approach and software, *Analytical Chemistry* 92 (2020) 10076-10082. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c01887.
- [20] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A. Afonso, A. Irabien, Synthesis and characterization of magnetic ionic liquids (MILs) for CO₂ separation, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 89(6) (2014) 866-871. DOI: 10.1002/jctb.4323.
- [21] G. Rayner-Canham, R.L. Escalona García, H.J. Escalona Y García, *Química inorgánica descriptiva*, Pearson Educación, 2000.
- [22] A.D. Eaton, H.C. Wang, J. Northington, *Analytical chemistry of arsenic in drinking water*, American Waters Works Association Research Foundation, American Water Works Association, USA, 1998.
- [23] J.C. Ramos, A.J. Curtius, D.L.G. Borges, Diethyldithiophosphate (DDTP): A review on properties, general applications, and use in analytical spectrometry, *Applied Spectroscopy Reviews* 47(8) (2012) 583-619. DOI: 10.1080/05704928.2012.682286.
- [24] R.A. Zounr, M. Tuzen, M.Y. Khuhawar, Ultrasound assisted deep eutectic solvent based on dispersive liquid liquid microextraction of arsenic speciation in water and environmental samples by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Molecular Liquids* 242 (2017) 441-446. DOI: 10.1016/j.molliq.2017.07.053.

- [25] A.C. Grijalba, L.B. Escudero, R.G. Wuilloud, Capabilities of several phosphonium ionic liquids for arsenic species determination in water by liquid–liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytical Methods* 7(2) (2015) 490-499. DOI: 10.1039/c4ay02324b.
- [26] L.B. Escudero, P. Berton, E.M. Martinis, R.A. Olsina, R.G. Wuilloud, Dispersive liquid–liquid microextraction and preconcentration of thallium species in water samples by two ionic liquids applied as ion-pairing reagent and extractant phase, *Talanta* 88 (2012) 277-283. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.09.068.
- [27] A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena, Dispersive micro-solid phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019) 226-233. DOI: 10.1016/j.trac.2018.12.005.
- [28] L.B. Escudero, E.M. Martinis, R.A. Olsina, R.G. Wuilloud, Arsenic speciation analysis in mono-varietal wines by on-line ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction, *Food Chemistry* 138 (2013) 484-490. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.10.054.
- [29] M.M. Hossain, M.M. Islam, S. Ferdousi, T. Okajima, T. Ohsaka, Anodic Stripping Voltammetric detection of arsenic (III) at gold nanoparticle-modified glassy carbon electrodes prepared by electrodeposition in the presence of various additives, *Electroanalysis* 20(22) (2008) 2435-2441. DOI: 10.1002/elan.200804339.
- [30] B. Welz, M. Sperling, *Atomic absorption spectrometry*, 3rd edn., John Wiley & Sons, Weinheim, 2008.
- [31] Z. Gui-Ling, Calculation of Optimum pH Value about Chromogenic Reaction of Metal Ion with 5-Br-PADAP, *Journal of Qiqihar University (Natural Science Edition)* (2006) 12.
- [32] K. Pytlakowska, V. Kozik, M. Dabioch, Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: a review, *Talanta* 110 (2013) 202-228. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.02.037.
- [33] C. Casiot, O.F. Donard, M. Potin-Gautier, Optimization of the hyphenation between capillary zone electrophoresis and inductively coupled plasma mass spectrometry for the measurement of As-, Sb-, Se- and Te-species, applicable to soil extracts, *Spectrochimica Acta Part B* 57 (2002) 173-187. DOI: 10.1016/S0584-8547(01)00365-2.
- [34] J. Miller, J.C. Miller, *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*, Pearson education, 6th edn, 2018.
- [35] R.P. Monasterio, R.G. Wuilloud, Ionic liquid as ion-pairing reagent for liquid–liquid microextraction and preconcentration of arsenic species in natural waters followed by ETAAS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 1485-1490. DOI: 10.1039/c000040j.
- [36] H.I. Ulusoy, M. Akçay, S. Ulusoy, R. Gürkan, Determination of ultra trace arsenic species in water samples by hydride generation atomic absorption spectrometry after cloud point extraction, *Analytica chimica acta* 703 (2011) 137-144. DOI: 10.1016/j.aca.2011.07.026.
- [37] R. Cornelis, *Handbook of elemental speciation: techniques and methodology*, John Wiley & Sons, 2004.
- [38] S. Bagherifam, T.C. Brown, A. Wijayawardena, R. Naidu, The influence of different antimony (Sb) compounds and ageing on bioavailability and fractionation of antimony in

two dissimilar soils, *Environmental Pollution* 270 (2021) 116270. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.116270.

[39] J.H. Ren, L.Q. Ma, H.J. Sun, F. Cai, J. Luo, Antimony uptake, translocation and speciation in rice plants exposed to antimonite and antimonate, *Science of the Total Environment* 475 (2014) 83-89. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.103.

[40] E. Marguí, M. Sagué, I. Queralt, M. Hidalgo, Liquid phase microextraction strategies combined with total reflection X-ray spectrometry for the determination of low amounts of inorganic antimony species in waters, *Analytica Chimica Acta* 786 (2013) 8-15. DOI: 10.1016/j.aca.2013.05.006.

[41] S. Chen, S. Zhu, D. Lu, Dispersive micro-solid phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction for speciation analysis of antimony by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* 139 (2018) 70-74. DOI: 10.1016/j.sab.2017.11.008.

[42] N.R. Biata, L. Nyaba, J. Ramontja, N. Mketi, P.N. Nomngongo, Determination of antimony and tin in beverages using inductively coupled plasma-optical emission spectrometry after ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid phase microextraction, *Food Chemistry* 237 (2017) 904-911. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.058.

[43] S. Yousefi, F. Shemirani, M. Jamali, Determination of antimony (III) and total antimony in aqueous samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), *Analytical Letters* 43 (2010) 2563-2571. DOI: 10.1080/00032711003731381.

[44] I. Pacheco-Fernández, V. Pino, Green solvents in analytical chemistry, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 18 (2019) 42-50. DOI: 10.1016/j.cogsc.2018.12.010.

[45] E.F. Fiorentini, M.N. Oviedo, R.G. Wuilloud, Ultra-trace Cr preconcentration in honey samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* 169 (2020) 105879. DOI: 10.1016/j.sab.2020.105879.

[46] M.N. Oviedo, E.F. Fiorentini, A.A. Lemos, M.B. Botella, R.G. Wuilloud, Two-step separation and determination of inorganic As species in water, soil and sediment samples by implementing two ionic liquids in dispersive liquid-liquid microextraction with electrothermal atomic absorption spectrometry detection, *Microchemical Journal* 159 (2020) 105386. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105386.

[47] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C.A. Afonso, A. Irabien, Synthesis and characterization of magnetic ionic liquids (MILs) for CO₂ separation, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 89 (2014) 866-871. DOI: 10.1002/jctb.4323.

[48] R.E. Rivas, I. López-García, M. Hernández-Córdoba, Speciation of very low amounts of arsenic and antimony in waters using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* 64 (2009) 329-333. DOI: 10.1016/j.sab.2009.03.007.

[49] J.C. Ramos, A.J. Curtius, D.L. Borges, Diethyldithiophosphate (DDTP): a review on properties, general applications, and use in analytical spectrometry, *Applied Spectroscopy Reviews* 47 (2012) 583-619. DOI: 10.1080/05704928.2012.682286.

- [50] J. Liu, M. Jiang, G. Li, L. Xu, M. Xie, Miniaturized salting-out liquid–liquid extraction of sulfonamides from different matrices, *Analytica Chimica Acta* 679 (2010) 74-80. DOI: 10.1016/j.aca.2010.09.013.
- [51] B.A. Neto, E.C. Meurer, R. Galaverna, B.J. Bythell, J. Dupont, R.G. Cooks, M.N. Eberlin, Vapors from ionic liquids: reconciling simulations with mass spectrometric data, *Journal of Physical Chemistry Letters* 3 (2012) 3435-3441. DOI: 10.1021/jz301608c.
- [52] X. Wen, Y. Gao, P. Wu, Z. Tan, C. Zheng, X. Hou, Chemical vapor generation from an ionic liquid using a solid reductant: determination of Hg, As and Sb by atomic fluorescence spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 31 (2016) 415-422. DOI: 10.1039/C5JA00323G.
- [53] X. Huang, M. Guan, Z. Lu, Y. Hang, Determination of trace antimony (III) in water samples with single drop microextraction using BPHA-[C₄mim][PF₆] system followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *International Journal of Analytical Chemistry* 2018 (2018). DOI: 10.1155/2018/8045324.
- [54] Y. Zhang, M. Mei, T. Ouyang, X. Huang, Preparation of a new polymeric ionic liquid-based sorbent for stir cake sorptive extraction of trace antimony in environmental water samples, *Talanta* 161 (2016) 377-383. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.08.063.
- [55] E. Yazıcı, Ç. Büyükpınar, S. Bodur, N. San, O.T. Komesli, S. Bakırdere, An accurate analytical method for the determination of antimony in tea and tap water samples: photochemical vapor generation-atom trapping prior to FAAS measurement, *Chemical Papers* 75 (2021) 3309-3316. DOI: 10.1007/s11696-021-01569-z.
- [56] M.M.S. Junior, L.A. Portugal, A.M. Serra, L. Ferrer, V. Cerdà, S.L. Ferreira, On line automated system for the determination of Sb(V), Sb(III), trimethyl antimony (V) and total antimony in soil employing multisyringe flow injection analysis coupled to HG-AFS, *Talanta* 165 (2017) 502-507. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.12.022.
- [57] International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: antimony trioxide and antimony trisulfide; IARC: Lyon, France, 47 (1989) 291-305.
- [58] N. Belzile, Y.-W. Chen, M. Filella, Human exposure to antimony: I. Sources and intake, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41 (2011) 1309-1373. DOI: 10.1080/10643381003608227.
- [59] X. Ou, C. Wang, M. He, B. Chen, B. Hu, Online simultaneous speciation of ultra-trace inorganic antimony and tellurium in environmental water by polymer monolithic capillary microextraction combined with inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* 168 (2020) 105854. DOI: 10.1016/j.sab.2020.105854.
- [60] M. Moradi, S. Zarabi, R. Heydari, Spectrophotometric determination of trace amounts of Sb(III) and Sb(V) in water and biological samples by in-tube dispersive liquid–liquid microextraction and air-assisted liquid–liquid microextraction, *Chemical Papers* 75 (2021) 6499-6508. DOI: 10.1007/s11696-021-01818-1.
- [61] M.N. Oviedo, E.F. Fiorentini, A.A. Lemos, R.G. Wuilloud, Ultra-sensitive Sb speciation analysis in water samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction and multivariate optimization, *Analytical Methods* 13 (2021) 1033-1042. DOI: 10.1039/D0AY02276D.

- [62] A.H. Panhwar, M. Tuzen, B. Hazer, T.G. Kazi, Solid phase microextraction method using a novel polystyrene oleic acid imidazole polymer in micropipette tip of syringe system for speciation and determination of antimony in environmental and food samples, *Talanta* 184 (2018) 115-121. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.03.004.
- [63] P. Li, Y.-j. Chen, X. Hu, H.-z. Lian, Magnetic solid phase extraction for the determination of trace antimony species in water by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 134 (2015) 292-297. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.11.026.
- [64] M.N. Oviedo, E.F. Fiorentini, M. Llaver, R.G. Wuilloud, Alternative solvent systems for extraction and preconcentration of trace elements, *Trends in Analytical Chemistry* 137 (2021) 116227. DOI: 10.1016/j.trac.2021.116227.
- [65] A.C. Sotolongo, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, An easily prepared graphene oxide–ionic liquid hybrid nanomaterial for micro-solid phase extraction and preconcentration of Hg in water samples, *Analytical Methods* 10 (2018) 338-346. DOI: 10.1039/C7AY02201H.
- [66] Y. Huang, Y. Wang, Q. Pan, Y. Wang, X. Ding, K. Xu, N. Li, Q. Wen, Magnetic graphene oxide modified with choline chloride-based deep eutectic solvent for the solid-phase extraction of protein, *Analytica Chimica Acta* 877 (2015) 90-99. DOI: 10.1016/j.aca.2015.03.048.
- [67] K. Molaei, H. Bagheri, A.A. Asgharinezhad, H. Ebrahimzadeh, M. Shamsipur, SiO₂-coated magnetic graphene oxide modified with polypyrrole–polythiophene: a novel and efficient nanocomposite for solid phase extraction of trace amounts of heavy metals, *Talanta* 167 (2017) 607-616. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.02.066.
- [68] B. Feist, R. Sitko, Fast and sensitive determination of heavy metal ions as batophenanthroline chelates in food and water samples after dispersive micro-solid phase extraction using graphene oxide as sorbent, *Microchemical Journal* 147 (2019) 30-36. DOI: 10.1016/j.microc.2019.03.013.
- [69] Z.B. Alfassi, Instrumental multi-element chemical analysis, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 1998.
- [70] Y. Li, B. Hu, M. He, G. Xiang, Simultaneous speciation of inorganic selenium and antimony in water samples by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry following selective cloud point extraction, *Water Research* 42 (2008) 1195-1203. DOI: 10.1016/j.watres.2007.09.002.
- [71] A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena, Dispersive micro-solid phase extraction, *Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019) 226-233. DOI: 10.1016/j.trac.2018.12.005.
- [72] R.E. Vera, F. Salazar-Rodríguez, R. Marquez, A.M. Forgiarini, How the influence of different salts on interfacial properties of surfactant–oil–water systems at optimum formulation matches the Hofmeister series ranking, *Journal of Surfactants and Detergents* 23 (2020) 603-615. DOI: 10.1002/jsde.12406.
- [73] M. Llaver, F.A. Casado-Carmona, R. Lucena, S. Cárdenas, R.G. Wuilloud, Ultra-trace tellurium preconcentration and speciation analysis in environmental samples with a novel magnetic polymeric ionic liquid nanocomposite and magnetic dispersive micro-solid phase extraction with flow-injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry detection, *Spectrochimica Acta Part B* 162 (2019) 105705. DOI: 10.1016/j.sab.2019.105705.

- [74] S.P. Yeap, J. Lim, B.S. Ooi, A.L. Ahmad, Agglomeration, colloidal stability, and magnetic separation of magnetic nanoparticles: collective influences on environmental engineering applications, *Journal of Nanoparticle Research* 19 (2017) 1-15. DOI: 10.1007/s11051-017-4065-6.
- [75] A.C. Fornieles, A.G. De Torres, E.V. Alonso, J.C. Pavón, Determination of antimony, bismuth and tin in natural waters by flow injection solid phase extraction coupled with online hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28 (2013) 364-372. DOI: 10.1039/C2JA30337J.
- [76] A.C. Fornieles, A.G. De Torres, E.V. Alonso, M.S. Cordero, J.C. Pavón, Speciation of antimony (III) and antimony (V) in seawater by flow injection solid phase extraction coupled with online hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 26 (2011) 1619-1626. DOI: 10.1039/c0ja00273a.
- [77] M. Solayman, M.A. Islam, S. Paul, Y. Ali, M.I. Khalil, N. Alam, S.H. Gan, Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15 (2016) 219-233. DOI: 10.1111/1541-4337.12182.
- [78] World Health Organization, Guidelines for drinking-water quality, 38 (2011) 104-108.
- [79] USEPA, Antimony: an environmental and health effects assessment, US Environmental Protection Agency, office of drinking water, Washington, DC, (1984).
- [80] E.F. Fiorentini, M.B. Botella, R.G. Wuilloud, Analysis, A simple preconcentration method for highly sensitive determination of Pb in bee products by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Food Composition and Analysis* 95 (2021) 103661. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103661.

Capítulo 4

Conclusiones generales y perspectivas futuras

En el marco de la presente Tesis Doctoral, se desarrollaron metodologías analíticas novedosas que fueron diseñadas y aplicadas exitosamente en base a la implementación de solventes de última generación como son los MILs que aportaron utilidad como fases extractantes y de recuperación de nanosorbentes con el aprovechamiento de sus propiedades magnéticas. Asimismo, la baja o nula volatilidad de este tipo de ILs constituyó un aporte significativo a incrementar la sustentabilidad ambiental de los métodos analíticos desarrollados con respecto al empleo de solventes orgánicos volátiles clásicos. En este trabajo de Tesis Doctoral se demostró la destacada capacidad que tienen los MILs para ser implementados como solventes de extracción eficientes en las técnicas LLME y D- μ -SPE, de manera de desarrollar métodos de preconcentración y separación que permitan el análisis de especiación de As y Sb. Así, fue posible realizar la determinación ultra sensible y selectiva de estos elementos y sus especies química en muestras ambientales y alimentos.

Es importante resaltar que los métodos analíticos basados en la aplicación de estos solventes novedosos, permitieron alcanzar ventajas significativas desde el punto de vista ambiental al emplear volúmenes reducidos (en la escala de microlitros), eliminar las pérdidas de solventes por evaporación (poseen nula volatilidad), resultando en una reducción significativa de los residuos generados. Asimismo, se ha observado una mejora apreciable en la selectividad y eficiencia analítica de los métodos desarrollados implementando MILs, los cuales, por su magnetismo intrínseco, facilitan la separación de las fases. En este sentido, los MILs permitieron la separación eficiente de las fases mediante un campo magnético externo aplicado simplemente con una varilla, evitando la necesidad de una etapa de centrifugación en la técnica LLME, lo cual minimizó el consumo de energía y tiempo. Además, la propiedad magnética inherente de los MILs evitó la necesidad de adicionar magnetita para magnetizar la fase extractante, lo cual ha sido utilizado en otros trabajos previamente reportados, simplificando aún más el proceso.

Adicionalmente, se observó que la aplicación combinada de estos solventes modernos con nanomateriales no magnéticos como el GO permitió potenciar sinérgicamente sus propiedades. Este nanomaterial aportó una alta capacidad de sorción y una elevada área superficial específica, lo cual permitió mejorar el rendimiento de la metodología para la separación y determinación de especies inorgánicas de Sb. Sin embargo, al formar dispersiones estables y con partículas de baja granulometría, su completa recolección desde una solución acuosa suele ser compleja. Para resolver este inconveniente, los MILs pudieron adsorberse convenientemente sobre la superficie de

los nanomateriales con el objeto de magnetizarlos y permitir una fácil y rápida separación de fases mediante la simple aplicación de un imán externo.

Durante el desarrollo de esta tesis, se ha comprobado que los MILs que poseen el catión fosfonio pueden ser alternativas sumamente efectivas para realizar la eficiente extracción y cuantificación de diversos elementos tóxicos a niveles de ultratrazas en matrices de mediana a alta complejidad, como son las muestras ambientales y alimentos. No obstante, la implementación de los MILs conllevó desafíos analíticos significativos, ya que fue necesario un estudio minucioso de las condiciones operativas debido a su potencial para generar interferencias en las mediciones de los analitos con la técnica ETAAS.

En primer lugar, se desarrolló un método basado en la aplicación de dos MILs para el análisis de especiación de As inorgánico mediante LLME-ETAAS en muestras de agua, suelo y sedimento. Para ello, se requirió de una etapa de limpieza o "clean-up" de las muestras para eliminar los iones potencialmente interferentes de las mismas. Luego, el As(III) complejado con APDC se extrajo y se separó mediante el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$, así el As(V) presente en la solución acuosa se preconcentró con el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$. La fase MIL que conteniendo la especie As(V) se recolectó mediante una varilla magnética y se diluyó en unos pocos microlitros de $CHCl_3$. Finalmente, se inyectó una alícuota en el horno de grafito para la determinación de As. El As inorgánico total se determinó utilizando el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ como solvente de extracción para ambas especies. La concentración de As(III) se calculó mediante la diferencia entre la concentración de As inorgánico total y As(V). La cuantificación directa del analito en la fase de MIL fue posible luego de un riguroso estudio de las condiciones instrumentales en ETAAS. En este trabajo se demostró que el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ permitió la completa separación de las especies inorgánicas de As y que el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ fue un excelente solvente de extracción para el As(V) alcanzándose una eficiencia de extracción del 99% bajo condiciones experimentales óptimas. Además, dicho MIL permitió la extracción de ambas especies para la determinación de As total. Por lo tanto, la implementación del MIL de Fe evitó el uso de solventes orgánicos volátiles e inflamables como fase de extracción y el empleo de agentes oxidantes para la cuantificación de As inorgánico total. Adicionalmente, su magnetismo intrínseco facilitó la separación de fases con un imán.

En segundo lugar, se realizó la eficiente y selectiva separación y preconcentración de especies inorgánicas de Sb mediante LLME basada en la aplicación del MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ por ETAAS en muestras de agua de diversos orígenes. La especie Sb(III) se extrajo selectivamente mediante su complejación con

DDTP y con el MIL $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ como solvente de extracción. Posteriormente, se aplicó una varilla magnética para la separación de fases, introduciéndola directamente en la solución de la muestra, y luego se diluyó la fase MIL en $CHCl_3$. Posteriormente, se inyectó una alícuota de esta solución en el horno de grafito de ETAAS para la determinación de Sb. Bajo las condiciones óptimas se obtuvo una eficiencia de extracción del 98% para Sb(III) luego de una optimización multivariado, lo cual minimizó el número de experimentos y, por lo tanto, consumo de reactivos, tiempo y costo. Se aplicó la reducción selectiva de Sb(V) a Sb(III) con KI antes de la preconcentración para la determinación de Sb inorgánico total y la concentración de Sb(V) se calculó mediante resta. Este método, por su parte, representó la primera aplicación de un MIL para el análisis de especiación de Sb. La determinación directa del analito en la fase MIL se logró tras un estudio detallado usando el programa de temperaturas de ETAAS, para minimizar las interferencias producidas por la matriz orgánica evitando la pérdida del analito. Además, se evaluó la posible interferencia de Fe sobre la determinación del Sb, siendo menos significativa en presencia de la matriz del MIL que cuando se inyectaba una solución acuosa de Fe. Posiblemente, esto fue debido a la capacidad de los ILs para volatilizarse a elevadas temperaturas como pares de iones estables, logrando eliminar parcialmente el Fe durante la etapa de pirólisis en ETAAS.

Finalmente, se desarrolló un método simple y sustentable basado en el uso de GO y el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ para el análisis de especiación de Sb inorgánico mediante D- μ -SPE seguido de ICP-MS. En este trabajo, las especies de Sb(III) complejadas selectivamente con DDTC y se retuvieron en pocos mg de GO. Posteriormente, se agregó el MIL $[P_{6,6,6,14}]_3[DyCl_6]$ para magnetizar instantáneamente la superficie del sorbente seguido de su separación usando una varilla magnética. Luego, la fase acuosa que conteniendo solo Sb(V) se analizó directamente mediante ICP-MS. La concentración de Sb total se obtuvo mediante introducción directa de la muestra en ICP-MS. Por lo tanto, el Sb(III) se calculó en base a la diferencia entre las concentraciones de Sb inorgánico total y Sb(V). Las condiciones experimentales de extracción se optimizaron mediante un estudio multivariado y se alcanzó una eficiencia de extracción del 99,7%. En este trabajo se obtuvo un beneficio destacable de la combinación sinérgica de las propiedades del GO (elevada área superficial, alta dispersabilidad en agua y elevada capacidad de retención) y del MIL (magnetismo propio).

En todos los trabajos desarrollados en la presente Tesis Doctoral, se alcanzaron rendimientos analíticos muy satisfactorios. En la Tabla 4.1 se puede observar un resumen de los mismos. Esta afirmación no se basa únicamente en las cifras absolutas obtenidas, sino que se han comparado de manera individual con trabajos reportados en

la literatura empleando solventes o técnicas similares a las que se plantean aquí. Estos análisis demuestran que los métodos desarrollados en la presente Tesis se igualan o superan a aquellos publicados en revistas de alto impacto internacional.

Además, los métodos propuestos durante el desarrollo de la presente tesis fueron evaluados en términos de sustentabilidad con el software AGREE, siendo comparables o superiores a otros métodos similares reportados en la literatura (Tabla 3.1.4, 3.2.6 y 3.3.5). En el primer y segundo trabajo de la tesis (sección 3.1 y 3.2), se alcanzaron valores de 0,36 y 0,41, respectivamente. Los bajos valores obtenidos podrían explicarse debido a, por ejemplo, el empleo de un solvente orgánico tóxico volátil e inflamable (CHCl_3) para diluir la fase MIL, previo a la inyección de dicha fase en el horno de grafito de ETAAS. Esto sumado a la utilización de ácidos concentrados para generar el medio adecuado de extracción, o a la baja frecuencia analítica obtenida. En el tercer y último trabajo de la presente tesis (sección 3.3), se alcanzó una puntuación de 0,61. Este trabajo se destaca por ser una alternativa más ecológica al evitar el uso de solventes orgánicos volátiles e inflamables y el empleo de ácidos concentrados los cuales son tóxicos y corrosivos.

Con base en los tres trabajos desarrollados en esta tesis, se ha evidenciado un enfoque innovador y prometedor en el campo de la química analítica al miniaturizar los procesos, lo que conlleva a una reducción significativa del consumo de reactivos y la generación de residuos. Además, la implementación de MILs en lugar de solventes orgánicos tóxicos, volátiles e inflamables representa un avance significativo hacia prácticas más seguras y ecológicas en el ámbito analítico. A pesar de estos avances, es importante mencionar que ninguno de los métodos desarrollados empleó reactivos obtenidos a partir de fuentes renovables, además, emplearon técnicas de detección elemental (ETAAS e ICP-MS) que consumen una cantidad significativa de energía. Adicionalmente, la preparación de la muestra se realizó en modo "batch", lo que limita la simplicidad y la eficiencia. En este contexto, se vuelve esencial considerar el desarrollo de métodos automatizados que no solo minimicen el consumo de energía, sino que también hagan uso de reactivos biodegradables y renovables. Estos avances podrían mejorar la eficiencia de los métodos analíticos, al tiempo que fomentarían prácticas más responsables desde el punto de vista ambiental.

Tabla 4.1 Métodos analíticos desarrollados durante la presente tesis doctoral para el análisis de especiación de As y Sb.

Analito	Solvente/sorbente extractante	Agente complejante	Método	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	EF	Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Muestra (volumen)	Gráfico AGREE	Sección
As(III) As(V)	[P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆] (100 μL : 33 mg de [P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆] en 100 μL de CHCl ₃)	APDC	MIL-LLME-ETAAS	0,020 0,017	3,9 3,1	35	0,05-13	Agua de grifo, río, mar, dique y subterránea, suelo y sedimento (5 mL)		3.1
Sb(III) Sb(V)	[P _{6,6,6,14}] ₃ [FeCl ₄] (45 μL)	DDTP	MIL-LLME-ETAAS	0,020	3,1 3,5	35	0,08-20	Agua de grifo, dique, mineral, humedal, subterránea, lluvia y río (6 mL)		3.2
Sb(III) Sb(V)	GO (MIL: [P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆]) (3 mg)	DDTC	GO@MIL-D- μ -SPE-ICP-MS	0,005 0,003	3,2 2,9	N.A. .	0,01-80	Agua de grifo, infusiones de té, miel (8 mL)		3.3

N.A.: No aplicado.

En resumen, en la presente Tesis Doctoral se han propuesto novedosas metodologías analíticas empleando solventes modernos como son los MILs, para la extracción y determinación de especies inorgánicas de As y Sb en muestras de origen ambiental y alimentos. De este modo, los MILs han demostrado alcanzar un rendimiento analítico sobresaliente, con una aplicación comprobada en matrices complejas como las mencionadas, permitiendo la extracción selectiva y posterior determinación de las especies inorgánicas de estos elementos a niveles de ultratrazo. Además, estos solventes aportan nula inflamabilidad, despreciable volatilidad y reducción significativa de la escala de las operaciones, sumado a su propiedad magnética inherente que permite realizar la separación de fases de forma más simple y rápida, con un imán, minimizando el tiempo y consumo de energía. Así, la combinación de estas propiedades junto a la implementación de los MILs en técnicas LLME y D- μ -SPE, que permiten la reducción de la cantidad de solventes y materiales de extracción debido a la microescala en la que se realizan las operaciones involucradas, contribuye significativamente a promover la compatibilidad ambiental de los métodos propuestos. Por lo tanto, pueden considerarse valiosas herramientas analíticas para su aplicación en laboratorios de rutina orientados al control ambiental y alimentos debido también a la elevada selectividad en la separación de las especies químicas y su determinación con alta sensibilidad analítica.

Como perspectiva a futuro, se plantea la posibilidad de continuar con el desarrollo de métodos basados en la implementación de MILs, para el análisis de especiación de elementos como Hg y Se, entre otros. Asimismo, se continuará la búsqueda de nuevos MILs de viscosidad más baja y con mayor susceptibilidad magnética que los empleados en este trabajo de Tesis Doctoral, para ser empleados en el desarrollo de metodologías de microextracción aún más eficientes. Además, se seguirá explorando la combinación de estos solventes con nanomateriales no magnéticos como GO, nanotubos de carbono, sílica, etc, para la microextracción y preconcentración de elementos. Adicionalmente, se estudiará la potencial aplicación de MILs en sistemas en flujo que permitan la preconcentración y separación de especies químicas. De esta manera, se aportará al desarrollo de metodologías de referencia que puedan ser utilizadas como recursos para la formulación de regulaciones en relación con las características tanto cualitativas como cuantitativas de diversos analitos y sus diferentes especies en diversas matrices.