



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y
NATURALES**
DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
Tesis Doctoral

“DESARROLLO DE MÉTODOS DE SEPARACIÓN Y
PRECONCENTRACIÓN CON LÍQUIDOS IÓNICOS Y
NANOMATERIALES SOPORTE PARA EL ANÁLISIS DE
ESPECIACIÓN DE SELENIO Y TELURIO EN MUESTRAS DE
ORIGEN AMBIENTAL”

Tesista: **Lic. Mauricio Llaver**
Director: **Dr. Rodolfo G. Wuilloud**
Co-director: **Dr. Eduardo A. Coronado**

Mendoza, Argentina, 2020

INSTITUCIONES DE DESARROLLO



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

FCEN
FACULTAD DE CIENCIAS
EXACTAS Y NATURALES
Naturaleza - Ciencia - Humanismo

Instituto Interdisciplinario de Ciencias Básicas:

CONICET



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

I C B



Laboratorio de Química Analítica
para Investigación y Desarrollo

FINANCIAMIENTO

CONICET



AGENCIA
NACIONAL DE PROMOCION
CIENTIFICA Y TECNOLOGICA



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

SIIP

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN,
INTERNACIONALES Y POSGRADO

“The only way is all the way”

Slipknot – Opium of the People

AGRADECIMIENTOS

Primero y principal, agradezco a mi familia, que se agrandó durante el desarrollo de esta Tesis y se va a agrandar todavía más dentro de poco. A Ampí, con quien estoy en deuda para siempre por todo el aguante durante estos años: viajes, congresos, horas en el laboratorio, en clases y otras tantas en la computadora en casa. Empecé esta Tesis como amigo tuyo y la terminé como tu esposo y papá del pequeño Alfon, que en un tiempo va a abandonar tu panza para llegar a darnos vuelta todo (una vez más). A mis padres, Paula y Mauricio, y a mi hermana, Ludmila, que en los últimos diez años fueron la red de seguridad sobre la que pude hacer todas las piruetas que me llevaron a estar donde estoy hoy. Los amo a todos. Mucho. Nada sería lo mismo sin ustedes.

A mis abuelos, abuelas, tíos, tías, primos y primas. Siempre estuvieron ahí para darme algún consejo, ayudarme o simplemente para divertirnos juntos. Al Tata y a la Dani, que, aunque ya no están en el plano físico, siguen estando muy presentes dentro mío en forma de todo lo que me enseñaron, todo lo que vivimos juntos y todas las pasiones que me dejaron. Los llevo a todos siempre bien cerca de mí.

A los Papais, con los que ya hemos compartido más de la mitad de nuestras vidas y que me recibieron después de cinco años en Buenos Aires como si hubiesen pasado tan solo cinco minutos. La compañía, el aguante, el amor y la diversión que me han dado en estos años ha sido mucho más de lo que podría pedir. Ustedes son el bien.

A Rodolfo, director de esta Tesis, quien me dio un lugar en el QUIANID cuando decidí volver a Mendoza y con quien aprendí muchísimo durante estos años. Gracias por haber sido la guía que necesité en muchos momentos de este camino y por haberme dado la independencia para evolucionar como profesional en tantos otros; ha sido el balance perfecto. A Eduardo, mi co-director, también, por sus valiosos consejos y apoyo en todo momento, especialmente con los ajustes que tuvimos que hacer en el camino.

A mis amigos del laboratorio, los actuales y los que pasaron, con quienes compartí muchísimas horas de mi vida durante este proceso: Alex, Belén, Brenda, Pame, Mage, Ani, Leti, Estef, Emi, Nati, Agos. La pasé muy bien con todos ustedes y aprendí un montón. Gracias por estar y por escuchar siempre que lo necesité.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Cuyo, por haber sido el espacio en el que desarrollé la mayor parte de esta Tesis y por haberme dado la oportunidad de hacer una las actividades que más alegría me da: ser docente. Gracias a las autoridades, al personal de la Facultad, a los y las compañeras de docencia y a los alumnos y alumnas que conocí en estos años, ha sido y sigue siendo una de las experiencias más gratificantes de mi vida y es gracias a todos ustedes.

Al Grupo de Química Analítica de la Facultad de Farmacia de la *Charles University*, en República Checa, donde tuve la suerte de realizar una hermosa estadía de investigación en la que fui recibido de la mejor manera. Mi tiempo con ustedes fue uno de los períodos más espectaculares del Doctorado y espero poder verlos nuevamente pronto. *Na zdraví!*

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, donde estudié la Licenciatura en Ciencias Químicas. Aparte de haber sido algunos de los años más felices de mi vida los que pasé ahí, la formación con la que me fui ha sido fundamental para enfrentar los desafíos de este Doctorado.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por haber financiado mis estudios de Doctorado, permitiéndome concretar el trabajo aquí presentado. También a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y a la Universidad Nacional de Cuyo, por el financiamiento de los proyectos sin los cuales el desarrollo de esta Tesis no hubiera sido posible, y a la Secretaría de Investigación, Internacionales y Posgrado de la UNCuyo por el financiamiento para la estancia en República Checa.

Y aunque no los haya nombrado particularmente, gracias a todos los que estuvieron de alguna u otra manera. Hicieron que este recorrido sea maravilloso. Ahora vamos por más.

PRÓLOGO

Con el transcurso del tiempo, las ciencias del ambiente se benefician cada vez más del desarrollo de metodologías analíticas innovadoras. Esto se refiere especialmente a la identificación, separación y cuantificación de las diferentes formas bajo las cuales puede existir una especie química en muestras tan diversas como aguas, suelos y sedimentos, entre muchas otras. La palabra “especiación” se ha tornado extremadamente popular últimamente y es utilizada en estudios relacionados con la distribución de un elemento químico entre sus diversas formas químicas o “especies”. De hecho, el concepto de especiación resulta extremadamente importante dentro de los estudios nutricionales y de contaminación, puesto que aporta información relacionada con la biodisponibilidad y toxicidad de un dado elemento. Este ha permitido demostrar que estos factores no solo dependen de la naturaleza del elemento y de su concentración, sino también de las formas (especies) y combinaciones químicas que el mismo presenta en el sistema bajo estudio.

Desde este punto de vista, el continuo desarrollo y aplicación de metodologías analíticas de última generación que involucren el acoplamiento de técnicas de separación altamente eficientes (cromatográficas o no cromatográficas) con otras de detección elemental de alta sensibilidad (por ej. espectrometría de absorción atómica [AAS], espectrometría de fluorescencia atómica [AFS], espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo [ICP-MS] o espectrometría de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo [ICP-OES]) son actividades cruciales en la química analítica moderna y permiten alcanzar un grado elevado de análisis de especiación elemental a niveles de concentración del orden de trazas ($\mu\text{g L}^{-1}$) o aún menores. Sumado a esto, el desafío de disminuir el impacto ambiental, siguiendo los preceptos de la Química Verde, agrega otra dimensión al problema del análisis químico. Ante esta situación, el desarrollo de métodos que minimizan el consumo de reactivos - especialmente de aquellos con alto impacto ambiental- se ha convertido recientemente en otro de los objetivos a contemplar al momento de diseñar nuevas metodologías. Los métodos clásicos de extracción y preconcentración suelen requerir grandes cantidades de solventes orgánicos volátiles que implican riesgos elevados de contaminación ambiental y de seguridad, haciendo el reemplazo eficiente de esos solventes por alternativas más sustentables uno de los desafíos más importantes en la actualidad.

En los últimos quince años, los líquidos iónicos (ILs) han sido introducidos en la comunidad científica y tecnológica como alternativas a los solventes orgánicos

convencionales volátiles. De este modo, las propiedades físicas y químicas particulares de estos nuevos solventes los posicionan como solventes del futuro para reemplazar a los solventes orgánicos moleculares en áreas que van desde la química analítica hasta procesos industriales. Dentro de las características que hacen a estos solventes ideales para su aplicación en metodologías analíticas de extracción líquido-líquido, se pueden mencionar: su elevado punto de ebullición, su gran estabilidad química y el amplio abanico de posibilidades químicas que brindan en términos de interacciones intermoleculares, haciendo posible su uso con, virtualmente, cualquier analito de interés.

Entre las propiedades requeridas para la aplicación de ILs en química analítica, se destacan la necesidad de que sean insolubles en agua y más densos que ella, para evitar su disolución en las muestras y facilitar la separación de ellas, respectivamente. Esto hace que una fracción importante del universo de los ILs quede exceptuada de poder ser utilizada. Ante esto, la posibilidad de combinar los ILs con soportes sólidos para su uso en metodologías de extracción en fase sólida abre la puerta a un vasto rango de posibilidades de aplicaciones, incluso para ILs solubles en agua.

Entre los soportes más atractivos para el acoplamiento de ILs, los nanomateriales se han posicionado naturalmente como una de las alternativas más eficientes. Propiedades tales como su gran relación superficie-volumen, la presencia de grupos funcionales superficiales o, incluso, propiedades tales como el magnetismo, hacen a los nanomateriales muy atractivos tanto para aplicaciones analíticas directas como para su uso como soportes de otros extractantes. Por esto, la sinergia surgida de la combinación de nanomateriales con ILs representa un campo de investigación de gran interés para el desarrollo de métodos de preconcentración y análisis de especiación elemental.

Por otro lado, el selenio (Se) y el telurio (Te) son elementos que, al encontrarse en posiciones contiguas en el grupo XVI de la tabla periódica, presentan algunas propiedades similares y otras distintivas entre ellos. El Se es un elemento de naturaleza dual, esencial para el ser humano en un rango estrecho de concentraciones y tóxico fuera de él. Por otro lado, el Te no tiene funciones conocidas en el organismo y es tóxico a concentraciones relativamente bajas, lo cual es de suma importancia teniendo en cuenta que sus usos y aplicaciones se encuentran en pleno crecimiento actualmente. Ambos elementos coinciden en el hecho de que sus especies inorgánicas son significativamente más tóxicas que las orgánicas y que, entre las inorgánicas, hay diferencias de toxicidad entre estados de oxidación. Esto, sumado a que las concentraciones de estas especies suelen ser del orden de los $\mu\text{g L}^{-1}$ en muestras

ambientales, motivó el objetivo de esta tesis de desarrollar metodologías analíticas innovadoras para la preconcentración y separación de las especies de estos elementos.

El principal objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido el desarrollo de metodologías analíticas utilizando ILs, nanomateriales y los materiales híbridos resultantes de su combinación para la preconcentración y el análisis de especiación no cromatográfico de especies inorgánicas de Se y Te en muestras de interés ambiental. Se han propuesto, evaluado y desarrollado métodos analíticos fundamentados en técnicas modernas de extracción líquido-líquido (extracción en punto de nube y por formación *in situ* de solvente) y de microextracción en fase sólida (dispersiva y dispersiva magnética). Se ha descrito, además, el empleo de técnicas de detección elemental tales como AAS y AFS, habiendo demostrado que el acoplamiento de estas con los métodos de preconcentración desarrollados permite llegar a límites de detección comparables o incluso más favorables que aquellos alcanzables con técnicas más costosas y menos accesibles, como ICP-MS. Un aspecto destacable de las metodologías desarrolladas surge de la posibilidad de aplicación de las mismas sobre muestras con matrices complejas, tales como aguas naturales (incluyendo agua de mar), lixiviados de suelos y sedimentos e, incluso, alimentos de interés regional en algunos casos.

El texto de esta Tesis aborda inicialmente una introducción que incluye algunos aspectos de la química del Se y del Te, así como desarrollos analíticos de los últimos años apuntados a su análisis de especiación y preconcentración. Continúa con una discusión de las propiedades y usos de los ILs, nanomateriales y sus combinaciones en química analítica para la extracción, separación y preconcentración de especies inorgánicas de Se y Te. Posteriormente se presenta la descripción y discusión de las investigaciones llevadas a cabo durante la Tesis Doctoral, que incluyen el desarrollo de tres procedimientos innovadores de microextracción en fase sólida utilizando nanomateriales e híbridos nanomaterial-IL y dos de microextracciones líquido-líquido utilizando ILs. En todos los casos, el objetivo ha sido la búsqueda de nuevas dimensiones para la aplicación de nanomateriales, ILs y sus combinaciones como fases de extracción para el análisis de especiación de Se y Te, así como la comprensión de los mecanismos responsables de este comportamiento.

El desarrollo de esta Tesis Doctoral ha dado lugar a la publicación de los siguientes trabajos de investigación en revistas internacionales con referato:

“Synergistic analytical preconcentration with ionic liquid-nanomaterial hybrids”

Estefanía M. Martinis, Alexander Castro Grijalba, María B. Pérez, Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud.

Trends in Analytical Chemistry 97 (2017) 333-344. Editorial: Elsevier B.V., DOI: 10.1016/j.trac.2017.10.004

“High performance preconcentration of inorganic Se species by dispersive micro-solid phase extraction with a nanosilica-ionic liquid hybrid material”

Mauricio Llaver, Eduardo A. Coronado, Rodolfo G. Wuilloud

Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 138 (2017) 23-30. Editorial: Elsevier B.V., DOI: 10.1016/j.sab.2017.10.003

“Separation and preconcentration of inorganic Se species in tap and natural waters using unfunctionalized nanosilica as sorption material in dispersive micro-solid phase extraction”

Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud

Microchemical Journal 146 (2019) 763-770. Editorial: Elsevier B.V., DOI: 10.1016/j.microc.2019.01.066

“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 determination”

Mauricio Llaver, Francisco Casado-Carmona, Rafael Lucena, Soledad Cárdenas, Rodolfo G. Wuilloud

Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 162 (2019) 105705. Editorial: Elsevier B.V. DOI: 10.1016/j.sab.2019.105705

“Studying the effect of an ionic liquid on cloud point extraction technique for highly efficient preconcentration and speciation analysis of tellurium in water, soil and sediment samples”

Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud

Talanta 212 (2020) 120802. Editorial: Elsevier B.V., DOI: 10.1016/j.talanta.120802

“Simultaneous on-line preconcentration and speciation analysis of selenium and tellurium in environmental samples by an ionic liquid based in-situ solvent formation microextraction coupled to hydride generation atomic fluorescence spectroscopy”

Mauricio Llaver, Agostina L. Chapana, Rodolfo G. Wuilloud

Talanta 222 (2020) 121460. Editorial: Elsevier B.V., DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121460

Los siguientes capítulos de libros:

“Modern Analytical Nanotechnologies for Beverages Quality Control”

Mauricio Llaver, Estefanía M. Martinis, Annaly Cruz Sotolongo, Rodolfo G. Wuilloud

En **“Impact of Nano-Engineering in the Beverage Industry (Volume 20: The Science of Beverages)”** (2019), editado por Alexandru M. Grumezescu y Alina M. Holban.

Editorial: Elsevier. ISBN: 9780128166772

“Analytical methods for the determination of heavy metals in water”

Mauricio Llaver, María N. Oviedo, Pamela Y. Quintas, Rodolfo G. Wuilloud

En **“Water Pollution and Remediation: Heavy Metals”** (2021), editado por Inamuddin, Mohd I. Ahamed y Eric Lichtfouse. Editorial: Springer. En prensa.

Y las siguientes presentaciones en congresos nacionales e internacionales:

“Separation and preconcentration of inorganic selenium species in water samples with a novel nanosilica-ionic liquid hybrid material and ETAAS detection”

Congreso: 14th Rio Symposium on Atomic Spectroscopy; Vitória, Brasil. Abril 2017

Autores: Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud

Modalidad: Póster

“A novel nanosilica-ionic liquid hybrid material for the selective extraction of inorganic Se(IV) from aqueous samples”

Congreso: 5th Iberoamerican Meeting on Ionic Liquids (IMIL); Santos, Brasil. Abril 2017.

Autores: Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud

Modalidad: Póster

“Un novedoso nanomaterial magnético funcionalizado con líquidos iónicos poliméricos para la extracción y separación de especies inorgánicas de telurio en aguas”

Congreso: XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM; Mendoza, Argentina. Octubre 2018

Autores: Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud

Modalidad: Póster

“A novel Fe₃O₄-polymeric ionic liquid magnetic nanocomposite for efficient preconcentration and speciation analysis of inorganic tellurium in environmental samples by flow injection-hydride generation atomic fluorescence spectrometry”

Congreso: Colloquium Spectroscopicum Internationale XLI – 1st Latin American Meeting on LIBS (I LAM-LIBS); Ciudad de México, México. Junio 2019

Autores: Mauricio Llaver, Francisco Casado-Carmona, Rafael Lucena, Soledad Cárdenas, Rodolfo G. Wuilloud

Modalidad: Presentación oral

“A highly efficient ionic liquid-assisted cloud point extraction technique for preconcentration and speciation analysis of tellurium in environmental samples using electrothermal atomic absorption spectroscopy”

Congreso: 15th Rio Symposium on Atomic Spectroscopy; Mendoza, Argentina. Octubre 2019

Autores: Mauricio Llaver, Rodolfo G. Wuilloud

Modalidad: Presentación oral

** Ganador del premio “Best Oral Presentation” a la mejor presentación oral, entregado por el Journal of Analytical Atomic Spectroscopy de la Royal Society of Chemistry.*

“Simultaneous determination of selenium and tellurium species in environmental samples by on-line ionic liquid based in-situ solvent formation microextraction with atomic fluorescence spectrometry detection”

Congreso: LatinXChem Conference, congreso latinoamericano virtual. Septiembre 2020

Autores: Mauricio Llaver, Agostina L. Chapana, Rodolfo G. Wuilloud

Modalidad: Póster virtual

** Mención de honor como póster destacado en la sección de química analítica.*

ÍNDICE DE CONTENIDOS

La versión digital de esta Tesis cuenta con vínculos para navegar con mayor facilidad a través de la misma, clickeando sobre el título de cada Sección, Figura o Tabla. Asimismo, se puede retornar al índice clickeando sobre el número de página en cualquier sección del archivo.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1	Los elementos	30
1.1.1	Selenio	30
1.1.2	Telurio	33
1.1.3	Bibliografía	36
1.2	Preconcentración y análisis de especiación	37
1.2.1	Parámetros analíticos característicos de los métodos de preconcentración	39
1.2.2	Extracción en fase sólida	40
1.2.2.1	Extracción en fase sólida clásica	42
1.2.2.2	Microextracción en fase sólida	43
1.2.2.3	Extracción dispersiva en fase sólida	44
1.2.2.4	Sorbentes modernos para extracción en fase sólida	46
1.2.2.4.1	Materiales nanoestructurados	48
1.2.2.4.2	Materiales híbridos	50
1.2.2.5	Extracción en fase sólida magnética	52
1.2.2.6	Extracción en fase sólida en sistemas en flujo	57
1.2.2.7	Bibliografía	61
1.2.3	Extracción líquido-líquido	69
1.2.3.1	Líquidos iónicos: solventes modernos para extracciones líquido-líquido	70
1.2.3.2	Técnicas de extracción líquido-líquido con líquidos iónicos	78
1.2.3.2.1	Microextracción líquido-líquido dispersiva clásica	79
1.2.3.2.2	Microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por agitación mecánica	83
1.2.3.2.3	Microextracción líquido-líquido asistida por temperatura	84
1.2.3.2.4	Extracción en punto de nube	86
1.2.3.2.5	Microextracción por formación de líquido iónico <i>in situ</i>	88

1.2.3.2.6	Microextracción con gota única	88
1.2.3.2.7	Microextracción en fase líquida con fibra hueca	91
1.2.3.2.8	Microextracción líquido-líquido magnética	92
1.2.3.3	Extracción líquido-líquido en sistemas en flujo	94
1.2.3.4	Bibliografía	96
1.2.4	Técnicas de detección	103
1.2.4.1	Espectrometría de absorción atómica	104
1.2.4.1.1	Instrumentación y funcionamiento	105
1.2.4.1.2	Detección de Se y Te por AAS	108
1.2.4.2	Espectrometría de fluorescencia atómica	109
1.2.4.2.1	Instrumentación y funcionamiento	110
1.2.4.2.2	Detección de Se y Te por AFS	114
1.2.4.3	Bibliografía	116

CAPÍTULO 2

REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

2.1	Reactivos y materiales	119
2.1.1	Agua ultrapura	119
2.1.2	Soluciones patrón y soluciones concentradas	119
2.1.2.1	Patrones de Se y Te	119
2.1.2.2	Modificadores de matriz para ETAAS	120
2.1.2.3	Agente reductor para HG-AFS: NaBH ₄	120
2.1.2.4	Agentes complejantes	121
2.1.2.5	Tensoactivos	122
2.1.2.6	Agente para el ajuste de fuerza iónica	122
2.1.2.7	Soluciones buffer	122
2.1.2.8	Sonda fluorescente: Laurdan	123
2.1.3	Líquidos iónicos	123
2.1.4	Sorbentes nanoestructurados	125
2.1.4.1	Nanosílica	125
2.1.4.2	Preparación del nanomaterial híbrido Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @PIL	125
2.1.5	Iones interferentes	127
2.1.6	Otros reactivos generales	127

2.2	Instrumentación	128
2.2.1	Espectrómetro de absorción atómica	128
2.2.2	Espectrómetro de fluorescencia atómica	129
2.2.2.1	Generador de hidruros de bajo volumen	130
2.2.3	Espectrofotómetros de infrarrojo	131
2.2.4	Espectrofluorómetro	131
2.2.5	Microscopio electrónico	131
2.2.6	Sistemas de flujo	132
2.2.7	Sistema de centrifugación	132
2.2.8	Mediciones de pH	132
2.2.9	Sistemas de agitación mecánica	132
2.2.10	Baño termostático	133
2.2.11	Medición de microvolúmenes	133
2.2.12	Balanzas	133
2.2.13	Material de vidrio	133
2.2.14	Software	133
2.3	Muestras	134
2.3.1	Recolección y almacenamiento	134
2.3.2	Lixiviación de muestras sólidas	135
2.3.3	Tratamiento de las muestras de alimentos	135
2.3.4	Pre reducción de las muestras	135
2.4	Bibliografía	137

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 138

3.1	NANOSÍLICA COMO SORBENTE EN MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA PARA EL ANÁLISIS DE ESPECIES DE SELENIO EN AGUAS	
3.1.1	Introducción	139
3.1.2	Procedimiento general de microextracción y preconcentración	141
3.1.3	Optimización de las condiciones de extracción y selectividad	142
3.1.3.1	Elección del agente complejante	142
3.1.3.2	Efecto del pH	145
3.1.3.3	Volumen de muestra, cantidad de sorbente y tiempo de extracción	147

3.1.3.4	Efecto de la fuerza iónica	148
3.1.4	Caracterización de la interacción analito-nanosílica	149
3.1.5	Elución del complejo Se(IV)-APDC	153
3.1.6	Reutilización de la nanosílica	156
3.1.7	Selectividad del método para especies de selenio	157
3.1.8	Condiciones de ETAAS para la determinación de selenio	158
3.1.9	Estudio de potenciales interferencias	159
3.1.10	Rendimiento analítico del método propuesto	160
3.1.11	Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de selenio en muestras de agua	163
3.1.12	Conclusiones	166
3.1.13	Bibliografía	168
3.2	PRECONCENTRACIÓN DE ESPECIES INORGÁNICAS DE SELENIO POR MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA EN FASE SÓLIDA CON UN MATERIAL HÍBRIDO NANOSÍLICA-LÍQUIDO IÓNICO	
3.2.1	Introducción	172
3.2.2	Preparación y caracterización del híbrido nanosílica-IL y proceso general de microextracción y preconcentración	174
3.2.3	Funcionalización de la nanosílica y selección del líquido iónico	175
3.2.3.1	Caracterización del nanomaterial híbrido	182
3.2.4	Optimización de las condiciones de extracción y selectividad	184
3.2.4.1	Elección del agente complejante	184
3.2.4.2	Evaluación del pH	186
3.2.4.3	Tiempo de extracción y separación	187
3.2.4.4	Volumen de muestra, cantidad de material sorbente y capacidad	187
3.2.5	Elución del analito	190
3.2.6	Reutilización del material sorbente	194
3.2.7	Selectividad del método para especies de selenio	195
3.2.8	Condiciones instrumentales para la determinación de selenio por ETAAS	196
3.2.9	Estudio de potenciales interferentes	197
3.2.10	Rendimiento analítico	198
3.2.11	Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de selenio en muestras de agua	201
3.2.12	Conclusiones	204

3.2.13	Bibliografía	205
--------	--------------	-----

3.3 PRECONCENTRACIÓN DE ULTRA TRAZAS DE ESPECIES DE TELURIO CON UN NANOMATERIAL COMPUESTO MAGNÉTICO BASADO EN UN LÍQUIDO IÓNICO POLIMÉRICO Y EXTRACCIÓN MAGNÉTICA DISPERSIVA EN FASE SÓLIDA

3.3.1	Introducción	207
3.3.2	Procedimiento general de microextracción y preconcentración	209
3.3.3	Optimización de las condiciones de extracción y selectividad	210
3.3.3.1	Efecto del pH	212
3.3.3.2	Volumen de muestra, cantidad de sorbente y tiempo de extracción	213
3.3.4	Elución de la especie Te(IV)	217
3.3.5	Selectividad del método para especies de telurio	221
3.3.6	Acoplamiento de un generador de hidruros miniaturizado para la determinación de Te(IV) por FI-HG-AFS	222
3.3.7	Condiciones óptimas para la generación de hidruros y H ₂	224
3.3.8	Estudio de potenciales interferencias	229
3.3.9	Rendimiento analítico	229
3.3.10	Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de telurio en muestras naturales y de alimentos	234
3.3.11	Conclusiones	237
3.3.12	Bibliografía	238

3.4 MICROEXTRACCIÓN EN PUNTO DE NUBE ASISTIDA POR UN LÍQUIDO IÓNICO PARA LA PRECONCENTRACIÓN Y ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN DE TELURIO

3.4.1	Introducción	241
3.4.2	Procedimiento general de microextracción y preconcentración	243
3.4.3	Estudios del mecanismo de acción del IL sobre la extracción	245
3.4.4	Optimización de las condiciones de extracción y selectividad	245
3.4.4.1	Tipo de agente complejante y su concentración	246
3.4.4.2	Efecto del pH, tipo de tensoactivo y de líquido iónico	247
3.4.4.3	Influencia del volumen de muestra, fuerza iónica, temperatura y tiempo de extracción	251

3.4.5	Evaluación del efecto del líquido iónico sobre el microambiente micelar de extracción	255
3.4.6	Selectividad del método para especies de telurio	257
3.4.7	Determinación de telurio en la fase extractante	257
3.4.7.1	Elección del diluyente	258
3.4.7.2	Optimización de las condiciones de ETAAS	259
3.4.8	Estudio de potenciales interferencias	260
3.4.9	Rendimiento analítico	261
3.4.10	Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de telurio en muestras ambientales	264
3.4.11	Conclusiones	267
3.4.12	Bibliografía	268
3.5	MICROEXTRACCIÓN POR FORMACIÓN <i>IN SITU</i> DE UN LÍQUIDO IÓNICO PARA LA PRECONCENTRACIÓN Y ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN SIMULTÁNEOS DE SELENIO Y TELURIO EN LÍNEA	
3.5.1	Introducción	271
3.5.2	Procedimiento general de microextracción y preconcentración	273
3.5.3	Optimización de las condiciones de extracción y selectividad	275
3.5.3.1	Elección del líquido iónico y su concentración	277
3.5.3.2	Efectos del pH y de la concentración de agente complejante	279
3.5.3.3	Condiciones del sistema en flujo	281
3.5.4	Selectividad del método para especies de selenio y telurio	284
3.5.5	Evaluación de los parámetros de elución	285
3.5.6	Determinación simultánea de Se y Te por FI-HG-AFS	288
3.5.7	Estudio de potenciales interferencias	291
3.5.8	Rendimiento analítico	292
3.5.9	Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de selenio y telurio en muestras ambientales	296
3.5.10	Conclusiones	299
3.5.11	Bibliografía	301
CAPÍTULO 4		
	CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS	304

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

1.1.1	Propiedades de las especies de Se relevantes en la presente tesis	31
1.1.2	Propiedades de las especies inorgánicas de Te	35
1.2.1	Parámetros analíticos utilizados a lo largo de la Tesis	41
1.2.2.1	Variantes de la técnica de extracción en fase sólida y algunos materiales sorbentes utilizados para la preconcentración y/o análisis de especiación de Se y/o Te inorgánico	47
1.2.2.2	Variantes de la técnica de extracción en fase sólida magnética aplicadas para la preconcentración y/o análisis de especiación de Se y/o Te inorgánico	55
1.2.3.1	Propiedades fisicoquímicas de algunos líquidos iónicos de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios	75
1.2.3.2	Métodos de microextracción líquido-líquido con líquidos iónicos para preconcentración de especies de Se y Te	82
3.1.1	Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método D- μ -SPE-ETAAS con nanosílica desarrollado para la determinación de Se	143
3.1.2	Selectividad del método D- μ -SPE-ETAAS con nanosílica propuesto para la determinación de especies de Se	157
3.1.3	Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método D- μ -SPE-ETAAS con nanosílica desarrollado	162
3.1.4	Métodos analíticos recientemente reportados para preconcentración y análisis de especiación de Se inorgánico utilizando nanomateriales	164
3.1.5	Resultados del análisis de especiación de Se inorgánico en diversas muestras de agua y estudios de recuperación	166
3.2.1	Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método D- μ -SPE-ETAAS con el híbrido nanosílica-IL desarrollado para la determinación de Se	176
3.2.2	Efecto de las estrategias de elución sobre el factor de refuerzo de la sensibilidad	191
3.2.3	Selectividad del método D- μ -SPE-ETAAS con el híbrido nanosílica-IL propuesto para la determinación de especies de Se	195

3.2.4	Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método D- μ -SPE-ETAAS con el híbrido nanosílica-IL desarrollado	200
3.2.5	Métodos analíticos de preconcentración y análisis de especiación de Se inorgánico utilizando nanomateriales, ILs o sus combinaciones	202
3.2.6	Resultados del análisis de especiación de Se inorgánico en diversas muestras de agua y estudios de recuperación	203
3.3.1	Condiciones experimentales e instrumentales óptimas para la determinación de Te por el método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS desarrollado	211
3.3.2	Selectividad del método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS propuesto para la determinación de especies de Te	221
3.3.3	Parámetros obtenidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método D- μ -SPE-FI-HG-AFS desarrollado	231
3.3.4	Métodos analíticos reportados recientemente para la preconcentración y análisis de especiación de Te en muestras ambientales y de alimentos	233
3.3.5	Resultados del análisis de especiación de Te en diversas muestras y de los estudios de recuperación	235
3.4.1	Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método IL-CPE-ETAAS desarrollado para la determinación de especies de Te	244
3.4.2	Selectividad del método IL-CPE-ETAAS propuesto para la determinación de especies de Te	257
3.4.3	Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método IL-CPE-ETAAS desarrollado	263
3.4.4	Métodos analíticos reportados recientemente de preconcentración y análisis de especiación de Te con extracción líquido-líquido en muestras ambientales	265
3.4.5	Resultados del análisis de especiación de Te en diversas muestras y estudios de recuperación	266
3.5.1	Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método IL-ISFME-HG-AFS desarrollado para la determinación de especies de Se y Te	276

3.5.2	Efecto de distintas combinaciones de IL y KPF_6 sobre las extracciones de Se(IV) y Te(IV) complejados con APDC, tras su extracción por IL-ISFME y determinación por HG-AFS	278
3.5.3	Efecto de distintas combinaciones de cantidades de $[C_8mim]Cl$ y KPF_6 sobre las señales analíticas de Se(IV) y Te(IV) tras su extracción por IL-ISFME y determinación por FI-HG-AFS	279
3.5.4	Eficiencias de extracción de Se(IV) y Te(IV) obtenidas con distintas combinaciones de caudal de muestra, largo de columna y relleno de la misma	283
3.5.5	Selectividad del método IL-ISFME-FI-HG-AFS propuesto para la determinación de especies de Se y Te	285
3.5.6	Eficiencias de elución de Se(IV) y Te(IV) obtenidas con distintas combinaciones de volúmenes y caudales de HNO_3 5,0 mol L^{-1} en metanol como eluyente	288
3.5.7	Influencia de las concentraciones de HCl y de $NaBH_4$ sobre la generación de los hidruros de Se(IV) y Te(IV) tras la preconcentración de 5,0 mL de una solución estándar de concentración 5,0 $\mu g L^{-1}$ utilizando el método IL-ISFME desarrollado	290
3.5.8	Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método IL-ISFME-HG-AFS desarrollado	294
3.5.9	Métodos analíticos reportados recientemente de preconcentración y análisis de especiación simultáneos de Se y Te en muestras ambientales	296
3.5.10	Resultados del análisis de especiación de Se en diversas muestras y estudios de recuperación	298
3.5.11	Resultados del análisis de especiación de Te en diversas muestras y estudios de recuperación	299
4.1	Métodos analíticos desarrollados durante la presente Tesis Doctoral para la preconcentración y análisis de especiación de Se y Te	308

FIGURAS

1.1.1	Demanda de Se por parte de las principales industrias que lo utilizan, durante el período entre los años 1940 y 2010	32
1.1.2	Demanda industrial de Te en el período 1940-2016	34

1.2.2.1	Resumen esquemático de los pasos involucrados en la extracción en fase sólida clásica con columna	42
1.2.2.2	Representación esquemática de la técnica de microextracción en fase sólida	44
1.2.2.3	Representación esquemática de la técnica de extracción dispersiva en fase sólida	45
1.2.2.4	Representación esquemática de los nanomateriales más frecuentemente utilizados en microextracciones dispersivas en fase sólida	48
1.2.2.5	Representación esquemática de la técnica de extracción en fase sólida magnética	53
1.2.2.6	Representación esquemática de sistemas de análisis por inyección en flujo y por inyección secuencial	59
1.2.3.1	Resumen de los momentos claves en la historia de los líquidos iónicos, desde su descubrimiento hasta su aplicación en química analítica	71
1.2.3.2	Cationes y aniones más frecuentemente encontrados en líquidos iónicos con aplicaciones analíticas	72
1.2.3.3	Escala de polaridad $E_{T(30)}$ normalizada con algunos solventes orgánicos seleccionados y familias de líquidos iónicos	74
1.2.3.4	Representación esquemática de la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva clásica asistida por líquido iónico	80
1.2.3.5	Representación esquemática de la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por líquidos iónicos y agitación mecánica	84
1.2.3.6	Representación esquemática de la técnica de microextracción líquido-líquido con líquidos iónicos asistida por temperatura	86
1.2.3.7	Representación esquemática de la técnica de extracción en punto de nube	87
1.2.3.8	Representación esquemática de la técnica de microextracción por formación de líquido iónico in situ	88
1.2.3.9	Representación esquemática de la técnica de microextracción con gota única de líquido iónico en modalidad: a) Bifásica (o de inmersión directa) y b) Trifásica (o de espacio cabeza)	90
1.2.3.10	Representación esquemática de los pasos involucrados en la técnica de microextracción en fase líquida con fibra hueca	92

1.2.3.11	Representación esquemática de la técnica de extracción magnética dispersiva en fase líquida	93
1.2.4.1	Representación esquemática de los componentes principales de un espectrómetro de absorción atómica monocromático	105
1.2.4.2	Procesos que ocurren durante la atomización de la muestra en la determinación por espectrometría de absorción atómica	107
1.2.4.3	Representación esquemática de los componentes principales de un espectrómetro atómico de fluorescencia	111
1.2.4.4	Relación entre la intensidad de la fuente de excitación y la intensidad de fluorescencia emitida, a concentración constante de analito	112
2.1.1	Estructura de los agentes complejantes utilizados en la presente Tesis	121
2.1.2	Reacción de obtención de líquidos iónicos de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios	123
2.1.3	Estructura química de los líquidos iónicos utilizados en la presente Tesis	124
2.1.4	Representación esquemática del material nanoestructurado magnético compuesto $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$	126
2.2.1	Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer 5100 PC utilizado a lo largo de la presente Tesis	128
2.2.2	Espectrómetro de fluorescencia atómica Beijing Rayleigh Analytical Instrument Corp. AF-640A utilizado a lo largo de la presente Tesis	129
2.2.3	Representación esquemática del generador de hidruros miniaturizado	130
3.1.1	Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.1	141
3.1.2	Comparativa entre APDC y DDTTC como complejantes para la extracción de Se(IV)	142
3.1.3	Efecto de la concentración de APDC sobre la extracción de Se(IV)	145
3.1.4	Efecto del pH sobre la extracción de Se(IV) y Se(VI) en presencia de APDC $0,48 \text{ mmol L}^{-1}$	146
3.1.5	Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Se(IV)	147
3.1.6	Dependencia de la extracción de Se(IV) con el tiempo de extracción	149
3.1.7	Espectros ATR-FTIR de (A) nanosílica, Se(IV)-APDC y el producto de adsorción, (B) Se(IV)-APDC y el producto de adsorción medido contra un blanco de nanosílica pura	150
3.1.8	Estructuras de resonancia parciales propuestas para un complejo análogo al Se^{II} -pirrolidinditiocarbamato: Se^{II} -dietilditiocarbamato	151

3.1.9	Isoterma de sorción de Se (como Se(IV)-APDC) sobre nanosílica a 20°C	152
3.1.10	Efecto de la aplicación de 100 µL de diversos eluyentes sobre la recuperación de Se retenido sobre nanosílica	153
3.1.11	Representación esquemática del proceso de elución en dos pasos aplicado para la retroextracción y determinación instrumental de Se(IV) tras su microextracción con nanosílica	154
3.1.12	Efecto de distintos medios sobre la sensibilidad de las determinaciones de Se por ETAAS	155
3.1.13	Efecto del tiempo y la temperatura de elución del complejo Se(IV)-APDC desde nanosílica, con 500 µL de acetato de etilo como eluyente	156
3.1.14	Curvas de pirólisis y atomización para la determinación de Se por ETAAS	160
3.1.15	Curvas de calibración para (a) Se(IV) y (b) Se(VI), obtenidas tras la aplicación del método D-µ-SPE con nanosílica propuesto y la determinación por ETAAS	161
3.2.1	Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.2	174
3.2.2	Influencia del tipo de IL utilizado para la preparación del híbrido nanosílica-IL sobre la extracción de Se(IV)	178
3.2.3	Efecto de la concentración de [C ₁₂ mim]Br sobre la capacidad de extracción de Se(IV) del material resultante de su sorción sobre nanosílica	179
3.2.4	Representación esquemática de la formación de a) micelas acuosas de [C ₁₂ mim]Br, b) hemimicelas de [C ₁₂ mim]Br sobre un soporte sólido y c) admicelas de [C ₁₂ mim]Br sobre un soporte sólido	180
3.2.5	Efecto de la concentración de [C ₁₂ mim]Br sobre la extracción de Se(IV) utilizando una mezcla de nanosílica pura e IL sobre la muestra	181
3.2.6	a) Espectro FTIR de [C ₁₂ mim]Br, nanosílica e híbrido nanosílica-IL. b) Micrografía TEM del nanomaterial híbrido nanosílica-IL. c) Micrografía TEM de la nanosílica sin funcionalizar	183
3.2.7	Efecto de a) Tipo de complejante y b) Concentración de APDC, sobre la extracción de Se(IV) con el nanomaterial híbrido	185
3.2.8	Influencia del pH sobre la extracción de Se(IV) y Se(VI) en presencia de APDC como agente complejante con y sin funcionalización de la nanosílica con [C ₁₂ mim]Br	186

3.2.9	Efecto del tiempo de extracción con agitación vórtex y de la centrifugación a 2090xg sobre la extracción de Se(IV), utilizando 1,0 mg de nanomaterial híbrido	188
3.2.10	Efecto del volumen de muestra sobre la eficiencia de extracción de Se(IV) utilizando 2,0 mg de híbrido nanosílica-IL	189
3.2.11	Efecto del tipo y concentración de tensoactivo adicionado al acetato de etilo sobre el refuerzo de la señal analítica de las determinaciones por ETAAS	193
3.2.12	Efecto del tiempo y de la temperatura de elución utilizando 100 µL de acetato de etilo con Triton X-114 al 0,5% (p/v) como eluyente y agitación ultrasónica	194
3.2.13	Curvas de pirólisis y atomización para la determinación de Se por ETAAS	197
3.2.14	Curvas de calibración para (a) Se(IV) y (b) Se(VI), obtenidas tras la aplicación del método D-µ-SPE-ETAAS con el material híbrido nanosílica-[C ₁₂ mim]Br	199
3.3.1	Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.3	209
3.3.2	Efecto del pH sobre la extracción de las especies de Te en ausencia del reactivo APDC y utilizando el nanomaterial compuesto Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @PIL	212
3.3.3	Estructuras y pKas de las especies inorgánicas de Te	213
3.3.4	Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Te(IV)	214
3.3.5	Efecto de la cantidad de sorbente sobre la extracción de Te(IV) desde 50 mL de solución con una concentración de la especie de 10 µg L ⁻¹	215
3.3.6	Efecto del tiempo de extracción y de separación magnética durante la preconcentración de Te(IV) sobre su extracción	216
3.3.7	Isoterma de sorción de Te(IV) sobre el nanomaterial Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @PIL a 20 °C	217
3.3.8	Efecto de diferentes ácidos y sus concentraciones sobre la elución y determinación de Te(IV) por FI-HG-AFS, inyectando 400 µL de muestra	218
3.3.9	Efecto del volumen de HCl 5,0 mol L ⁻¹ utilizado como eluyente de Te(IV)	219
3.3.10	Efecto del tiempo y la temperatura sobre la elución de Te(IV) utilizando HCl 5,0 mol L ⁻¹ como eluyente	220

3.3.11	Señales de AFS resultantes de la inyección de 400 μL de Te(IV) 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando: (A) el sistema de inyección en flujo del espectrómetro AFS y (B) el generador de hidruros miniaturizado	223
3.3.12	Efecto de las variables involucradas en la generación de TeH_2 en el generador de hidruros miniaturizado utilizado para la determinación de Te por HG-AFS, bajo las condiciones especificadas en la Tabla 3.3.1 e inyectando 400 μL de solución de Te(IV) de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$	224
3.3.13	Efecto de las variables involucradas en la generación de H_2 en el sistema de inyección en flujo del instrumento utilizado para la determinación de Te por HG-AFS, bajo las condiciones especificadas en la Tabla 3.3.1 e inyectando 400 μL de solución de Te(IV) de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$	227
3.3.14	Curvas de calibración para (a) Te(IV) y (b) Te(VI) , obtenidas tras la aplicación del método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS propuesto	230
3.4.1	Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.4	243
3.4.2	Efecto de la concentración de APDC y de DDTC sobre la extracción de Te(IV) por IL-CPE	247
3.4.3	Efecto de diversos líquidos iónicos como aditivos para la CPE de Te(IV) 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ con Triton X-114 como fase micelar	248
3.4.4	Efecto del pH sobre la selectividad y eficiencia de extracción de las especies de Te	249
3.4.5	Eficiencia de extracción de Te(IV) en función de: a) volumen de Triton X-114 y b) concentración de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ en el medio de extracción	250
3.4.6	Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Te(IV) tras su extracción desde soluciones con una masa constante de 0,010 μg	252
3.4.7	Eficiencia de extracción de Te(IV) como función de la fuerza iónica (representada por la concentración de NaNO_3)	253
3.4.8	Efecto del tiempo y la temperatura de CPE sobre la extracción de Te(IV)	254
3.4.9	Espectros de fluorescencia de Laurdan en soluciones acuosas de Triton X-114 con y sin la adición de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$	256
3.4.10	Efecto de la adición de distintos volúmenes de diluyentes a la fase extractante sobre las señales obtenidas en la determinación de Te por ETAAS	258
3.4.11	Curvas de pirólisis y atomización para la determinación de Te por ETAAS tras su preconcentración por IL-CPE	260

3.4.12	Curvas de calibración para (a) Te(IV) y (b) Te(VI), obtenidas tras la aplicación del método IL-CPE-ETAAS optimizado	262
3.5.1	Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.5	273
3.5.2	Representación esquemática del sistema IL-ISFME-HG-AFS en flujo para la determinación de Se y Te	274
3.5.3	Efecto del pH sobre la extracción de las especies de Se y Te	280
3.5.4	Eficiencia de extracción de Se(IV) y Te(IV) en función de la concentración de APDC	281
3.5.5	Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Se(IV) y Te(IV) complejados con APDC por IL-ISFME en línea	282
3.5.6	Señales instrumentales relativas de las determinaciones de Se(IV) y Te(IV) obtenidas tras la elución de la micro columna con metanol en función de (a) el tipo de aditivo (b) la concentración de HNO ₃	287
3.5.7	Efecto de los caudales de (a) HCl 6,0 mol L ⁻¹ y (b) NaBH ₄ 0,8% (p/v) sobre las señales analíticas de Se y Te obtenidas por FI-HG-AFS a partir de 210 µL de inyección	291
3.5.8	Curvas de calibración obtenidas para (a) Se(IV), (b) Se(VI), (c) Te(IV), (d) Te(VI) tras la aplicación del método IL-ISFME optimizado con detección por FI-HG-AFS	293

ABREVIACIONES

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.

μSPE	Microextracción en fase sólida // Solid-phase microextraction
AAS	Espectrometría de absorción atómica // Atomic absorption spectrometry
AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica // Atomic fluorescence spectrometry
APDC	Pirrolidinditiocarbamato de amonio // Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate
APTES	(3-aminopropil)triétoxissilano // (3-aminopropyl)triethoxysilane
ATR	Reflectancia total atenuada // Attenuated total reflectance
CI	Índice de consumo // Consumption index
CIAME	Microextracción por agregación inducida por enfriamiento // Cold-induced aggregation microextraction
CPE	Extracción en punto de nube // Cloud point extraction
CRM	Material de referencia certificado // Certified reference material
D-μ-SPE	Microextracción dispersiva en fase sólida // Dispersive micro-solid phase extraction
DDTC	Dietilditiocarbamato de sodio // Sodium diethyldithiocarbamate
DDTP	Dietilditiofosfato de amonio // Ammonium diethyldithiophosphate
DLLME	Microextracción dispersiva líquido-líquido // Dispersive liquid-liquid microextraction
D-SPE	Extracción dispersiva en fase sólida // Dispersive solid-phase extraction
EDL	Lámpara de descarga sin electrodos // Electrodeless discharge lamp
EF	Factor de refuerzo // Enhancement factor
ETAAS	Espectrometría de absorción atómica electro térmica // Electrothermal atomic absorption spectrometry
FAAS	Espectrometría de absorción atómica de llama // Flame atomic absorption spectrometry
FIA	Análisis por inyección en flujo // Flow injection analysis
FI-HG-AFS	Espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros con inyección en flujo // Flow-injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry

FTIR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier // Fourier-transform infrared spectroscopy
GC	Cromatografía gaseosa // Gas chromatography
HCL	Lámpara de cátodo hueco // Hollow cathode lamp
HDPE	Polietileno de alta densidad // High-density polyethylene
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
ICP-MS	Espectrometría de masas atómica con fuente de plasma acoplado inductivamente // 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
IL-CPE	Extracción en punto de nube asistida por líquido iónico // Ionic liquid-assisted cloud point extraction
IL-DLLME	Microextracción dispersiva líquido-líquido asistida por líquido iónico // Ionic liquid-assisted dispersive liquid-liquid microextraction
IL-ISFME	Microextracción por formación <i>in situ</i> de líquido iónico // <i>In situ</i> ionic liquid formation microextraction
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada // International Union of Pure and Applied Chemistry
LLE	Extracción líquido-líquido // Liquid-liquid extraction
LOD	Límite de detección // Limit of detection
LOQ	Límite de cuantificación // Limit of quantification
LPME	Microextracción en fase líquida // Liquid-phase microextraction
MIL	Líquido iónico magnético // Magnetic ionic liquid
M-D-μ-SPE	Microextracción magnética dispersiva en fase sólida // Magnetic dispersive micro-solid phase extraction
M-LPME	Microextracción en fase líquida magnética // Magnetic-liquid phase microextraction

MNP	Nanopartícula magnética // Magnetic nanoparticle
MOF	Red organometálica // Metal-organic framework
MS	Espectrometría de masas // Mass spectrometry
MSPE	Extracción en fase sólida magnética // Magnetic solid phase extraction
MWCNT	Nanotubo de carbono multicapa // Multi-walled carbon nanotube
NP	Nanopartícula // Nanoparticle
OMS	Organización Mundial de la Salud // World Health Organization
PF	Factor de preconcentración // Preconcentration factor
PIL	Líquido iónico polimérico // Polymeric ionic liquid
SDME	Microextracción con gota única // Single-drop microextraction
SIA	Análisis por inyección secuencial // Sequential injection analysis
SPE	Extracción en fase sólida // Solid-phase extraction
TA-IL-DLLME	Microextracción dispersiva líquido-líquido con líquido iónico asistida por temperatura // Temperature-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction
TEM	Microscopía electrónica de transmisión // Transmission electronic microscopy
UA-IL-DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva con líquido iónico asistida por ultrasonido // Ultrasound-assisted ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction
VA-IL-DLLME	Microextracción líquido-líquido dispersiva con líquido iónico asistida por vórtex // Vortex-assisted ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

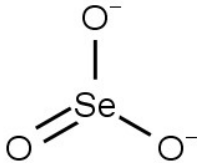
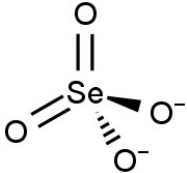
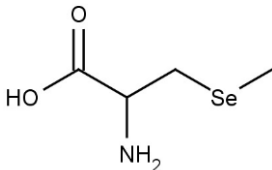
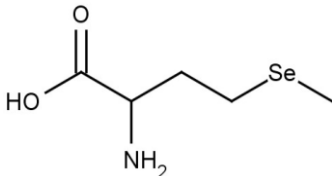
1.1. LOS ELEMENTOS

1.1.1. Selenio

El selenio (Se) es un elemento semimetálico de naturaleza ambivalente tanto desde el punto de vista ambiental como del biológico. Se trata de un elemento que es esencial para el organismo en un estrecho rango de concentraciones, mientras que su consumo por encima de un dado umbral puede tener efectos nocivos [1]. El Se ha sido reconocido como un componente esencial para la acción de diferentes enzimas, tales como glutatión peroxidasa y tioredoxina reductasa, que cumplen funciones antioxidantes y participan en diversos caminos metabólicos, así como en los sistemas inmune y endócrino [2]. Adicionalmente, se ha sugerido que algunas de las especies orgánicas de Se podrían poseer propiedades beneficiosas para la salud al estar involucradas en la prevención de ciertos tipos de cáncer [3]. El carácter dual del Se en cuanto a sus efectos se pone en evidencia al observarse que dietas con menos de 70 μg de Se por día en hombres y 55 μg de Se por día en mujeres pueden resultar en deficiencias de este elemento, mientras que el consumo de más de 400 μg de Se por día se puede considerar como tóxico en adultos [4].

Es importante destacar también que tanto la toxicidad como la biodisponibilidad del Se dependen no solamente de su identidad química, sino también de las especies en las cuales este se puede presentar. Por ejemplo, las especies inorgánicas son alrededor de 40 veces más tóxicas que las especies orgánicas y, entre estas, el Se inorgánico en su estado tetravalente [selenito, Se(IV)] es unas 10 veces más tóxico que en estado hexavalente [selenato, Se(VI)] [5]. La Tabla 1.1.1 presenta algunas propiedades relevantes de las especies de Se de interés para la presente Tesis.

Tabla 1.1.1. Propiedades de las especies de Se relevantes en la presente tesis.

Compuesto	Fórmula	Estructura	Peso molecular	pK _a
Selenito [Se(IV)]	SeO ₃ ²⁻		126,96 g/mol	pK _{a1} = 2,5 pK _{a2} = 7,3
Selenato [Se(VI)]	SeO ₄ ²⁻		142,97 g/mol	pK _{a1} = -3 pK _{a2} = 1,9
Seleno-metil-selenocisteína	C ₄ H ₉ NO ₂ Se		182,04 g/mol	pK _{a1} = 1,5 pK _{a2} = 8,4
Selenometionina	C ₅ H ₁₁ NO ₂ Se		196,11 g/mol	pK _{a1} = 2,0 pK _{a2} = 9,0

La concentración promedio de Se en la corteza terrestre es de 0,09 mg kg⁻¹ y se lo encuentra principalmente asociado a piritas de Cu y Fe y a sulfuros de Cu, Pb, Ni, Au y Ag en concentraciones de entre 0,1 y 2 mg g⁻¹. Se lo encuentra también en el petróleo, en concentraciones de hasta 0,8 mg L⁻¹ [6]. En suelos, su presencia se debe principalmente a la erosión de rocas y las especies mayoritarias son Se(IV) en forma de sales férricas y Se(VI) como sales de distintos metales. La distribución de estas dos especies depende de factores tales como el tipo, la textura y el contenido orgánico de los suelos, así como también de la cantidad de lluvia que estos reciben. Por lo general, en suelos alcalinos la especie Se(IV) se oxida a Se(VI), que es altamente soluble en agua y fácilmente asimilada por plantas. En suelos ácidos, en cambio, la especie Se(IV) se encuentra asociada a hidróxidos de Fe y, por ende, fijada en este estado [7].

El Se también se encuentra naturalmente en aguas, como consecuencia de depósitos atmosféricos, drenaje de suelos y sedimentos de fondo que suelen ser naturalmente ricos en el elemento. Al igual que en suelos, las especies predominantes en ambientes acuosos son las inorgánicas: Se(IV) y Se(VI). La primera se adsorbe fácilmente sobre la superficie de sólidos en suspensión y en sedimentos, mientras que la segunda es altamente soluble y móvil. Mínimas fracciones de especies metiladas y

otras especies orgánicas volátiles se pueden encontrar también en aguas con alta actividad microbiológica [6]. En relación con sus efectos sobre la salud, el límite máximo aceptable de concentración establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en aguas para consumo humano es de $40 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se total [8].

Con respecto a sus aplicaciones, los usos más importantes de este elemento en la actualidad son como dióxido de selenio (SeO_2) y como Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4 . Entre las aplicaciones más importantes se encuentran: usos como decolorantes de vidrios, como pigmentos para colorear cerámicas, como aditivos para la producción electrolítica de manganeso y en el desarrollo de films para celdas solares, por lo cual es esperable que su demanda crezca de manera sostenida en los próximos años, en paralelo con el desarrollo de las energías renovables [9]. En la industria biológica, sus usos más habituales se encuentran en la producción de suplementos dietarios y en fertilizantes. El crecimiento de la demanda de Se para estas aplicaciones entre los años 1940 y 2010 se encuentra representado en la Figura 1.1.1.

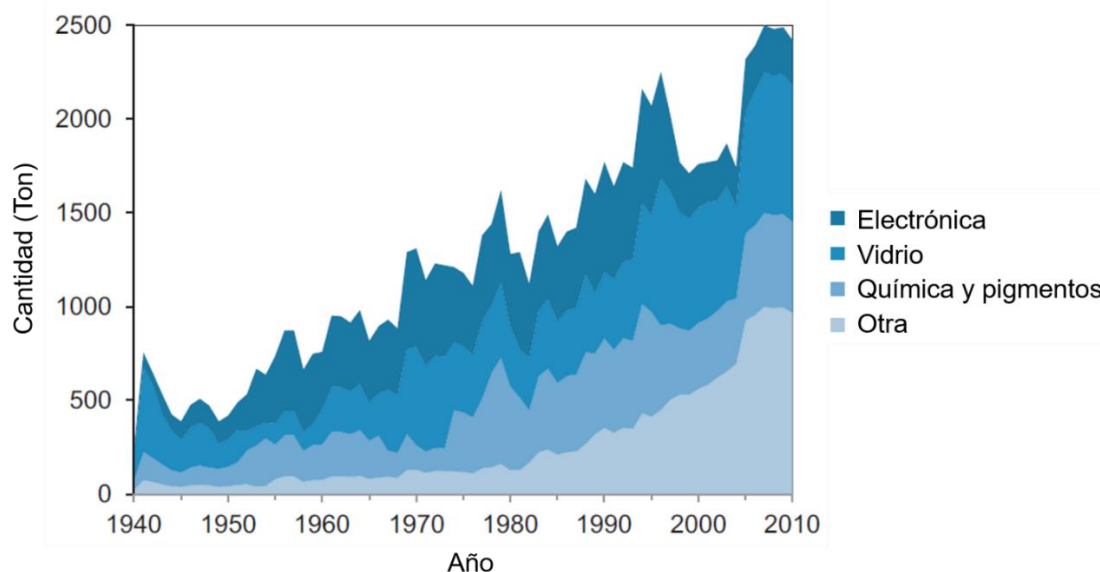


Figura 1.1.1. Demanda de Se por parte de las principales industrias que lo utilizan, durante el período entre los años 1940 y 2010. La categoría “Otra” contempla las aplicaciones del Se en metalurgia y usos biológicos, mientras que “Electrónica” incluye rectificadores, fotorreceptores y celdas fotovoltaicas. Adaptado de G. Kavlak *et al.*: “Global anthropogenic selenium cycles for 1940-2010” [9].

1.1.2. Telurio

El telurio (Te) es un elemento del grupo XVI de la tabla periódica, considerado hasta hace poco tiempo como una mera curiosidad química. Sin embargo, a pesar de ser uno de los elementos más raros en la corteza terrestre, con una abundancia de alrededor de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ (comparable a la del Pt y muy por debajo de los $500 \mu\text{g kg}^{-1}$ de los lantánidos estables), se ha convertido en los últimos años en un componente esencial de diversas aplicaciones tecnológicas y analíticas [10]. La aplicación más importante del Te hoy en día es sin dudas el uso de telururo de cadmio (CdTe) en celdas fotovoltaicas para la producción de paneles solares, representando al día de hoy la única tecnología de película delgada con costos menores que las celdas solares convencionales de Si cristalino [11]. Otras aplicaciones de importancia incluyen el uso de Bi_2Te_3 en dispositivos termoeléctricos, tales como los termostatozadores que funcionan por efecto Peltier, y el uso de *quantum dots* con Te en diversas aplicaciones de química analítica [12, 13]. Adicionalmente, se han reportado recientemente potenciales aplicaciones de este elemento en el desarrollo de baterías de iones alcalinas y en fotocatalizadores para electrólisis de agua [14, 15]. De hecho, la Unión Europea ha establecido al Te como el elemento para el cual se espera la mayor demanda en el período 2020-2030 entre un grupo de 14 metales considerados vitales para el desarrollo de seis tecnologías estratégicas de bajo impacto ambiental, mientras que el Departamento del Interior de los Estados Unidos lo considera un metal crítico [16, 17]. Todo esto hace evidente que la demanda y el uso de Te irá en franco aumento en el futuro cercano, por lo que la evaluación y análisis de su presencia en compartimentos ambientales deberá desarrollarse al mismo ritmo. Un resumen de las principales aplicaciones industriales del elemento se presenta en la Figura 1.1.2.

En la corteza terrestre, el Te se encuentra usualmente en depósitos de sulfuros, asociado a otros elementos calcófilos como Ag, Cu y Pb. Los principales sumideros de Te incluyen a estos depósitos minerales, así como a rocas, suelos y sedimentos erosionados. Por lo general, se considera que el ciclo biogeoquímico del Te comienza con la transformación de rocas de la corteza terrestre vía procesos hidrotermales o magmáticos en sus depósitos. Los procesos hidrotermales son utilizados en procesos mineros generalmente en búsqueda de Au o Cu, no del Te en sí, pero son una fuente importante de este elemento. La emisión o lixiviación durante la actividad minera y el uso o reciclado de materiales que lo contienen puede generar Te en estado sólido, acuoso o gaseoso. Las formas sólidas incluyen Te inorgánico adsorbido sobre arcillas y/u óxidos de Fe en suelos y las acuosas involucran principalmente a los oxoaniones

disueltos, generados por disolución oxidativa [18]. El depósito en sedimentos y la disolución hacia aguas subterráneas hacen que las concentraciones en este tipo de reservorios sean mayores que en aguas superficiales y que en agua de mar, donde las concentraciones son más bajas que lo esperado debido a la tendencia del oxoanión telurato (TeO_4^{2-}) a adsorberse sobre superficies minerales. Como resultado de esto último, las aguas superficiales se suelen encontrar empobrecidas respecto a la especie Te(VI) , mientras que los suelos se encuentran frecuentemente enriquecidos en relación a estas [19].

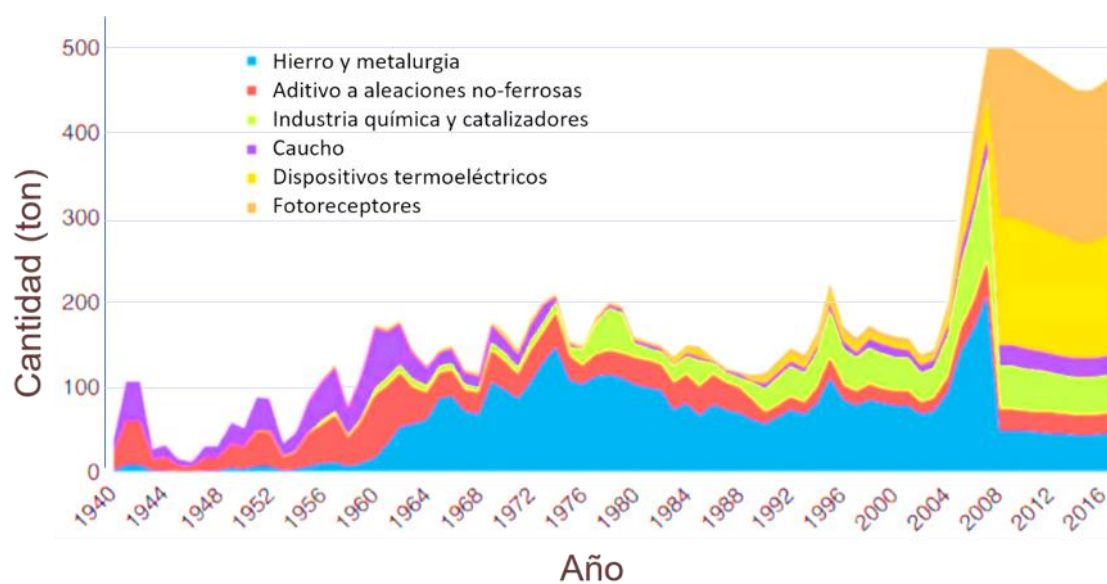


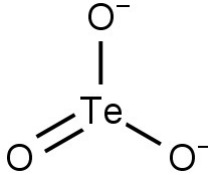
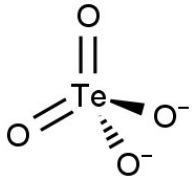
Figura 1.1.2. Demanda industrial de Te en el período 1940-2016. Adaptado de O.P Missen *et al.*: “Love is in the Earth: A review of tellurium (bio)geochemistry in surface environments” [18].

A pesar de tener características químicas en común con elementos biológicamente relevantes tales como sus compañeros de grupo: O, S y Se, las potenciales funciones del Te en organismos vivos no han sido claramente establecidas aún. Esto se debe a que la mayoría de los compuestos que lo contienen son altamente tóxicos [20]. Sin embargo, se han encontrado especies de hongos que pueden incorporar Te en lugar de S y/o Se en diversas proteínas, habiendo sido detectado como teluro-cisteína, teluro-cistina, teluro-metionina y teluro-tirosina [21]. Incluso, un modelo llamado “Sistema Biológico de los Elementos”, que vincula la potencial esencialidad de un elemento a su distribución de especies, vías de eliminación y las múltiples posibilidades a través de las cuales podría cumplir funciones tanto *in vivo* como *ex vivo*, sugiere que el Te podría ser un elemento esencial para los seres humanos, según algunos criterios [22]. Los estudios de Cohen y colaboradores apoyan esta sugerencia indicando que, a pesar de su muy baja abundancia en la litósfera terrestre, el Te es el

cuarto elemento traza más abundante en el cuerpo humano, tras Fe, Zn y Rb, y es inusualmente abundante en fuentes de alimentación humana [23].

En general, el Te es considerado tóxico y teratogénico en humanos. Si bien los mecanismos asociados a esta toxicidad no han sido ampliamente estudiados debido a la relativa baja cantidad de casos de intoxicación aguda, es sabido que este elemento puede acumularse en el corazón, sangre, riñones, pulmones y huesos [24]. Asimismo, estudios en ratas han demostrado que, tal como sucede con el Se, la toxicidad de las especies inorgánicas depende fuertemente de sus estados de oxidación, siendo la dosis letal para el 50% del grupo de prueba (LD_{50}) de la especie Na_2TeO_3 $2,25 \text{ mg kg}^{-1}$, mientras que la de Na_2TeO_4 tiene un valor de $20,0 \text{ mg kg}^{-1}$ [24]. A fines comparativos, los valores de las LD_{50} de las especies Na_3AsO_3 y Na_3AsO_4 , dos compuestos análogos y universalmente reconocidos como altamente tóxicos, son de $4,25$ y $14,8 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente, lo que dicta la pauta de cuán tóxicas son las especies inorgánicas de Te. Estos estudios revelaron también que la administración de dosis tóxicas a ratas y conejos resultaron en malformaciones óseas y de tejidos blandos en la progenie, así como hidrocefalia. La Tabla 1.2.2, a continuación, resume algunas características de las especies inorgánicas de Te.

Tabla 1.1.2. Propiedades de las especies inorgánicas de Te.

Compuesto	Fórmula	Estructura	Peso molecular	pK_a
Telurito [Te(IV)]	TeO_3^{2-}		$175,6 \text{ g/mol}$	$pK_{a1} = 2,5$ $pK_{a2} = 7,7$
Telurato [Te(VI)]	TeO_4^{2-}		$191,6 \text{ g/mol}$	$pK_{a1} = 7,7$ $pK_{a2} = 11$

1.1.3. Bibliografía

[1] J. Alexander, Selenium (Capítulo 52), en: B.A. Fowler, M. Nordberg (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals (Cuarta edición), Academic Press, San Diego, EEUU, 2015, pp. 1175-1208.

[2] R. González de Vega, M.L. Fernández-Sánchez, J.C. Fernández, F.V. Álvarez Menéndez, A. Sanz-Medel, Selenium levels and Glutathione peroxidase activity in the plasma of patients with type II diabetes mellitus, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 37 (2016) 44-49.

[3] Y.C. Chen, K.S. Prabhu, A.M. Mastro, Is selenium a potential treatment for cancer metastasis?, Nutrients 5(4) (2013) 1149-1168.

[4] A.P. Kipp, D. Strohm, R. Brigelius-Flohé, L. Schomburg, A. Bechthold, E. Leschik-Bonnet, H. Hesecker, Revised reference values for selenium intake, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 32 (2015) 195-199.

[5] A.H. Panhwar, M. Tuzen, T.G. Kazi, Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples, Talanta 175 (2017) 352-358.

[6] Y. Mehdi, J.L. Hornick, L. Istasse, I. Dufrasne, Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions, Molecules 18(3) (2013) 3293-3311.

[7] P.J. White, Selenium in Soils and Crops, en: B. Michalke (Ed.), Selenium, Springer International Publishing, Cham, Suiza, 2018, pp. 29-50.

[8] J.K. Fawell, Guidelines for Drinking-water Quality - Background Document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/HSEWSH/10.01/14., World Health Organization, Ginebra, Suiza, 2011.

[9] G. Kavlak, T.E. Graedel, Global anthropogenic selenium cycles for 1940–2010, Resources, Conservation and Recycling 73 (2013) 17-22.

[10] R.U. Ayres, L. Ayres, A Handbook of Industrial Ecology, Edward Elgar Publishing, Incorporated, Cheltenham, Reino Unido, 2002.

[11] A.H. Munshi, N. Sasidharan, S. Pinkayan, K.L. Barth, W.S. Sampath, W. Ongsakul, Thin-film CdTe photovoltaics – The technology for utility scale sustainable energy generation, Solar Energy 173 (2018) 511-516.

[12] H. Mamur, M.R.A. Bhuiyan, F. Korkmaz, M. Nil, A review on bismuth telluride (Bi_2Te_3) nanostructure for thermoelectric applications, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 82 (2018) 4159-4169.

[13] M. Hua, S. Yang, J. Ma, W. He, L. Kuang, D. Hua, Highly selective and sensitive determination of uranyl ion by the probe of CdTe quantum dot with a specific size, *Talanta* 190 (2018) 278-283.

[14] B. Shang, Q. Peng, X. Jiao, G. Xi, X. Hu, High volumetric capacity Fe_2TeO_6 as a novel anode material for alkali-ion batteries, *Materials Letters* 246 (2019) 157-160.

[15] Y. Bai, Q. Zhang, N. Xu, K. Deng, E. Kan, The Janus structures of group-III chalcogenide monolayers as promising photocatalysts for water splitting, *Applied Surface Science* 478 (2019) 522-531.

[16] R.L. Moss, E. Tzimas, H. Kara, P. Willis, J. Kooroshy, *Critical Metals in Strategic Energy Technologies - Assessing Rare Metals as Supply-Chain Bottlenecks in Low-Carbon Energy Technologies*. European Union Joint Research Centre - Institute for Energy and Transport, Luxembourg, 2011.

[17] Department of the Interior, United States Government. Final List of Critical Minerals (83 FR 23295), (2018) 23295-23296.

[18] O.P. Missen, R. Ram, S.J. Mills, B. Etschmann, F. Reith, J. Shuster, D.J. Smith, J. Brugger, Love is in the Earth: A review of tellurium (bio)geochemistry in surface environments, *Earth-Science Reviews* 204 (2020) 103150.

[19] H.-B. Qin, Y. Takeichi, H. Nitani, Y. Terada, Y. Takahashi, Tellurium Distribution and Speciation in Contaminated Soils from Abandoned Mine Tailings: Comparison with Selenium, *Environmental Science & Technology* 51(11) (2017) 6027-6035.

[20] S. Najimi, M. Shakibaie, E. Jafari, A. Ameri, N. Rahimi, H. Forootanfar, M. Yazdanpanah, H.R. Rahimi, Acute and subacute toxicities of biogenic tellurium nanorods in mice, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 90 (2017) 222-230.

[21] S.E. Ramadan, A.A. Razak, A.M. Ragab, M. El-Meleigy, Incorporation of tellurium into amino acids and proteins in a tellurium-tolerant fungi, *Biological Trace Element Research* 20(3) (1989) 225.

[22] S. Fränze, B. Markert, *The Biological System of the Elements (BSE)*. Part II: a theoretical model for establishing the essentiality of chemical elements. The application of stoichiometric network analysis to the biological system of the elements, *Science of The Total Environment* 249(1) (2000) 223-241.

[23] B.L. Cohen, Anomalous behavior of tellurium abundances, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48(1) (1984) 203-205.

[24] A. Taylor, Biochemistry of tellurium, *Biological Trace Element Research* 55(3) (1996) 231-239.

1.2. PRECONCENTRACIÓN Y ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN

El hecho de que las propiedades (entre ellas, la toxicidad) tanto del Se como del Te dependan de la especie química en la que se encuentran presentes, resalta la importancia no solo de la cuantificación de los elementos en su totalidad, sino también de la de cada una de ellas. Sin embargo, como las concentraciones de Se y de Te en muestras ambientales se encuentran generalmente en o por debajo del orden de trazas ($\mu\text{g L}^{-1}$), y sus especies representan tan solo una fracción de este valor, metodologías analíticas altamente sensibles y específicas son necesarias para poder determinar sus concentraciones de manera independiente, exacta y precisa [1]. Dada la predominancia de las especies inorgánicas en muestras de origen ambiental, el análisis en esta sección estará enfocado a ellas teniendo en cuenta que, en muestras de tipo biológico, la situación es distinta debido a la presencia de especies orgánicas de estos elementos [2, 3]. En estos últimos casos, y especialmente para Se (debido al ampliamente mayor número de especies orgánicas descubiertas en comparación con Te), las metodologías cromatográficas toman mayor preponderancia debido a su poder separativo para un gran número de especies. Estas se encuentran usualmente acopladas a técnicas de detección elementales tales como ICP-MS o AFS [4].

Esta sección presenta en primera instancia una descripción de la terminología utilizada y de los parámetros analíticos evaluados a lo largo de la presente Tesis para, inmediatamente después, presentar algunas de las últimas metodologías no cromatográficas desarrolladas para la preconcentración y análisis de especies inorgánicas de Se y Te. Se describen de manera general las metodologías de extracción en fase sólida y de extracción líquido-líquido, así como algunas de las técnicas de uso más extendido derivadas de ellas, sobre una amplia base de referencias bibliográficas. De esta manera, se deja al libre deseo del lector la consulta de detalles específicos de cada una de las técnicas analíticas específicas incluidas en dichas metodologías [5].

1.2.1. Parámetros analíticos característicos de los métodos de preconcentración

A lo largo de la presente Tesis se presentan desarrollos analíticos cuya caracterización y estudios de exactitud se realizaron a través del cálculo o determinación de diversos parámetros característicos, que permiten dar una idea de la calidad de estos

desarrollos. Estos parámetros, su definición y la manera en la cual se calcularon se presentan en la Tabla 1.2.1.

1.2.2. Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida (SPE) es un tratamiento efectivo para la extracción/preconcentración de analitos a partir de muestras líquidas o gaseosas. Esta técnica se puede aplicar eficientemente a matrices complejas logrando cifras de mérito analítico satisfactorias: recuperaciones elevadas, altos factores de preconcentración y bajo costo. Al mismo tiempo, la SPE ha ganado gran popularidad debido a las posibilidades de aplicación tanto en batch como en línea, combinándose con otras técnicas analíticas.

La SPE es una técnica de extracción basada en la partición selectiva de uno o más compuestos entre un sólido adsorbente y, por lo general, una matriz líquida (aunque también puede ser una emulsión, un gas o un fluido supercrítico). Sus principales objetivos son el aislamiento selectivo de los analitos presentes en la muestra, permitiendo así la eliminación de la matriz interferente y de los efectos negativos que esta pueda generar sobre la detección. En el procedimiento de aislamiento selectivo los compuestos de interés pueden ser adsorbidos por el sólido o bien permanecer en la segunda fase mientras que en la fase sólida quedan retenidos los compuestos interferentes. Si los analitos quedan retenidos en la fase sólida, estos pueden posteriormente ser eluidos selectivamente mediante un solvente adecuado [6].

Para la preconcentración y análisis de especies inorgánicas de Se y Te, las principales estrategias que promueven la extracción son las interacciones con la fase extractante vía intercambio iónico o vía formación de complejos con grupos que contengan átomos de O, N y/o S [7]. Para que exista una interacción por intercambio iónico, se requieren grupos funcionales de carácter catiónico que puedan intercambiar el anión asociado, ya que las especies inorgánicas de Se y Te son justamente aniónicas [8]. Mientras tanto, la retención por complejación puede ser lograda tanto por la adición de un agente complejante a la muestra en un paso previo a la extracción (derivatización de los analitos) [9] o mediante la funcionalización del material extractante con un grupo complejante [10]. en la Tabla 1.2.2.1, se presentan algunas de las técnicas SPE más utilizadas para la preconcentración y análisis de especiación de Se y Te.

Tabla 1.2.1. Parámetros analíticos utilizados a lo largo de la Tesis.

Parámetro	Definición	Cálculo
Recuperación (R)	Porcentaje de la masa original de analito recuperada tras la aplicación de la preconcentración.	$R = 100 \frac{m_f}{m_o}$
Factor de preconcentración (PF)	Grado de magnificación de la concentración de la especie analizada. Se calcula como la relación entre el volumen de muestra tratado (V_o) y el volumen final en el que se encuentra el analito tras la preconcentración (V_f).	$PF = \frac{V_o}{V_f}$
Factor de refuerzo de la sensibilidad (EF)	Grado de magnificación de la respuesta instrumental tras la preconcentración. Contempla tanto el efecto del aumento de la concentración como cualquier factor derivado de ella que afecte la sensibilidad instrumental. Se calcula como la relación entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin preconcentración (S_f y S_o).	$EF = \frac{S_f}{S_o}$
Índice de consumo (CI)	Volumen de muestra necesario para alcanzar un EF determinado.	$CI = \frac{V_o}{EF}$
Frecuencia analítica	Cantidad de muestras a las que se le puede aplicar el método de preconcentración por unidad de tiempo, usualmente expresado como muestras por hora (muestras h^{-1}). Depende tanto del tiempo requerido para tratar una muestra como de la posibilidad de tratar más de una muestra simultáneamente, por lo que se determina según las características específicas de cada método.	
Límite de detección (LOD)	Concentración mínima de analito que puede ser detectada con una confianza razonable. Su cálculo se realiza a partir del desvío estándar de mediciones del blanco (σ_B) y la pendiente de la curva de calibración (S), según IUPAC [11].	$LOD = 3 \frac{\sigma_B}{S}$
Límite de cuantificación (LOQ)	Concentración mínima de analito que puede ser cuantificada con una confianza razonable. Su cálculo se realiza a partir del desvío estándar de mediciones del blanco (σ_B) y la pendiente de la curva de calibración (S), según IUPAC [11].	$LOQ = 10 \frac{\sigma_B}{S}$
Desvío estándar relativo (%RSD)	Relación entre el desvío estándar de las mediciones (σ) y su valor medio (X_M). Se suele expresar en términos porcentuales.	$\%RSD = 100 \frac{\sigma}{X_M}$

1.2.2.1. Extracción en fase sólida clásica

En su modo clásico, la SPE representa una de las técnicas de preparación de muestras más simples para preconcentración y análisis de especiación en muestras líquidas. Esta se basa en la afinidad entre el analito, presente en una matriz líquida, y un sorbente sólido empacado en alguna de diversas geometrías, siendo lo más común una columna, aunque también se puede utilizar un cartucho o, en aplicaciones más recientes, un disco [8]. La metodología clásica de SPE incluye cuatro pasos, representados esquemáticamente en la Figura 1.2.2.1. [12]:

- i) Equilibración de la columna o cartucho con un solvente adecuado.
- ii) Carga de la muestra, que percola a través del sorbente empacado, quedando el analito retenido en este.
- iii) Lavado del sorbente para remover impurezas que puedan haber quedado asociadas.
- iv) Retroextracción (o elución) del analito.

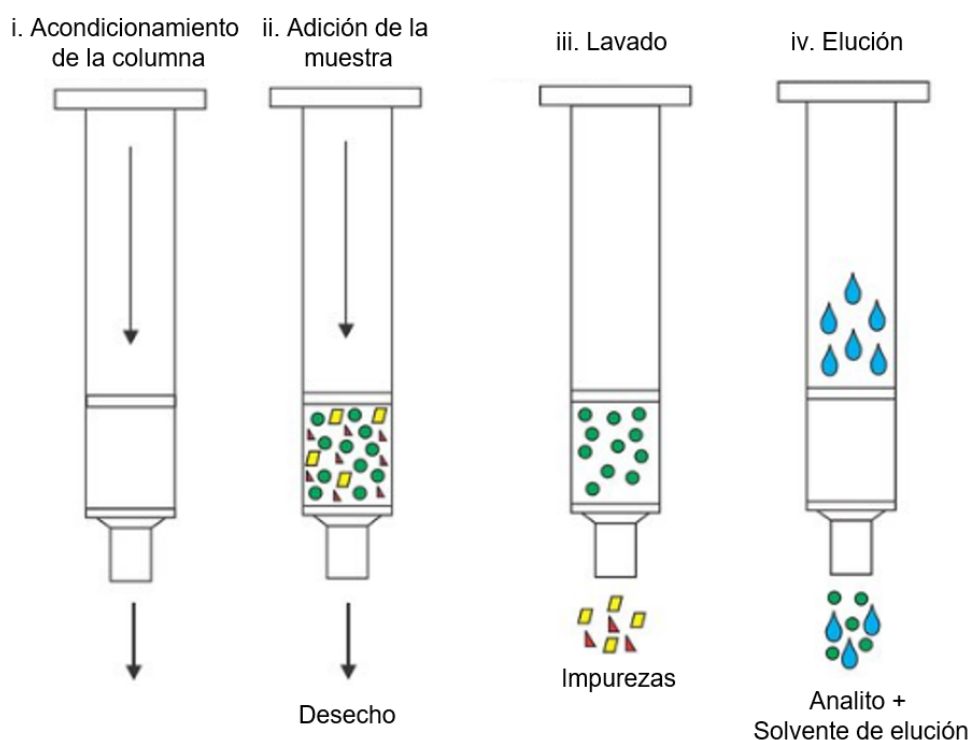


Figura 1.2.2.1. Resumen esquemático de los pasos involucrados en la extracción en fase sólida clásica con columna.

Las principales ventajas de esta versión de la SPE son la facilidad de operación y su alta selectividad. Sin embargo, la suma de los pasos descritos más algunos otros

que suelen ser necesarios, tal como el pretratamiento de muestras que presentan sólidos en suspensión, usualmente resultan en una frecuencia analítica reducida. Esto ha sido parcialmente solucionado gracias a la automatización y al desarrollo de aplicaciones en flujo de la técnica, que resultan en una mejora en la frecuencia de análisis y en la reproducibilidad de los resultados obtenidos [13].

En los últimos años, los sorbentes clásicos ampliamente utilizados en los primeros desarrollos de la SPE (carbón activado, gel de sílice, etc.) han perdido terreno frente al desarrollo de materiales modernos, siendo el caso más resonante el de los nanomateriales [14]. El uso de estos ha tenido un doble impacto sobre el desarrollo de metodologías de SPE clásicas; por un lado, ha aumentado significativamente la eficiencia de las mismas y, por el otro, ha permitido la miniaturización de los sistemas utilizando micro columnas que requieren apenas algunos mg de material para cumplir su función. Un interesante desarrollo de este tipo fue recientemente llevado a cabo por Zhang y colaboradores, quienes utilizaron una micro columna con 30 mg de un híbrido de óxido de grafeno y TiO_2 para retener selectivamente Se(IV) o Se(VI) en función del pH de la muestra. De esta manera, lograron un límite de detección (LOD) de $0,04 \text{ ng mL}^{-1}$ para Se(IV) utilizando 25 mL de muestra [14]. De manera similar, una micro columna de nano- TiO_2 soportado sobre gel de sílica fue utilizada para la preconcentración de Te, obteniendo un LOD también de $0,040 \text{ ng mL}^{-1}$, pudiendo utilizar hasta 100 mL de muestra con detección por espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros (HG-AAS) [15].

1.2.2.2. Microextracción en fase sólida

La microextracción en fase sólida (μSPE) es una alternativa a la SPE clásica surgida a principio de los 2000s con el objetivo de miniaturizar la técnica. Los dispositivos para μSPE se preparan colocando unos pocos mg de sorbente dentro de una membrana porosa, sellando luego sus bordes con calor para formar un pequeño paquete. Este paquete relleno de material sorbente es luego lavado y acondicionado con un solvente adecuado, en el cual se almacena hasta el momento en el que deba ser utilizado. Cuando es requerido, el dispositivo es secado al aire y agregado a la muestra líquida bajo agitación mecánica durante el tiempo necesario para la extracción óptima. El dispositivo sorbente es luego retirado, enjuagado, secado y transferido a un vaso pequeño o a un vial para la elución de los analitos con un volumen reducido de solvente (Figura 1.2.2.2) [16].

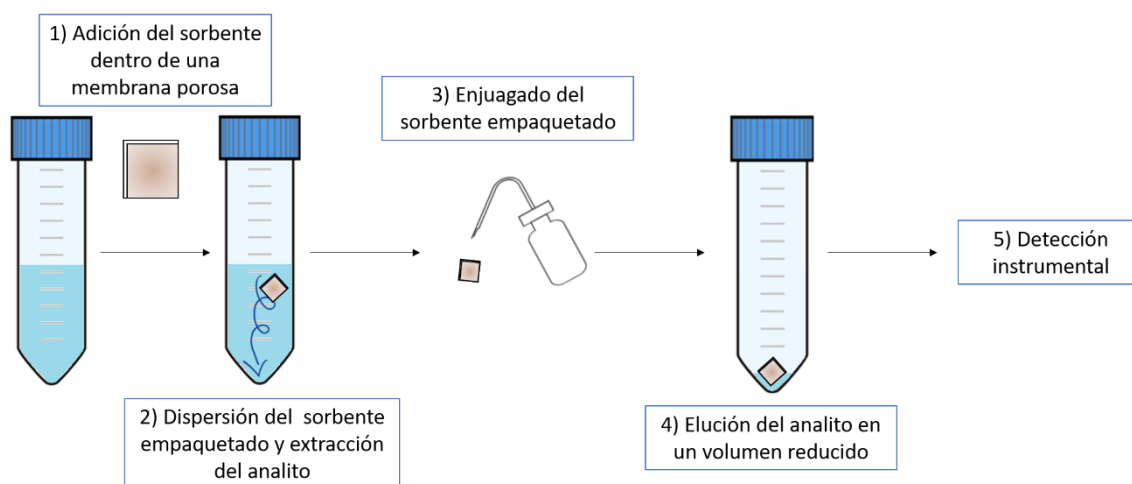


Figura 1.2.2.2. Representación esquemática de la técnica de microextracción en fase sólida.

La μ SPE resuelve uno de los inconvenientes más comunes de la SPE clásica: el alto consumo de reactivos y solventes durante las fases de acondicionamiento y elución, haciéndolo un método mucho más limpio y sustentable. También evita los problemas relacionados con la sobrepresión que se genera en las extracciones SPE clásicas debido al empaquetamiento del material sorbente en el interior de las columnas. Adicionalmente, debido a la protección que confiere la membrana porosa, la μ SPE es mucho más resistente a las interferencias presentes en muestras con alto contenido orgánico y sólidos en suspensión, tales como las aguas naturales o efluentes, que suelen necesitar un paso previo de limpieza cuando se utiliza la técnica de SPE clásica [17]. Sin embargo, a pesar de las numerosas ventajas que posee la μ SPE, su uso ha quedado relegado debido al surgimiento casi en paralelo de una alternativa más eficiente: la extracción dispersiva en fase sólida.

1.2.2.3. Extracción dispersiva en fase sólida

La extracción dispersiva en fase sólida (D-SPE) involucra el uso de un material sólido sorbente que es dispersado en la muestra con el objetivo de lograr un contacto íntimo entre las fases, mejorando así la cinética de sorción, siendo luego necesario separar al material sorbente de la matriz de la muestra por centrifugación o filtración (Figura 1.2.2.3). La alta eficiencia de extracción lograda con materiales modernos meso- y nanoestructurados ha sido fundamental para la reducción de la cantidad de sorbente requerida hasta unos pocos miligramos, dando así lugar a una versión miniaturizada de la D-SPE: la microextracción dispersiva en fase sólida (D- μ -SPE) [18]. La ventaja principal de las técnicas dispersivas frente a la SPE clásica es que evitan la generación de altas presiones dentro de columnas o cartuchos que contienen al material sorbente,

lo cual prolonga o incluso en ocasiones impide la extracción. Esto es particularmente importante cuando se utilizan materiales nanoestructurados, dada la gran compactación que estos sufren cuando se los empaqueta, lo cual hace su uso en columnas o cartuchos de SPE clásica prácticamente imposible, pudiendo esto ser fácilmente evitado dispersando al sorbente en la muestra [19].

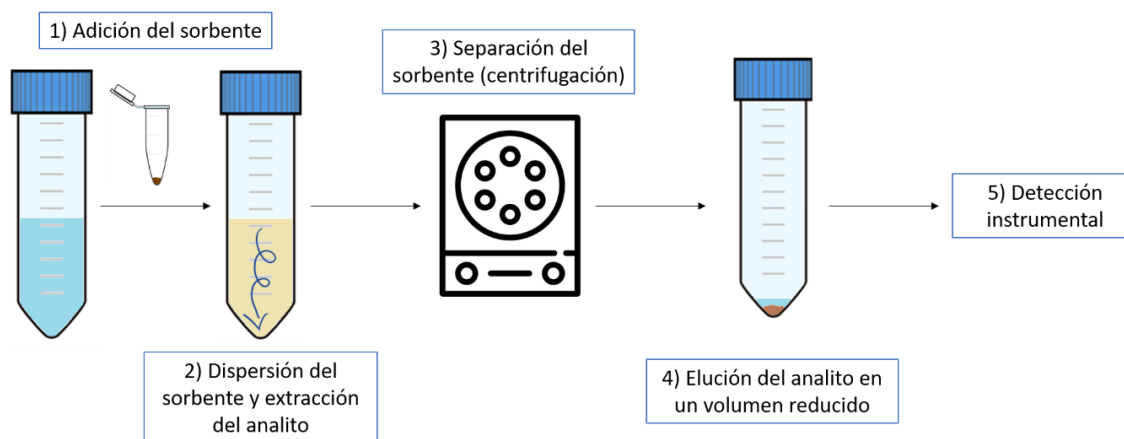


Figura 1.2.2.3. Representación esquemática de la técnica de extracción dispersiva en fase sólida.

Las herramientas más empleadas para la dispersión del sorbente en las técnicas D-SPE son aquellas basadas en agitación de tipo mecánica: vórtex y ultrasonido. La simplicidad y disponibilidad de ambos los hacen los preferidos por la mayoría de los autores, a pesar del hecho de que generan incrementos de temperatura durante el proceso de extracción que pueden afectar la interacción entre el sorbente y el analito, pudiendo incluso descomponer a algunos analitos orgánicos, especialmente cuando se utiliza agitación ultrasónica. Una de las más recientes e interesantes aplicaciones de la agitación con vórtex involucra el uso de nanopartículas (NPs) de ceria (CeO_2) sobre nanoláminas de grafeno para la extracción de diversos analitos, incluyendo Se(IV) , sin la necesidad de agregar un agente complejante. En este caso, 5 minutos fueron suficientes para la extracción del 100% del analito a $\text{pH} = 3,0$ y la metodología se pudo aplicar eficientemente a hasta 25 mL de muestras de agua de canilla, río y mar [20]. Por otro lado, la dispersión por ultrasonido es la más aplicada en la actualidad debido a la gran eficiencia que presenta para tratar volúmenes de muestra altos que por lo general no pueden ser agitados adecuadamente con un dispositivo vórtex. Por ejemplo, se ha podido realizar una extracción eficiente y simultánea de Te junto a otros metales refractarios desde 100 mL de muestra con sólo 5 minutos de agitación ultrasónica utilizando un material sorbente compuesto por carbón activado decorado con NPs de Fe_2O_3 y MnO , alcanzándose un LOD de $0,008 \mu\text{g L}^{-1}$ con detección por ICP-OES [21].

Alternativas modernas para la dispersión de la fase extractante sólida incluyen a la microextracción dispersiva asistida por una efervescencia, en la cual se utiliza una tableta que contiene al sorbente, una fuente de CO₂ (Na₂CO₃, por ej.) y un ácido. Con esta combinación, la generación de burbujas de CO₂ produce turbulencia en la muestra, dispersando al sorbente para la extracción del analito [22]. Otra modalidad para la dispersión no-mecánica del sorbente ha sido reportada recientemente e involucra el uso directo de CO₂ simultáneamente como dispersante y activador del extractante. En este caso, se utilizaron nanotubos de carbono multicapa (MWCNTs) funcionalizados con tetraetilenpentamina, como sorbente para la extracción de especies de Se inorgánicas. El burbujeo de CO₂ en la muestra produjo en este caso la dispersión del sorbente y una transición en el carácter de la superficie hidrofóbica del sorbente a hidrofílica, dando lugar a una interacción directa con las especies inorgánicas aniónicas de Se [23].

1.2.2.4. Sorbentes modernos para extracción en fase sólida

El desarrollo de nuevas técnicas miniaturizadas para la SPE, tal como la D- μ -SPE, se ha visto impulsado por los novedosos y vertiginosos avances en el desarrollo de sólidos sorbentes de elevada área superficial, variado tipo de funcionalización química y por la incorporación de otras propiedades convenientes tales como el magnetismo. Materiales que se utilizaban frecuentemente en SPE, tales como el gel de sílice [24], el carbón activado [25] o las resinas de intercambio iónico [26] son prácticamente considerados obsoletos actualmente, debido a la gran variedad e incremento de eficiencia logrados con el desarrollo de la nanotecnología y la ciencia de los materiales. Gracias a los avances en estos campos, se cuenta actualmente con materiales que presentan las propiedades extractivas de estos sorbentes clásicos pero en escala nanométrica, lo que permite miniaturizar los sistemas y minimizar el consumo de materiales y reactivos [27]. Algunos de los sorbentes más novedosos aplicados a la preconcentración y/o análisis de especies inorgánicas de Se y Te se presentan en la Tabla 1.2.2.1 y dos de las familias más destacadas en relación con el desarrollo de esta Tesis, los nanomateriales y los materiales híbridos, se discuten en profundidad en las próximas secciones.

Tabla 1.2.2.1. Variantes de la técnica de extracción en fase sólida y algunos materiales sorbentes utilizados para la preconcentración y/o análisis de especiación de Se y/o Te inorgánico.

Modo	Material	Detección	Muestras	LOD	EF	Ref.
D- μ -SPE	MWCNTs	XRF	Agua y muestras biológicas	0,06 ng mL ⁻¹ Se(IV)	-	[9]
SPE	MWCNTs@AAPTS	ICP-MS	Aguas	16 ng L ⁻¹ Se(VI)	-	[10]
SPE con micro columna	Nano-TiO ₂	HG-AAS	Aguas	40 ng L ⁻¹ Te(IV)	-	[15]
MW-AD NTDSPE	MWCNTs oxidados	ETAAS	Aguas y hollejo de uva	0,032 μ g kg ⁻¹ Se(IV)	100	[28]
HS-SPE	PDMS/Carboxeno	OES	Agua, cerveza y levaduras	0,8 μ g L ⁻¹ Se	-	[29]
D- μ -SPE	Grafeno	EDXRF	Aguas y material biológico	0,032 μ g L ⁻¹ Se	1013	[30]
D-SPE	<i>Pseudomonas putida</i>	ETAAS	Aguas y cenizas	5,7 μ g L ⁻¹ Se(IV)	62,5	[30]
D- μ -SPE	Halloysita	HR-CS ETAAS	Aguas y alimentos	0,01 μ g L ⁻¹ Se	18	[31]
SPE con micro columna	LDH de Mg(II) y FeCO ₃	HG-AFS	Aguas naturales	11 ng L ⁻¹ Se(IV)	13,3	[32]
SPE	Red orgánica covalente	ICP-MS	Aguas de desecho y leches	21,6 ng L ⁻¹ Se(IV)	-	[33]
FI-SPE	Polímero por impresión atómica	FAAS	Aguas, leche, nueces, frutas	53 ng L ⁻¹ Se	232	[34]
SPE	Organobentonita funcionalizada con ditizona	HG-AAS	Aguas y orina	0,0076 μ g L ⁻¹ Se(IV)	100	[35]
SPE	Sílica modificada con 2,6-diamino-4-fenil-1,3,5-triazina	ETAAS	Aguas y alimentos	0,015 μ g L ⁻¹ Se(IV)	50	[36]
SDSPME	Nano-Al ₂ O ₃ funcionalizada con Aliquat-336	ICP-OES	Agua de río	1,4 ng L ⁻¹ Se(IV)	850	[37]

AAPTS: 3-(2-aminoetilamino)propiltrimetoxisilano. **MW-AD NTDSPE:** Extracción en fase sólida en trampa de aguja con digestión por microondas. **HS-SPE:** Extracción en fase sólida de espacio cabeza. **PDMS:** Polidimetilsiloxano. **EDXRF:** Fluorescencia de rayos X dispersiva. **HR-CS-ETAAS:** Espectrometría de absorción atómica electrotérmica con fuente continua de alta resolución. **FI-SPE:** Extracción en fase sólida por inyección en flujo. **SDSPME:** Microextracción dispersiva en fase sólida suspendida.

1.2.2.4.1. Materiales nanoestructurados

La eficiencia de extracción depende marcadamente del área de contacto efectivo con la muestra que presenta el sorbente. En este sentido, los nanomateriales son ideales para D- μ -SPE, habiendo sido ellos uno de los contribuyentes principales al desarrollo de esta técnica gracias a las oportunidades que brindan en términos de miniaturización de los sistemas de extracción. La Figura 1.2.2.4 muestra la estructura de algunos de los nanomateriales más relevantes en aplicaciones analíticas de los últimos años [38].

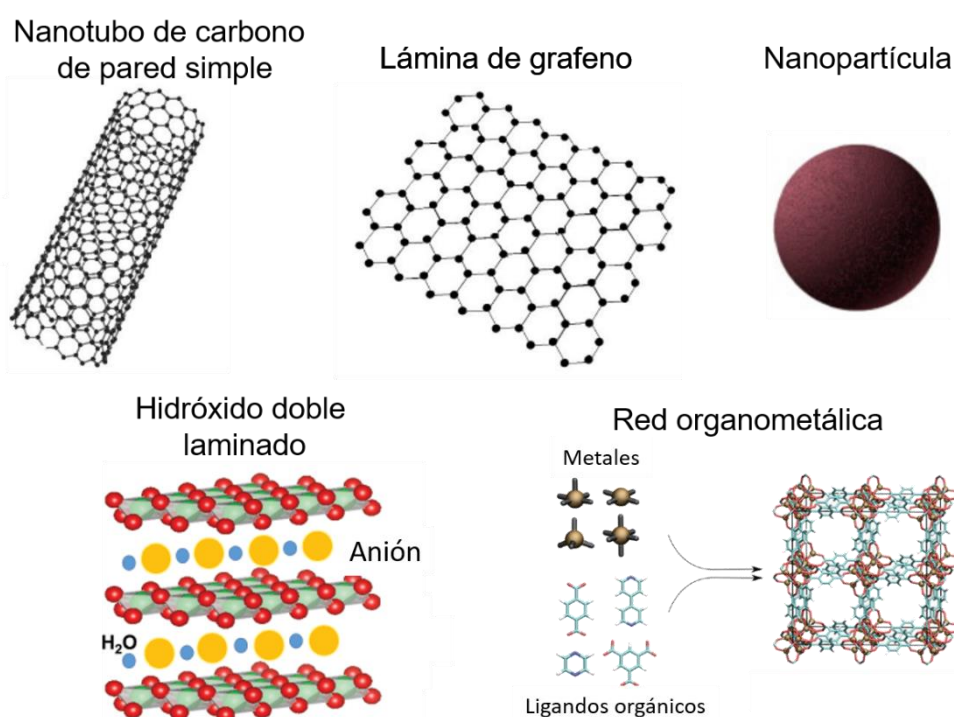


Figura 1.2.2.4. Representación esquemática de los nanomateriales más frecuentemente utilizados en microextracciones dispersivas en fase sólida.

Los nanomateriales basados en carbono, tales como los nanotubos [9] o el grafeno [30], han sido utilizados para la preconcentración de Se en muestras acuosas sin ninguna funcionalización superficial. En estos casos se necesita un agente complejante para disminuir la polaridad de los aniones y permitir así la interacción con la superficie hidrófoba de los extractantes. MWCNTs oxidados han sido utilizados también para preconcentrar de manera directa el hidruro de la especie Se(IV) obtenido tras un tratamiento con microondas y un reductor. Este fue luego eluido con 30 μ L de HNO_3 al 5% (v/v) y cuantificado por ETAAS [28].

Otra familia de nanomateriales muy utilizada es la de los óxidos metálicos nanoestructurados. La principal ventaja de estos es que sus características dependen de varios factores que pueden ser controlados durante su síntesis, por lo que hay un estrecho vínculo entre las condiciones de obtención y las características morfológicas, estructurales y fisicoquímicas de los materiales resultantes [39]. Las NPs de TiO_2 han sido las más frecuentemente aplicadas para la preconcentración de especies inorgánicas tanto de Se como de Te, principalmente porque las cargas superficiales del material permiten la interacción electrostática directa con los analitos en sus formas aniónicas [15]. Adicionalmente, como la carga superficial depende del pH del medio, este factor se presta como un parámetro de ajuste para hacer la extracción selectiva hacia una especie en particular, dando paso al análisis de especiación en las muestras [40]. Las propiedades fotoquímicas de este material han sido aprovechadas también para generar especies volátiles de Se utilizando luz UV para su cuantificación por AFS de forma directa tras la preconcentración [41]. La sílica (SiO_2) nanoestructurada ha sido también utilizada, aunque no tanto como tal, sino como grupo protector de NPs magnéticas o como superficie de anclaje para funcionalizaciones [42, 43]. Nanopartículas de ZrO_2 y Al_2O_3 sin funcionalizar también han sido utilizadas para la preconcentración de especies inorgánicas de Se [44, 45].

En paralelo, el uso de nanomateriales minerales naturales se encuentra recibiendo una creciente atención actualmente, ya que estos presentan cualidades analíticas similares a las de los nanotubos de carbono y el grafeno, pero su obtención es mucho más amigable en términos ambientales, reduciendo el impacto ecológico de su uso. Por ejemplo, los nanotubos de halloysita (un tipo de aluminosilicato), que han sido aplicados para la preconcentración de especies inorgánicas de Se, presentan múltiples capas con una superficie interna cargada positivamente y una superficie externa cargada negativamente. Estas permiten lograr adsorciones selectivas, ya que las especies aniónicas pueden ser atrapadas en el interior de los nanotubos mientras que las especies catiónicas quedan inmovilizadas en el exterior y pueden ser fácilmente eluidas posteriormente [31].

Los hidróxidos dobles laminados (LDHs) son nanoestructuras bidimensionales que consisten en capas de hidróxidos metálicos cargadas positivamente con aniones intercalados. El uso de un LDH de Ni(II) y Al(III) para la preconcentración de Se(IV) ha sido reportado, haciendo uso de la capacidad de intercambio de los aniones NO_3^- interlaminares, dando lugar a la retención de la especie aniónica Se(IV) entre las capas de hidróxidos de Ni(II) y Al(III). El uso de este material en una micro columna permitió

obtener un factor de refuerzo de la sensibilidad de 33 utilizando hasta 100 mL de muestra, con una capacidad máxima de retención de 10 mg de Se(IV) por g de material [46]. Un LDH de Mg(II) y FeCO₃, por otro lado, permitió la retención tanto de Se(IV) como de Se(VI), permitiendo el análisis de especiación del elemento en muestras naturales de agua con un límite de detección de 11 ng L⁻¹ [32].

Las redes organometálicas (MOFs) representan una de las familias de sorbentes más modernas que existen. Las MOFs son híbridos consistentes en un núcleo metálico coordinado a unidades orgánicas que muestran propiedades ideales para D-μ-SPE: i) gran estabilidad química debido a su estructura cristalina, ii) gran área superficial efectiva gracias a su nanoporosidad y canales permeables y iii) flexibilidad para su diseño apuntado a analitos específicos, combinando distintos metales y unidades orgánicas. De hecho, respecto a este último punto, se estima que alrededor de 20000 MOFs han sido sintetizados y caracterizados a la fecha [47]. Sin embargo, si de especificidad se trata, nada supera a los polímeros de impresión molecular o atómica (MIPs o AIPs), que son materiales que se fabrican en presencia del analito y, una vez eliminado este, cuentan con cavidades con el tamaño y la carga específicos para retenerlo. La gran especificidad de los AIP ha sido aprovechada para la determinación de Se en muestras de alta complejidad, tales como leche y alimentos [34].

1.2.2.4.2. Materiales híbridos

Los materiales híbridos son el resultado de la combinación de un sorbente sólido, generalmente de escala nanométrica, y un agente de funcionalización. Los materiales compuestos resultantes retienen algunas de las propiedades del sólido original, tal como la gran relación área superficial-masa de los nanomateriales, con características mejoradas derivadas de la funcionalización [18]. El proceso de funcionalización puede realizarse por medio de dos mecanismos: físico o químico. La funcionalización física no involucra enlaces covalentes entre los componentes del material híbrido; en su lugar, interacciones de tipo Van der Waals, electrostáticas o enlace hidrógeno dan lugar a la unión deseada. La principal ventaja de los materiales físicamente sorbidos es la facilidad de preparación, ya que no requieren reacciones químicas que consumen tiempo y reactivos. Por otro lado, la formación de enlaces covalentes es la característica que define a los materiales químicamente funcionalizados. Estos requieren de procesos de síntesis más complejos, pero suelen ser mucho más estables, evitándose pérdidas del agente de funcionalización tras usos reiterados. Adicionalmente, la funcionalización

química permite un mayor control sobre el grado de funcionalización en comparación con la funcionalización física.

La funcionalización química con agentes complejantes es una variante interesante para metodologías basadas en la técnica SPE, ya que muchos complejantes son selectivos no solo en términos de la identidad de los metales, sino también en términos de sus estados de oxidación, dando lugar a la posibilidad de analizar las especies de manera independiente. Considerando este concepto, la superficie de diversos materiales ha sido modificada con grupos funcionales complejantes para su aplicación en la determinación de especies de Se y Te. Urbánková y colaboradores llevaron a cabo una comparación entre las capacidades extractantes de distintas sílicas funcionalizadas con grupos complejantes de tipo ciano (-CN), amino (-NH₂) y fenilo (-C₆H₅) contra sílicas no-funcionalizadas para la extracción de As, Sb, Se y Te. Otros trabajos de este tipo reportan aplicaciones exitosas de sílica modificada con 2,6-diamino-4-fenil-1,3,5-triazina para la determinación de Se total en aguas y alimentos [36], de MWCNTs modificados con 3-(2-aminoetilamino)propiltrimetoxisilano para el análisis de especiación simultáneo de As, Cr y Se en agua de lluvia, lago y río [10] y de organobentonita modificada con ditizona para la preconcentración de Se(IV) en aguas y orina [35]. Otro desarrollo interesante ha sido también la funcionalización de carbón activado con hidróxido de tetrabutilamonio como intercambiador de aniones para el análisis de especiación de Se inorgánico en muestras de agua de río y de lagos [48].

Los ILs son una nueva generación de solventes alternativos que han resultado de gran utilidad en el desarrollo de técnicas de separación y preconcentración. Además de sus aplicaciones en extracciones líquido-líquido, los ILs son ampliamente reconocidos como agentes para la funcionalización de nanomateriales. Esta combinación da lugar a una nueva familia de sorbentes con propiedades sinérgicamente mejoradas, que combinan las excepcionales capacidades extractantes de los ILs con la gran área superficial aportada por los nanomateriales y, en algunos casos, propiedades adicionales tales como magnetismo. Combinaciones de nanomateriales e ILs acoplados tanto física como químicamente han sido utilizadas para la preconcentración y el análisis de especiación de una gran variedad de analitos en diversas matrices. Sin embargo, las aplicaciones para la evaluación de Se y Te eran limitadas al momento de desarrollo de la presente tesis doctoral. Nyaba y colaboradores desarrollaron un híbrido compuesto por nano alúmina (nano-Al₂O₃) con el IL Aliquat-336 físicamente adsorbido en su superficie. El proceso de preparación del mismo no incluyó reacciones químicas e involucró únicamente la activación de las NPs de Al₂O₃ con ácido nítrico y el mezclado

directo de estas con una solución etanólica del IL. El material resultante contó con un área superficial de $321 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ y se utilizó para la preconcentración selectiva de Se(IV) en muestras de aguas superficiales. Las cifras de mérito analítico demuestran la gran eficiencia del sistema para la determinación de Se(IV), habiéndose logrado un EF de 850 y un LOD de $1,4 \text{ ng L}^{-1}$ utilizando 50 mg de material sorbente para la extracción e ICP-OES para la detección [37]. En lo que concierne al inicio de la presente Tesis Doctoral, y obviando cualquier omisión involuntaria, no se encontraron trabajos publicados que involucraran la funcionalización covalente de nanomateriales con ILs para la preconcentración y/o análisis de especiación de Se y/o Te. Un ejemplo de la capacidad de estos sistemas es el uso de hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazolio ($[\text{C}_8\text{mim}][\text{PF}_6]$) covalentemente unido a NPs de TiO_2 para la preconcentración de Cd(II) y Cu(II) en muestras de agua. En este caso, la estabilidad de la unión covalente permitió la utilización del material durante 10 ciclos de extracción-elución sin pérdidas en su capacidad extractante, algo especialmente meritorio teniendo en cuenta que la elución se llevó a cabo en un medio fuertemente ácido [49].

1.2.2.5. Extracción en fase sólida magnética

Entre las distintas alternativas en SPE, el uso de materiales sorbentes magnéticos se encuentra en franco crecimiento tanto en importancia como en popularidad, dadas sus ventajas sobre la SPE clásica y los métodos dispersivos tradicionales. La extracción en fase sólida magnética (MSPE) consiste en el uso de un (nano)material magnético que es dispersado en la muestra líquida para la retención de los analitos, para luego ser separado en forma fácil y rápida por acción de un campo magnético externo. Tras la separación del sorbente, un solvente o mezcla de solventes se utiliza para eluir el analito previo a su determinación instrumental (Figura 1.2.2.5). De esta manera, se evitan problemas típicos de la SPE clásica, tal como la compactación excesiva del sorbente en las columnas o cartuchos, y uno de los pasos que más tiempo insumen en los métodos dispersivos: la separación de fases por centrifugación o filtración [50]. Adicionalmente, los rápidos avances en la síntesis de nanomateriales han resultado en una mayor versatilidad en términos de tamaño, forma, capacidad de extracción y potencial de funcionalización de las NPs magnéticas obtenidas. De esta manera, mejoras sustanciales en términos de eficiencia de extracción, EF, LOD y reproducibilidad en grandes volúmenes de muestra se tornan factibles [51]. Algunos de los materiales magnéticos más utilizados en MSPE en los últimos años y sus aplicaciones se presentan en la Tabla 1.2.2.2.

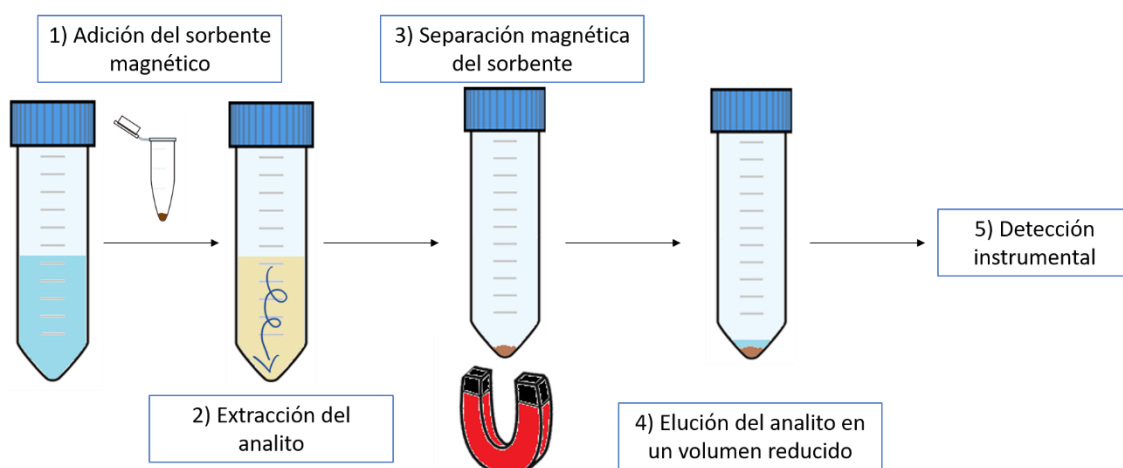


Fig. 1.2.2.5: Representación esquemática de la técnica de extracción en fase sólida magnética.

Actualmente, los materiales magnéticos con aplicaciones analíticas son casi exclusivamente NPs constituidas por elementos tales como Fe, Ni, Co o sus óxidos y aleaciones con propiedades ferromagnéticas y superparamagnéticas. Las partículas ferromagnéticas poseen magnetismo permanente, mientras que las superparamagnéticas son atraídas por campos magnéticos pero no mantienen ningún magnetismo residual una vez que cesa el efecto del campo [52]. Entre las distintas nanopartículas magnéticas, los óxidos de hierro superparamagnéticos como la magnetita (Fe_3O_4) y, más recientemente, la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), han recibido mucha atención debido a la simplicidad de su síntesis, el fácil control sobre su dispersión de tamaños y su alta capacidad para ser funcionalizados superficialmente. Por otro lado, las ferritas, con la fórmula MeFe_2O_4 ($\text{Me} = \text{Co}, \text{Cu}, \text{Mg}, \text{Mn}, \text{Ni}, \text{Zn}$), exhiben propiedades superparamagnéticas más fuertes que la magnetita y la maghemita y han sido aplicadas también para la preconcentración de diversos metales y metaloides, incluyendo Se y Te, en aguas y sin la necesidad de modificaciones superficiales [53, 54]. Adicionalmente, se han utilizado NPs de Co para la preconcentración de Te en muestras de suelos sin ningún tipo de funcionalización superficial o empleo de agente complejante para la derivatización del analito. La extracción de la especie aniónica Te(IV) se reportó en este caso como consecuencia de interacciones electrostáticas con grupos superficiales de las NPs magnéticas de Co, cargados positivamente a $\text{pH} = 6$ [55].

Las NPs magnéticas inorgánicas puras como las de Fe_3O_4 y $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, sin embargo, tienden a agregarse fácilmente, lo cual modifica sus propiedades magnéticas. Sumado a esto, estas tienden a disolverse en medio ácido y su falta de selectividad intrínseca las hace poco útiles para el uso en muestras con matrices complejas, como por ejemplo aguas de río o de mar. Como consecuencia, la protección de las NPs

magnéticas con un recubrimiento inerte ha probado ser un camino de acción adecuado no solo para evitar estos problemas, sino también para otorgar especificidad hacia un determinado analito [56]. Entre los recubrimientos más utilizados para NPs magnéticas férricas o ferrosas, la sílica es una excelente alternativa, ya que tiene bajo costo, es inerte química y térmicamente y provee grupos superficiales silanol (-SiOH) hidrofílicos, que pueden ser fácilmente modificados con otros grupos funcionales y/o materiales [57].

Por ejemplo, NPs de Fe_3O_4 recubiertas con sílica han sido funcionalizadas con γ -mercaptopropiltrimetoxisilano y utilizadas para la preconcentración y análisis de especiación de Te inorgánico en agua de mar. Este material permitió una extracción selectiva de Te(IV) en el rango de pH entre 2 y 9, dando lugar así a la separación de especies, mientras que la preconcentración se logró gracias a la posibilidad de utilizar tan solo 50 mg de material en 160 mL de muestra [42]. En un desarrollo similar, NPs de Fe_3O_4 recubiertas con sílica y ácido 5-sulfosalicílico fueron utilizadas para la preconcentración de especies inorgánicas y orgánicas de Se en aguas de desecho y jugos. En este caso, la separación de especies se llevó a cabo en una etapa posterior a la extracción, utilizando electroforesis capilar [58]. Otro caso interesante reportado recientemente ha sido la preconcentración y análisis de especiación simultáneos de Se y Te inorgánico en muestras de agua de río y de lago. En este caso, se utilizaron nanopartículas de Fe_3O_4 recubiertas con sílica y con polianilina, siendo el pH el factor clave para la separación de las especies, ya que una adecuada relación de compromiso entre la actividad ácido-base de los grupos amino del sorbente y de los analitos aniónicos les permitió a los autores encontrar condiciones selectivas para la extracción de cada una de las especies inorgánicas de los elementos. Posteriormente, la determinación de cada una de las especies en las fracciones separadas con el nanomaterial sorbente fue llevada a cabo por ICP-MS, logrando LODs en el orden de unos pocos ng L^{-1} para todas ellas (más detalles de este y otros trabajos sobre MSPE se encuentran resumidos en la Tabla 1.2.2.2) [59].

Incluso nanomateriales sin magnetismo intrínseco han sido combinados con NPs magnéticas recubiertas de sílica para el desarrollo de métodos de preconcentración. Por ejemplo, NPs de CeO_2 han sido ancladas a NPs de Fe_3O_4 recubiertas de sílica para la retención y preconcentración de los hidruros de As(III), Sb(III) y Se(IV) formados *in situ* en muestras de agua de lago y su posterior cuantificación por ICP-OES [60]. Otros óxidos inorgánicos, tales como Al_2O_3 y ZrO_2 han sido también utilizados como recubrimientos protectores de NPs magnéticas, aunque no en métodos que involucren Se y/o Te [66, 67].

Tabla 1.2.2.2. Variantes de la técnica de extracción en fase sólida magnética aplicadas para la preconcentración y/o análisis de especiación de Se y/o Te inorgánico.

Modo	Material	Detección	Muestras	LOD	EF	Ref.
Dispersivo	NPs de MnFe ₂ O ₄	ICP-MS	Aguas y orina humana	0,2 µg L ⁻¹ Se	7,4	[53]
Dispersivo	NPs de CuFe ₂ O ₄	ETAAS	Agua de canilla, subterránea y de mar	0,012 µg L ⁻¹ Te(IV)	223	[54]
Dispersivo	NPs de Co	SQT-FAAS	Suelos	15,4 µg L ⁻¹ Te	86,7	[55]
Dispersivo	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @γ-MPTMS	ICP-MS	Agua de mar	0,079 ng L ⁻¹ Te(VI)	-	[42]
Dispersivo	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @SSA	Electroforesis capilar	Agua de desecho y jugo	0,18 µg L ⁻¹ Se(IV) 0,17 µg L ⁻¹ Se(VI)	21 Se(IV) 29 Se(VI)	[58]
Dispersivo	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @PANI	ICP-MS	Agua de lago y río	5,3 ng L ⁻¹ Se(IV) 1,2 ng L ⁻¹ Te(IV)	100	[59]
Dispersivo	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @CeO ₂	ICP-OES	Agua de lago	0,087 µg L ⁻¹ Se(IV)	19	[60]
Dispersivo	Fe ₃ O ₄ @MWCNT	HG-AFS	Agua de canilla y de río	0,013 µg L ⁻¹ Se(IV)	100	[61]
Dispersivo	Fe ₃ O ₄ @MWCNT@Bis	ETAAS	Aguas y alimentos	0,003 µg L ⁻¹ Se(IV)	196	[62]
Dispersivo	MIL-101(Cr)/Fe ₃ O ₄ @ADTC	ETAAS	Aguas de consumo humano y alimentos	0,01 µg L ⁻¹ Se(IV)	208	[63]
Dispersivo asistido por efervescencia	Hexafluorofosfato de 1-hexil-3- metilimidazolio y nano-Fe ₃ O ₄	ETAAS	Agua mineral, gaseosas, té, leche, hongos, bebidas energéticas	0,021 µg L ⁻¹ Se(IV)	-	[22]
Dispersivo	Polímero de poliestireno, ácido polioleico y polietilenglicol + nano-Fe ₃ O ₄	ETAAS	Agua de canilla y mineral, jugo de frutas y té helado comerciales y alimentos	6,06 ng L ⁻¹ Se(IV)	100	[64]
Chip microfluídico	Poliestireno sulfonado sobre nano-Fe ₃ O ₄	HPLC-ICP-MS	Células de levadura	0,057 – 0,149 µg L ⁻¹	Entre 10 y 92	[65]

SQT-FAAS: Espectrometría de absorción atómica por llama con tubo de cuarzo. **γ-MPTMS:** γ-mercaptopropiltrimetoxisilano. **SSA:** Ácido sulfosalicílico. **PANI:** Polianilina. **Bis:** Bismuthiol II. **ADTC:** Aminoditiocarbamato.

Los materiales nanoestructurados basados en C no tienen propiedades magnéticas intrínsecas, pero pueden ser asociados a NPs magnéticas. De esta manera, retienen sus propiedades extractantes características y cuentan con el agregado de las propiedades magnéticas que facilitan su separación. El grafeno y el óxido de grafeno magnetizados pueden ser fácilmente obtenidos por métodos de coprecipitación con óxidos de Fe y han encontrado diversas aplicaciones aprovechando su excepcional área específica de hasta $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, según cálculos teóricos [68]. Ambos materiales magnetizados han sido hasta ahora aplicados efectivamente para la remoción de especies inorgánicas de Se en muestras de agua con distintas funcionalizaciones, pero no se han reportado aún desarrollos analíticos completos que los involucren [69, 70]. Los nanotubos de carbono combinados con NPs magnéticas representan también un material moderno muy utilizado en química analítica para extracciones magnéticas. Tanto en estado hidrofóbico puro como funcionalizados, los MWCNTs han sido utilizados para aplicaciones analíticas para Se. En el primer caso, la interacción electrostática entre la especie HSeO_3^- y la superficie cargada positivamente de los nanotubos a $\text{pH} = 4$ fue la responsable de la extracción de esta [61]. En el segundo caso, una funcionalización física de los nanotubos magnetizados con Bismuthiol II (la sal de potasio de la 5-mercapto-3-fenil-1,3,4-tidiazol-2-tiona) permitió la extracción selectiva de Se(IV) gracias a las propiedades complejantes del agente funcionalizador para con esta especie [62].

Tal como se ha mencionado previamente, la mayoría de los materiales utilizados para D-SPE pueden ser subsecuentemente magnetizados y aplicados en metodologías de extracción magnética. Tal es el caso de las MOFs, que también han sido introducidas en el campo de las extracciones magnéticas. La mezcla física directa de los cristales de MOFs con NPs magnéticas resulta en materiales híbridos eficientes, mientras el crecimiento *in situ* de las NPs magnéticas en presencia de cristales o nanocristales de MOFs crecidos sobre nanopartículas da lugar a rendimientos más elevados [71]. Su especificidad ha sido aprovechada para el desarrollo de un método de MSPE para la preconcentración y análisis de especiación de Se inorgánico en muestras tan complejas como ajos, cebollas, naranjas y manzanas, aparte de aguas de consumo humano [63].

Los ILs también se han utilizado para la preparación de materiales híbridos magnéticos, dando lugar a materiales que cuentan con sus excelentes propiedades extractantes en adición al magnetismo. Métodos tanto físicos como químicos han sido utilizados para la preparación de nanomateriales híbridos magnéticos diversos, como

por ejemplo el uso de NPs de Fe_3O_4 y un IL de la familia de los imidazolios para la preconcentración de Se(IV) en muestras variadas [22].

Existen también diversos reportes de combinaciones de nanomateriales compuestos recubiertos con ILs para preconcentración, como por ejemplo NPs de Fe_3O_4 recubiertas con sílica, MWCNTs u óxido de grafeno, dando así lugar a alternativas que combinan las propiedades de los tres componentes [72, 73]. En este contexto, los ILs poliméricos (PILs) han recibido especial atención en los últimos años, ya que representan una alternativa a los ILs que mantienen sus excepcionales capacidades como extractantes, pero con una resistencia mecánica aumentada, ideal para métodos que requieren de agitación intensa. Adicionalmente, el desarrollo de algunos métodos simplificados para la síntesis de materiales nanoestructurados con PILs ha impulsado notoriamente su aplicación en MSPE [74]. Al momento de iniciar el desarrollo de la presente Tesis, no se encontraban disponibles reportes de la aplicación de este tipo de materiales para la preconcentración o análisis de especiación de Se y/o Te.

Materiales poliméricos han sido también acoplados a nanomateriales magnéticos para su utilización en microextracciones. Un caso interesante fue el uso de un copolímero que incluía unidades de ácido oleico de origen natural en su estructura. Este fue sintetizado por un método tradicional y contó con grupos amino que permitieron unirlos covalentemente con NPs de magnetita. El material resultante fue utilizado para la determinación de Se inorgánico total en muestras de agua mineral y de canilla, así como en jugo de frutas y té helado comercial [64]. Por su parte, Chen y colaboradores desarrollaron un híbrido compuesto por nano- Fe_3O_4 y poliestireno sulfonado para la extracción de especies orgánicas de Se en levaduras. El material fue incluido en un chip microfluídico y permitió la extracción de cinco especies de Se utilizando aproximadamente 800 células por determinación y alcanzando LODs de entre 0,057 y 0,149 $\mu\text{g L}^{-1}$ con cromatografía de alta performance (HPLC) acoplada a ICP-MS para la separación y determinación de las especies retenidas [65].

1.2.2.6. Extracción en fase sólida en sistemas en flujo

Durante las últimas décadas, la familia de las metodologías analíticas basadas en técnicas de flujo para la automatización, optimización y miniaturización del proceso de tratamiento de muestras se ha ido desarrollando progresivamente. Aunque los métodos en batch siguen siendo los más utilizados y reportados hasta el momento, ciertas desventajas relacionadas con el trabajo manual y el tiempo que requieren, así

como con la cantidad de reactivos que consumen, no han podido ser aun completamente superadas. Las técnicas en flujo son reconocidas por la reducción en el consumo de reactivos y la generación de desechos, por los limitados aportes que requieren por parte del operador -reduciendo su exposición- y por las mejoras que aportan en términos tanto de reproducibilidad como de frecuencia de análisis [75].

Los métodos más aplicados para llevar a cabo SPE en flujo son el análisis por inyección en flujo (FIA) y el análisis por inyección secuencial (SIA). Estos se diferencian en el modo de mezclado y transporte de la muestra: en FIA la muestra y los reactivos necesarios (por ej. un reactivo complejante) se inyectan en un flujo continuo de solución transportadora que es continuamente propulsado hacia el sistema de separación, mientras que en SIA estos se succionan secuencialmente hacia un bucle de retención gracias a una válvula selectora, donde se mezclan para ser luego propulsados hacia el sistema de separación (Figura 1.2.2.6). La gran ventaja del SIA es el menor consumo de reactivos (no hay necesidad de un flujo constante de solución transportadora) y el mejor mezclado de las fases durante su estadía en el bucle de retención [76].

El sistema de separación más usual en ambos casos consta de un lecho de material sorbente empaquetado en el interior de una columna o cartucho, propiciando la transferencia del analito desde la solución hacia la fase sólida durante el pasaje de la solución bombeada. A continuación, la columna o cartucho es enjuagada/o con un solvente adecuado y, finalmente, un volumen dado de eluyente atraviesa al material sorbente provocando la elución del analito, que es inmediatamente transportado hacia el sistema de detección para su cuantificación [77]. Una alternativa al SIA denominada *bead injection analysis* ha sido también desarrollada específicamente para SPE y se basa en la succión de un volumen bien definido de una suspensión del material sorbente durante la primera etapa del método en lugar de alguno de los reactivos mostrados en la Figura 1.2.2.6, de manera tal de lograr el mezclado del mismo con la muestra en el bucle de retención. A continuación, la mezcla de solución y sorbente es impulsada hacia el sistema de separación, que cuenta con una válvula porosa que permite retener las partículas de sorbente, dejando fluir a la solución. De esta manera, se logra contar con material sorbente fresco para cada uno de los ciclos de extracción/elución y se incrementa sustancialmente el contacto entre fases, dando lugar a mejoras significativas en la eficiencia de extracción [78].

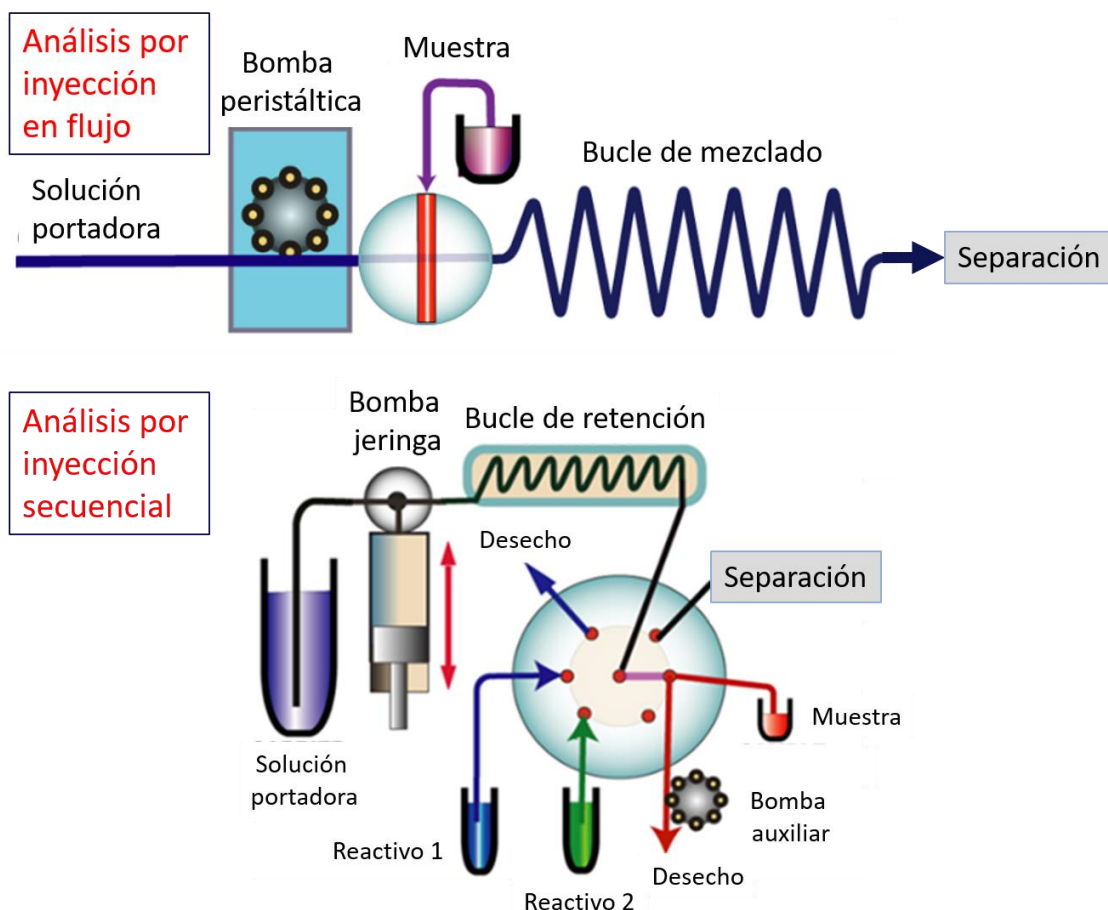


Figura 1.2.2.6. Representación esquemática de sistemas de análisis por inyección en flujo y por inyección secuencial. Adaptadas de J. Růžička *et al.*, “Flow Injection Tutorial 7ª Ed.” [76].

Sin embargo, a pesar de poseer características que las hacen muy atractivas, las aplicaciones de este tipo de técnicas son reducidas, dadas las limitaciones para su aplicación con materiales sorbentes modernos. El uso de nanomateriales es especialmente complicado, ya que la propiedad que los hace tan útiles como extractantes -sus dimensiones nanométricas- es la que al mismo tiempo dificulta su aplicación en métodos en flujo. Esto se debe a la imposibilidad de empacarlos en columnas o cartuchos sin que se generen problemas de sobrepresión en el sistema de flujo, lo cual impide la circulación de las soluciones o condiciona marcadamente el caudal máximo que puede utilizarse tanto en métodos FIA, SIA o de *bead injection*.

Algunas aplicaciones destacadas de metodologías en flujo han sido reportadas para la SPE de Se, pero no así para la de Te. Por ejemplo, el desarrollo de una metodología FIA con una columna rellena de una MOF permitió la preconcentración de 10 iones inorgánicos -incluyendo Se(IV)- y su determinación por ICP-MS con LODs de unos pocos ng L^{-1} [33]. Otro caso muy interesante es el presentado por Asiabi y colaboradores en 2016. En este trabajo se utilizó un tubo de acero inoxidable con un

recubrimiento interno polimérico de polipropileno dopado con dimetrilacrilato de polietilenglicol, cuya carga superficial se controló mediante la aplicación de una diferencia de potencial. Este tubo se acopló a un sistema en línea y se utilizó para la extracción de las especies inorgánicas aniónicas de Se mediante la aplicación de un voltaje de 0,8 V durante el pasaje de la muestra por el tubo modificado. Luego, la inyección de un volumen reducido de eluyente acompañada por la aplicación de un potencial negativo propició la elución de los analitos, que fueron cuantificados por HG-AAS [79]. Finalmente, un trabajo en línea con una micro columna de sílica modificada con el IL bromuro de hexadeciltrimetilamonio para la separación y preconcentración de especies inorgánicas de Se y As ha sido reportado, siendo el único caso en el cual el análisis de especiación de Se ha sido llevado a cabo con un sistema en flujo. La detección se llevó a cabo por ICP-OES y el análisis total no insumió más de 15 minutos por muestra [80].

1.2.2.7. Bibliografía

- [1] 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(1) (2010) 491-496.
- [2] K. Bierla, J. Szpunar, A. Yiannikouris, R. Lobinski, Comprehensive speciation of selenium in selenium-rich yeast, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 41 (2012) 122-132.
- [3] B. Zare, M. Nami, A.-R. Shahverdi, Tracing Tellurium and Its Nanostructures in Biology, *Biological Trace Element Research* 180(2) (2017) 171-181.
- [4] K. Bierla, J. Szpunar, R. Lobinski, Biological selenium species and selenium speciation in biological samples, en: D.L. Hatfield, U. Schweizer, P.A. Tsuji, V.N. Gladyshev (Eds.), *Selenium: Its Molecular Biology and Role in Human Health*, Springer Nature, Londres, Reino Unido, 2016, pp. 413-424.
- [5] R.G. Wuilloud, P. Berton, Selenium Speciation in the Environment, en: S. Bakirdere (Ed.), *Speciation Studies in Soil, Sediment and Environmental Samples*, CRC Press, Florida, EEUU, 2013, pp. 263-305.
- [6] C. Herrero Latorre, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente, Solid phase extraction for the speciation and preconcentration of inorganic selenium in water samples: A review, *Analytica Chimica Acta* 804 (2013) 37-49.
- [7] V. Camel, Solid phase extraction of trace elements, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 58(7) (2003) 1177-1233.
- [8] K. Hagiwara, Y. Koike, M. Aizawa, T. Nakamura, On-site determination of arsenic, selenium, and chromium(VI) in drinking water using solid-phase extraction disk/handheld X-ray fluorescence spectrometer, *Analytical Sciences* 34(11) (2018) 1309-1315.
- [9] R. Skorek, E. Turek, B. Zawisza, E. Marguí, I. Queralt, M. Stempin, P. Kucharski, R. Sitko, Determination of selenium by X-ray fluorescence spectrometry using dispersive solid-phase microextraction with multiwalled carbon nanotubes as solid sorbent, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27(10) (2012) 1688-1693.
- [10] H. Peng, N. Zhang, M. He, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation analysis of inorganic arsenic, chromium and selenium in environmental waters by 3-(2-aminoethylamino) propyltrimethoxysilane modified multi-wall carbon nanotubes packed microcolumn solid phase extraction and ICP-MS, *Talanta* 131 (2015) 266-272.

- [11] IUPAC, Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson., Oxford, 1997. Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN: 0-9678550-9-8.
- [12] L. Ramos, Basics and Advances in Sampling and Sample Preparation, en: Y. Picó (Ed.), Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications, Academic Press, Boston, EEUU, 2012, pp. 3-24.
- [13] C. Calderilla, F. Maya, L.O. Leal, V. Cerdà, Recent advances in flow-based automated solid-phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 108 (2018) 370-380.
- [14] Y. Zhang, B. Chen, S. Wu, M. He, B. Hu, Graphene oxide–TiO₂ composite solid phase extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the speciation of inorganic selenium in water samples, *Talanta* 154 (2016) 474-480.
- [15] Q. Tan, Y. Pan, L. Liu, S. Shu, Y. Liu, Determination of ultratrace tellurium in water by hydride generation atomic absorption spectrometry using online separation and pre-concentration with nano-TiO₂ microcolumn, *Microchemical Journal* 144 (2019) 495-499.
- [16] C. Basheer, A.A. Alnedhary, B.S.M. Rao, S. Valliyaveetil, H.K. Lee, Development and Application of Porous Membrane-Protected Carbon Nanotube Micro-Solid-Phase Extraction Combined with Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry* 78(8) (2006) 2853-2858.
- [17] M. Sajid, Porous membrane protected micro-solid-phase extraction: A review of features, advancements and applications, *Analytica Chimica Acta* 965 (2017) 36-53.
- [18] A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena, Dispersive micro-solid phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019) 226-233.
- [19] T. Khezeli, A. Daneshfar, Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 89 (2017) 99-118.
- [20] A. Baranik, A. Gagor, I. Queralt, E. Marguí, R. Sitko, B. Zawisza, Ceria nanoparticles deposited on graphene nanosheets for adsorption of copper(II) and lead(II) ions and of anionic species of arsenic and selenium, *Microchimica Acta* 185(5) (2018) 264.
- [21] K.M. Dimpe, L. Nyaba, C. Magoda, J.C. Ngila, P.N. Nomngongo, Synthesis, modification, characterization and application of AC@Fe₂O₃@MnO₂ composite for ultrasound assisted dispersive solid phase microextraction of refractory metals in environmental samples, *Chemical Engineering Journal* 308 (2017) 169-176.

[22] X. Wang, L. Wu, J. Cao, X. Hong, R. Ye, W. Chen, T. Yuan, Magnetic effervescent tablet-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction of selenium for speciation in foods and beverages, *Food Additives & Contaminants: Part A* 33(7) (2016) 1190-1199.

[23] Naeemullah, M. Tuzen, T.G. Kazi, D. Citak, A new green switchable hydrophobic–hydrophilic transition dispersive solid–liquid microextraction of selenium in water samples, *Analytical Methods* 8(13) (2016) 2756-2763.

[24] R.E. Sturgeon, S.N. Willie, S.S. Berman, Preconcentration of Selenium and Antimony from Seawater for Determination by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, *Analytical Chemistry* 57(1) (1985) 6-9.

[25] H.A. van der Sloot, D. Hoede, J. Wijkstra, J.C. Duinker, R.F. Nolting, Anionic species of V, As, Se, Mo, Sb, Te and W in the Scheldt and Rhine estuaries and the Southern Bight (North Sea), *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 21(5) (1985) 633-651.

[26] K.Y. Chiou, O.K. Manuel, Chalcogen elements in snow: relation to emission source, *Environmental Science & Technology* 22(4) (1988) 453-456.

[27] K. Pyrzynska, Nanomaterials in speciation analysis of metals and metalloids, *Talanta* 212 (2020) 120784.

[28] A. Maratta Martínez, S. Vázquez, R. Lara, L.D. Martínez, P. Pacheco, Selenium analysis by an integrated microwave digestion-needle trap device with hydride sorption on carbon nanotubes and electrothermal atomic absorption spectrometry determination, *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy* 140 (2018) 22-28.

[29] A. Tyburska, K. Jankowski, A. Rodzik, Determination of arsenic and selenium by hydride generation and headspace solid phase microextraction coupled with optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 66(7) (2011) 517-521.

[30] K. Kocot, R. Leardi, B. Walczak, R. Sitko, Determination and speciation of trace and ultratrace selenium ions by energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry using graphene as solid adsorbent in dispersive micro-solid phase extraction, *Talanta* 134 (2015) 360-365.

[31] M. Krawczyk-Coda, Determination of Selenium in Food Samples by High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry After Preconcentration on Halloysite Nanotubes Using Ultrasound-Assisted Dispersive Micro Solid-Phase Extraction, *Food Analytical Methods* 12(1) (2019) 128-135.

[32] M.L. Chen, M.I. An, Selenium adsorption and speciation with Mg–FeCO₃ layered double hydroxides loaded cellulose fibre, *Talanta* 95 (2012) 31-35.

[33] J.M. Liu, X.Z. Wang, C.Y. Zhao, J.L. Hao, G.Z. Fang, S. Wang, Fabrication of porous covalent organic frameworks as selective and advanced adsorbents for the on-line preconcentration of trace elements against the complex sample matrix, *Journal of Hazardous Materials* 344 (2018) 220-229.

[34] G.C. de Lima, A.C.D. do Lago, A.A. Chaves, P.S. Fadini, P.O. Luccas, Determination of selenium using atomically imprinted polymer (AIP) and hydride generation atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 768(1) (2013) 35-40.

[35] D. Zhang, G.S. Zhao, Determination of trace selenium in urine and water samples by hydride generation atomic absorption spectrometry after preconcentration/ separation with modified organobentonite with dithizone, *Asian Journal of Chemistry* 25(17) (2013) 9736-9738.

[36] D. Mendil, Z. Demirci, O.D. Uluozlu, M. Tuzen, M. Soylak, A new separation and preconcentration method for selenium in some foods using modified silica gel with 2,6-diamino-4-phenil-1,3,5-triazine, *Food Chemistry* 221 (2017) 1394-1399.

[37] L. Nyaba, J.M. Matong, K.M. Dimpe, P.N. Nomngongo, Speciation of inorganic selenium in environmental samples after suspended dispersive solid phase microextraction combined with inductively coupled plasma spectrometric determination, *Talanta* 159 (2016) 174-180.

[38] K. Murtada, Trends in nanomaterial-based solid-phase microextraction with a focus on environmental applications - A review, *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 25 (2020) e00077.

[39] S.A. Corr, Metal oxide nanoparticles, en: P. O'Brien (Ed.), *Nanoscience: Volume 1: Nanostructures through Chemistry*, The Royal Society of Chemistry, Londres, Reino Unido, 2013, pp. 180-207.

[40] D. Deng, J. Zhou, X. Ai, L. Yang, X. Hou, C. Zheng, Ultrasensitive determination of selenium by atomic fluorescence spectrometry using nano-TiO₂ pre-concentration and in situ hydride generation, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27(2) (2012) 270-275.

[41] W. Yang, Y. Gao, L. Wu, X. Hou, C. Zheng, X. Zhu, Preconcentration and in-situ photoreduction of trace selenium using TiO₂ nanoparticles, followed by its determination by slurry photochemical vapor generation atomic fluorescence spectrometry, *Microchimica Acta* 181(1-2) (2014) 197-204.

[42] C. Huang, B. Hu, Speciation of inorganic tellurium from seawater by ICP-MS following magnetic SPE separation and preconcentration, *Journal of Separation Science* 31(4) (2008) 760-767.

[43] F. Keyghobadi, N. Bahramifar, E. Gharekhani, M. Kia, Optimization of Low Amounts of Selenium Ions in Water and Blood Samples by Solid Phase Extraction Using Thiolated Nanosilica, *Medical Laboratory Journal* 13(5) (2019) 32-37.

[44] H. Erdoğan, O. Yalçinkaya, A.R. Türker, Speciation of inorganic selenium by solid phase extraction using nanozirconium oxide/boron oxide composite material, *Turkish Journal of Chemistry* 40(5) (2016) 772-783.

[45] J. Duan, B. Hu, M. He, Nanometer-sized alumina packed microcolumn solid-phase extraction combined with field-amplified sample stacking-capillary electrophoresis for the speciation analysis of inorganic selenium in environmental water samples, *Electrophoresis* 33(19-20) (2012) 2953-2960.

[46] H. Abdolmohammad-Zadeh, A. Jouyban, R. Amini, G. Sadeghi, Nickel-aluminum layered double hydroxide as a nano-sorbent for the solid phase extraction of selenium, and its determination by continuous flow HG-AAS, *Microchimica Acta* 180(7) (2013) 619-626.

[47] P. Rocío-Bautista, P. González-Hernández, V. Pino, J. Pasán, A.M. Afonso, Metal-organic frameworks as novel sorbents in dispersive-based microextraction approaches, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 90 (2017) 114-134.

[48] Y.K. Tsoi, K.S.Y. Leung, Toward the use of surface modified activated carbon in speciation: Selective preconcentration of selenite and selenate in environmental waters, *Journal of Chromatography A* 1218(16) (2011) 2160-2164.

[49] J. Zou, X. Ma, Y. Dang, Y. Chen, Trace determination of cadmium(ii) and copper(ii) in environmental water samples by solid-phase extraction using a novel ionic liquid-modified composite sorbent combined with flame atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29(9) (2014) 1692-1697.

[50] A.L. Capriotti, C. Cavaliere, G. La Barbera, C.M. Montone, S. Piovesana, A. Laganà, Recent Applications of Magnetic Solid-phase Extraction for Sample Preparation, *Chromatographia* 82 (2019) 1251-1274.

[51] M. Hemmati, M. Rajabi, A. Asghari, Magnetic nanoparticle based solid-phase extraction of heavy metal ions: A review on recent advances, *Microchimica Acta* 185(3) (2018) 160.

[52] G. Giakissikli, A.N. Anthemidis, Magnetic materials as sorbents for metal/metalloid preconcentration and/or separation. A review, *Analytica Chimica Acta* 789 (2013) 1-16.

[53] V. Stefanova, D. Georgieva, V. Kmetov, I. Roman, A. Canals, Unmodified manganese ferrite nanoparticles as a new sorbent for solid-phase extraction of trace metal-APDC complexes followed by inductively coupled plasma mass spectrometry analysis, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 27(10) (2012) 1743-1752.

[54] S. Narimani-Sabegh, E. Noroozian, Magnetic solid-phase extraction with copper ferrite nanoparticles for the separation and preconcentration of ultra-trace amounts of tellurium (IV) ion in aqueous samples, *Journal of the Iranian Chemical Society* 16(1) (2019) 73-81.

[55] N. Özdoğan, F. Kapukıran, E. Öztürk Er, S. Bakırdere, Magnetic cobalt particle-assisted solid phase extraction of tellurium prior to its determination by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrophotometry, *Environmental Monitoring and Assessment* 191(6) (2019) 339.

[56] L. Xie, R. Jiang, F. Zhu, H. Liu, G. Ouyang, Application of functionalized magnetic nanoparticles in sample preparation, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406(2) (2014) 377-399.

[57] H. Lu, A. Salabas, F. Schüth, Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application, *Angewandte Chemie* 46 (2007) 1222-1244.

[58] L. Yan, B. Deng, C. Shen, C. Long, Q. Deng, C. Tao, Selenium speciation using capillary electrophoresis coupled with modified electrothermal atomic absorption spectrometry after selective extraction with 5-sulfosalicylic acid functionalized magnetic nanoparticles, *Journal of Chromatography A* 1395 (2015) 173-179.

[59] M. He, S. Su, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic selenium and tellurium in environmental water samples by polyaniline functionalized magnetic solid phase extraction coupled with ICP-MS detection, *Talanta* 207 (2020) 120314.

[60] A. Dados, E. Kartsiouli, T. Chatzimitakos, C. Papastephanou, C.D. Stalikas, In situ trapping of As, Sb and Se hydrides on nanometer-sized ceria-coated iron oxide-silica and slurry suspension introduction to ICP-OES, *Talanta* 130 (2014) 142-147.

[61] Y. Wang, J. Xie, Y. Wu, X. Hu, C. Yang, Q. Xu, Determination of trace amounts of Se(IV) by hydride generation atomic fluorescence spectrometry after solid-phase extraction using magnetic multi-walled carbon nanotubes, *Talanta* 112 (2013) 123-128.

[62] Z.D. Firouzabadi, S. Dadfarnia, A.M. Haji Shabani, M.H. Ehrampoush, E.N. Tafti, Magnetic dispersive solid phase extraction using modified magnetic multi-walled carbon nanotubes combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of selenium, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 98(6) (2018) 555-569.

[63] H. Kalantari, M. Manoochehri, A nanocomposite consisting of MIL-101(Cr) and functionalized magnetite nanoparticles for extraction and determination of selenium(IV) and selenium(VI), *Microchimica Acta* 185(3) (2018) 196.

[64] A.N. Acikkapi, M. Tuzen, B. Hazer, A newly synthesized graft copolymer for magnetic solid phase microextraction of total selenium and its electrothermal atomic

absorption spectrometric determination in food and water samples, *Food Chemistry* 284 (2019) 1-7.

[65] B. Chen, B. Hu, M. He, Q. Huang, Y. Zhang, X. Zhang, Speciation of selenium in cells by HPLC-ICP-MS after (on-chip) magnetic solid phase extraction, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28(3) (2013) 334-343.

[66] H. Tavallali, G. Deilamy-Rad, P. Peykarimah, Preconcentration and speciation of Cr(III) and Cr(VI) in water and soil samples by spectrometric detection via use of nanosized alumina-coated magnetite solid phase, *Environmental Monitoring and Assessment* 185(9) (2013) 7723-7738.

[67] Y.W. Wu, J. Zhang, J.F. Liu, L. Chen, Z.L. Deng, M.X. Han, X.S. Wei, A.M. Yu, H.L. Zhang, Fe₃O₄@ZrO₂ nanoparticles magnetic solid phase extraction coupled with flame atomic absorption spectrometry for chromium(III) speciation in environmental and biological samples, *Applied Surface Science* 258(18) (2012) 6772-6776.

[68] N. Li, H.L. Jiang, X. Wang, X. Wang, G. Xu, B. Zhang, L. Wang, R.S. Zhao, J.M. Lin, Recent advances in graphene-based magnetic composites for magnetic solid-phase extraction, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 102 (2018) 60-74.

[69] W. Xiao, B. Yan, H. Zeng, Q. Liu, Dendrimer functionalized graphene oxide for selenium removal, *Carbon* 105 (2016) 655-664.

[70] Z. Lu, J. Yu, H. Zeng, Q. Liu, Polyamine-modified magnetic graphene oxide nanocomposite for enhanced selenium removal, *Separation and Purification Technology* 183 (2017) 249-257.

[71] M. Taghizadeh, A.A. Asgharinezhad, M. Pooladi, M. Barzin, A. Abbaszadeh, A. Tadjarodi, A novel magnetic metal organic framework nanocomposite for extraction and preconcentration of heavy metal ions, and its optimization via experimental design methodology, *Microchimica Acta* 180(11) (2013) 1073-1084.

[72] F. Chen, Z. Song, J. Nie, G. Yu, Z. Li, M. Lee, Ionic liquid-based carbon nanotube coated magnetic nanoparticles as adsorbent for the magnetic solid phase extraction of triazole fungicides from environmental water, *RSC Advances* 6(85) (2016) 81877-81885.

[73] M.-Q. Cai, J. Su, J.-Q. Hu, Q. Wang, C.-Y. Dong, S.-D. Pan, M.-C. Jin, Planar graphene oxide-based magnetic ionic liquid nanomaterial for extraction of chlorophenols from environmental water samples coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* 1459 (2016) 38-46.

[74] A. Castro-Grijalba, E.M. Reyes-Gallardo, R.G. Wuilloud, R. Lucena, S. Cárdenas, Synthesis of magnetic polymeric ionic liquid nanocomposites by the Radziszewski reaction, *RSC Advances* 7(68) (2017) 42979-42985.

[75] E.V.S. Maciel, A.L. de Toffoli, F.M. Lanças, Current status and future trends on automated multidimensional separation techniques employing sorbent-based extraction columns, *Journal of Separation Science* 42(1) (2019) 258-272.

[76] J. Růžička, E.H. Hansen, P. Chocholouš, *Flow Injection Tutorial*, 7a edición, 2019. <https://www.flowinjectiontutorial.com/index.html>. (Visitada 23/09/2020).

[77] J. Stripeikis, J. Pedro, A. Bonivardi, M. Tudino, Determination of selenite and selenate in drinking water: A fully automatic on-line separation/pre-concentration system coupled to electrothermal atomic spectrometry with permanent chemical modifiers, *Analytica Chimica Acta* 502(1) (2004) 99-105.

[78] M. Miró, S.K. Hartwell, J. Jakmunee, K. Grudpan, E.H. Hansen, Recent developments in automatic solid-phase extraction with renewable surfaces exploiting flow-based approaches, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27(9) (2008) 749-761.

[79] H. Asiabi, Y. Yamini, S. Seidi, M. Shamsayei, M. Safari, F. Rezaei, On-line electrochemically controlled in-tube solid phase microextraction of inorganic selenium followed by hydride generation atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 922 (2016) 37-47.

[80] C. Xiong, M. He, B. Hu, On-line separation and preconcentration of inorganic arsenic and selenium species in natural water samples with CTAB-modified alkyl silica microcolumn and determination by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, *Talanta* 76(4) (2008) 772-779.

1.2.3. Extracción líquido-líquido

La extracción líquido-líquido (LLE) es una de las técnicas más utilizadas para la extracción de analitos desde muestras o extractos de muestras líquidos, generalmente acuosos. Esta técnica se emplea desde principios del siglo XIX y continúa aún vigente al día de hoy, debido a la simplicidad de su instrumentación y al hecho de que permite llevar a cabo extracciones rápidas y aplicables tanto al análisis de macrocomponentes como de trazas y hasta ultra trazas. Sus aplicaciones tienen como objetivos principales la separación de un analito o de un grupo de compuestos de interés de las posibles interferencias presentes en la matriz y la preconcentración de los mismos previa a su determinación instrumental, incrementando así la sensibilidad de la misma [1]. El fundamento de la técnica LLE se basa en la diferente distribución o reparto de los constituyentes de la muestra entre dos fases inmiscibles. Cuando se utiliza una fase acuosa y una fase hidrofóbica (lo más usual en LLE), los analitos polares quedarán preferentemente en la fase acuosa y los apolares pasarán a la hidrofóbica.

En términos generales, el procedimiento experimental consiste en hacer que una muestra entre en contacto íntimo con un extractante líquido adecuado, dando lugar a la distribución del analito entre las mismas hasta alcanzar el equilibrio. Paso seguido, las fases se separan mediante algún un proceso conveniente (por ej.: decantación o centrifugación) y el analito es cuantificado en la fase extractante. La selectividad y efectividad del proceso de extracción dependen principalmente de la elección del solvente de extracción, aunque existen otros factores que pueden afectar el equilibrio, tales como el pH, la adición de un agente complejante, la utilización de un reactivo formador de pares iónicos o la modificación de la fuerza iónica por la presencia de sales en el medio de extracción [2].

En las primeras etapas de desarrollo de la técnica, los solventes orgánicos fueron la alternativa preferida por los químicos analíticos como extractantes para muestras acuosas. Sin embargo, las grandes cantidades utilizadas, sumadas a sus toxicidades y volatilidades, hicieron que la evolución de la técnica se dirigiese en primera instancia hacia la reducción en el consumo de los mismos y, en una segunda etapa, hacia su reemplazo. En esta primera etapa, los preceptos de la incipiente Química Verde abogaron por una reducción en el consumo de solventes, lo cual fue logrado mejorando el contacto entre fases con la utilización de, por ejemplo, microondas, ultrasonido o presiones elevadas [3]. En la segunda “ola verde”, el reemplazo de los solventes

tradicionales por alternativas modernas llevó al desarrollo de las variables de LLE más reconocidas en la actualidad, en las que se utilizan no más de 100 μL de fases extractantes más sustentables en términos ambientales [4].

La elección de un buen medio de extracción es justamente el parámetro más importante a definir durante el desarrollo de una metodología LLE. Los parámetros deseables en un extractante son [5]:

- i) Ser líquido en condiciones normales.
- ii) Poseer una presión de vapor baja para evitar pérdidas por evaporación.
- iii) Poseer una solubilidad despreciable en agua para evitar pérdidas por disolución durante la extracción.
- iv) Ser más denso que la muestra, de manera de simplificar su separación tras la extracción.
- v) Poseer una estructura química tal que provea un alto coeficiente de partición para el analito entre el extractante y el medio acuoso.

Estas propiedades, entre otras, son características de una de las familias de solventes modernos más estudiadas y utilizadas de la última década: los ILs.

1.2.3.1. Líquidos iónicos: solventes modernos para extracciones líquido-líquido

A partir de su descubrimiento hace más de un siglo, los ILs se han convertido en un objeto de estudio dentro de diversos campos de la química, incluyendo por supuesto a la química analítica. A partir de la definición simple propuesta por Paul Walden en 1914, los ILs son comúnmente conocidos como sales cuyo punto de fusión es inferior a 100 °C. Sin embargo, el término es más frecuentemente utilizado para hacer referencia a los ILs a temperatura ambiente, que son sales orgánicas con puntos de fusión cercanos o por debajo de la temperatura ambiente [3]. Los ILs poseen características particulares como una alta estabilidad térmica, presión de vapor despreciable, no inflamabilidad, viscosidad variable, alta conductividad eléctrica y miscibilidad con diferentes solventes. Estas se deben principalmente a la atracción electrostática que existe entre los cationes y aniones que los constituyen, así como a la capacidad de experimentar interacciones intermoleculares únicas entre sí. Además, sus propiedades pueden ser ajustadas para lograr objetivos específicos mediante la combinación de distintos aniones y cationes, haciéndolos útiles para diversas aplicaciones analíticas y

representando así una alternativa atractiva como reemplazo de los solventes orgánicos tradicionalmente utilizados en LLE [6]. Sumado a esto, el diseño de los ILs se puede también orientar hacia grupos particulares de analitos para lograr selectividades excepcionales hacia ellos. Por ejemplo, la adición de sustituyentes polares a un IL puede promover las interacciones dipolares del mismo con analitos polares, mientras que la presencia de cadenas alifáticas puede mejorar su capacidad de interacción con analitos poco polares [7]. Un resumen esquemático de la evolución temporal de los descubrimientos y aplicaciones más importantes relacionadas a los ILs se presenta en la Figura 1.2.3.1.

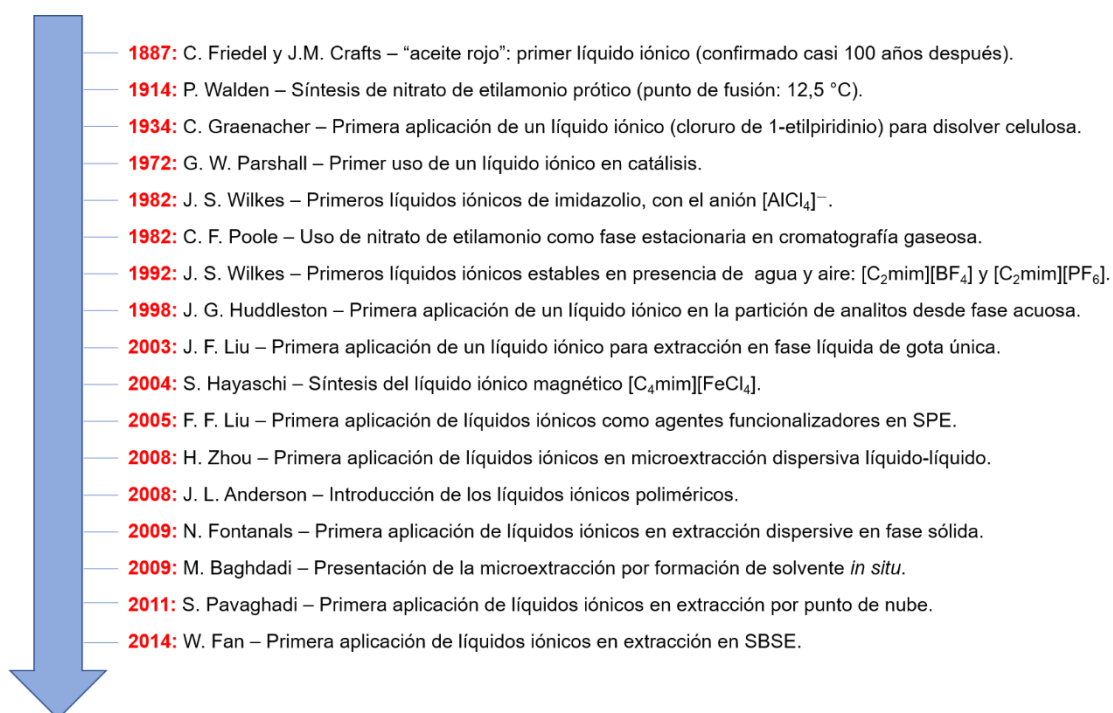


Figura 1.2.3.1. Resumen de los momentos claves en la historia de los líquidos iónicos, desde su descubrimiento hasta su aplicación en química analítica.

En términos de composición química, los ILs se encuentran generalmente compuestos por un catión orgánico voluminoso y un anión inorgánico. La asimetría entre catión y anión es la principal responsable de que estos compuestos sean líquidos a temperatura ambiente. Usualmente, el catión es de gran tamaño en comparación al anión, imposibilitando el ordenamiento cristalino tradicional y haciendo que el punto de fusión decrezca significativamente, pudiendo llegar a valores incluso por debajo de los 0 °C. Propiedades tales como la estabilidad térmica y la solubilidad en distintos solventes dependen principalmente del anión, mientras que la viscosidad, tensión superficial y densidad dependen de la estructura del catión, el largo de sus cadenas alifáticas y su simetría. Teniendo esto en consideración es que estas propiedades

pueden ser ajustadas intercambiando las características de estos iones, razón por la cual los ILs han sido denominados “solventes de diseño” y cuentan con diversas aplicaciones en métodos de extracción [8]. Habiéndose sintetizado hasta el momento más de 500 tipos de cationes y aniones con estas características, se estima que es posible formar aproximadamente 10^6 ILs binarios y hasta 10^{18} ILs ternarios, mientras que el número de solventes moleculares utilizados en la actualidad se estima alrededor de 600 [9]. En la Figura 1.2.3.2 se muestran algunos de los cationes y aniones comúnmente encontrados en ILs aplicados en química analítica y en la Tabla 1.2.3.1 se presentan algunas propiedades fisicoquímicas de ILs de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios (usualmente simplificado como “imidazolios”), una de las más estudiadas y la más utilizada en esta Tesis.

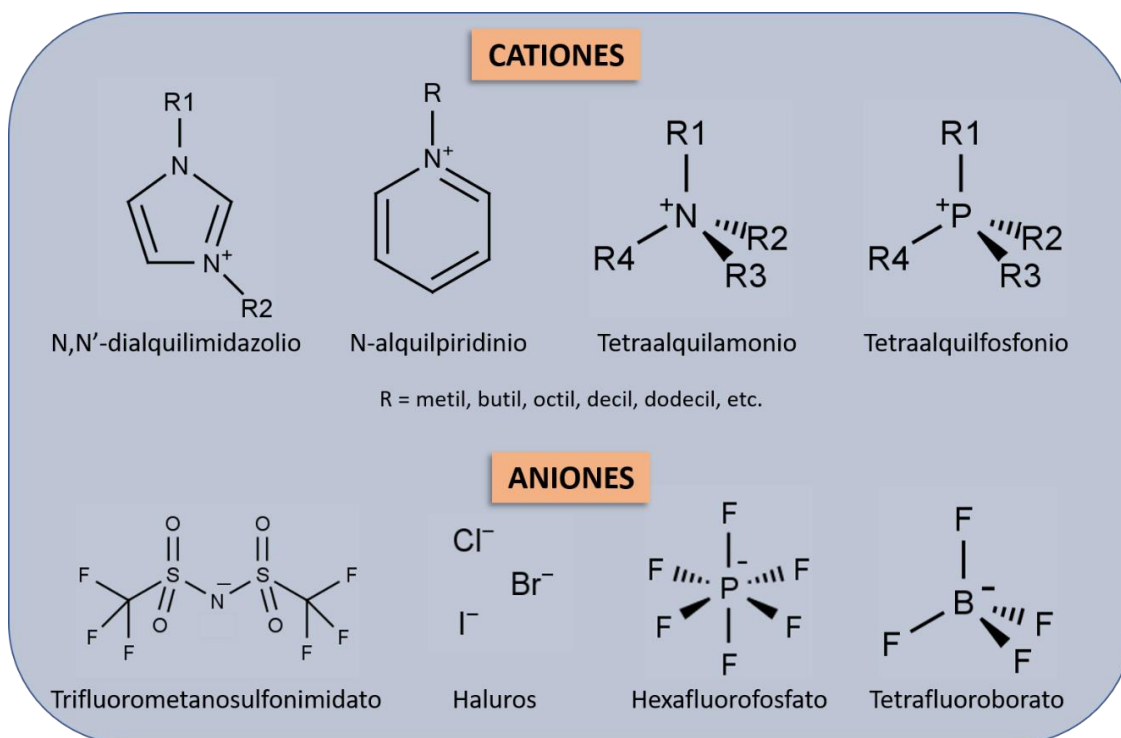


Fig. 1.2.3.2. Cationes y aniones más frecuentemente encontrados en líquidos iónicos con aplicaciones analíticas.

Las propiedades de los ILs relevantes para sus aplicaciones analíticas se pueden resumir como:

Baja presión de vapor. Las interacciones electrostáticas entre aniones y cationes en los ILs no son lo suficientemente fuertes como para propiciar la formación de pares iónicos, que podrían volatilizarse. Como consecuencia, la presión de vapor de estos compuestos es muy baja o indetectable. Esto facilita enormemente su manipulación, ya que no se evaporan aún durante procesos que requieren

calentamiento, tales como LLE asistidas por temperatura o reacciones químicas en las que actúan como catalizadores [9].

Hidrofilicidad, hidrofobicidad y solubilidad en agua. Todos los ILs descritos hasta la fecha son higroscópicos. Mientras algunos de ellos son miscibles con agua en todas proporciones, tales como el $[\text{C}_4\text{mim}]\text{Cl}$, otros se saturan con agua dando lugar a sistemas bifásicos, como es el caso de $[\text{C}_4\text{mim}][\text{PF}_6]$ y $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$. La solubilidad de los ILs depende tanto del anión como del catión y, más particularmente, de la hidrofobicidad de ambos. Al tratarse de iones, las interacciones polares con las moléculas de agua aseguran un grado de interacción significativo, que puede ser contrarrestado si alguno de los iones constituyentes (o ambos) presentan una hidrofobicidad suficiente como para favorecer la formación del par iónico insoluble. En el caso de la familia de los imidazolios, aquellos con el anión PF_6^- suelen ser insolubles en agua, mientras que los halogenuros suelen ser solubles. Sin embargo, la solubilidad decrece a medida que aumenta la longitud de la cadena carbonada del catión imidazolio, que es la que determina la solubilidad del IL cuando cuenta con más de 4 carbonos, independientemente de la identidad del anión [10].

Polaridad: Esta no es una propiedad absoluta, sino que incluye todas las posibles propiedades microscópicas responsables de las interacciones entre el IL y el analito presente en la muestra, por lo que se define en función de cada caso particular. Generalizando, la polaridad de los ILs decrece con el tamaño del anión, mientras que la presencia de grupos $-\text{OH}$ u $-\text{OR}$ puede modificar esta propiedad en un rango relativamente amplio. La escala de polaridad más utilizada al comparar ILs es la escala empírica $E_{T(30)}$. Esta está basada en la longitud de onda de absorción máxima de la transición $\pi-\pi^*$ más energética del colorante de Reinhardt, una sonda de polaridad. La escala se suele presentar de forma normalizada, obtenida asignándole un valor de 1,0 al agua y de cero al tetrametilsilano [11]. En esta escala, los ILs de la familia de los 1-alquil-3-metilimidazolios tienen valores de polaridad similares a los del etanol, reduciéndose a medida que aumenta el tamaño de la cadena alquílica. En el caso de esta familia de ILs también, la identidad del anión no tiene un efecto significativo sobre la polaridad. Una representación esquemática de esta escala de polaridad se presenta en la Figura 1.2.3.3.

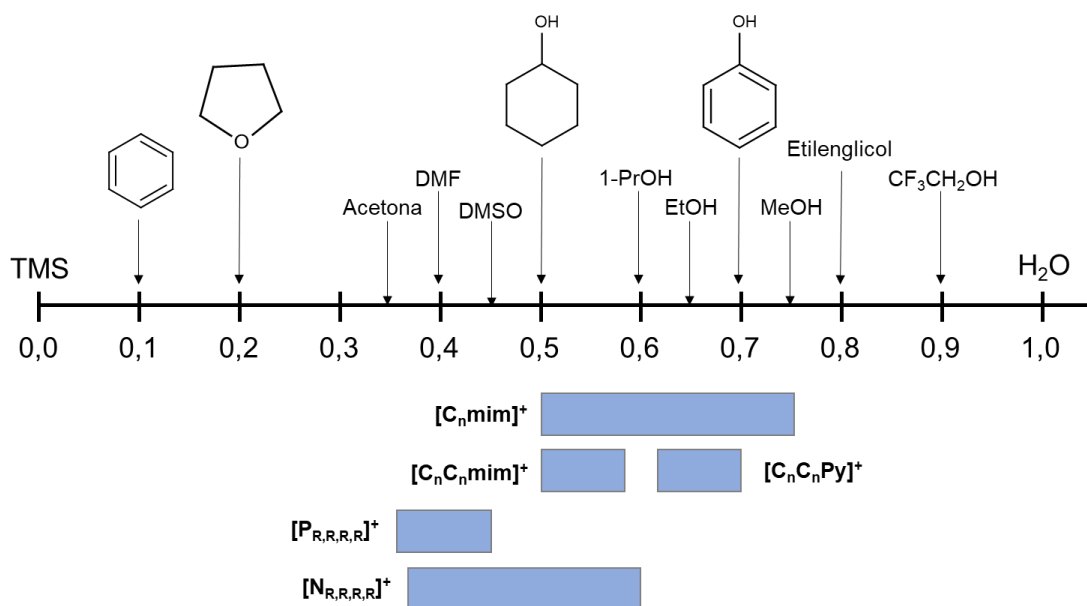


Fig. 1.2.3.3. Escala de polaridad $E_{T(30)}$ normalizada con algunos solventes orgánicos seleccionados y familias de líquidos iónicos: $[C_n\text{mim}]^+$ = 1-alkuil-3-metilimidazolio, $[C_nC_n\text{mim}]^+$ = 1,2-dialquil-3-metilimidazolio, $[C_nC_n\text{Py}]^+$ = dialquilpiridinio, $[P_{R,R,R,R}]^+$ = tetraalquilfosfonio, $[N_{R,R,R,R}]^+$ = tetraalquilamonio. Adaptado de R. Marcinkowska *et al.*, "Application of ionic liquids in microextraction techniques: Current trends and future perspectives" [3].

Estabilidad térmica: La estabilidad térmica de un IL (y de cualquier compuesto en general) está definida por la máxima temperatura a la cual este mantiene su identidad química. Su determinación experimental se suele llevar a cabo por análisis termogravimétrico y el acoplamiento de esta técnica con espectrometría de masas ha permitido el estudio de los mecanismos involucrados en la descomposición [12]. Los valores de temperatura mínima de descomposición para varias familias de ILs se encuentran en el rango entre 200 y 400 °C (ver Tabla 1.2.3.1), y dependen predominantemente de la naturaleza de los aniones, habiéndose encontrado una buena correlación entre la estabilidad térmica y la nucleofilicidad, hidrofobicidad y naturaleza coordinante de estos. Los ILs imidazólicos son generalmente más estables que los piridínicos y tetraalquilamónicos y, dentro de la familia de los imidazolios, la estabilidad térmica para los diferentes aniones disminuye en la serie: $[(CF_3SO_2)_2N^-] > [BF_4^-] > [PF_6^-] > [AsF_6^-] > [I^-] > [Cl^-] > [Br^-]$ [13].

Estabilidad química: La reactividad de los ILs es generalmente despreciable, por lo que su uso como solventes o extractantes se puede llevar a cabo sin mayores problemas. Sin embargo, su aplicación en medios altamente básicos o en presencia de metales de transición debe ser analizada con precaución.

Tabla 1.2.3.1. Propiedades fisicoquímicas de algunos líquidos iónicos de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios.

Nombre	Nombre resumido	Solubilidad en agua	Punto de fusión (°C)	T _{descomposición} (°C)	Densidad a 25 °C (g mL ⁻¹)	Viscosidad a 25 °C (cP)	Referencias
Cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio	[C ₄ mim]Cl	Miscible	74	246	1,10	-	[12]
Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio	[C ₄ mim][PF ₆]	0,016 g mL ⁻¹	-8	406	1,37	330	[14, 15]
Tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio	[C ₄ mim][BF ₄]	Miscible	-82	403	1,19	219	[16, 17]
Bis-trifluorosulfonimida de 1-butil-3-metilimidazolio	[C ₄ mim][Ntf ₂]	0,0058 g mL ⁻¹	-4	439	1,43	55	[16, 17]
Cloruro de 1-hexil-3-metilimidazolio	[C ₆ mim][PF ₆]	Miscible	-85	253	1,03	560	[16]
Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazolio	[C ₆ mim][PF ₆]	0,0071 g mL ⁻¹	-61	417	1,29	716	[15, 16]
Cloruro de 1-octil-3-metilimidazolio	[C ₈ mim]Cl	1,01 g mL ⁻¹	-82	243	1,01	337	[16, 18]
Hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazolio	[C ₈ mim][PF ₆]	0,0030 g mL ⁻¹	-70	376	1,23	682	[15, 16]
Tetrafluoroborato de 1-octil-3-metilimidazolio	[C ₈ mim][BF ₄]	0,081 g mL ⁻¹	-80	360	1,08	135	[16, 19]
Cloruro de 1-decil-3-metilimidazolio	[C ₁₀ mim]Cl	Soluble	38	195	0,99	-	[16, 20]
Hexafluorofosfato de 1-decil-3-metilimidazolio	[C ₁₀ mim][PF ₆]	Insoluble	32	414	1,04	-	[13, 16]

En estas condiciones, pueden ocurrir reacciones cuyos subproductos afectan las propiedades del IL, tales como la viscosidad, conductividad eléctrica y capacidad extractante o adsorbente. En el caso particular de los ILs de imidazolio, medios fuertemente básicos pueden inducir un ataque electrofílico por parte del anillo, especialmente si se produce la desprotonación del C2, siendo incluso posible que se produzca la apertura del anillo imidazólico. Mientras tanto, los metales de transición pueden actuar como catalizadores en reacciones de adición a enlaces del anillo o de la cadena alquílica, si los hubiere [21].

Bajo punto de fusión: Tal como se ha mencionado con anterioridad, una de las características que define a los ILs es que sus puntos de fusión se encuentran generalmente cercanos o incluso por debajo de la temperatura ambiente, llegando en algunos casos hasta $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Este es un parámetro de alta importancia, ya que define la temperatura mínima a partir de la cual un IL puede ser utilizado como extractante en LLE. El punto de fusión depende principalmente del tamaño y geometría de los iones que componen el IL. Un aumento simultáneo en el tamaño del catión y del anión resulta en una disminución del punto de fusión, mientras que un incremento en la simetría de los mismos significa un aumento en el valor de este parámetro, ya que se favorece el ordenamiento cristalino de los iones. En el caso de los ILs de la familia de los imidazolios, el incremento de longitud de la cadena alquílica del catión se traduce en una disminución del punto de fusión, debido a que el empaquetamiento de los iones se ve negativamente afectado. Sin embargo, esta tendencia se revierte cuando el número de átomos de C en la cadena es mayor a 8, ya que las interacciones hidrofóbicas entre las cadenas pasan a ser predominantes y aumentos en su tamaño se traducen en interacciones más fuertes. En lo relacionado a la carga de los iones, la tendencia general indica que el punto de fusión será mayor a medida que aumentan las interacciones de tipo enlace hidrógeno y la distribución de la carga en el catión y el anión [22]. Los puntos de fusión de algunos ILs de la familia de los imidazolios se encuentran en la Tabla 1.2.3.1.

Densidad: La mayoría de los ILs poseen densidades mayor a la del agua, llegando a valores de hasta $2,4\text{ g mL}^{-1}$ para $[(\text{CH}_3)_3\text{SBr}][\text{AlBr}_3]$, el más alto reportado hasta el momento [16]. En términos generales, la densidad de los ILs disminuye a medida que aumenta el tamaño del catión, mientras que la tendencia opuesta se observa respecto al tamaño del anión. Como ejemplo del primer caso se puede citar la densidad de algunos ILs con el anión trifluoroacetato: cuando el catión posee sustituyentes etilo y metilo en las posiciones 1 y 3, respectivamente, la densidad es

1,390 g mL⁻¹, cuando ambas cadenas son etilos la densidad es 1,330 g mL⁻¹, mientras que si las cadenas son butilo y metilo o butilo y etilo los valores son de 1,290 y 1,270 g mL⁻¹, respectivamente. Para un mismo catión, en cambio, la densidad varía en función de los aniones como: [CH₃SO₄⁻] ≈ [BF₄⁻] < [CF₃COO⁻] < [CF₃SO₃⁻] < [C₃F₇COO⁻] < [(CF₃SO₂)₂N⁻] [23]. Llamativamente, esta propiedad no es tan dependiente de la temperatura como lo es para los solventes moleculares. Las densidades de varios ILs imidazólicos pueden encontrarse en la Tabla 1.2.3.1.

Viscosidad: Como conjunto, los ILs son más viscosos que otros solventes moleculares convencionales, encontrándose sus valores de viscosidad en el rango entre 10 y 500 cP. A fines comparativos, las viscosidades del agua, etilenglicol y glicerol a temperatura ambiente son 0,89, 16,1 y 934 cP, respectivamente. De hecho, se considera que esta es una de las propiedades clave que retrasa la aplicación de los ILs en procesos industriales y analíticos en flujo, encontrándose actualmente mucho esfuerzo invertido en la búsqueda y desarrollo de ILs de baja viscosidad [24]. A diferencia de la densidad, este parámetro sí es fuertemente dependiente de la temperatura; por ejemplo, la viscosidad del [C₄mim][PF₆] aumenta en un 27% al bajar la temperatura de 20 °C a 15 °C [25]. Respecto a su relación con la estructura, se observa una fuerte dependencia con la identidad del anión, aunque sin una correlación clara con su tamaño o estructura. Se estima que propiedades como la capacidad de formar enlaces hidrógeno con el catión son determinantes sobre este parámetro. En relación con el catión, sí se observa una relación directa entre la viscosidad y su tamaño. Para la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios, por ejemplo, la viscosidad aumenta con el largo del sustituyente alquílico de la posición 1 [23].

Tensión superficial: Esta es una propiedad de importancia en procesos multifase que involucran ILs. Los valores de tensión superficial de los ILs se suelen encontrar entre los de los solventes orgánicos tradicionales (por ej. 18 mN m⁻¹ para el hexano) y el del agua (73 mN m⁻¹). Para citar algunos ejemplos, el valor de este parámetro es de 49 mN m⁻¹ para [C₄mim][PF₆], mientras que para [C₆mim][PF₆] es de 43 mN m⁻¹ y para [C₈mim][PF₆] de 37 mN m⁻¹ [16]. Si bien en estos ejemplos se puede observar la influencia del catión, cuyo tamaño es inversamente proporcional a la tensión superficial, la identidad del anión es la que más efecto tiene, siguiéndose también la relación inversamente proporcional con el tamaño [3].

Toxicidad: Si bien la disponibilidad de datos no es aún suficiente para derivar conclusiones del todo confiables, la baja volatilidad de los ILs es considerada una característica clave respecto a su toxicidad, ya que elimina a la inhalación como vía de

exposición, siendo el contacto con la piel y la ingesta prácticamente las únicas vías posibles. Es importante destacar que los resultados de diversos estudios apuntan a que la toxicidad de algunos ILs no es despreciable, pudiendo incluso llegar a ser tan tóxicos como los solventes orgánicos convencionales, aunque estos últimos poseen la desventaja adicional de ser altamente volátiles. En los últimos años, la búsqueda de alternativas de baja toxicidad ha llevado al nacimiento de la familia de los “ILs naturales”. En estos, los cationes sintéticos cuaternarios (amonio, fosfato, piridinio, etc.) son reemplazados por cationes de fuentes naturales como el catión colinio, mientras que los aniones fluorados (PF_6^- o BF_4^-) son sustituidos por aminoácidos o carboxilatos orgánicos [26].

Propiedades electroquímicas: Los ILs presentan una serie de características que los hace buenos candidatos como solventes en procesos electroquímicos. Entre estas, se destaca que por lo general son buenos conductores eléctricos, poseen buenas propiedades de transporte, pueden interactuar con diversos analitos orgánicos o inorgánicos y tienen buenas ventanas electroquímicas y amplios rangos líquidos [23].

1.2.3.2. Técnicas de extracción líquido-líquido con líquidos iónicos

Los extractantes orgánicos tradicionalmente utilizados en LLE han sido relativamente pocos, por lo que se presentaban limitaciones en términos de las muestras sobre las cuales podían ser aplicados. Adicionalmente, la volatilidad de muchos de ellos significaba no solo un efecto negativo sobre el ambiente, sino también complicaciones en términos de su recuperación a partir de una mezcla de extracción o de la retroextracción de los analitos. El uso de ILs como extractantes ha surgido como una potencial solución a estos inconvenientes, ya que las propiedades fisicoquímicas de los mismos los hacen apropiados como extractantes desde fases líquidas. Teniendo en cuenta las propiedades discutidas anteriormente -especialmente la amplia variedad de interacciones en las que pueden participar con distintos analitos-, no es sorprendente que los ILs hayan surgido como alternativas a los solventes orgánicos tradicionales en LLE, dando lugar a métodos selectivos, eficientes y limpios. Aunque su viscosidad y costo más elevados que los solventes clásicos puedan ser considerados como desventajas, la posibilidad de llevar a cabo procesos en microescala haciendo uso de todas las capacidades extractantes de los ILs hace que estas limitaciones se vean marginalizadas [3]. Las microextracciones en fase líquida (LPME) con ILs han sido ampliamente estudiadas en los últimos años, a partir del reporte inicial de la partición

favorable de derivados del benceno desde un medio acuoso utilizando [C₄mim][PF₆] [27]. Desde ese entonces, se han reportado aplicaciones para analitos en todo tipo de matrices, incluyendo extracciones de contaminantes orgánicos [28], especies elementales [29], compuestos de interés biológico [30] e incluso radionucleidos [31]. A partir de ejemplos como estos, queda revelada la gran capacidad de los ILs para interaccionar con diversos analitos a través de varios mecanismos (electrostático, enlace hidrógeno, apilamiento π - π , etc.). Adicionalmente, estas interacciones pueden ser ajustadas mediante cambios en la identidad o estructura del catión o anión involucrado, permitiendo una selectividad aún mayor en comparación con los solventes clásicos [32].

A continuación, se describen algunos métodos analíticos LLE basados en el empleo de ILs como extractantes, incluyendo aplicaciones para la preconcentración y/o análisis de especiación de Se y Te. Algunos de los más relevantes que involucran a estos elementos se encuentran resumidos en la Tabla 1.2.3.2.

1.2.3.2.1. Microextracción líquido-líquido dispersiva clásica

La microextracción dispersiva líquido-líquido (DLLME) en su versión clásica se basa en la mezcla de una muestra acuosa con algunos microlitros de extractante hidrofóbico, debiéndose agregar también un solvente dispersante que sea soluble tanto en la muestra como en el extractante. Esto facilita la formación de microgotas, aumentando la superficie efectiva de contacto y la cinética de transferencia de masa desde la muestra hacia el extractante. La mezcla se agita como consecuencia de la inyección vigorosa del extractante o de forma manual y, tras un tiempo de equilibración, las microgotas con el analito extraído se separan de la matriz por decantación o centrifugación. Los primeros desarrollos de DLLME fueron rápidamente criticados y poco aplicados, ya que utilizaban principalmente solventes clorados. Estos permitían una buena extracción de analitos poco polares, contaban con una densidad mayor a la del agua -facilitando su separación por centrifugación- y eran insolubles en ella, pero presentaban un alto impacto ambiental. Si bien existieron intentos de reemplazarlos con alcoholes de cadena larga e hidrocarburos, la densidad menor a la del agua de estos generaba problemas en la separación de las fases, que requería de dispositivos específicos para aislar los bajos volúmenes utilizados desde la superficie de la fase líquida [33].

Dado que la densidad de la mayoría de los ILs es mayor a la del agua (Tabla 1.2.3.1), su surgimiento los ubicó como una buena alternativa al uso de solventes clorados en DLLME. Desde su primer uso, que dio lugar al nacimiento de la DLLME asistida por IL (IL-DLLME), el crecimiento en sus aplicaciones para este tipo de técnicas ha ido en franco aumento. Por lo general, los ILs utilizados en estas metodologías son aquellos con aniones PF_6^- y bis(trifluorometilsulfonyl)imida (Ntf_2^-), que son mayoritariamente insolubles en agua. Aun así, un paso de dilución con solvente orgánico es frecuentemente necesario para facilitar la determinación instrumental una vez preconcentrado el analito, ya que la alta viscosidad del IL dificulta su manipulación. Una representación esquemática de la IL-DLLME se presenta en la Figura 1.2.3.4. Uno de los primeros reportes haciendo uso de esta metodología fue realizado por Liu y colaboradores, quienes en 2009 lograron extraer cuatro insecticidas desde muestras acuosas utilizando 52 mg de $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ y 0,5 mL de metanol como dispersante desde 5,0 mL de muestra. La fase extractante en este caso se separó por centrifugación y los analitos fueron separados y determinados por HPLC con detección UV-Vis con arreglo de diodos [34].

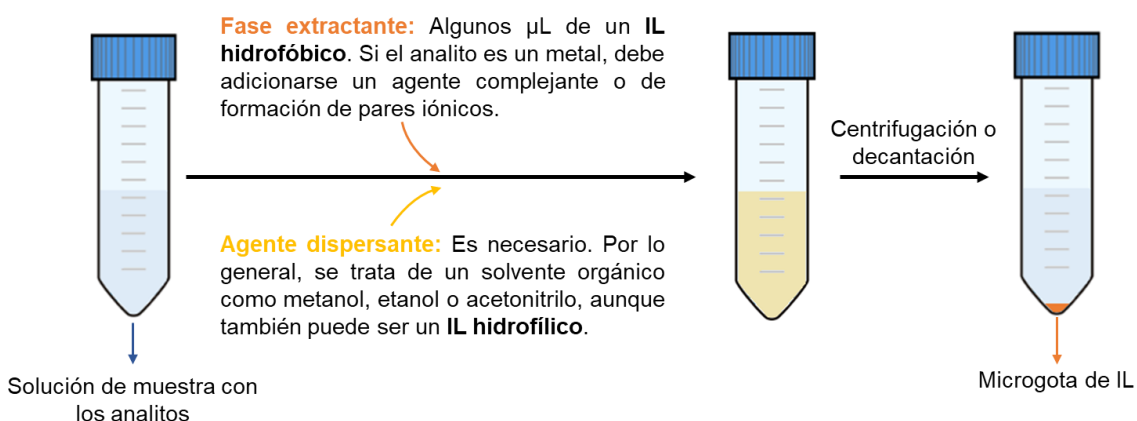


Fig. 1.2.3.4. Representación esquemática de la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva clásica asistida por líquido iónico.

La técnica IL-DLLME convencional se ha utilizado también para análisis de especiación elemental, principalmente en muestras acuosas. En estos casos suele ser necesario un agente complejante para la derivatización de las especies elementales, disminuyendo así su polaridad y permitiendo la extracción con el IL apolar. En términos de la cuantificación, técnicas espectroscópicas inherentemente elementales, tales como la AAS electrotérmica (ETAAS), AAS por llama (FAAS) o ICP-MS son las preferidas, teniendo en cuenta algunas consideraciones especiales para analizar la fase rica en IL. Con ETAAS, por ejemplo, se ha demostrado la posibilidad de inyectar la fase de IL en

el horno de grafito para la determinación de los analitos allí presentes de manera directa, sin digestión ni dilución previa. Para ello, se debe adecuar la determinación a la presencia del IL, siendo necesario optimizar parámetros tales como la cantidad máxima de IL, el tipo y cantidad de modificador/es de matriz y el tratamiento térmico y/o químico dentro del mismo horno de grafito. Todo esto es necesario para lograr la descomposición progresiva de la matriz, minimizando su efecto en la subsecuente cuantificación del analito. Estudios de este tipo han sido llevado a cabo en el grupo en el que se desarrolló la presente Tesis Doctoral con anterioridad, en lo que refiere a la determinación de vanadio en una fase de IL, llevándose a cabo una digestión *in situ* de la matriz en el horno de grafito con peróxido de hidrógeno como oxidante y aplicando un programa de temperatura especialmente diseñado para pirolizar esta fase sin afectar la sensibilidad de la determinación [35].

La técnica IL-DLLME ha sido aplicada para el análisis de especies de Se en distintas matrices. Por ejemplo, se ha desarrollado una metodología en línea para la extracción de especies inorgánicas de Se en muestras de aguas y de ajos utilizando cloruro de trihexil(tetradecil)fosfonio (CYPHOS® IL 101) como extractante del analito complejoado con pirrolidinditiocarbamato de amonio (APDC) y Triton X-114 como dispersante. La mezcla de estos reactivos con la muestra acondicionada se llevó a cabo en un sistema en flujo y la retención del IL se logró utilizando una columna rellena con Florisil®, para luego ser eluido con metanol acidificado y determinado por ETAAS. La estrategia de especiación en este caso se basó en la selectividad del agente complejante APDC para con la especie Se(IV), lo que permitió su cuantificación selectiva y la determinación de Se(VI) por diferencia tras un paso de pre reducción para la determinación de Se inorgánico total [36]. Otras aplicaciones de la técnica para Se se encuentran resumidas en la Tabla 1.2.3.2.

Si bien la IL-DLLME convencional involucra un sistema ternario en el cual un IL hidrofóbico es acompañado por un agente dispersante, variantes al proceso han sido investigadas de manera de evitar la utilización de este último, que suele ser un solvente orgánico. Por ejemplo, la utilización de un segundo IL hidrofílico como agente dispersante limita el uso de solventes orgánicos únicamente al paso de dilución de la fase extractante previo a la determinación instrumental. En el que constituye el primer reporte de esta variable, una mezcla de 50 μL de $[\text{C}_8\text{mim}][\text{PF}_6]$ como extractante y 300 μL de $[\text{C}_4\text{mim}][\text{BF}_4]$ como dispersante fue utilizada para la extracción de triclosán y triclocarbán (dos bactericidas) desde varias muestras de agua.

Tabla 1.2.3.2. Métodos de microextracción líquido-líquido con líquidos iónicos para preconcentración de especies de Se y Te.

Modo	Líquido iónico	Detección	Muestras	LOD	EF	Ref.
DLLME en línea	[P _{6,6,6,14}]Cl	ETAAS	Agua y ajos	15 ng L ⁻¹ Se(IV)	20	[36]
DLLME	[C ₁₂ mim][NTf ₂]	ETAAS	Aceites comestibles	0,03 ng g ⁻¹ Se	140	[37]
DLLME	[C ₄ mim][PF ₆]	HPLC-UV-Vis	Aguas y suplementos dietarios	0,183 µg L ⁻¹ Se	190	[38]
UA-IL-DLLME	[C ₆ mim][NTf ₂]	ETAAS	Agua mineral, té helado y bebidas carbonatadas	12 ng L ⁻¹ Se(IV)	150	[39]
UA-IL-DLLME	Aliquat-336	ICP-OES	Aguas	0,42 ng L ⁻¹ Te	850	[40]
VA-IL-DLLME indirecta	[C ₆ mim][PF ₆]	UV-Vis	Alimentos diversos	0,098 µg L ⁻¹ Se	140	[41]
VA-IL-DLLME	[P _{6,6,6,14}][C ₁₀ H ₁₉ O ₂]	ETAAS	Ajo, cebolla, puerro, brócoli y coliflor	5,0 ng L ⁻¹ Se(IV)	90	[42]
TA-IL-DLLME	[C ₄ mim][PF ₆]	UV-Vis	Aguas y arroz	1,5 µg L ⁻¹ Se(IV)	-	[43]
M-LPME	[C ₄ mim][FeCl ₄]	ETAAS	Arroz	18 ng L ⁻¹ Se(IV) 22 ng L ⁻¹ Se(VI)	99	[44]

UA: Asistida por ultrasonido. **VA:** Asistida por vórtex. **TA:** Asistida por temperatura. **M-LPE:** Extracción en fase líquida magnética.

En este caso, se lograron LODs de $0,23 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,35 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, utilizándose únicamente $50 \mu\text{L}$ de metanol como solvente para la dilución de la fase extractante previo a la separación y cuantificación por HPLC con detección por espectrometría de masas en tándem con electrospray [45].

La técnica IL-DLLME clásica se considera la más simple, ya que no requiere de ningún paso extra y la complejidad de instrumentación que requiere es baja. Sin embargo, la búsqueda de sustentabilidad en los métodos ha llevado al desarrollo de técnicas que eliminan o al menos reducen el uso de solventes dañinos para el ambiente, involucrando pasos de agitación mecánica o el uso de temperatura para evitar la utilización del agente dispersante. Algunas de esas técnicas se discuten a continuación.

1.2.3.2.2. Microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por agitación mecánica

Esta modalidad de IL-DLLME utiliza ultrasonido, vórtex, microondas o cualquier otro método energético para facilitar la dispersión del IL hidrofóbico en la solución acuosa, asegurando la formación de las microgotas que propician la extracción del analito. La aplicación de agitación mecánica se encuentra inherentemente asociada a un aumento de temperatura de la mezcla, lo cual no suele ser problemático dada la estabilidad térmica de los ILs. Si bien esta variante cuenta con la ventaja de acelerar el proceso (las extracciones no suelen demorar más de siete minutos, exceptuando un eventual paso de enfriamiento), en algunos casos la presencia de un agente dispersante no deja de ser necesaria, sea este un solvente orgánico, un surfactante o un IL hidrofílico [46]. Una representación esquemática de la técnica se presenta en la Figura 1.2.3.5.

De las diferentes modalidades, la IL-DLLME asistida por ultrasonido (UA-IL-DLLME) fue la primera reportada y es actualmente la más utilizada para la determinación de compuestos orgánicos y de metales [47]. Aplicaciones de esta han sido desarrolladas tanto para Se como para Te. En el caso del primero, $100 \mu\text{L}$ de $[\text{C}_6\text{mim}][\text{Ntf}_2]$ sin la necesidad de un agente dispersante fueron utilizados para la extracción de Se(IV) complejoado con 1-feniltiosemicarbazida desde 10 mL de muestras de agua mineral, té helado y bebidas carbonatadas, con un paso de extracción de 10 minutos en un baño ultrasónico y posterior cuantificación por ETAAS [39]. En el caso del Te, se utilizó Aliquat-336 con hexano como dispersante, siendo suficientes 5 minutos para extraer la totalidad del analito desde 15 mL de muestra. La determinación instrumental se llevó a cabo por ICP-OES en este caso [40].

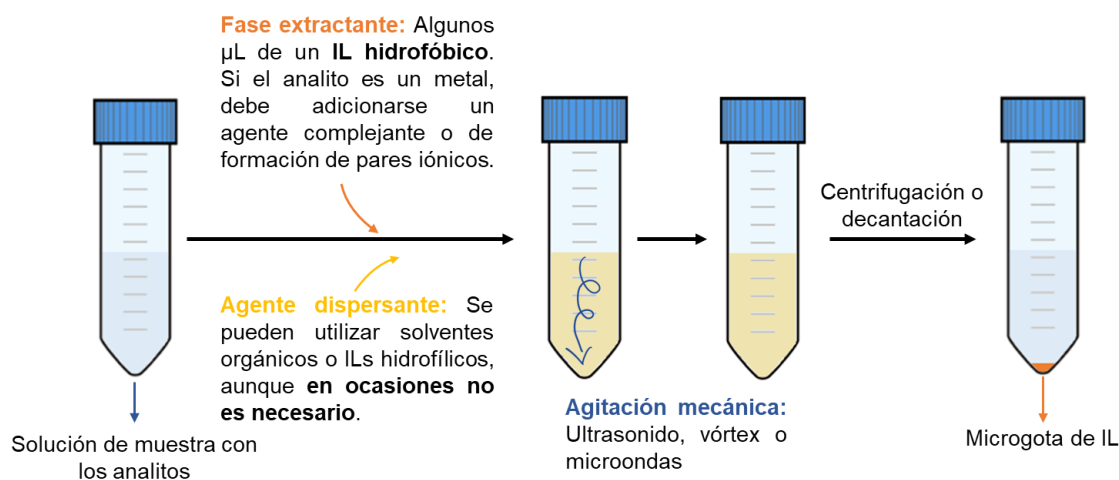


Fig. 1.2.3.5. Representación esquemática de la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por líquidos iónicos y agitación mecánica.

El uso de agitación vórtex (VA-IL-DLLME) ha sido también ampliamente adoptado, siendo su aplicación más reciente que la del ultrasonido [48]. Se ha desarrollado hasta la fecha una única aplicación para la cuantificación de Se(IV) de manera indirecta en alimentos por VA-IL-DLLME. El proceso se basó en la reacción del analito con yoduro para dar I_3^- como producto. A este, a la vez, se lo hizo reaccionar con cristal violeta para formar un complejo de transferencia de carga que fue extraído con $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ desde 15 mL de muestra con 1 minuto de agitación por vórtex y posteriormente cuantificado por espectroscopía UV-Vis [41].

El uso de microondas ha sido mucho menos extendido que el del ultrasonido y el vórtex, habiendo sido la primera metodología que lo involucra publicada en 2011 [49]. Una de las ventajas que presenta esta alternativa es la posibilidad de llevar a cabo reacciones durante el proceso de extracción aprovechando la irradiación de la muestra con alta energía. Esto ha sido realizado por el mismo grupo que desarrolló la técnica inicialmente, para la extracción y derivatización con una sonda fluorescente simultáneas de antibióticos de la familia de sulfonamidas utilizando $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$. De esta manera, el extracto pudo ser analizado de manera directa tras la separación por HPLC acoplada a detección por fluorescencia [50].

1.2.3.2.3. Microextracción líquido-líquido asistida por temperatura

La IL-DLLME asistida por temperatura (TA-IL-DLLME) requiere del calentamiento de la solución que contiene a los analitos y al IL hidrofóbico para lograr la

adecuada formación de las microgotas. Esto se basa en el hecho de que la solubilidad de los ILs aumenta con la temperatura, por lo que el calentamiento favorece su disolución en la muestra acuosa. A continuación, el enfriamiento de la mezcla induce a la separación de fases, durante la cual se da la formación de microgotas emergentes del extractante, produciéndose así una extracción rápida y eficiente de analitos poco polares sin la necesidad de un agente dispersante. Sin embargo, en algunos casos con muestras sensibles al calentamiento o con analitos volátiles, se ha utilizado un agente dispersante (metanol, etanol, acetonitrilo o acetona). Cuando es así, la dispersión del IL se da sin la necesidad de temperaturas mayores a los 35 °C y la posterior separación se logra por enfriamiento de la muestra por debajo de la temperatura ambiente, minimizando así el calentamiento. Esta variable es llamada microextracción por agregación inducida por enfriamiento (CIAME). Cualquiera sea el caso, la fase extractante es luego separada por decantación, filtración o centrifugación para la posterior cuantificación instrumental [46]. Una representación gráfica del desarrollo experimental de la técnica se presenta en la Figura 1.2.3.6.

Las temperaturas de extracción usuales en la TA-IL-DLLME sin dispersante suelen estar en el rango de 50 °C – 90 °C, ya que por debajo de esto no se logra una adecuada dispersión del IL y, por encima, la evaporación de la fase acuosa es significativa. La estabilidad térmica como característica determinante de los ILs juega un papel fundamental en esta técnica, ya que se requiere de la integridad química del extractante para lograr su cometido. Cualquiera sea el caso, el paso determinante de la rapidez del método es el de enfriamiento, por lo que el tiempo requerido para esto es usualmente reportado como el tiempo de extracción. Es importante reconocer que el tiempo de extracción es notablemente menor cuando se utilizan solventes orgánicos miscibles con agua como agentes dispersantes, ya que los cambios de temperatura necesarios no son tan elevados como cuando estos no se utilizan. De cualquier manera, tiempos de extracción de más de 30 minutos son raramente necesarios en cualquiera de las dos variantes de la TA-IL-DLLME [51].

El primer reporte de esta metodología para determinación de compuestos orgánicos fue dado a conocer por Zhou y colaboradores, mientras que Baghdadi y Shemirani hicieron lo propio para la determinación de metales [52, 53]. La principal diferencia entre estos, aparte de la ya mencionada necesidad de un agente complejante para la extracción de metales, vino dada por el uso de un agente dispersante en el trabajo de Baghdadi y Shemirani. En este último caso, se utilizó Triton X-114 como dispersante y calentamiento a 35 °C, mientras que en el trabajo de Zhou no se utilizó un

dispersante, pero se debió calentar la mezcla a 80 °C para la adecuada extracción de los analitos. La TA-IL-DLLME ha sido llevada a cabo principalmente con ILs de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios con el anión PF_6^- . Por ejemplo, el IL $[\text{C}_4\text{mim}][\text{PF}_6]$ ha sido utilizado en un desarrollo basado en TA-IL-DLLME para la microextracción de Se(IV) desde muestras de agua y de arroz. En este caso se utilizó ditizona como complejante selectivo de la especie tetravalente de Se y se requirió de un paso de calentamiento de 4 min a 50 °C para la completa disolución del IL. A continuación, un paso de enfriamiento de 4 min en un baño de hielo favoreció la separación de las fases, que fueron finalmente separadas por centrifugación. Tras esto, la fase extractante se disolvió en 1 mL de etanol y la determinación del complejo con el analito se llevó a cabo por espectroscopía UV-Vis [43]. Más información sobre este y otros desarrollos se puede encontrar en la Tabla 1.2.3.2.

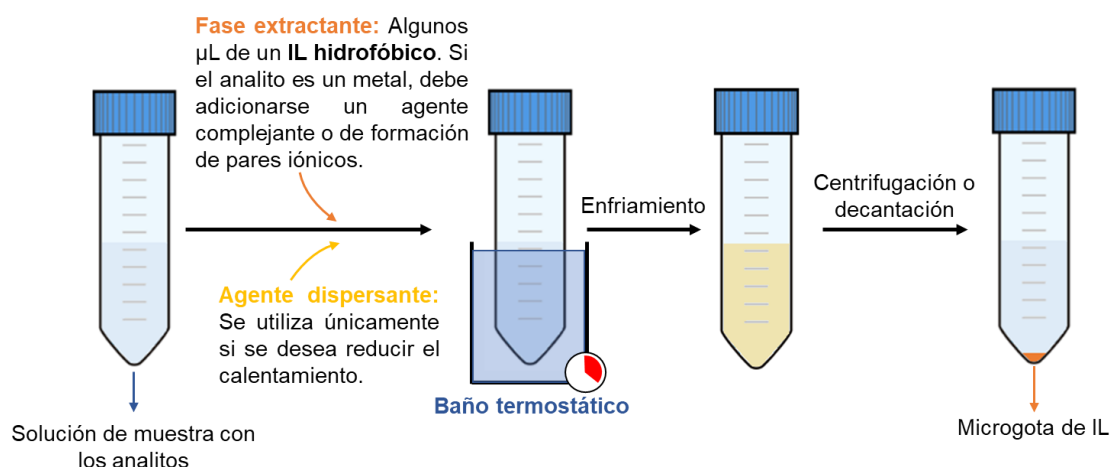


Fig. 1.2.3.6. Representación esquemática de la técnica de microextracción líquido-líquido con líquidos iónicos asistida por temperatura.

1.2.3.2.4. Extracción en punto de nube

La extracción en punto de nube (CPE) se basa en la utilización de un tensoactivo no iónico, cuyas micelas actúan como extractantes. Estas micelas se obtienen cuando las moléculas del tensoactivo se agregan con sus colas orientadas hacia el centro de la estructura supramolecular, formando un núcleo apolar, y sus cabezas polares se orientan hacia la fase acuosa exterior. Este proceso se puede inducir a través de diversos modos, siendo el más común el aumento de la temperatura de la solución hasta alcanzar la llamada “temperatura de punto de nube”, donde la agregación micelar llega a un punto crítico y se produce la separación de la fase rica en tensoactivo. Es justamente durante esta separación de fases cuando se produce la extracción de los

analitos poco polares presentes en la solución. Esta se ve favorecida por las micelas emergentes que, al agregarse y separarse de la fase acuosa, presentan una alta relación superficie-volumen que favorece la transferencia de los analitos hacia su interior [54]. La CPE es considerada una técnica sustentable en términos ambientales, ya que no requiere el uso de solventes peligrosos, que son reemplazados por volúmenes bajos de tensoactivos poco tóxicos. Adicionalmente, la CPE presenta la ventaja de ser una técnica muy versátil en términos del uso de aditivos -ILs, por ejemplo- para mejorar la eficiencia y selectividad de la extracción. Una representación esquemática del desarrollo experimental de la técnica se presenta en la Figura 1.2.3.7.

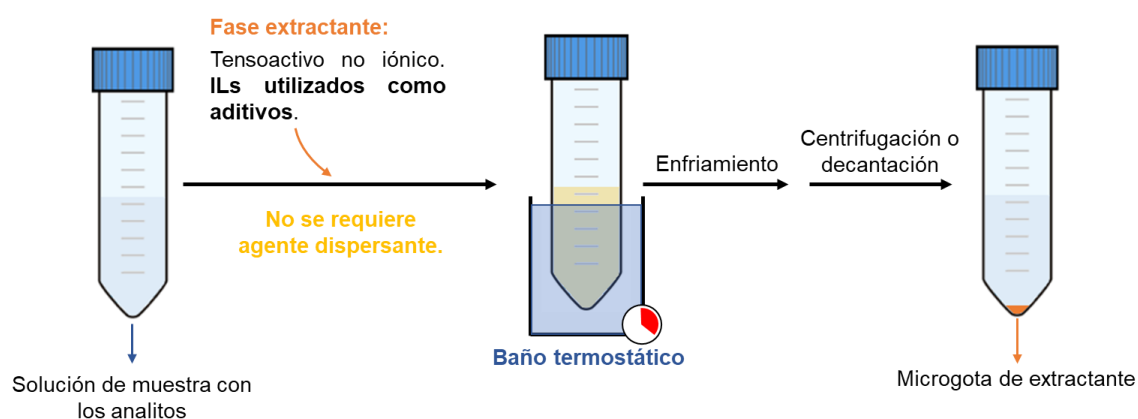


Fig. 1.2.3.7. Representación esquemática de la técnica de extracción en punto de nube.

Si bien las propiedades de algunos ILs como tensoactivos son conocidas - especialmente para aquellos que cuentan con cadenas alquílicas de más de 12 átomos de carbono-, sus aplicaciones directas en CPE no han sido posibles hasta la fecha. Esto se debe a que sus temperaturas de punto de nube son superiores a los 90 °C, haciendo imposible su aplicación en muestras acuosas [55]. Sin embargo, su uso en conjunto con tensoactivos no iónicos representa una alternativa para mejorar las extracciones CPE sin recaer en el uso de solventes o aditivos potencialmente dañinos para el medio ambiente o la salud. Aunque al momento de realización de la presente Tesis Doctoral no se habían reportado usos de estos sistemas para el análisis de especies de Se o de Te, diversas aplicaciones con otros analitos se encontraban disponibles en la literatura. Por ejemplo, la mezcla de Triton X-114 con $[C_4mim][PF_6]$ ha sido utilizada para la determinación de Cd(II) complejoado con 8-hidroxiquinolina y la combinación de Triton X-110 con tetrafluoroborato de tetraetilamonio ($[N_{2,2,2,2}][BF_4]$) ha sido aplicada para la extracción del colorante *coralene red* [56, 57].

1.2.3.2.5. Microextracción por formación de líquido iónico *in situ*

La microextracción por formación de IL *in situ* (IL-ISFME) es otra alternativa de IL-DLLME desarrollada para evitar el uso de solventes dispersantes, de uso especialmente útil en muestras con alto contenido salino. Esta se basa en la flexibilidad característica de los ILs para modificar sus propiedades químicas mediante modificaciones en su composición y estructura. La técnica IL-ISFME consiste en el uso de un IL soluble en agua como extractante de los analitos disueltos en una muestra acuosa. Una vez mezclados el IL y la muestra, un reactivo de intercambio iónico se adiciona para dar lugar a una reacción de metátesis, en la cual el IL hidrofílico se convierte en un IL hidrofóbico que se separa de la fase acuosa, atrapando en el proceso a los analitos de baja polaridad. Al igual que en metodologías expuestas previamente, la gran relación área-volumen de las microgotas emergentes es la responsable de la alta eficiencia y rapidez de extracción. El agente de intercambio iónico se suele agregar en una relación equimolar respecto al IL hidrofílico y no es necesario adicionar un solvente que favorezca la dispersión [58]. Una representación esquemática gráfica de la técnica se presenta a en la Figura 1.2.3.8.

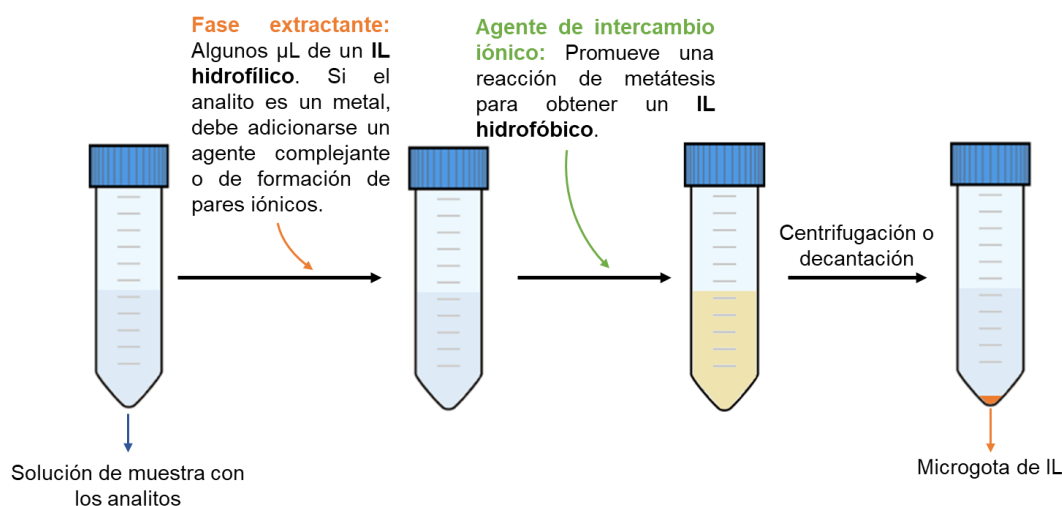


Fig. 1.2.3.8. Representación esquemática de la técnica de microextracción por formación de líquido iónico *in situ*.

La primera publicación que hace referencia a la técnica IL-ISFME data del año 2009 e incluyó el uso de $[\text{C}_6\text{mim}][\text{BF}_4]$ como IL soluble en agua y de NaPF_6 como agente de intercambio iónico, formándose $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ insoluble directamente en la muestra. En este caso, el analito objetivo fue el $\text{Hg}(\text{II})$, que se extrajo complejoado con 4,4'-

bis(dimetilamino)tiobenzofenona, siendo la absorbancia en el rango visible del complejo resultante utilizada para la posterior cuantificación espectrofotométrica [59]. A pesar de haber sido aplicada para la preconcentración de diversos analitos, a la fecha de redacción de la presente tesis no se encuentran reportes bibliográficos de la aplicación de la técnica IL-ISFME para la determinación de Se y/o Te.

1.2.3.2.6. Microextracción con gota única

La microextracción con gota única (SDME) se basa en el uso de una microgota de solvente como extractante. Esta gota se genera utilizando una microjeringa y se coloca en contacto con la muestra durante un período de tiempo dado para favorecer la difusión de los analitos hacia ella. La técnica se desarrolló originalmente en el año 1995 como técnica de extracción de compuestos volátiles para su posterior separación y cuantificación por cromatografía gaseosa (CG) y desde ese entonces ha evolucionado en lo que respecta a sus diferentes aplicaciones y solventes utilizados [60]. La SDME es raramente un proceso exhaustivo, ya que el prolongado tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de transferencia de masa la convertiría en una técnica poco práctica. Sin embargo, con una adecuada optimización y control del tiempo de extracción, se hace posible lograr una buena repetibilidad en sus aplicaciones. Aún así, es importante destacar que los periodos usualmente necesarios para lograr buenas extracciones la hacen una técnica más lenta que las alternativas dispersivas. Sin embargo, su fortaleza se cimenta sobre la posibilidad de alcanzar altos factores de preconcentración debido a la gran relación entre el volumen de muestra y el volumen de gota, que raramente supera los 10 μL .

La elección del solvente es especialmente importante en esta técnica, ya que determina no solo la capacidad de extracción de los analitos de interés, sino también la eliminación de interferencias [61]. Existen dos modos de SDME: bifásico y trifásico. En el bifásico (también llamado de inmersión directa), la gota es suspendida en el extremo de la microjeringa (que permite un buen control del volumen de la misma) y situada dentro de una muestra líquida bajo agitación, dando lugar a la transferencia directa de los analitos desde la matriz hacia la gota. En el modo trifásico (también llamado de espacio cabeza), el extremo de la jeringa con la gota se coloca por encima de la muestra en un recipiente sellado, por lo que los analitos deben difundir primero desde la muestra hacia el espacio cabeza y luego desde este hacia la microgota, haciéndola especialmente útil para compuestos volátiles. Una descripción gráfica de ambas modalidades de la técnica se puede observar en la Figura 1.2.3.9.

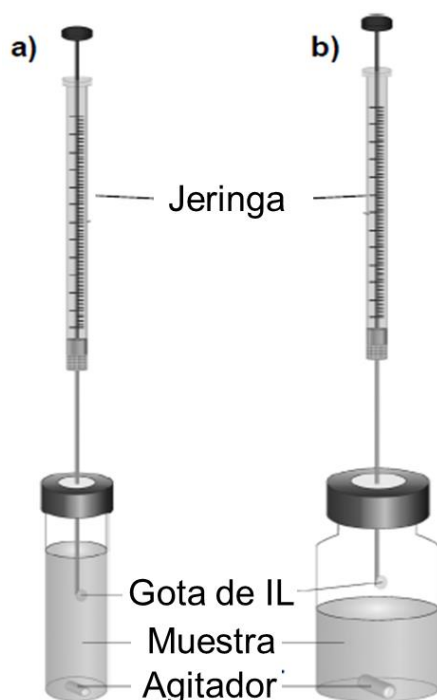


Fig. 1.2.3.9. Representación esquemática de la técnica de microextracción con gota única de líquido iónico en modalidad: a) Bifásica (o de inmersión directa) y b) Trifásica (o de espacio cabeza).

Al igual que con el resto de las variantes de la técnica LLE, los primeros desarrollos de la técnica SDME involucraron el uso de solventes orgánicos volátiles como extractantes y no fue sino hasta el año 2003 que los ILs fueron aplicados en esta metodología. En este primer caso, el IL $[C_8mim][PF_6]$ fue aplicado para la extracción de hidrocarburos policíclicos aromáticos tanto en modo bi- como trifásico. Los resultados obtenidos demostraron que, para la mayoría de los analitos, el modo de inmersión directa permitía lograr mayores factores de refuerzo de la sensibilidad, aunque para el naftaleno, el más volátil, el modo de espacio cabeza resultó más eficiente [62]. La alta estabilidad térmica de los ILs y su baja presión de vapor los han convertido a partir de este desarrollo en excelentes alternativas para SDME, ya que aseguran que el volumen de gota se mantenga constante durante las extracciones, incluso cuando se requieren tiempos prolongados y altas temperaturas. La estabilidad térmica es también importante en relación con el acoplamiento de la SDME con métodos de detección como CG, en los que se requiere la desorción térmica de los analitos. Adicionalmente, la viscosidad y tensión superficial usualmente altas y ajustables los hace ideales para la obtención de gotas estables de tamaño variable, especialmente importantes para extracciones en medios con agitación vigorosa [3].

Sin embargo, a pesar de los méritos que exhibe la SDME, existen algunas limitaciones inherentes a la metodología, especialmente relacionadas con la baja superficie de contacto entre la fase extractante y la muestra y la dificultad de lograr gotas estables (algo parcialmente solucionado con el uso de ILs), que han impedido su aplicación generalizada. De hecho, no se han reportado trabajos involucrando la técnica SDME con ILs para Se y/o Te al momento de la redacción de la presente Tesis Doctoral.

1.2.3.2.7. Microextracción en fase líquida con fibra hueca

Una alternativa para superar los problemas mencionados con la técnica SDME surgió a partir de la utilización de una fibra hueca que otorga protección mecánica a la gota en el extremo de la microjeringa, dando lugar a la denominada microextracción en fase líquida con fibra hueca (HF-LPME). En este método el solvente queda atrapado en los poros de la fibra por capilaridad -usualmente se utiliza polipropileno como material-, siendo la superficie efectiva del mismo significativamente mayor que en SDME. La fibra con el solvente es sumergida en la muestra o expuesta al espacio cabeza de la misma para la extracción, para luego ponerla en contacto con un segundo solvente y eluir así los analitos. Dado el bajo costo de la fibra y el mínimo volumen de solvente utilizado, las fibras se pueden descartar tras las mediciones, asegurando un soporte y un medio fresco para cada determinación [63]. Una descripción gráfica de los pasos a seguir durante la aplicación de la técnica HF-LPME se presentan en la Figura 1.2.3.10.

Los solventes utilizados en la técnica HF-LPME deben cumplir con las condiciones usuales para LLE, con el requisito adicional de una tensión superficial significativa para evitar su desorción de la fibra hueca durante la extracción. Una de las características de los ILs es justamente su elevada tensión superficial y esta, sumada a su gran capacidad como extractantes, los ha convertido en una alternativa válida para desarrollos analíticos basados en HF-LPME. Desde su primera aplicación en 2007, se vienen reportando desarrollos que utilizan ILs como fase extractante o como aditivos para mejorar las características de otros solventes. Siguiendo la tendencia observada para el resto de las técnicas, los ILs de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios han sido los más aplicados en HF-LPME, por lo general acompañados por el anión PF_6^- [58]. Si bien no se encuentran al momento de redacción esta tesis trabajos involucrando Se o Te, analitos tan variados como especies inorgánicas de Cr o fármacos han sido eficientemente preconcentrados y cuantificados utilizando HF-LPME con ILs [63, 65].

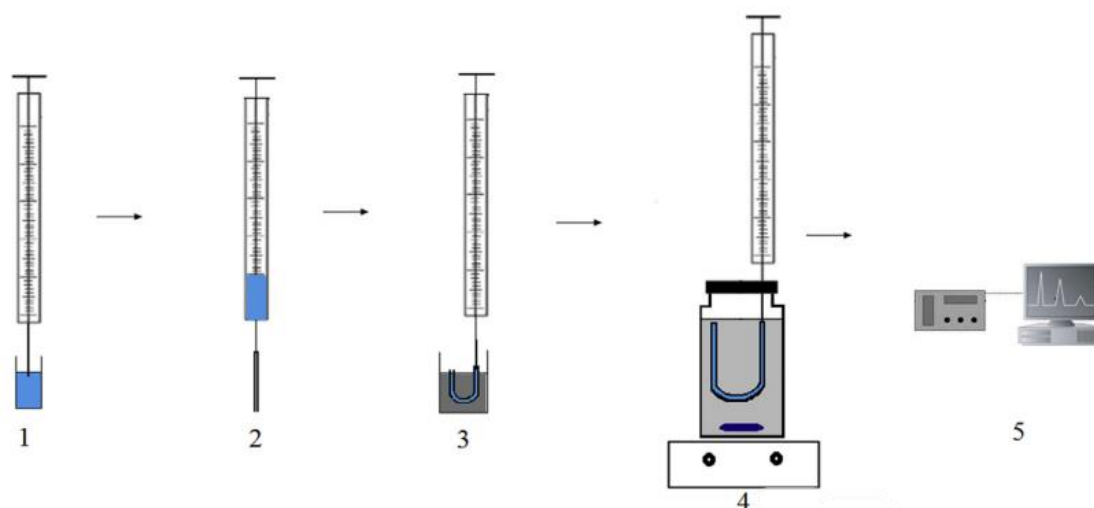


Fig. 1.2.3.10. Representación esquemática de los pasos involucrados en la técnica de microextracción en fase líquida con fibra hueca. 1) Llenado de la jeringa con el extractante, 2) Llenado de la fibra hueca con el extractante, 3) Doblado de la fibra hueca en forma de U al introducir en la muestra, 4) Agitación de la muestra para favorecer la extracción del analito y 5) Determinación instrumental. Adaptado de Sharifi, V. *et al.*, “Application of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid-liquid microextraction techniques in analytical toxicology” [64].

1.2.3.2.8. Microextracción líquido-líquido magnética

Si bien la mayoría de las microextracciones magnéticas con ILs se han llevado a cabo acoplándolos a materiales magnéticos (Sección 1.2.2.5), existen también métodos analíticos utilizando ILs magnéticos (MILs) desarrollados en los últimos años. En este caso, la clave para la obtención de los MILs consiste utilizar aniones magnéticos combinados con los cationes tradicionalmente encontrados en los ILs, especialmente de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios. Los primeros desarrollos involucraron el uso de aniones con Fe(III) de alto spin, tal como el tetracloroferrato (FeCl_4^-), cuya respuesta a campos magnéticos externos es excelente. Sin embargo, estos presentaban problemas en las diferentes aplicaciones analíticas debido a la tendencia del anión a hidrolizarse en agua. Los esfuerzos entonces se encuentran enfocados en la búsqueda de MILs estables en solución acuosa, para lo cual diversos metales de transición (Mn, Co, Gd, Dy) se presentan como candidatos con buenos prospectos [66]. Las microextracciones en fase líquida magnética (M-LPME), además de contar con todos los beneficios inherentes al uso de los ILs, cuentan con la ventaja de que la separación de fases se puede llevar a cabo utilizando un imán externo. Esto simplifica y reduce el tiempo requerido para este paso, que suele ser el factor limitante más importante en los métodos dispersivos.

El descubrimiento de los MILs se produjo en el año 2001, con la primera síntesis y caracterización de $[C_4mim]_2[FeCl_4]$ y $[C_4mim][FeCl_4]$ [67]. No fue sino hasta diez años después de esto que se reportó su primer uso como extractantes, con la aplicación de $[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$ para la remoción de compuestos fenólicos de suelos [68], y recién en 2014 se reportó el primer desarrollo netamente analítico. En este último, se utilizó $[C_6mim][FeCl_4]$ en modalidad dispersiva para la preconcentración de herbicidas triazínicos desde muestras de aceites vegetales, con su posterior cuantificación por HPLC-UV-Vis [69]. La modalidad dispersiva (acompañada muchas veces de agitación mecánica) es justamente la más utilizada hasta la actualidad en lo que concierne a técnicas M-LPME con ILs. Una representación gráfica de esta técnica puede apreciarse en la Figura 1.2.3.11. Sin embargo, a lo largo de los últimos cinco años han surgido alternativas novedosas de la técnica, tales como SDME magnética, microextracción magnética en barra agitadora e incluso microextracción por formación *in situ* de un IL magnético [66].

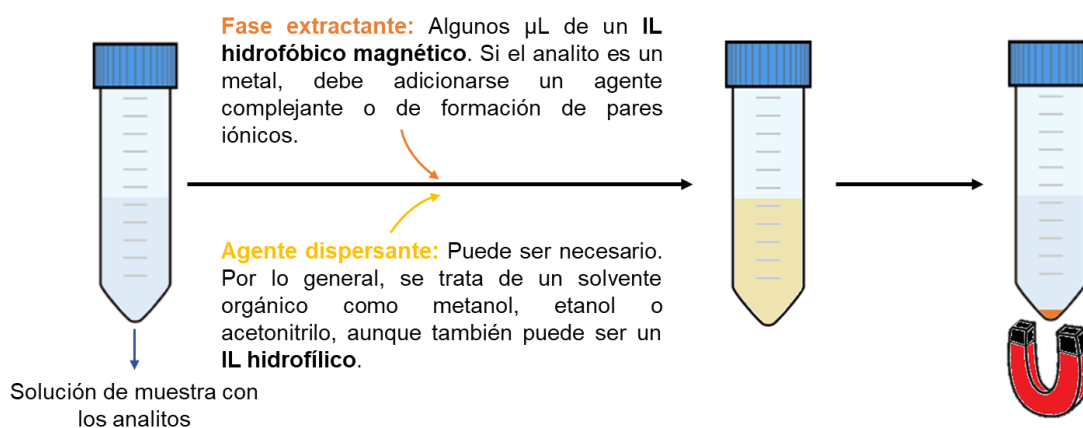


Fig. 1.2.3.11. Representación esquemática de la técnica de extracción magnética dispersiva en fase líquida.

Desde el año 2014 hasta la actualidad, las aplicaciones de MILs en M-LPME han sido diversas tanto en términos de los analitos determinados como de las muestras analizadas. Parabenos en aguas, estrógenos en orina, oro en residuos mineros y filtros solares en muestras ambientales han sido cuantificados utilizando esta familia de ILs modernos [66]. Entre estas, se encuentra una aplicación para el análisis de especiación de Se inorgánico en muestras de arroz con $[C_4mim][FeCl_4]$ en modalidad dispersiva. En este trabajo se utilizó 2,3-diaminonaftaleno como complejante y tan solo $50 \mu\text{L}$ de MIL en 5 mL de muestras resultantes de la digestión progresiva de arroz, de manera tal de preservar la especiación del elemento. Estos fueron mezclados con un agitador *up-and-down* durante 4 minutos, tras los cuales se realizó la separación de fases con un imán

externo y, finalmente, el MIL conteniendo el analito se diluyó con 50 μL de HNO_3 0,1 mol L^{-1} en etanol para luego determinarse el Se por ETAAS [44].

1.2.3.3. Extracción líquido-líquido en sistemas en flujo

Las técnicas de microextracción líquido-líquido no han permanecido ajenas a los avances en las técnicas de análisis en flujo y a sus beneficios: bajo consumo de reactivos, baja generación de residuos, mínima intervención del operador y mejoramiento en la frecuencia analítica. En términos generales, las técnicas LLME se han aplicado también en las modalidades SIA y FIA (Sección 1.2.2.6). La gran diferencia en este caso viene dada por la diferencia en el mezclado de la muestra con la fase extractante, que se da en la primera etapa del proceso, ya sea por el mezclado de las mismas en flujo (FIA) o en un bucle de mezcla tras su succión secuencial (SIA). Las fases mezcladas son luego bombeadas hacia el separador, donde el extractante se aísla de alguna manera conveniente, para dirigirse luego hacia la celda de detección [70]. Es justamente la separación de las fases el paso que presenta mayor complejidad en cualquiera de los casos, ya que separar dos fases líquidas en flujo no es una tarea fácil, incluso cuando estas son inmiscibles. El recurso más utilizado es la inclusión de columnas o filtros con materiales que retienen selectivamente a algunas de las fases en el sistema de flujo. Cuando la fase retenida es la fase extractante -este es el caso más usual-, un paso de elución posterior es necesario para transportar a los analitos hacia el detector.

La aplicación de los ILs en metodologías basadas en técnicas de análisis en flujo no se encuentra aun ampliamente extendida, debido a las dificultades asociadas con la retención del mismo tras la extracción, razón por la cual se decidió incursionar en este aspecto en la presente Tesis Doctoral. Algunos trabajos interesantes de los últimos años incluyen el uso de $[\text{C}_4\text{mim}][\text{PF}_6]$ para la aplicación de la técnica SDME en línea durante la determinación de bromofenoles en agua mediante DLLME con N-tetrafluoroborato de octilpiridinio como extractante [71, 72]. En esta, se emplearon filtros de jeringa con el objeto de retener el IL y su posterior elución con un solvente no especificado. Asimismo, una aplicación de la técnica DLLME en línea para el análisis de especiación de Se inorgánico ha sido discutida en la Sección 1.2.3.2.1 y sus características se pueden encontrar en la Tabla 1.2.3.2. Otra alternativa novedosa de reciente aplicación es la microextracción dispersiva en jeringa, en la cual la muestra es mezclada con el IL extractante dentro de una jeringa con un agitador magnético. La adaptación de la salida de la jeringa con un filtro específico para el IL permite su retención y posterior elución,

todo integrado en un sistema automatizado y controlado por una computadora [73]. Esta metodología no ha sido aplicada para el análisis de especies de Se y/o Te al momento de redacción de esta Tesis.

1.2.3.4. Bibliografía

[1] A.N. Anthemidis, K.-I.G. Ioannou, Recent developments in homogeneous and dispersive liquid–liquid extraction for inorganic elements determination. A review, *Talanta* 80(2) (2009) 413-421.

[2] D. Bourgeois, A. El Maangar, S. Dourdain, Importance of weak interactions in the formulation of organic phases for efficient liquid/liquid extraction of metals, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 46 (2020) 36-51.

[3] R. Marcinkowska, K. Konieczna, Ł. Marcinkowski, J. Namieśnik, A. Kloskowski, Application of ionic liquids in microextraction techniques: Current trends and future perspectives, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 119 (2019) 115614.

[4] A. Spietelun, Ł. Marcinkowski, M. de la Guardia, J. Namieśnik, Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques, *Talanta* 119 (2014) 34-45.

[5] I. Rykowska, J. Ziemlińska, I. Nowak, Modern approaches in dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) based on ionic liquids: A review, *Journal of Molecular Liquids* 259 (2018) 319-339.

[6] P. Isoaari, V. Srivastava, M. Sillanpää, Ionic liquid-based water treatment technologies for organic pollutants: Current status and future prospects of ionic liquid mediated technologies, *Science of The Total Environment* 690 (2019) 604-619.

[7] T.D. Ho, C. Zhang, L.W. Hantao, J.L. Anderson, Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives, *Analytical Chemistry* 86(1) (2014) 262-285.

[8] E.M. Martinis, P. Berton, R.G. Wuilloud, Ionic liquid-based microextraction techniques for trace-element analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 60 (2014) 54-70.

[9] M. Koel, Ionic Liquids in Chemical Analysis, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 35(3) (2005) 177-192.

[10] J. Ranke, A. Othman, P. Fan, A. Müller, Explaining ionic liquid water solubility in terms of cation and anion hydrophobicity, *International Journal of Molecular Science* 10(3) (2009) 1271-1289.

[11] C. Reichardt, Polarity of ionic liquids determined empirically by means of solvatochromic pyridinium N-phenolate betaine dyes, *Green Chemistry* 7(5) (2005) 339-351.

- [12] A. Efimova, G. Hubrig, P. Schmidt, Thermal stability and crystallization behavior of imidazolium halide ionic liquids, *Thermochimica Acta* 573 (2013) 162-169.
- [13] Y. Cao, T. Mu, Comprehensive Investigation on the Thermal Stability of 66 Ionic Liquids by Thermogravimetric Analysis, *Industrial & Engineering Chemistry Research* 53(20) (2014) 8651-8664.
- [14] V. Bennett, S. Anthony, E. Dikio, Effect of 1-Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate [BMIm][PF₆] on N,N-dimethylformamide: Conductivity Measurement at T (293.15 -333.15) K, *Research Journal of Pure Science and Technology* 2(1) (2019) 1-12.
- [15] Y. Li, L.-S. Wang, S.-F. Cai, Mutual Solubility of Alkyl Imidazolium Hexafluorophosphate Ionic Liquids and Water, *Journal of Chemical & Engineering Data* 55(11) (2010) 5289-5293.
- [16] S. Zhang, N. Sun, X. He, X. Lu, X. Zhang, Physical Properties of Ionic Liquids: Database and Evaluation, *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 35(4) (2006) 1475-1517.
- [17] M.G. Freire, L.M.N.B.F. Santos, A.M. Fernandes, J.A.P. Coutinho, I.M. Marrucho, An overview of the mutual solubilities of water–imidazolium-based ionic liquids systems, *Fluid Phase Equilibria* 261(1) (2007) 449-454.
- [18] S. Zhang, Q. Zhou, X. Lu, Y. Song, X. Wang, Properties of 1-octyl-3-methylimidazolium chloride mixtures, en: S. Zhang, Q. Zhou, X. Lu, Y. Song, X. Wang (Eds.), *Physicochemical Properties of Ionic Liquid Mixtures*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2016, pp. 829-843.
- [19] C. Austin Angelli, Ionic Liquids in the Temperature Range 150-1500 K: Patterns and Problems, en: M. Gaune-Escard, K.R. Seddon (Eds.), *Molten Salts and Ionic Liquids: Never the Twain?*, Wiley, Nueva Jersey, EEUU, 2010.
- [20] M.L. Williams, J.S. Dickmann, M.E. McCorkill, J.C. Hassler, E. Kiran, The kinetics of thermal decomposition of 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids under isothermal and non-isothermal conditions, *Thermochimica Acta* 685 (2020) 178509.
- [21] B. Wang, L. Qin, T. Mu, Z. Xue, G. Gao, Are Ionic Liquids Chemically Stable?, *Chemical Reviews* 117(10) (2017) 7113-7131.
- [22] J.O. Valderrama, R.A. Campusano, Melting properties of molten salts and ionic liquids. Chemical homology, correlation, and prediction, *Comptes Rendus Chimie* 19(5) (2016) 654-664.

- [23] J.D. Holbrey, R.D. Rogers, R.A. Mantz, P.C. Trulove, V.A. Cocalia, A.E. Visser, J.L. Anderson, J.L. Anthony, J.F. Brennecke, E.J. Maginn, T. Welton, R.A. Mantz, Physicochemical Properties, en: T.W. Peter Wasserscheid (Ed.), *Ionic Liquids in Synthesis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Alemania, 2007, pp. 57-174.
- [24] K. Padászyński, U. Domańska, Viscosity of Ionic Liquids: An Extensive Database and a New Group Contribution Model Based on a Feed-Forward Artificial Neural Network, *Journal of Chemical Information and Modeling* 54(5) (2014) 1311-1324.
- [25] S.N. Baker, G.A. Baker, M.A. Kane, F.V. Bright, The Cybotactic Region Surrounding Fluorescent Probes Dissolved in 1-Butyl-3-methylimidazolium Hexafluorophosphate: Effects of Temperature and Added Carbon Dioxide, *The Journal of Physical Chemistry B* 105(39) (2001) 9663-9668.
- [26] M. Cvjetko Bubalo, K. Radošević, I. Radojčić Redovniković, I. Slivac, V. Srček, Toxicity mechanisms of ionic liquids, *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 68 (2017) 171-179.
- [27] J.G. Huddleston, H.D. Willauer, R.P. Swatloski, A.E. Visser, R.D. Rogers, Room temperature ionic liquids as novel media for 'clean' liquid-liquid extraction, *Chemical Communications* (16) (1998) 1765-1766.
- [28] R. Sulaiman, I. Adeyemi, S.R. Abraham, S.W. Hasan, I.M. AlNashef, Liquid-liquid extraction of chlorophenols from wastewater using hydrophobic ionic liquids, *Journal of Molecular Liquids* 294 (2019) 111680.
- [29] S. Marsousi, J. Karimi-Sabet, M.A. Moosavian, Y. Amini, Liquid-liquid extraction of calcium using ionic liquids in spiral microfluidics, *Chemical Engineering Journal* 356 (2019) 492-505.
- [30] T. Li, M.D. Joshi, D.R. Ronning, J.L. Anderson, Ionic liquids as solvents for in situ dispersive liquid-liquid microextraction of DNA, *Journal of Chromatography A* 1272 (2013) 8-14.
- [31] R. Zarrougui, R. Mdimagh, N. Raouafi, Highly efficient extraction and selective separation of uranium (VI) from transition metals using new class of undiluted ionic liquids based on H-phosphonate anions, *Journal of Hazardous Materials* 342 (2018) 464-476.
- [32] Q.Y. Qilong Ren, Yan Yan, Huabin Xing, Zongbi Bao, Baogen Su and Yiwen Yang, Ionic Liquid-Mediated Liquid-Liquid Extraction, en: S. Handy (Ed.), *Applications of Ionic Liquids in Science and Technology*, Intech Open, Londres, Inglaterra, 2011, pp. 343-360.

- [33] V. Vida, P. Audrius, Ionic liquids in microextraction techniques, *Open Chemistry* 10(3) (2012) 652-674.
- [34] Y. Liu, E. Zhao, W. Zhu, H. Gao, Z. Zhou, Determination of four heterocyclic insecticides by ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction in water samples, *Journal of Chromatography A* 1216(6) (2009) 885-891.
- [35] P. Berton, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, Development of an on-line temperature-assisted ionic liquid dispersive microextraction system for sensitive determination of vanadium in environmental and biological samples, *Journal of Hazardous Materials* 176(1) (2010) 721-728.
- [36] E.M. Martinis, L.B. Escudero, P. Berton, R.P. Monasterio, M.F. Filippini, R.G. Wuilloud, Determination of inorganic selenium species in water and garlic samples with on-line ionic liquid dispersive microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta* 85(4) (2011) 2182-2188.
- [37] I. López-García, Y. Vicente-Martínez, M. Hernández-Córdoba, Nonchromatographic speciation of selenium in edible oils using dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(39) (2013) 9356-9361.
- [38] S. Abbasi, S.A. Haeri, Novel Bio-Coacervation Extraction of Selenium Based on Microassemblies Biosurfactants with Ionic Liquid and Quantitative Analysis by HPLC/UV, *Chromatographia* 78(15-16) (2015) 971-978.
- [39] M. Tuzen, O.Z. Pekiner, Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometric for selenium speciation in foods and beverages, *Food Chemistry* 188 (2015) 619-624.
- [40] L. Nyaba, N.R. Biata, J.C. Ngila, P.N. Nomngongo, Ultrasound assisted-ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration of inorganic tellurium in environmental water samples prior to inductively coupled plasma – Optical emission spectrometry detection, *Journal of Molecular Liquids* 231 (2017) 154-159.
- [41] E. Bağda, M. Tüzen, A simple and sensitive vortex-assisted ionic liquid-dispersive microextraction and spectrophotometric determination of selenium in food samples, *Food Chemistry* 232 (2017) 98-104.
- [42] A. Castro Grijalba, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, Inorganic selenium speciation analysis in Allium and Brassica vegetables by ionic liquid assisted liquid-liquid microextraction with multivariate optimization, *Food Chemistry* 219 (2017) 102-108.
- [43] R. Rahnema, Z. Abed, Application of cold-induced aggregation microextraction as a fast, simple, and organic solvent-free method for the separation and preconcentration of

Se(IV) in rice and various water samples, *Environmental Monitoring and Assessment* 186(7) (2014) 4209-4216.

[44] 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(6) (2017) 1653-1660.

[45] R.-S. Zhao, X. Wang, J. Sun, C. Hu, X.-K. Wang, Determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples with ionic liquid/ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction prior to HPLC-ESI-MS/MS, *Microchimica Acta* 174(1) (2011) 145-151.

[46] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. Rocío-Bautista, V. Pino, A.M. Afonso, Ionic liquids in dispersive liquid-liquid microextraction, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 51 (2013) 87-106.

[47] Q. Zhou, X. Zhang, J. Xiao, Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-phase micro-extraction: A novel approach for the sensitive determination of aromatic amines in water samples, *Journal of Chromatography A* 1216(20) (2009) 4361-4365.

[48] M. Asensio-Ramos, J. Hernández-Borges, T.M. Borges-Miquel, M.Á. Rodríguez-Delgado, Ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous determination of pesticides and metabolites in soils using high-performance liquid chromatography and fluorescence detection, *Journal of Chromatography A* 1218(30) (2011) 4808-4816.

[49] X. Xu, R. Su, X. Zhao, Z. Liu, D. Li, X. Li, H. Zhang, Z. Wang, Determination of formaldehyde in beverages using microwave-assisted derivatization and ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography, *Talanta* 85(5) (2011) 2632-2638.

[50] X. Xu, R. Su, X. Zhao, Z. Liu, Y. Zhang, D. Li, X. Li, H. Zhang, Z. Wang, Ionic liquid-based microwave-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and derivatization of sulfonamides in river water, honey, milk, and animal plasma, *Analytica Chimica Acta* 707(1) (2011) 92-99.

[51] I.V. Pletnev, S.V. Smirnova, N.V. Shvedene, New Directions in Using Ionic Liquids in Analytical Chemistry. 1: Liquid-Liquid Extraction, *Journal of Analytical Chemistry* 74(7) (2019) 625-658.

[52] Q. Zhou, H. Bai, G. Xie, J. Xiao, Trace determination of organophosphorus pesticides in environmental samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction, *Journal of Chromatography A* 1188(2) (2008) 148-153.

[53] M. Baghdadi, F. Shemirani, Cold-induced aggregation microextraction: A novel sample preparation technique based on ionic liquids, *Analytica Chimica Acta* 613(1) (2008) 56-63.

[54] S. Kori, Cloud point extraction coupled with back extraction: a green methodology in analytical chemistry, *Forensic Sciences Research*. DOI: 10.1080/20961790.2019.1643567 (2019).

[55] F. Bamdad, A. Raziani, Application of surface-active ionic liquids in micelle-mediated extraction methods: pre-concentration of cadmium ions by surface-active ionic liquid-assisted cloud point extraction, *Journal of the Iranian Chemical Society* 17(2) (2020) 327-332.

[56] Naeemullah, T.G. Kazi, H.I. Afridi, F. Shah, S.S. Arain, A.H. Panhwar, S.A. Arain, M.B. Arain, Development of green miniaturized dispersive ionic liquid nano-emulsion method for preconcentration of cadmium from canal and waste water samples prior to coupling with graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Analytical Methods* 6(17) (2014) 6909-6915.

[57] D.R. Bhatt, K.C. Maheria, J.K. Parikh, Determination of thermodynamics and design parameters for ionic liquid-induced cloud point extraction of Coralene red dye, *International Journal of Environmental Science and Technology* 13(2) (2016) 589-598.

[58] E. Stanisiz, J. Werner, A. Zgoła-Grześkowiak, Liquid-phase microextraction techniques based on ionic liquids for preconcentration and determination of metals, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 61 (2014) 54-66.

[59] M. Baghdadi, F. Shemirani, In situ solvent formation microextraction based on ionic liquids: A novel sample preparation technique for determination of inorganic species in saline solutions, *Analytica Chimica Acta* 634(2) (2009) 186-191.

[60] S. Liu, P.K. Dasgupta, Liquid Droplet. A Renewable Gas Sampling Interface, *Analytical Chemistry* 67(13) (1995) 2042-2049.

[61] A. Jain, K.K. Verma, Single-Drop Microextraction, en: C.F. Poole (Ed.), *Liquid-Phase Extraction*, Elsevier, Amsterdam, Países Bajos, 2020, pp. 439-472.

[62] J.-f. Liu, G.-b. Jiang, Y.-g. Chi, Y.-q. Cai, Q.-x. Zhou, J.-T. Hu, Use of Ionic Liquids for Liquid-Phase Microextraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Analytical Chemistry* 75(21) (2003) 5870-5876.

[63] W.A. Khan, M.B. Arain, Y. Yamini, N. Shah, T.G. Kazi, S. Pedersen-Bjergaard, M. Tajik, Hollow fiber-based liquid phase microextraction followed by analytical instrumental techniques for quantitative analysis of heavy metal ions and pharmaceuticals, *Journal of Pharmaceutical Analysis* 10(2) (2020) 109-122.

[64] 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(2) (2016) 264-276.

[65] W. Alahmad, N. Tungkijanansin, T. Kaneta, P. Varanusupakul, A colorimetric paper-based analytical device coupled with hollow fiber membrane liquid phase microextraction (HF-LPME) for highly sensitive detection of hexavalent chromium in water samples, *Talanta* 190 (2018) 78-84.

[66] M. Sajid, Magnetic ionic liquids in analytical sample preparation: A literature review, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 113 (2019) 210-223.

[67] M.S. Sitze, E.R. Schreiter, E.V. Patterson, R.G. Freeman, Ionic Liquids Based on FeCl_3 and FeCl_2 . Raman Scattering and ab Initio Calculations, *Inorganic Chemistry* 40(10) (2001) 2298-2304.

[68] 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(3) (2011) 1350-1357.

[69] 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.

[70] C.I. Silvestre, J.L. Santos, J.L. Lima, E.A. Zagatto, Liquid–liquid extraction in flow analysis: a critical review, *Analytica Chimica Acta* 652(1-2) (2009) 54-65.

[71] W. Zhang, T. Jiang, Z. Lu, Y. Wang, On-line coupling of ionic liquid-based single-drop microextraction and capillary electrophoresis for determination of three bromophenols in water samples, *Chinese Journal of Chromatography* 31(7) (2013) 656-660.

[72] Z. Li, S. Xia, C. Bian, J. Tong, Salt-induced ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and filter separation, *Analytical Methods* 8(5) (2016) 1096-1102.

[73] R. Suárez, S. Clavijo, J. Avivar, V. Cerdà, On-line in-syringe magnetic stirring assisted dispersive liquid-liquid microextraction HPLC - UV method for UV filters determination using 1-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate as extractant, *Talanta* 148 (2016) 589-595.

1.2.4. Técnicas de detección

La utilidad de las técnicas de microextracción es incuestionable, especialmente en términos de simplicidad y reducido impacto ambiental. Sin embargo, esta utilidad se vuelve nula si la detección final de los analitos no se realiza con una técnica instrumental adecuada. La elección de esta depende, entre otras cosas, de las propiedades y tipo de especies a analizar, la complejidad de la matriz de la muestra y la cantidad disponible de solución o sólido con la que se cuenta. Sumado a esto, es importante destacar que los LODs obtenibles no dependen únicamente del tipo de extracción utilizada para la preconcentración, sino también del método de detección utilizado.

En el caso de analitos orgánicos, las técnicas de detección más populares son diversas y suelen ser separativas; por ejemplo: HPLC acoplada a detección UV-Vis o por fluorescencia, GC acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) o cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Mientras tanto, para analitos inorgánicos existe una gran diversidad de técnicas espectroscópicas para muestras tanto sólidas como líquidas: AAS y AFS, ICP-OES o ICP-MS, fluorescencia de rayos X, etc. Aunque todas las técnicas mencionadas se pueden considerar como altamente sensibles, reproducibles y precisas -especialmente a la luz de los avances científicos y tecnológicos que impulsan su constante mejoramiento-, la complejidad de matriz y las bajas concentraciones de los analitos hacen prácticamente obligatoria una etapa de preconcentración o al menos de tratamiento de la muestra previo a su aplicación para elementos traza o ultra traza. Cuando se aplican técnicas LLE, la determinación se puede llevar a cabo directamente sobre la fase extractante enriquecida, mientras que en el caso de SPE se puede optar por una determinación directa en la fase sólida o por la retroextracción de los analitos para determinarlos en una fase líquida [1].

En el caso particular de los elementos de interés de esta tesis, el uso de métodos espectrofotométricos UV-Vis para el análisis de especiación ha sido reportado en algunos casos, al igual que el de técnicas voltamétricas [2]. Sin embargo, la mayoría de los trabajos con separación no cromatográfica que involucran la detección de especies de Se y Te están basados en técnicas de detección atómicas: AAS, AFS, ICP-OES, ICP-MS y sus variantes. Entre ellas, aquellas acopladas a la generación de hidruros son de particular interés, ya que ambos elementos tienen la capacidad de formar hidruros volátiles en condiciones reductoras. Las técnicas de AAS y AFS acopladas a la generación de hidruros (HG-AAS y HG-AFS) han sido aplicadas para la detección de

estos Se y Te, logrando LODs de hasta décimas de ng L^{-1} . Si bien este parámetro depende también del método de preconcentración, en términos puramente instrumentales la técnica HG-AFS suele dar mejores resultados que la HG-AAS [3, 4].

Entre las técnicas espectroscópicas atómicas, la ETAAS ha sido la más ampliamente utilizada en estudios de especiación de Se y Te debido a sus ventajas: alta sensibilidad, bajas interferencias espectrales y los bajos requerimientos en términos de las cantidades de muestra, junto con la flexibilidad para la introducción de la misma. Esto último se ve reflejado en trabajos que involucran la introducción del analito en forma de solución tanto después de procesos en batch como de procesos automatizados, así como directamente en una matriz sólida, lo cual es especialmente útil tras la aplicación de técnicas SPE [2]. Tanto la técnica ICP-OES como la ICP-MS han sido también frecuentemente aplicadas. Las determinaciones por ICP-OES, a pesar de tratarse de una técnica más costosa, suelen proveer LODs peores que aquellos obtenidos por ETAAS [5]. La técnica ICP-MS, por otro lado, ha probado ser ventajosa debido a que brinda la posibilidad de obtener información sobre la composición isotópica elemental, que puede ser de importancia en el análisis de especiación. Sin embargo, el alto costo del equipamiento y su mantenimiento hace que el acceso a la misma no se encuentre tan extendido como el del resto de las técnicas descriptas [6].

En las próximas secciones se presentan descripciones detalladas de las técnicas de detección elemental utilizadas en la presente tesis: AAS y AFS, así como sus variantes más frecuentes, enfocadas a la determinación de Se y Te.

1.2.4.1. Espectrometría de absorción atómica

La AAS se basa en la absorción de radiación electromagnética por parte de átomos libres. Para lograr la atomización, las muestras se descomponen térmicamente y los átomos gaseosos resultantes son irradiados con un haz de luz de una longitud de onda característica que es parcialmente absorbido por ellos. La intensidad de luz que atraviesa la nube de átomos gaseosos es detectada por el equipo que, por diferencia, determina la intensidad absorbida por la muestra. Esta, a la vez, es proporcional al número de átomos presentes en fase gaseosa, que es en último término directamente proporcional a la concentración de sus especies en la muestra. La energía absorbida promueve transiciones electrónicas del estado fundamental a estados excitados atómicos, cuya energía es característica de cada elemento, generándose así espectros de absorción específicos. La gran mayoría de los elementos que se pueden detectar por

esta técnica son metales cuyas longitudes de onda características se encuentran en el rango UV cercano. Los elementos no metálicos, en su mayoría, absorben en la zona del UV lejano ($\lambda < 190$ nm), por lo que no pueden ser cuantificados por AAS [7].

El uso de fuentes de radiación específicas para el espectro de absorción de cada elemento hace de la AAS una técnica extremadamente selectiva, ya que el número de interferencias espectrales es significativamente menor que en las técnicas de emisión (por ej.: ICP-OES). Esta es una de las razones por las cuales la AAS ha alcanzado un uso generalizado en el análisis rutinario de muestras variadas. Más de 60 elementos pueden ser determinados hoy en día por AAS con sensibilidad adecuada [8].

1.2.4.1.1. Instrumentación y funcionamiento

Una representación esquemática de los componentes básicos de un espectrómetro de absorción atómica se muestra en la Figura 1.2.4.1. El funcionamiento de un instrumento de AAS monocromático se puede resumir en los siguientes pasos:

- i) La fuente de radiación emite el espectro característico del elemento bajo análisis.
- ii) El haz emitido es modulado
- iii) La señal modulada atraviesa el vapor atómico, produciéndose la absorción parcial de la misma por parte de los átomos del analito.
- iv) La longitud de onda espectral deseada es seleccionada por el monocromador.
- v) La longitud de onda aislada incide sobre el detector, que genera una señal eléctrica proporcional a la intensidad de luz incidente.
- vi) La señal es amplificada por un amplificador selectivo
- vii) La señal amplificada es registrada por un dispositivo de lectura o a través del software correspondiente.

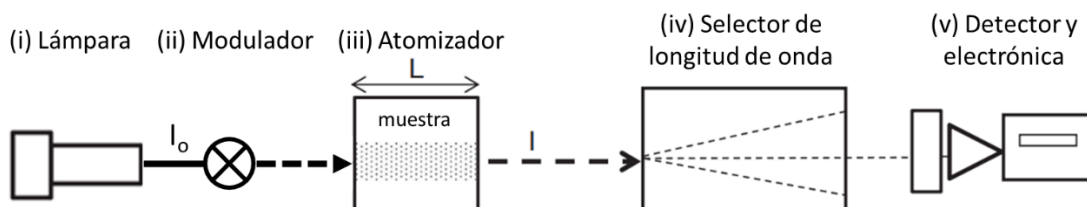


Fig. 1.2.4.1. Representación esquemática de los componentes principales de un espectrómetro de absorción atómica monocromático. I_0 indica la intensidad de luz incidente, mientras que I indica la intensidad de luz tras el paso por la muestra. L = longitud de paso óptico.

Entre los componentes más importantes de un espectrómetro de absorción atómica se destacan:

Fuentes de radiación. Se requieren fuentes de ancho de banda espectral bajo, dada la cercanía de las líneas de absorción de los distintos elementos metálicos en el espectro electromagnético. Este requisito fue uno de los más limitantes en los primeros desarrollos de la técnica, en los que se utilizaban lámparas de fuente continua. Si bien los monocromadores permitían trabajar con anchos de banda de hasta 0,2 nm, la intensidad de luz que alcanzaba el detector era demasiado baja. Esto cambió a partir de 1955, cuando las primeras fuentes de excitación para elementos específicos fueron desarrolladas. En estas, los átomos del elemento deseado se excitan en la lámpara para luego emitir radiación a sus longitudes de onda características [7]. Hoy en día, este tipo de lámpara sigue siendo el más utilizado, tanto en su versión de cátodo hueco (HCL) como en su versión de descarga sin electrodos (EDL), aunque los desarrollos tecnológicos han permitido recientemente el retorno a las fuentes de espectro continuo con intensidad incrementada, combinadas con selectores de longitud de onda de alta resolución [9].

Las HCL son fuentes de línea con emisiones muy estables, disponibles comercialmente para prácticamente todos los elementos que se pueden cuantificar por AAS. Sin embargo, poseen intensidades de emisión relativamente bajas y tiempos de vida útil cortos, especialmente para elementos volátiles como As, Se y Hg. Para estos, surgieron las EDL, en las cuales una bobina de radiofrecuencia (o de microondas) excita a un gas inerte, que a la vez genera los átomos excitados del elemento en cuestión. Estas cuentan con mayor intensidad de emisión y durabilidad que las HCL, aunque con mayor costo. En ambos casos, la baja presión y temperatura dentro de la lámpara hacen que los efectos responsables del ensanchamiento de las bandas de emisión sean mínimos, obteniéndose líneas atómicas precisas y angostas, asegurando una alta especificidad y buenos LODs, incluso con monocromadores de baja resolución.

Modulador de fuente. La emisión de radiación durante el proceso de atomización es una fuente importante de interferencias espectrales en AAS. Si bien la mayor parte de esta es eliminada por el monocromador, las emisiones a la longitud de onda de medición (debidas a la excitación y emisión de los átomos del analito, además de bandas de emisión debidas a la matriz) no pueden ser filtradas por este. La modulación de la fuente de emisión cumple la función de eliminar la componente de emisión en el atomizador a la longitud de onda de medición. Esto puede ser logrado mecánicamente, con un cortador mecánico (*chopper*) que interrumpe intermitentemente

al haz de emisión antes de que el mismo llegue al atomizador, o electrónicamente con pulsos de alto voltaje sobre la lámpara. La detección sincronizada con la modulación permite eliminar la señal no-modulada proveniente del atomizador, midiendo únicamente la señal modulada proveniente de la lámpara [8]. Las correcciones con líneas cercanas a la línea de detección o por efecto Zeeman también son usualmente aplicadas para mejorar la corrección de fondo.

Atomizador. Es el componente del AAS encargado de producir átomos gaseosos en estado fundamental, lo que requiere un suministro de energía a la muestra rápido y en cantidad suficiente. Los métodos más usuales para lograr esto son una llama, dentro de la cual la muestra es nebulizada de forma continua, o electrotérmicamente, con calentamiento producido por aplicación de energía eléctrica. Los procesos físicos y químicos involucrados en el proceso de atomización de una muestra se presentan de manera simplificada en la Figura 1.2.4.2.

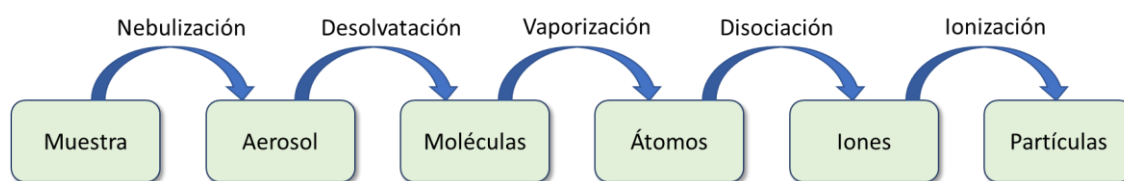


Fig. 1.2.4.2. Procesos que ocurren durante la atomización de la muestra en la determinación por espectrometría de absorción atómica.

La atomización por llama es exclusiva para muestras líquidas, que deben ser aspiradas y nebulizadas dentro de la misma. La necesidad de introducir gotas finas para mantener una llama estable se logra utilizando un nebulizador neumático y una cámara de premezclado. En esta, las gotas de mayor tamaño se condensan y eliminan, mientras que las más pequeñas se mantienen nebulizadas y se mezclan con un gas combustible y un gas oxidante, cuya relación de flujo define la temperatura de la llama resultante y su carácter oxidante. Las combinaciones más utilizadas son aire-acetileno (2100 °C – 2400 °C) y N₂O-acetileno (2600 °C – 2900 °C, más reductora que la anterior). La mezcla resultante de gotas finas y gases fluye hacia el quemador, que suele ser angosto y largo, de manera tal de optimizar el perfil cónico de la llama y maximizar la longitud de paso óptico [10].

Los atomizadores electrotérmicos, por otro lado, consisten en tubos de grafito pirolítico de 3 a 5 cm de largo y algunos mm de diámetro. Estos poseen una alta eficiencia de atomización a partir de volúmenes de muestra líquida tan bajos como 10 µL, contando con la ventaja adicional de permitir el control preciso de la temperatura y

condiciones químicas, además de dar lugar al análisis muestras sólidas de manera directa. Las mediciones con esta variante consisten en la inyección de un volumen o masa conocidos de muestra y la aplicación de un programa con múltiples etapas de calentamiento, logrando el secado, la descomposición térmica de la matriz (pirólisis) y la atomización de la muestra de manera secuencial. El ciclo suele finalizar con un paso de alta temperatura para limpiar el interior del tubo, con el subsecuente enfriamiento antes de introducir la siguiente muestra. En términos de parámetros analíticos, la atomización electrotérmica significa un mejoramiento en la sensibilidad y límites de detección de entre dos y tres órdenes de magnitud respecto al uso de la llama [11].

Selector de longitud de onda. Los más comunes en equipos de AAS son los monocromadores basados en los diseños de Czerny-Turner, Ebert y Littrow, con prismas o redes de difracción como componentes dispersivos [8]. En los últimos años, el uso de redes de difracción dobles de tipo *echelle* ha sido progresivamente incorporado en espectrómetros comerciales, especialmente con el advenimiento de las fuentes de emisión continua de alta intensidad. Esta combinación presenta ventajas significativas en términos de análisis multielemental y de calidad de corrección de fondo [9].

Detector. La cuantificación de la intensidad de radiación que atraviesa el selector de longitud de onda requiere de un transductor adecuado. Con este propósito, los tubos fotomultiplicadores son los más comúnmente empleados, ya que cubren un amplio rango de longitudes de onda, poseen un gran rango dinámico y capacidad de amplificación de la ganancia y un bajo nivel de ruido. Los tubos fotomultiplicadores constan de un tubo vacío provisto de placas fotosensibles que, por efecto fotoeléctrico, convierten a los fotones recibidos en impulsos eléctricos que luego se amplifican [8]. Sin embargo, la aparición de los espectrómetros de fuente continua ha propiciado el desarrollo de detectores multicanal, compuestos de muchos detectores individuales que representan píxeles del espectro continuo final. En este contexto, los detectores de transferencia de carga son los preferidos [9].

1.2.4.1.2. Detección de Se y Te por AAS

La determinación por AAS de los elementos de interés de la presente Tesis Doctoral puede ser llevada a cabo tanto en el modo de atomización por llama o electrotérmica. Como se mencionó anteriormente, las principales diferencias entre estas son el volumen de muestra necesario (en el caso de muestras líquidas) y la sensibilidad y LODs que pueden obtenerse. Para muestras acuosas sin preconcentración, los LODs

por FAAS son de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ y $30 \mu\text{g L}^{-1}$ para Se y Te, respectivamente, mientras que por ETAAS estos valores pasan a ser $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$. Mejoras significativas se pueden lograr utilizando la técnica de generación de hidruros, que es compatible con ambos elementos. En este caso, los LODs alcanzables son de $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ para ambos elementos, con la salvedad de que esta técnica permite cuantificar por razones cinéticas únicamente las especie inorgánicas de estado de oxidación +4 [12]. Esto ha sido convertido en una ventaja para el desarrollo de algunas metodologías analíticas, que utilizan la selectividad en cuanto a la generación de los hidruros para determinar diferencialmente a las especies de Se y Te.

Cuando la determinación se realiza luego de un protocolo de preconcentración y/o de análisis de especiación, la elección de la metodología de detección por AAS, así como las cifras de mérito analítico, pasan a depender también del estado de la muestra tras la extracción. La técnica de FAAS ha caído prácticamente en desuso actualmente, ya que la gran diferencia en términos de LOD respecto a ETAAS y a la generación de hidruros ha propiciado su desestimación [10]. Justamente la ETAAS ha sido la técnica más ampliamente utilizada para la determinación de Se y Te tras procesos de microextracción, tanto en fase líquida como sólida, pudiendo obtenerse LODs del orden o incluso por debajo de los ng L^{-1} para ambos elementos [2, 13]. Límites de detección similares se han obtenido al acoplar la atomización electrotérmica a la generación de hidruros, pudiendo incluso realizarse un paso de preconcentración *in situ* del hidruro sobre la paredes internas del horno de grafito modificado por el recubrimiento de su superficie interna con algún metal de transición tal como Pd o Ru, permitiendo una mejora adicional del LOD [14].

Tal como se mencionó anteriormente, el horno de grafito utilizado en ETAAS permite también la determinación de los elementos directamente desde muestras sólidas. Esto ha sido aprovechado para la determinación directa de Se en biomasa de bacterias utilizadas para la extracción de especies inorgánicas de este elemento por D-SPE, sin la necesidad de un paso de elución [15]. Más información sobre las cifras de mérito analíticos logradas con la combinación de AAS y distintos métodos de preconcentración puede ser encontrada en las Tablas 1.2.2.1, 1.2.2.2 y 1.2.3.2.

1.2.4.2. Espectrometría de fluorescencia atómica

La AFS es similar a la técnica AAS en el sentido de que ambas involucran la excitación de átomos en fase gaseosa por absorción de radiación electromagnética con

una longitud de onda específica. La diferencia entre ellas surge del hecho de que, en AFS, la señal analítica no surge de la absorción, sino de la emisión fluorescente característica del elemento detectado. Consecuentemente, con el objetivo de discriminar la luz emitida de la luz incidente, la fuente de excitación se ubica perpendicular al eje de detección óptica en esta técnica.

La intensidad de fluorescencia depende de cuatro factores: la intensidad de la fuente de excitación, la concentración de átomos en el atomizador, la eficiencia cuántica de los átomos y el grado de auto absorción. Por ende, si la intensidad de excitación se mantiene constante, la fluorescencia pasa a depender exclusivamente de la identidad de los átomos y de su concentración, haciéndola una técnica altamente específica y cuantitativa [16]. Adicionalmente, la AFS se puede acoplar fácilmente a técnicas separativas como GC y HPLC, convirtiéndose así en una herramienta importante para estudios de especiación. Muestras ambientales, de alimentos y biológicas han sido estudiadas de esta manera para elementos como As, Sb, Se y Te [17].

En comparación con la técnica AAS, la AFS es superior en términos de sensibilidad y LOD, dada la menor incidencia de la emisión de fondo en las determinaciones. Por otro lado, la técnica ICP-MS supera a la AFS tradicional en lo que refiere a estos parámetros, aunque el desarrollo de sistemas de introducción de muestras asistidos por la reacción de generación de vapor químico y de hidruros ha potenciado la técnica AFS a niveles comparables a lo alcanzado por ICP-MS en términos de cifras de mérito analítico [18].

1.2.4.2.1. Instrumentación y funcionamiento

Una representación esquemática de un espectrómetro atómico de fluorescencia se presenta en la Figura 1.2.4.3. El funcionamiento de este equipo puede resumirse en los siguientes pasos:

i) La fuente de radiación emite el espectro característico del elemento bajo análisis o un espectro continuo de alta intensidad.

ii) La señal atraviesa el vapor atómico, produciéndose la absorción de la misma y posterior emisión fluorescente por parte de los átomos del analito.

iii) La longitud de onda espectral deseada es seleccionada por el monocromador, que se encuentra ubicado, junto con el sistema de detección, a 90° del camino óptico de excitación, para evitar la detección del haz incidente.

- iv) La longitud de onda aislada incide sobre el detector, que genera una señal eléctrica proporcional a la intensidad de luz incidente.
- v) La señal es amplificada por un amplificador selectivo.
- vi) La señal amplificada es registrada por un dispositivo de lectura o a través del software correspondiente.

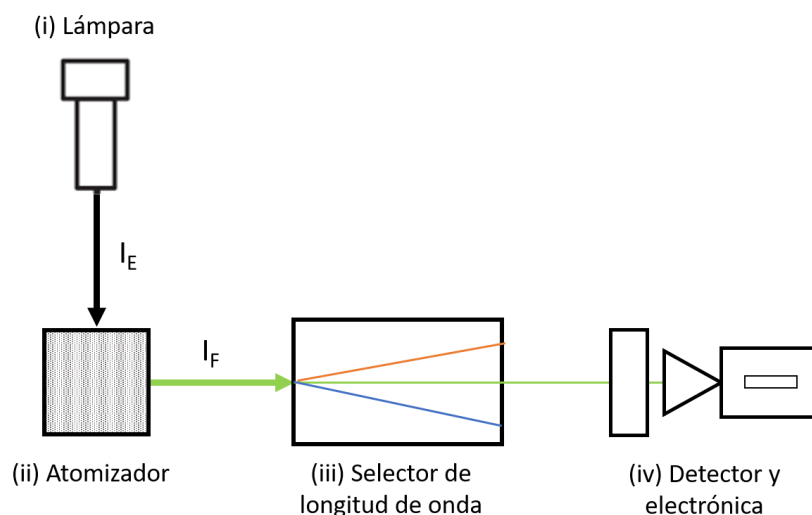


Fig. 1.2.4.3. Representación esquemática de los componentes principales de un espectrómetro atómico de fluorescencia. I_E indica la intensidad de luz de excitación, mientras que I_F indica la intensidad de fluorescencia emitida por la muestra.

Entre los componentes más importantes de un espectrómetro atómico de fluorescencia se encuentran:

Fuente. Fuentes continuas como las lámparas de tungsteno o de deuterio pueden ser utilizadas en AFS. Estas tienen la ventaja de permitir determinaciones multielementales, pero debido a sus bajas intensidades radiativas no logran explotar completamente el potencial de detección de la técnica. Las fuentes de línea, como las HCL y las EDL, permiten alcanzar intensidades de radiación mucho mayores, por lo que suelen ser las preferidas para determinaciones por AFS. Los equipos multicanal con este tipo de lámparas han encontrado un amplio uso en la última década, dando lugar a determinaciones multielementales operando con varias lámparas en simultáneo. Sin embargo, ninguna de estas fuentes permite llegar la saturación, condición que representa la cota máxima de fluorescencia que se puede lograr para una concentración dada de analito, en la cual la emisión se equilibra con la auto absorción (Figura 1.2.4.4) [19].

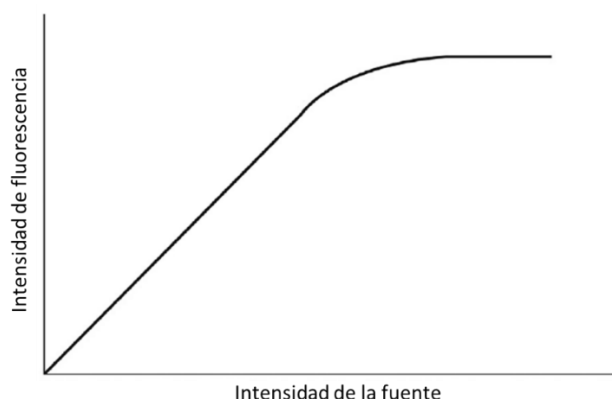


Fig. 1.2.4.4. Relación entre la intensidad de la fuente de excitación y la intensidad de fluorescencia emitida, a concentración constante de analito.

La saturación de la fluorescencia se puede lograr hoy en día con fuentes láser. Debido a la necesidad de contar con un rango amplio de longitudes de onda de excitación, los láseres de colorante han sido los más frecuentemente utilizados. Con ellos se pueden lograr altas intensidades de emisión entre 320 y 900 nm, eligiendo un colorante apropiado como medio. Los desarrollos más modernos incluyen también un duplicador de frecuencia que extiende el rango hasta 190 nm, permitiendo así su aplicación para prácticamente todos los elementos determinables por esta técnica [17].

Atomizador. Al igual que en AAS, es el componente en el cual la muestra es convertida en átomos gaseosos en estado fundamental. El método más usual en AFS es la atomización por llama de difusión, cuyo acoplamiento con la generación de hidruros ha sido especialmente útil para esta técnica. La atomización electrotérmica ha sido también utilizada en aplicaciones de fluorescencia, aunque su uso no ha sido tan extendido como en AAS. Las transformaciones físicas y químicas involucradas en el proceso de atomización de la muestra han sido resumidas esquemáticamente en la Figura 1.2.4.2.

En la AFS con atomización por llama de difusión, la mezcla de un gas oxidante (por ej.: aire) y uno combustible (por ej.: acetileno) es utilizada para mantener una llama estable, mientras la muestra es nebulizada dentro de ella. Las principales ventajas de este modo son su simplicidad de aplicación y su bajo costo. Sin embargo, los LODs alcanzados son usualmente bajos debido a la baja conversión de la solución en aerosol, con una eficiencia que difícilmente supera el 10% [17]. Para superar esto, muchos desarrollos recientes en el campo de la técnica AFS se han enfocado en la mejora de la etapa de introducción de muestras, con el objetivo de mejorar la eficiencia de atomización y, consecuentemente, los LODs y la sensibilidad de las determinaciones.

En este contexto, la generación de hidruros ha resultado la técnica más ampliamente acoplada a la AFS con atomización por llama. Esta se basa en la mezcla de una muestra o un eluato resultante de un proceso de preconcentración/especiación con un agente reductor, usualmente NaBH_4 ó KBH_4 , en medio ácido. En estas condiciones, diversos elementos -incluyendo As, Bi, Cd, Ge, Pb Se, Sn, Te y Zn- son capaces de formar hidruros gaseosos, que son luego aislados con un separador gas-líquido e impulsados hacia la celda de atomización. De esta manera, se aumenta la eficiencia tanto de volatilización de los analitos (sin la necesidad de formar un aerosol) como de atomización, ya que la descomposición de los hidruros requiere de temperaturas significativamente menores que las que demanda la atomización de oxoaniones o especies orgánicas. En paralelo, durante el proceso de generación de hidruros se genera también H_2 como subproducto de la descomposición del reductor, que es arrastrado junto con los hidruros hacia la celda de atomización, donde actúa como combustible para la llama. Es importante destacar que la formación de hidruros está usualmente favorecida cinéticamente para los estados de oxidación más bajos (por ej.: Se(IV) y Te(IV)), lo cual puede ser aprovechado como un paso de separación de especies [20].

Alternativas para la atomización de los elementos tales como: vapor frío (exclusiva para determinación de Hg) [21], inducida por plasma [22], electroquímica [23] y fotoquímica -recientemente mejorada por la incorporación de nanomateriales [24]-, han sido también acopladas a AFS, aunque en una escala mucho menor.

Selector de longitud de onda. Al igual que en AAS, en AFS no se requieren monocromadores de alta resolución espectral, ya que la excitación suele involucrar fuentes de línea (HCLs y EDLs) y la emisión tiene también un ancho de banda estrecho. Los más comunes han sido presentados en la Sección 1.2.4.1.1.

Corrección del fondo espectral. Debido a la emisión inespecífica de la fuente de atomización, la sustracción de esta es necesaria para discriminar la intensidad de fluorescencia del analito de la emisión total del atomizador. Las estrategias para lograr esto son similares a los utilizados en AAS: modulación de la fuente, corrección por líneas cercanas o por efecto Zeeman.

Detector. Los tubos fotomultiplicadores son los detectores de uso más extendido en AFS, al igual que en AAS. Como se ha mencionado anteriormente, la principal diferencia entre estas técnicas se encuentra en la disposición geométrica del detector

en relación al camino óptico de la fuente, mientras que las características técnicas deseables en un detector son las mismas.

1.2.4.2.2. Detección de Se y Te por AFS

La detección de Se y Te por AFS se ha realizado tanto con atomización por llama como electrotérmica, aunque la primera es la de aplicación más frecuente, especialmente acoplada a generación de hidruros. Los LODs por HG-AFS pueden llegar hasta 2 ng L^{-1} para Se y 10 ng L^{-1} para Te, es decir, diez veces mejores que aquellos logrados con ETAAS y comparables con los obtenidos por ICP-MS [17]; esto sin considerar un posible paso de preconcentración previo, que puede mejorar este parámetro en hasta dos órdenes de magnitud.

Cuando la determinación instrumental por HG-AFS está precedida por un método de preconcentración, el eluato resultante de la misma debe ser una solución, ya que esta técnica no permite la utilización de muestras sólidas. Asimismo, la selectividad hacia el estado de oxidación elemental hace que, en ocasiones, sea necesaria una etapa de reducción previa. Por ejemplo, Chen y colaboradores desarrollaron un método de preconcentración con análisis de especiación de Se inorgánico utilizando un hidróxido doble laminado con detección por HG-AFS. Para esto, debieron eluir a los analitos con una solución de NaOH luego de su retención sobre el sólido nanoestructurado y, en paralelo, aplicaron el método a una segunda muestra pre reducida, de manera tal de cuantificar por un lado la concentración de Se(IV) y por otro la de Se total, pudiendo así determinar la concentración de Se(VI) por diferencia [25]. Tanto la necesidad de contar con los analitos en solución como la limitación respecto a su estado de oxidación pueden ser evitadas generando el hidruro por un método fotoquímico, utilizando un material fotosensible y un ácido orgánico como catalizador. Si bien los reportes de esta alternativa son escasos, debido a la dificultad de encontrar condiciones adecuadas para llevarla a cabo, se ha reportado su uso para la determinación de Se(IV) y Se(VI) tras la extracción selectiva de estas especies. Esto se logró gracias a la adsorción diferencial de estas a distintos valores de pH sobre nanopartículas de TiO_2 y aprovechando las propiedades fotoquímicas del material para la generación directa de los hidruros sobre él, sin la necesidad de un paso de elución [26]. El LOD obtenido con esta última técnica fue de $0,8 \text{ ng L}^{-1}$ para ambas especies. Más información sobre las cifras de mérito analíticas logradas con la combinación de AFS y preconcentración puede ser encontrada en las Tablas 1.2.2.1, 1.2.2.2 y 1.2.3.2.

El potencial de la técnica para permitir la determinación simultánea de Se y Te es un aspecto que también debe destacarse. De hecho, se ha realizado la cuantificación simultánea de Se y Te en muestras minerales, acompañada de un paso previo de preconcentración de los analitos sobre un gel de sílica modificado con nanopartículas de TiO_2 . En este caso, debido a las propiedades del sistema y a la selectividad de la formación de hidruros, las especies tetravalentes de ambos elementos fueron las únicas determinadas [27]. El acoplamiento de HG-AFS con técnicas separativas también ha sido utilizado rutinariamente para la determinación de especies de Se. Por ejemplo, Se(IV), Se(VI), selenometionina y Se-metilselenocisteína han sido cuantificadas en vinos, cervezas, levaduras y ajos utilizando HPLC de fase reversa con detección por HG-AFS, utilizando un IL como modificador de la fase móvil en la etapa separativa [28].

1.2.4.3. Bibliografía

[1] K. Kocot, K. Pytlakowska, B. Zawisza, R. Sitko, How to detect metal species pre-concentrated by microextraction techniques?, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 82 (2016) 412-424.

[2] C. Herrero Latorre, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente, Solid phase extraction for the speciation and pre-concentration of inorganic selenium in water samples: A review, *Analytica Chimica Acta* 804 (2013) 37-49.

[3] H. Asiabi, Y. Yamini, S. Seidi, M. Shamsayei, M. Safari, F. Rezaei, On-line electrochemically controlled in-tube solid phase microextraction of inorganic selenium followed by hydride generation atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 922 (2016) 37-47.

[4] P. Cava-Montesinos, M.L. Cervera, A. Pastor, M. de la Guardia, Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of ultratrace levels of selenium and tellurium in cow milk, *Analytica Chimica Acta* 481(2) (2003) 291-300.

[5] J. Dai, F.L. Ren, C.Y. Tao, Y. Bai, Synthesis of cross-linked chitosan and application to adsorption and speciation of Se (VI) and Se (IV) in environmental water samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *International Journal of Molecular Science* 12(6) (2011) 4009-4020.

[6] M. He, S. Su, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic selenium and tellurium in environmental water samples by polyaniline functionalized magnetic solid phase extraction coupled with ICP-MS detection, *Talanta* 207 (2020) 120314.

[7] B. Welz, M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3era ed., WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Alemania, 1998.

[8] B. Fernández, L. Lobo, R. Pereiro, *Atomic Absorption Spectrometry | Fundamentals, Instrumentation and Capabilities*, en: P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, M. Miró (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*, Academic Press, Oxford, Reino Unido, 2019, pp. 137-143.

[9] B. Welz, H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, *High-Resolution Continuum Source AAS: The Better Way to Do Atomic Absorption Spectrometry*, 1era ed., Wiley, New Jersey, 2005.

[10] M. Moldovan, *Atomic Absorption Spectrometry—Flame*, en: P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, M. Miró (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*, Academic Press, Oxford, Reino Unido, 2019, pp. 129-136.

[11] M. Burylin, A. Pupyshev, Atomic absorption spectrometry | Electrothermal, en: P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, M. Miró (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*, Academic Press, Oxford, Reino Unido, 2019, pp. 117-128.

[12] *Atomic Spectroscopy - A Guide to Selecting the Appropriate Technique and System*, Perkin Elmer, Massachusetts, EEUU, 2013.

[13] S. Narimani-Sabegh, E. Noroozian, Magnetic solid-phase extraction with copper ferrite nanoparticles for the separation and preconcentration of ultra-trace amounts of tellurium (IV) ion in aqueous samples, *Journal of the Iranian Chemical Society* 16(1) (2019) 73-81.

[14] E. Yildirim, P. Akay, Y. Arslan, S. Bakirdere, O.Y. Ataman, Tellurium speciation analysis using hydride generation in situ trapping electrothermal atomic absorption spectrometry and ruthenium or palladium modified graphite tubes, *Talanta* 102 (2012) 59-67.

[15] L.C. Robles, J.C. Feo, B. de Celis, J.M. Lumbreras, C. García-Olalla, A.J. Aller, Speciation of selenite and selenate using living bacteria, *Talanta* 50(2) (1999) 307-325.

[16] D. Sanchez-Rodas, W. Corns, B. Chen, P. B. Stockwell, Atomic Fluorescence Spectrometry: A suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 25 (2010) 933-946.

[17] D.J. Butcher, Atomic Fluorescence Spectrometry, en: P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, M. Miró (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*, Academic Press, Oxford, Reino Unido, 2019, pp. 201-208.

[18] P. Smichowski, D. Gómez, Spectroscopic and Chromatographic Techniques and Methodologies for the Determination of Metals, Metalloids and Ions in Atmospheric Aerosols, en: P.B.C. Forbes (Ed.), *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, Países Bajos, 2015, pp. 239-266.

[19] J. Broekaert, *Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas*, 2da ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, Alemania, 2005.

[20] S.J. Hill, A.S. Fisher, Atomic Fluorescence, Methods and Instrumentation, en: J.C. Lindon, G.E. Tranter, D.W. Koppenaal (Eds.), *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)*, Academic Press, Oxford, Reino Unido, 2017, pp. 65-69.

[21] M. Puanggam, P.K. Dasgupta, F. Unob, Automated on-line preconcentration of trace aqueous mercury with gold trap focusing for cold vapor atomic absorption spectrometry, *Talanta* 99 (2012) 1040-1045.

[22] Q. He, Z. Zhu, S. Hu, Plasma-induced vapor generation technique for analytical atomic spectrometry, *Reviews in Analytical Chemistry* 33(2) (2014) 111-121.

[23] S.N. Hanna, B.T. Jones, A Review of Tungsten Coil Electrothermal Vaporization as a Sample Introduction Technique in Atomic Spectrometry, *Applied Spectroscopy Reviews* 46(8) (2011) 624-635.

[24] Z. Zou, J. Hu, F. Xu, X. Hou, X. Jiang, Nanomaterials for photochemical vapor generation-analytical atomic spectrometry, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 114 (2019) 242-250.

[25] M.L. Chen, M.I. An, Selenium adsorption and speciation with Mg-FeCO₃ layered double hydroxides loaded cellulose fibre, *Talanta* 95 (2012) 31-35.

[26] W. Yang, Y. Gao, L. Wu, X. Hou, C. Zheng, X. Zhu, Preconcentration and in-situ photoreduction of trace selenium using TiO₂ nanoparticles, followed by its determination by slurry photochemical vapor generation atomic fluorescence spectrometry, *Microchimica Acta* 181(1-2) (2014) 197-204.

[27] J.R. Zhou, D.Y. Deng, K. Huang, Y.F. Tian, X.D. Hou, Simultaneous determination of Se and Te in ores by HG-AFS after online preconcentration with nano-TiO₂ immobilized on silica gel, *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi/Spectroscopy and Spectral Analysis* 35(9) (2015) 2401-2406.

[28] A. Castro Grijalba, E.F. Fiorentini, R.G. Wuilloud, Ionic liquid-assisted separation and determination of selenium species in food and beverage samples by liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Journal of Chromatography A* 1491 (2017) 117-125.

Capítulo 2

REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

2.1. REACTIVOS Y MATERIALES

2.1.1. Agua ultrapura

A lo largo de todo el desarrollo experimental de esta tesis se utilizó agua ultrapura obtenida con un purificador de agua Osmoion-U-0,5 (APEMA, Buenos Aires, Argentina), asegurándose un valor de resistividad de 18 M Ω ·cm. El sistema de purificación se alimentó con agua destilada obtenida con un destilador modelo FM4 (Sigmay, Córdoba, Argentina).

2.1.2. Soluciones patrón y soluciones concentradas

Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico y la ausencia de Se y/o Te fue confirmada en todos aquellos en los cuales su presencia no era esperada.

2.1.2.1. Patrones de Se y Te

Soluciones patrón de 1000 mg L⁻¹ de Se(IV) y Se(VI) fueron preparadas a partir de selenito de sodio (Na₂SO₃, 99%, Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, EEUU) y selenato de sodio (Na₂SO₄, 98%, Sigma-Aldrich), respectivamente. En ambos casos, el medio fue ajustado con ácido clorhídrico (HCl, 37% v/v, Merck, Darmstadt, Alemania) de

concentración 0,1 mol L⁻¹. Las soluciones patrón se conservaron a 4 °C y, a partir de ellas, se prepararon semanalmente soluciones de 10 mg L⁻¹ con agua ultrapura. Estas últimas fueron utilizadas para la preparación de las soluciones de trabajo diluidas requeridas diariamente.

Las soluciones patrón de concentración de 1000 mg L⁻¹ de especies orgánicas de Se se prepararon de manera similar a la descrita previamente. Sin embargo, en estos casos se utilizó seleno-L-metionina (CH₃SeCH₂CH₂CH(NH₂)COOH, 98%, Sigma-Aldrich) y selenometilseleno-L-cisteína (CH₃SeCH₂CH(NH₂)COOH, 95%, Sigma-Aldrich) y las soluciones se prepararon utilizando agua ultrapura. Estas fueron conservadas a 4 °C, mientras que las soluciones de trabajo de menor concentración fueron preparadas con agua ultrapura el mismo día de uso.

Las soluciones patrón de Te(IV) y Te(VI) fueron preparadas a partir de telurito de sodio (Na₂TeO₃, 99%) y ácido telúrico (Te(OH)₆, ≥ 99.0%), respectivamente, ambos de la marca Sigma-Aldrich. Al igual que los patrones de Se, estas soluciones madre se prepararon en HCl 0,1 mol L⁻¹ y fueron almacenadas a 4 °C. Diluciones a 10 mg L⁻¹ de concentración fueron preparadas con agua ultrapura con frecuencia semanal, a partir de las cuales se obtuvieron las soluciones de trabajo de uso diario.

2.1.2.2. Modificadores de matriz para ETAAS

Paladio

Solución de 500 mg Pd L⁻¹ de concentración. Se obtuvo disolviendo 31,3 mg de nitrato de paladio dihidratado (Pd(NO₃)₂·2H₂O, ≥ 99,99%, Fluka, Buchs, Suiza) en 25 mL de una solución acuosa de ácido nítrico (HNO₃, 65% (m/m), Ultrex[®] II Mallinckrodt Baker, Nueva Jersey, EEUU) al 0,1% (v/v).

Cobre

Solución de 500 mg Cu L⁻¹ de concentración. Se preparó disolviendo 58,1 mg de nitrato cúprico hexahidratado (Cu(NO₃)₂·6H₂O, 99,99%, Sigma-Aldrich) en 25 mL de una solución acuosa de ácido nítrico al 0,1% (v/v).

2.1.2.3. Agente reductor para HG-AFS: NaBH₄

Las soluciones fueron de concentraciones diversas en función de las necesidades particulares. Se prepararon a partir de una masa conocida de NaBH₄

(Fluka), disuelta en una solución de agua ultrapura basificada con 0,05% (p/v) de NaOH (98%, Sigma-Aldrich). En todas las ocasiones, esta solución se preparó inmediatamente antes de su uso.

2.1.2.4. Agentes complejantes

La estructura de los agentes complejantes utilizados en la presente tesis se presenta en la Figura 2.1.1.

Pirrolidinditiocarbamato de amonio (APDC)

5,00 mL de solución madre de APDC ($C_5H_9NS_2NH_3$, 99%, Sigma-Aldrich) se prepararon semanalmente a una concentración de 1,0% (p/v) a partir de 50,5 mg del reactivo en cantidad suficiente de etanol absoluto (99%, Sintorgan, Buenos Aires, Argentina). Esta solución se mantuvo almacenada a 4 °C en ausencia de luz durante la semana de uso debido a la baja estabilidad del reactivo. Las soluciones de uso diario se prepararon a partir de la solución madre inmediatamente antes de ser utilizadas, con agua ultrapura como solvente, y fueron descartadas luego de su utilización.

Dietilditiocarbamato de sodio (DDTC)

Las soluciones madre al 1,0% (p/v) de DDTC [$(C_2H_5)_2NCS_2Na$, 99%, Sigma-Aldrich] se prepararon de manera análoga a las de APDC, con las mismas consideraciones respecto a su estabilidad para su utilización.

Dietilditiofosfato de amonio (DDTP)

Las soluciones madre al 1,0% (p/v) de DDTP [$(C_2H_5O)_2P(S)SNH_4$, 95%, Sigma-Aldrich] se prepararon a partir de 53,0 mg del reactivo en 5,00 mL de agua ultrapura. Esta se mantuvo almacenada a 4 °C y, debido a la mayor estabilidad en relación con el ADPC y el DDTC, no se requirió su renovación semanal. Las soluciones diarias de trabajo se prepararon a partir de la solución madre con agua ultrapura como diluyente.

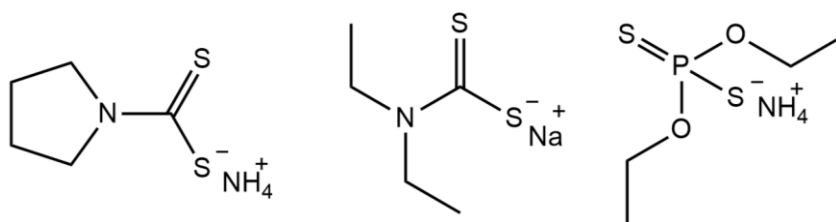


Fig. 2.1.1. Estructura de los agentes complejantes utilizados en la presente Tesis. De izquierda a derecha: pirrolidinditiocarbamato de amonio, dietilditiocarbamato de sodio y dietilditiofosfato de amonio.

2.1.2.5. Tensoactivos

Soluciones al 5,0% (p/v) de los tensoactivos no-iónicos Triton X-114 (99%, Sigma Aldrich) y Triton X-100 (99%, Anedra, Buenos Aires, Argentina) fueron preparadas con agua ultrapura y conservadas a 4 °C. Las soluciones de uso diario de menor concentración se prepararon a partir de estas, utilizando también agua ultrapura.

2.1.2.6. Agente para el ajuste de fuerza iónica

Se utilizó nitrato de sodio (NaNO_3 , 99%, Sigma-Aldrich) para los ajustes de fuerza iónica. Las soluciones de distintas concentraciones se obtuvieron a partir de una solución madre de concentración 15% (p/v) en agua ultrapura

2.1.2.7. Soluciones buffer

Soluciones buffer de pH entre 2 y 5,5:

Para este rango se utilizaron buffers formados por los pares ácido cítrico/citrato diácido (pH = 2 – 3,5) o citrato diácido/citrato ácido (pH = 3,5 – 5,5). En todos los casos se prepararon a partir de una solución de ácido cítrico (99,5%, Sigma-Aldrich) 0,5 mol L^{-1} en agua ultrapura, ajustada con una solución de NaOH 1 mol L^{-1} hasta el pH deseado.

Soluciones buffer de pH entre 6 y 7,5:

En este rango se prefirieron buffers fosfato ácido/fosfato diácido. Estos se obtuvieron a partir de fosfato diácido de sodio (99%, Fluka) 0,5 mol L^{-1} en agua ultrapura y un ajuste hasta el valor de pH deseado utilizando HCl 1 mol L^{-1} .

Soluciones buffer de pH entre 8 y 9:

En este rango se utilizó el buffer TRIS: 2-amino-2-hidroximetilpropano-1,3-diol y su ácido conjugado. Su obtención se llevó a cabo a partir de una solución acuosa de TRIS-HCl (Sigma-Aldrich) 0,5 mol L^{-1} y el pH se ajustó al valor deseado utilizando NaOH 1 mol L^{-1} .

Soluciones buffer de pH entre 9 y 10:

El par amoníaco/amonio fue el elegido para este rango. Los buffers se obtuvieron a partir de una solución 0,5 mol L^{-1} de hidróxido de amonio (NH_4OH , JT Baker, Xalostoc, México), ajustando al valor deseado con HCl 1,0 mol L^{-1} .

2.1.2.8. Sonda fluorescente: Laurdan

La solución madre de Laurdan (2-dimetilamino-6-dodecanoilnaftaleno, Thermo Fischer Scientific, Eugene, Oregon, EEUU) de concentración $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ se preparó en etanol absoluto y se almacenó a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ entre usos. Al momento de su utilización, se templó a temperatura ambiente hasta retomar el estado líquido y la solución madre se adicionó directamente a las muestras previo a las determinaciones por espectrofluorimetría.

2.1.3. Líquidos iónicos

Las propiedades relevantes para aplicaciones en microextracción de algunos ILs utilizados durante el desarrollo de la presente tesis se encuentran resumidas en la Tabla 1.2.3.1. Los ILs de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, con la excepción de $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ y $[\text{C}_{16}\text{mim}]\text{Br}$, que fueron sintetizados en nuestro laboratorio según la metodología propuesta por Baltazar y colaboradores, a partir de metilimidazolio y los correspondientes halogenuros de alquilo, tal como se presenta en la Figura 2.1.2 [1]. La identidad de estos fue confirmada tras su caracterización por espectroscopía infrarroja y resonancia magnética nuclear. Por otro lado, el metilsulfato de tributilmetilfosonio ($[\text{P}_{4,4,4,1}]\text{CH}_3\text{SO}_4$) fue adquirido de Sigma-Aldrich y se utilizó de manera directa. Las estructuras de todos los ILs utilizados a lo largo de esta tesis se pueden observar en la Figura 2.1.3.

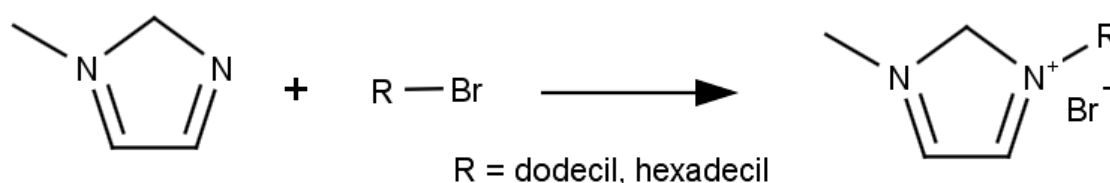


Fig. 2.1.2. Reacción de obtención de líquidos iónicos de la familia de los 1-alkil-3-metilimidazolios.

Al tratarse de ILs solubles o parcialmente solubles en agua, se prepararon soluciones acuosas para su utilización diaria. En todos los casos, 50 mL de soluciones al 5,0% (p/v) fueron obtenidas pesando 2,5 g de IL, seguido de su disolución en 50 mL de agua ultrapura. En el caso particular del bromuro de 1-hexadecil-3-metilimidazolio, un paso de calentamiento fue necesario para acelerar la disolución. Estas soluciones

fueron almacenadas a 4 °C y se utilizaron de manera directa o como precursoras de soluciones más diluidas, utilizando siempre agua ultrapura como diluyente.

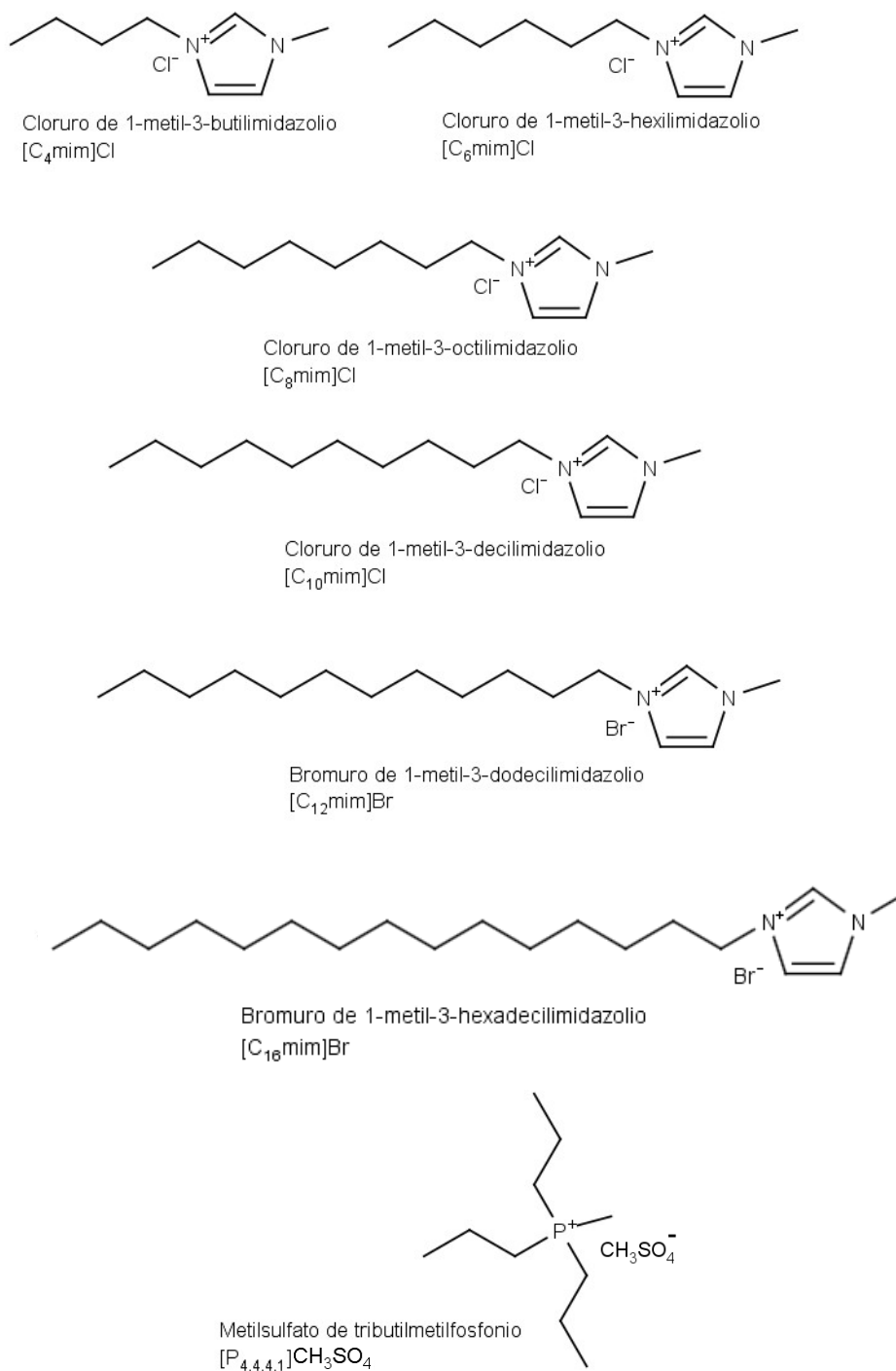


Fig. 2.1.3. Estructura química de los líquidos iónicos utilizados en la presente Tesis.

2.1.4. Sorbentes nanoestructurados

2.1.4.1. Nanosílica

Sílica pirogénica nanoestructurada, utilizada tanto en estado puro como funcionalizada con líquidos iónicos, fue adquirida de Sigma-Aldrich. Su pureza era del 99,8% y su tamaño medio de partícula de 12 nm. Su área superficial, determinada a través del método BET, era de entre 175 y 225 m² g⁻¹, según las especificaciones del fabricante. Tanto su utilización directa como su funcionalización con ILs se llevó a cabo en suspensiones obtenidas por agitación vórtex de mezclas del material con agua ultrapura.

2.1.4.2. Preparación del nanomaterial híbrido Fe₃O₄@SiO₂@PIL

Un material compuesto nanoestructurado fue utilizado como sorbente para M-D-μ-SPE en la Sección 3.3 del capítulo de resultados y discusión. Este estaba compuesto por nanopartículas magnéticas (MNPs) de Fe₃O₄ recubiertas con sílica aminada entrecruzadas en la estructura de un PIL y su síntesis estuvo basada en un reporte previo [2]. La polimerización utilizada se fundamentó en la reacción de Radziszewski, que es una policondensación de una diamina en presencia de glioxal, formaldehído y un ácido (HX). La reacción dio como resultado un PIL con la estructura mostrada en la Figura 2.1.4.a, donde el contraión depende del ácido HX utilizado durante la síntesis. Las MNPs modificadas con (3-aminopropil)triethoxisilano (APTES) son poliaminas que pueden participar de la reacción en diferentes maneras. En este caso, actuaron como soporte para el crecimiento del PIL, tal como se muestra en la Figura 2.1.4.b. Adicionalmente, dos MNPs pueden acoplarse a través de una cadena polimérica, como se observa en la Figura 2.1.4.c. Las figuras 2.1.4 b y c muestran situaciones simples donde únicamente uno de los grupos amino de cada MNP forma parte de la reacción. Sin embargo, todos los grupos amino pueden involucrarse en la misma, hasta que el impedimento estérico lo hace imposible. En consecuencia, el material resultante mostró una estructura compleja con múltiples anillos imidazolio y con propiedades magnéticas, por la presencia de las MNPs en la red polimérica.

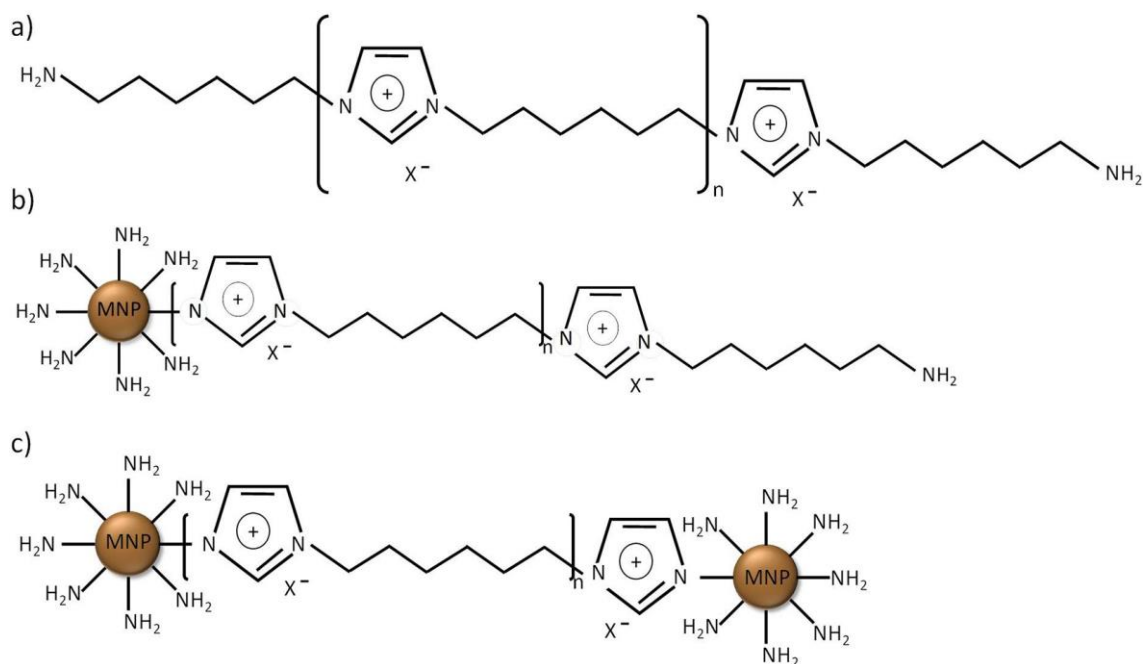


Fig. 2.1.4. Representación esquemática del material nanoestructurado magnético compuesto $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$. a) Estructura general del líquido iónico polimérico, donde el contraión es derivado del ácido (HX) utilizado durante la síntesis. b) Nanopartícula magnética actuando como soporte para el crecimiento del líquido iónico polimérico. c) Nanopartículas magnéticas acopladas por una cadena polimérica.

En resumen, la síntesis se inició con el mezclado de 24 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 9,8 g de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en una solución que luego se sometió a una co-precipitación por adición gota a gota de 50 mL de amoníaco 25% (p/v) bajo atmósfera inerte de N_2 . El producto fue separado con un imán externo. Luego, las MNPs obtenidas fueron recubiertas con una capa de sílica aminada tras la adición de 8,0 mL de APTES por cada 4,0 mg de NPs dispersadas por ultrasonido en una mezcla etanol/agua. Finalmente, el material polimérico compuesto fue obtenido *in situ* en presencia de las nanopartículas recubiertas con grupos $-\text{NH}_2$. Para esto, una cantidad de 978 mg de hexametildiamina, 1,46 mL de agua y 96 μL de ácido acético (99%) fueron adicionados a una suspensión de las nanopartículas magnéticas $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH}_2$. Tras 1 h de agitación ultrasónica, 965 μL de una solución al 40% (v/v) de glioxal y 625 μL de formaldehído fueron adicionados y la mezcla fue ultrasonificada durante 4 h y luego agitada durante 12 h a 60 °C. El material compuesto resultante fue separado utilizando un imán externo, lavado con agua y metanol y secado durante 24 h a 80 °C. Todos los reactivos fueron de Sigma-Aldrich. El material fue caracterizado por espectroscopía FTIR, análisis elemental, potencial zeta, microscopía de transmisión electrónica, difracción por rayos X y dispersión de luz dinámica, con los resultados reportados en [2].

2.1.5. Iones interferentes

Para los estudios de potenciales interferentes en las metodologías analíticas desarrolladas, se prepararon soluciones de aniones y cationes a partir de patrones de elevada calidad analítica, tanto desde soluciones madre de 1000 mg L⁻¹ como desde los patrones sólidos. Las diluciones correspondientes para cada aplicación específica se realizaron en el mismo momento de su utilización.

2.1.6. Otros reactivos generales

- Ácido sulfúrico (97%, Merck)
- Acetato de etilo (99,8%, Sigma-Aldrich)
- Cloroformo (98% (p/v), Merck)
- Metil isobutil cetona (99%, Sigma-Aldrich)
- Metanol (99% (v/v), Sintorgan, Buenos Aires, Argentina)
- Peróxido de hidrógeno (30% (p/v), Merck)
- Persulfato de potasio (99%, Sigma-Aldrich)

2.2. INSTRUMENTACIÓN

2.2.1. Espectrómetro de absorción atómica

Las determinaciones de Se y Te que se realizaron por AAS se llevaron a cabo utilizando un espectrómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer (Überlingen, Alemania) modelo 5100PC, cuya imagen se puede observar en la Figura 2.2.1, con una unidad de atomización electrotérmica de la misma marca y modelo 5100ZL. Esta última permitía realizar la corrección de fondo por efecto Zeeman, en adición a la más tradicional corrección con lámpara de deuterio. Si bien el equipo cuenta con atomizadores de llama y por generación de hidruros también, todas las determinaciones de la presente Tesis Doctoral se llevaron a cabo electrotérmicamente e incluyeron el uso de una plataforma tipo L'vov insertada en hornos de grafito calentados transversalmente, utilizando Ar como gas inerte. El software WindLab32 de Perkin Elmer se utilizó para la adquisición y tratamiento de datos.



Fig. 2.2.1. Espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer 5100 PC utilizado a lo largo de la presente Tesis.

La fuente de radiación para las determinaciones de Se fue una EDL (Perkin Elmer), operada desde un módulo EDL del mismo fabricante acoplado al espectrómetro, a una intensidad de corriente de 210 mA y con una longitud de onda de emisión máxima

de 196,0 nm. Para las determinaciones de Te se utilizó una HCL (SCP Science, Québec, Canadá) operada desde el software del espectrómetro, cuya intensidad de corriente de funcionamiento fue de 15 mA y su longitud de onda máxima de emisión de 214,3 nm. Los parámetros instrumentales restantes se optimizaron para cada uso del equipo y se encuentran discutidos para cada caso particular en la sección de resultados y discusión.

2.2.2. Espectrómetro de fluorescencia atómica

Las determinaciones de los elementos por la técnica HG-AFS se llevaron a cabo con un espectrómetro de fluorescencia atómica Rayleigh AF-640A (Beijing Rayleigh Analytical Instrument Corp., Beijing, China), con un módulo de atomización por llama de difusión. Una imagen del equipo instalado en el laboratorio se presenta en la Figura 2.2.2. Se utilizaron lámparas tipo HCL tanto para Se como para Te (Beijing General Research Institute for Non-Ferrous Metals, Beijing, China), operadas a 196,0 nm (Se) y 214,3 nm (Te). La adquisición de datos se controló desde el software AF-640A, provisto con el equipo. Los parámetros relacionados con la generación de hidruros y con el detector se optimizaron en función de las necesidades específicas de cada una de las aplicaciones de la técnica. Las condiciones óptimas y la discusión asociada se presentan en la sección de resultados y discusión.

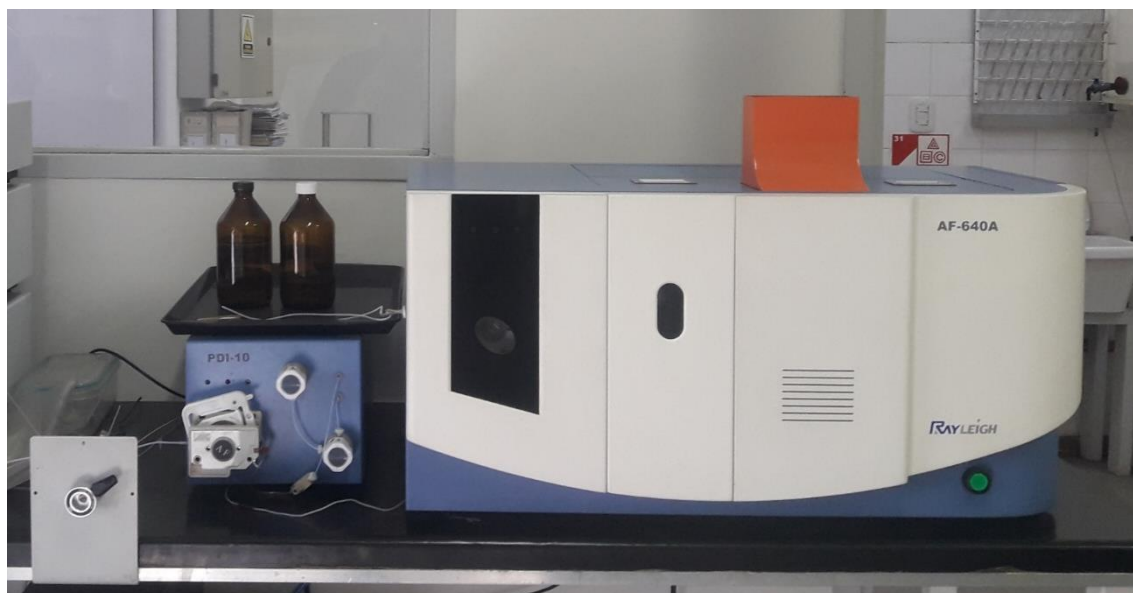


Fig. 2.2.2. Espectrómetro de fluorescencia atómica Beijing Rayleigh Analytical Instrument Corp. AF-640A utilizado a lo largo de la presente Tesis.

2.2.2.1. Generador de hidruros de bajo volumen

Para las mediciones por HG-AFS en volúmenes reducidos de eluato se acopló al espectrómetro AFS una unidad externa de generación de hidruros miniaturizada, de manera de minimizar el efecto de dilución provocado por el volumen muerto del generador de hidruros incluido en el equipo. Una representación esquemática de esta unidad se presenta en la Figura 2.2.3. El sistema consistió en una válvula de seis puertos y dos posiciones (Oak Harbor, WA, EEUU) con un bucle de carga de teflón de volumen variable, conectado por tubos del mismo material a una bomba peristáltica Minipuls 3 (Gilson, Villiers Le-Bell, Francia) para el bombeo de la solución transportadora ácida. En la posición de *carga*, el bucle se encontraba conectado con el puerto de carga mientras que la solución transportadora ácida fluía directamente hacia el separador gas-líquido de 2,2 mL de volumen. En la posición de *inyección*, la solución transportadora ácida se mezclaba con la muestra cargada y ambas se dirigían hacia el separador gas-líquido, donde se formaba el hidruro del analito por reacción con la solución reductora. La salida del separador gas-líquido se encontraba directamente conectada con el atomizador del espectrómetro. Simultáneamente, el sistema de generación de hidruros del espectrómetro (con un separador gas-líquido de 50 mL) se utilizó para la generación de una corriente adicional de H_2 para mantener la llama de atomización encendida y estable.

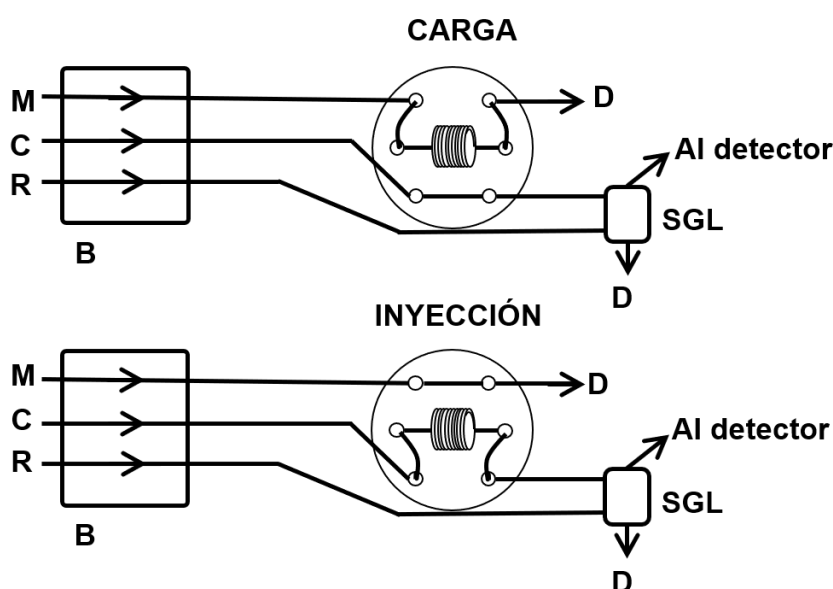


Fig. 2.2.3. Representación esquemática del generador de hidruros miniaturizado. M = muestra, C = solución transportadora ácida, R = solución reductora, B = bomba peristáltica, D = deshecho, SGL = separador gas-líquido.

2.2.3. Espectrofotómetros de infrarrojo

Durante el desarrollo de la presente Tesis Doctoral se utilizaron dos espectrofotómetros de infrarrojo:

- Un equipo Spectrum 100 (Perkin Elmer), en el cual se llevaron a cabo las determinaciones en modo de transmisión utilizando pastillas de KBr. Los espectros se adquirieron en el rango de 400 – 4000 cm^{-1} y se utilizó el promedio de 30 mediciones para el análisis de señales. Este equipo se utilizó para la caracterización del material híbrido nanosílica-IL utilizado en la Sección 3.2 del capítulo de resultados y discusión. La adquisición y manipulación de los espectros se llevó a cabo con el software Spectrum, provisto con el equipo.
- Un equipo Spectrum Two con módulo UATR (Perkin Elmer), en el cual se llevaron a cabo determinaciones en modo de reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros se adquirieron en el rango entre 450 y 4000 cm^{-1} , utilizando directamente los sólidos en polvo. El promedio de 8 mediciones fue utilizado para el análisis espectral. Este equipo se utilizó para la caracterización de la interacción entre la sílica nanoestructurada y el complejo Se(IV)-APDC presentada en la Sección 3.1 del capítulo de resultados y discusión. La adquisición y manipulación de los espectros se llevó a cabo con el software Spectrum, provisto con el equipo.

2.2.4. Espectrofluorímetro

Para las determinaciones de fluorescencia molecular de la Sección 3.4 del capítulo de resultados y discusión, un espectrofluorímetro RF-6000 (Shimadzu, Tokio, Japón) fue utilizado. En todas las mediciones se utilizaron anchos de banda de excitación y emisión de 3,0 y 1,5 nm, respectivamente, y una velocidad de escaneo de 600 nm min^{-1} . La adquisición y tratamiento de datos se realizó con el software LabSolutions RF, provisto con el equipo.

2.2.5. Microscopio electrónico

Se utilizó un microscopio de transmisión electrónica modelo EM900 (Carl Zeiss, Jena, Alemania) equipado con una cámara CCD de alta definición ORIUS® SC1000-832 (Gatan Inc., Nuffield, Reino Unido). Con este se caracterizaron los materiales utilizados

en las secciones 3.1 y 3.2. Todas las imágenes se tomaron a dispersiones acuosas secas de los materiales sobre grillas de cobre, a 80 kV.

2.2.6. Sistemas de flujo

Para impulsar soluciones en los sistemas en flujo presentados en la Sección 3.5, se utilizaron bombas peristálticas Minipuls 3 (Gilson), operadas con tuberías de Tygon® (Sigma-Aldrich). Estas se conectaron con adaptadores de teflón (Perkin Elmer) a microcanales del mismo material. Las columnas de vidrio borosilicato fueron construidas en el laboratorio con adaptadores de silicona para la conexión de los microcanales. Las válvulas de 6 vías y dos posiciones (Oak Harbor) fueron incorporadas con adaptadores de teflón y operadas manualmente.

2.2.7. Sistema de centrifugación

La separación de fases durante el desarrollo de los métodos analíticos de microextracción y otras actividades de preparación de muestras se realizaron con una centrífuga LC 15 (Luguimac, Buenos Aires, Argentina) con capacidad de 16 tubos de 15 mL o de 4 tubos de 50 mL, de velocidad variable. Esta disponía de un rango de programación de 0 a 99 minutos con incrementos de 1 minuto y de 0 a 3500 revoluciones por minuto (equivalente a 2090xg) con incrementos de una unidad.

2.2.8. Mediciones de pH

Las determinaciones de pH se llevaron a cabo con un pH-metro modelo F-51 (Horiba, Kyoto, Japón). Se utilizaron indistintamente dos electrodos de vidrio rellenos con una solución acuosa interna saturada de KCl, modelos 9611-10D y 9615S-10D, ambos del mismo fabricante que el pH-metro. Se llevó a cabo la calibración del equipo previo a cada uso utilizando buffers patrón de pH 4,00 (ácido cítrico/citrato), 7,00 (fosfato diácido/fosfato ácido) y 10,00 (ácido bórico, borato), provistos por Merck.

2.2.9. Sistemas de agitación mecánica

Se utilizaron dos tipos de agitación:

- Agitación vórtex, utilizando indistintamente un agitador Bio Vortex V1 (Boeco, Hamburgo, Alemania) y uno modelo Vortex, (Vicking, Buenos Aires, Argentina). Ambos operaban a una velocidad fija de 2800 revoluciones por minuto.
- Agitación ultrasónica, con un baño ultrasónico (40 kHz y 600 W) con control de temperatura, adquirido de Test Lab (Buenos Aires, Argentina).

2.2.10. Baño termostático

Se utilizó un baño termostático Masson Digital (Vicking), con capacidad de calentamiento hasta 95 °C con incrementos de 1 °C.

2.2.11. Medición de microvolúmenes

La medición de microvolúmenes durante la preparación de soluciones se llevó a cabo con micropipetas de succión y desplazamiento de aire de volumen variable de marca Pipetman® P (Gilson) y Genex (BioAnalytical, Buenos Aires, Argentina).

2.2.12. Balanzas

Todas las pesadas se llevaron a cabo con una balanza analítica OHAUS® (Pioneer, Nänikon, Suiza), con sensibilidad hasta la décima de miligramo.

2.2.13. Material de vidrio

Se dispuso del material de vidrio necesario tanto de grado volumétrico como de uso general. En todos los casos, los materiales fueron lavados previo a su uso por inmersión durante al menos 24 h en una solución de HNO₃ al 10% (v/v), seguido por sucesivos enjuagues con agua destilada y agua ultrapura.

2.2.14. Software

Adicionalmente a la adquisición y tratamiento de datos llevados a cabo con los softwares correspondientes a los distintos instrumentos de medición, el análisis de datos secundario se realizó utilizando Microsoft Excel Profesional Plus 2016 (Microsoft, Washington, EEUU) y Origin Pro 8.6 (OriginLab Corp., Northampton, MA, EEUU). El primero se empleó para la visualización y tratamiento matemático general de resultados y el segundo para el análisis estadístico de los mismos.

2.3. Muestras

2.3.1. Recolección y almacenamiento

Las muestras de agua de canilla se colectaron en botellas de polietileno de alta densidad (HDPE) desde una canilla doméstica en la Ciudad de Mendoza, Mendoza, Argentina, tras dejar correr el agua durante aproximadamente 20 minutos para eliminar el agua presente en las cañerías internas y muestrear agua de red. Se tomaron aproximadamente 500 mL de muestra en cada caso y su análisis se llevó a cabo inmediatamente después de su recolección.

Las muestras de agua subterránea, de río y de mar se tomaron también en botellas de HDPE limpias. En todos los casos se muestrearon aproximadamente 500 mL a una profundidad de 5 cm, que se filtraron con filtros de teflón de 0,45 μm de tamaño de poro (Merck Millipore Corp., Burlington, MA, EEUU) y se almacenaron a -20 °C. En caso de presentar residuos de arena, un paso de centrifugación y separación se incluyó antes de la filtración. Previo a su utilización, las muestras se templaron a temperatura ambiente para recuperar su estado líquido. Las muestras de agua subterránea utilizadas en la presente tesis se obtuvieron de pozos ubicados en la ciudad de Lavalle, Mendoza, Argentina. Las muestras de agua de río se tomaron en el Río Mendoza, Las Heras, Mendoza, Argentina y en el Río Grande, La Carolina, San Luis, Argentina. El agua de mar se obtuvo de la costa de Viña del Mar, Valparaíso, Chile y de la costa de La Serena, Coquimbo, Chile.

Las muestras de lluvia se tomaron en recipientes de HDPE durante eventos de precipitación en la Ciudad de Mendoza y se utilizaron inmediatamente después de su recolección.

Las muestras de suelos se tomaron en diversas locaciones de la Ciudad de Mendoza y se transportaron al laboratorio en bolsas selladas de almacenamiento. Una vez recibidas, se secaron a 60 °C durante 4 h y se almacenaron a -20 °C. Las muestras de sedimentos se tomaron en la cuenca del Río Mendoza y en la represa de Potrerillos, Luján de Cuyo, Mendoza y se trasladaron y trataron de forma idéntica a las muestras de suelo.

2.3.2. Lixiviación de muestras sólidas

Dada la inexistencia en la literatura de un protocolo totalmente estandarizado para la extracción de Se y Te desde suelos y sedimentos, se eligió al agua como solvente de extracción para el análisis de estas muestras, ya que la solución acuosa es la principal fuente de elementos y nutrientes para plantas y microorganismos [3]. Los lixiviados de suelo y sedimentos fueron obtenidos a través del siguiente procedimiento: 10 g de muestra seca se mezclaron con 50 mL de agua ultrapura y se mezclaron durante 2 h con un agitador magnético a temperatura ambiente. Las fases se separaron posteriormente por centrifugación a 2090xg durante 30 min, descartándose el sólido. Finalmente, la solución resultante fue filtrada con filtros de tamaño de poro 0,45 μm previo a su análisis.

2.3.3. Tratamiento de las muestras de alimentos

La muestra de ajo (clon blanco tipo "Nieve") se obtuvo de la colección de germoplasma del Instituto Nacional de Tecnología Agrícola (INTA, La Consulta, San Carlos, Mendoza). Las muestras de brócoli y puerro se compraron en tiendas locales en la Ciudad de Mendoza, Mendoza. Estas se lavaron con agua destilada y se pelaron a mano. Las partes comestibles fueron congeladas, cortadas en piezas pequeñas, liofilizadas y finalmente pulverizadas con un molinillo. El polvo fino resultante se guardó en bolsas selladas de polietileno dentro de un congelador a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Con el objetivo de no afectar la distribución de especies durante el tratamiento de muestras, se decidió seguir un protocolo de extracción previamente publicado que no involucra su digestión completa. En síntesis: 0,10 g de las muestras liofilizadas fueron pesados dentro de un tubo de polietileno de 25 mL y se agregaron 10 mL de HCl 0,10 mol L⁻¹. El mezclado completo se realizó utilizando un agitador ultrasónico durante 10 min y el extracto ácido se separó por centrifugación a 2090xg durante 10 min. Posteriormente, el extracto se colectó con una pipeta Pasteur y se filtró con una membrana de nylon con poros de 45 μm [4].

2.3.4. Pre reducción de muestras

Cuando la estrategia de análisis de especiación así lo requirió, un paso de pre reducción fue llevado a cabo sobre alícuotas de las muestras. Para esto, se tomaron 15 mL de la muestra en cuestión y se los mezcló con 6,0 mL de HCl al 37% (v/v). La mezcla

fue luego calentada a 95 °C en un recipiente cerrado utilizando un baño termostático durante al menos 30 min. Luego de dejarla enfriar a temperatura ambiente, la muestra reducida se transfirió a un matraz aforado de 25 mL, donde su pH fue ajustado al valor necesario para su posterior tratamiento utilizando NaOH sólido y un buffer adecuado y se llevó a volumen con agua ultrapura.

2.4. Bibliografía

- [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(1) (2007) 150-156.
- [2] A. Castro-Grijalba, E.M. Reyes-Gallardo, R.G. Wuilloud, R. Lucena, S. Cárdenas, Synthesis of magnetic polymeric ionic liquid nanocomposites by the Radziszewski reaction, *RSC Advances* 7(68) (2017) 42979-42985.
- [3] C. Casiot, O.F.X. 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(1) (2002) 173-187.
- [4] N. Zhong, L. Zhong, L. Hao, C. Luan, X. Li, Speciation of Selenium in Enriched Garlic Sprouts by High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, *Analytical Letters* 48(1) (2015) 180-187.

Capítulo 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. NANOSÍLICA COMO SORBENTE EN MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA PARA EL ANÁLISIS DE ESPECIES DE SELENIO EN AGUAS

3.1.1. Introducción

El análisis de especiación es un eje esencial relacionado con los estudios de Se en el ambiente ya que, al igual que otros elementos, su movilidad, capacidad de incorporación a organismos y destino bioquímico dependen de la identidad de cada una de sus especies [1]. El Se es esencial como nutriente y, a la vez, es potencialmente tóxico para los seres humanos, con un rango de concentraciones reducido entre las dos situaciones [2]. Este elemento posee acción antioxidante a través de la actividad de enzimas esenciales (por ej.: glutatión peroxidasa) y juega un rol importante en diversas vías metabólicas relacionadas con los sistemas inmune y endócrino [3]. Más aún, la toxicidad y biodisponibilidad del Se varían ampliamente en función de su forma química. Las especies inorgánicas de Se son unas 40 veces más tóxicas que las orgánicas y, entre ellas, el Se(IV) es 10 veces más tóxico que el Se(VI) [4]. Estas últimas son las más frecuentemente encontradas en el ambiente como consecuencia del ciclo biogeoquímico del elemento y de la influencia antropogénica [5]. El límite máximo de concentración aceptable de Se en aguas de consumo humano ha sido establecido por la OMS como $0,04 \text{ mg L}^{-1}$ de Se total, mientras que el Código Alimentario Argentino sitúa este límite en $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ [6, 7].

Las bajas concentraciones de Se en muestras ambientales hacen de su análisis de especiación un desafío, ya que se requieren métodos analíticos de alta sensibilidad y precisión. La ICP-MS es una técnica instrumental adecuada para este fin, pero presenta inconvenientes cuando la matriz de la muestra es compleja. Además, su alto costo de adquisición, mantenimiento y operación hace que el acceso a la misma no sea fácil, especialmente en países en vías de desarrollo [8]. Sin embargo, detectores clásicos como ETAAS acoplados a técnicas de preconcentración y análisis de

especiación pueden proponerse como alternativas válidas y más accesibles para la cuantificación de este elemento, dada la excelente sensibilidad analítica lograda con estas combinaciones [9].

La nanotecnología ha revolucionado diversos campos de la ciencia, incluyendo la química analítica [10]. De hecho, el desarrollo de métodos de preconcentración ha hecho uso extensivo de diversos nanomateriales, aprovechando su gran relación área superficial-masa, que los hace ideales para microextracciones [11]. Adicionalmente, los avances en la manipulación superficial de estos materiales han permitido mejoras marcadas en su selectividad y han dado lugar a aplicaciones en matrices complejas [12]. Entre las distintas aplicaciones, el uso de nanomateriales en D- μ -SPE ha sido extensivo para la determinación y análisis de especiación elemental, logrando la retención rápida y eficiente de las especies utilizando cantidades de sorbente en el orden de los microgramos [13, 14].

Los nanomateriales basados en sílica con diversos grupos funcionales han sido universalmente reconocidos como buenos sorbentes para microextracción [15]. Algunas propiedades útiles como: gran área superficial, excelente resistencia mecánica, alta estabilidad química, propiedades superficiales bien definidas y tamaño reducido de poro, hacen a la sílica nanoestructurada ideal para técnicas basadas en SPE [16]. Si bien sus características hacen compleja la aplicación de este nanomaterial en la técnica SPE clásica, debido a la formación de aglomerados que no permiten el flujo de líquidos, la aplicación de metodologías dispersivas ha dado lugar al uso de materiales nanoestructurados sin los inconvenientes inherentes a esta técnica. En particular, las excelentes propiedades de la nanosílica han impulsado su uso en D- μ -SPE. Modificaciones con grupos mercaptopropilo [16], ácido 5-sulfosalicílico [17, 18] y grupos mercaptano [19] han sido aplicadas para la extracción y preconcentración de especies inorgánicas de Se desde varias muestras utilizándola. Sin embargo, la aplicación directa de este material sin modificaciones representa una alternativa interesante, dada la posibilidad de evitar procesos de funcionalización que insumen tiempo y reactivos. A pesar de estas aparentes ventajas, el uso de nanosílica sin funcionalizar para preconcentración y/o análisis de especiación de Se no había sido investigado aún al momento del desarrollo de esta Tesis Doctoral.

El objetivo de esta parte del trabajo de Tesis consistió en el desarrollo de un método simple y rápido, basado en la técnica D- μ -SPE, para la preconcentración y análisis de especiación de Se inorgánico utilizando nanosílica pura, evitándose pasos asociados a la funcionalización del material tales como la separación de fases y el

lavado y/o secado del material resultante. Para esto, se analizaron los distintos factores involucrados en la retención y la elución de Se con nanosílica, incluyendo el pH, la fuerza iónica y el uso de agentes quelantes. Adicionalmente, el proceso de adsorción del analito fue caracterizado a través del análisis de su isoterma de sorción sobre el material y por espectroscopía FTIR (Figura 3.1.1). Finalmente, el método desarrollado y optimizado fue aplicado para la determinación de especies inorgánicas de Se en agua de lluvia, canilla, subterránea y de mar, para demostrar su potencial de análisis en matrices con complejidades diversas, con excelentes resultados.

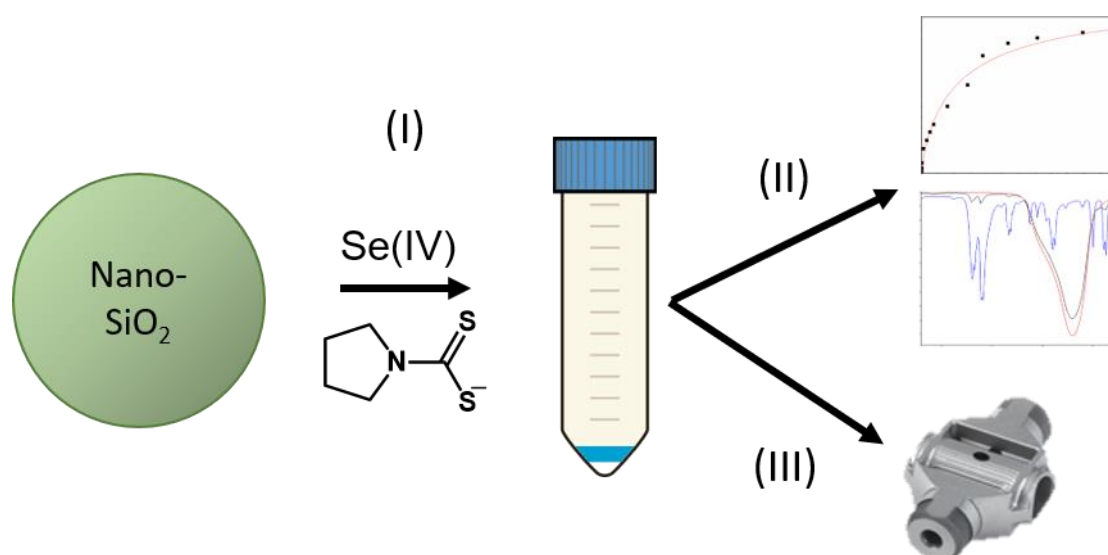


Fig. 3.1.1. Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.1. (I) Aplicación de la nanosílica para la retención de la especie Se(IV) complejada con APDC, (II) Caracterización de la interacción entre el complejo y la superficie del material, (III) Cuantificación del analito por ETAAS.

3.1.2. Procedimiento general de microextracción y preconcentración

Un volumen de 10 mL de muestra o de una solución de Se(IV) 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (para los estudios de optimización) fue inicialmente ajustado a pH = 2,0 utilizando 300 μL de buffer ácido cítrico/citrato de concentración 0,1 mol L^{-1} . A continuación, 80 μL de una solución 0,01% (p/v) de APDC en agua fueron agregados, seguido por 10 s de agitación manual para dar lugar a la formación del complejo Se(IV)-APDC. Luego, la muestra tratada fue mezclada con 1,0 mg de nanosílica en un tubo de centrifuga de vidrio y agitada durante 6 min con un agitador vórtex. Un paso de centrifugación de 4 min a 2090xg fue aplicado a continuación para separar las fases y el sobrenadante fue

fácilmente removido por inversión cuidadosa del tubo. Finalmente, el analito fue eluido por adición de 500 μL de acetato de etilo y agitación ultrasónica durante 15 min a 60 °C. El eluato fue separado de la fase sólida por centrifugación durante 5 min a 2090xg, secado en un tubo de vidrio a 60 °C y redisolto en 100 μL de acetato de etilo. Esta solución fue directamente inyectada en el horno de grafito para la determinación de Se por ETAAS, bajo las condiciones detalladas en la Tabla 3.1.1.

Como la retención de Se sobre la nanosílica se basó en la formación selectiva de un complejo entre la especie Se(IV) y el APDC, la estrategia para el análisis de especiación consistió en el análisis de una segunda alícuota de muestra sometida a una pre reducción (cuyo desarrollo detallado se presentó en la Sección 2.3.4). De esta manera, el análisis de esta alícuota por el método desarrollado permitió la determinación de la concentración de Se inorgánico total, a partir de la cual se pudo calcular la concentración de Se(VI) por diferencia.

3.1.3. Optimización de las condiciones de extracción y selectividad

Los parámetros asociados a las etapas de extracción y elución de los analitos, así como aquellos relacionados con la determinación instrumental por ETAAS, fueron evaluados con el objetivo de optimizar las distintas variables involucradas en el método. Un resumen de los resultados obtenidos se presenta en la Tabla 3.1.1 y una discusión en profundidad de los parámetros estudiados se presenta en las próximas subsecciones.

3.1.3.1. Elección del agente complejante

La derivatización de la especie Se(IV) con un agente quelante resultó ser un aspecto clave en esta parte del trabajo para lograr su retención sobre la nanosílica. Para esto, se evaluaron complejantes típicamente utilizados para la preconcentración de Se: APDC y DDTC (sus estructuras se pueden observar en la Figura 2.1.1), a valores de pH entre 1 y 4, que representan el rango en el cual la formación óptima de los complejos con Se(IV) ha sido reportada [20, 21]. Los resultados, presentados en la Figura 3.1.2, mostraron que en términos de porcentajes de extracción, el APDC resultó ser la mejor alternativa, ya que un 90% de extracción fue logrado con éste, mientras que el DDTC dio lugar a una extracción del 70% bajo las condiciones descritas en la Tabla 3.1.1.

Tabla 3.1.1. Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método D- μ -SPE-ETAAS con nanosílica desarrollado para la determinación de Se.

Longitud de onda	196,0 nm
Ancho de banda espectral	2,0 nm
Corriente de la lámpara (EDL)	210 mA
Modificadores de matriz	10 μ g Pd [como Pd(NO ₃) ₂] 10 μ g Cu [como Cu(NO ₃) ₂]

Programa de temperatura de atomización electrotérmica

Paso	T (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo (s)	Flujo de argón (mL min ⁻¹)
Secado de muestra	100	15	35	250
Inyección del modificador	30	15	30	0
Secado 1	110	1	30	250
Secado 2	130	15	30	250
Pirólisis 1	600	60	20	250
Pirólisis 2	900	10	20	250
Pirólisis 3	1300	20	20	250
Enfriamiento	300	1	15	250
Atomización	2100	0	3	0
Limpieza	2400	1	2	250

Condiciones de D- μ -SPE

Volumen de muestra	10 mL
Concentración de APDC	0,48 mmol L ⁻¹
pH	2,0
Masa de nanosílica	1,0 mg
Tiempo de extracción	6 min
Modo de agitación durante extracción	Vórtex
Tiempo de centrifugación	4 min
Eluyente	Acetato de etilo
Volumen de eluyente	500 μ L
Tiempo de elución	15 min
Temperatura de elución	60 °C
Modo de agitación durante elución	Ultrasonido
Volumen inyección ETAAS	100 μ L

Considerando el hecho de que la polaridad del complejo Se(IV)-APDC es menor que la del complejo Se(IV)-DDTC, estos resultados preliminares sugirieron que la interacción entre la nanosílica y el analito complejado se debió a una interacción de carácter poco polar.

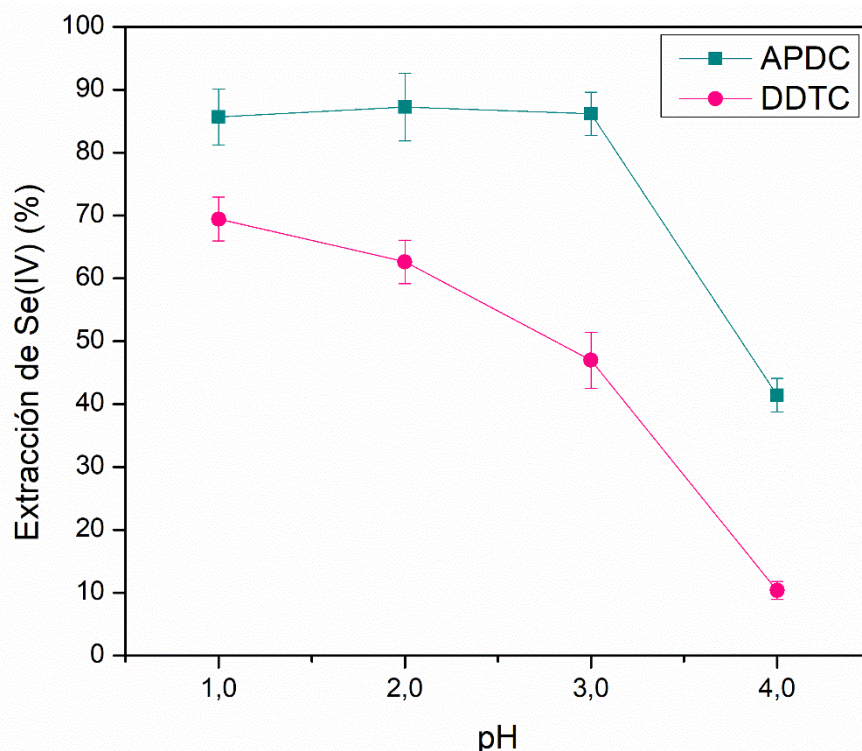


Fig. 3.1.2. Comparativa entre APDC y DDTC como complejantes para la extracción de Se(IV). Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Una vez que el APDC fue seleccionado como el agente complejante, el efecto de su concentración sobre la retención de Se(IV) fue estudiado. Concentraciones en el rango entre 0 y $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$ fueron ensayadas, con los resultados volcados en la Figura 3.1.3. Como se puede observar, la retención fue prácticamente nula en ausencia de agente complejante y la mayor eficiencia de extracción se obtuvo a partir de una concentración de APDC de $0,24 \text{ mmol L}^{-1}$, correspondiente a una relación molar APDC-Se(IV) de aproximadamente 100. De esta manera, para asegurar una capacidad de complejación adecuada para la formación completa del complejo Se(IV)-APDC, una concentración de $0,48 \text{ mmol L}^{-1}$ (el doble de la mínima necesaria para lograr el 100% de extracción) fue elegida para el resto de los experimentos.

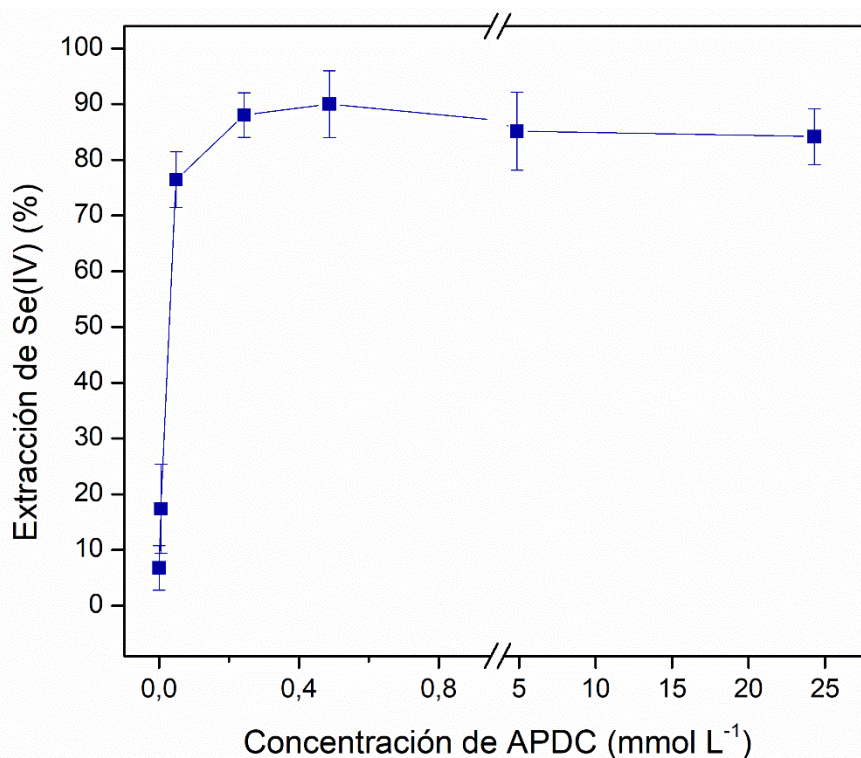


Fig. 3.1.3. Efecto de la concentración de APDC sobre la extracción de Se(IV). La concentración de Se fue de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ y se empleó $1,0 \text{ mg}$ de nanosílica. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.1.3.2. Efecto del pH

Dada la conocida dependencia de la formación del complejo Se(IV)-APDC con el pH, este parámetro fue considerado crucial para la retención selectiva del analito. La Figura 3.1.4 muestra un análisis más detallado de la influencia del pH sobre la extracción de Se(IV) y Se(VI), en presencia de APDC en una concentración de $0,48 \text{ mmol L}^{-1}$. Como se puede observar, la máxima extracción de Se(IV) se logró con valores de pH entre 0,2 y 3,0. Este resultado se puede atribuir a la combinación de dos factores: por un lado, la adecuada formación del complejo Se(IV)-APDC que, según una amplia variedad de reportes previos, se da más eficientemente en el rango de pH entre 0 y 4 en solución acuosa, lo cual es coincidente con lo observado [20]. Por otro lado, las propiedades superficiales de la nanosílica son también dependientes del pH del medio. En este contexto, el punto de carga cero es considerado un buen parámetro del estado de la superficie del material, ya que representa el pH en el cual su carga neta superficial se anula. Si bien el punto de carga cero varía en función del tamaño y morfología del material, su valor para la nanosílica suele encontrarse entre 1,8 y 3 [22]. Por encima de este valor, la superficie posee carga negativa, especialmente debido al desplazamiento

del equilibrio ácido-base de los grupos silanol superficiales ($\text{Si-OH} \rightleftharpoons \text{Si-O}^- + \text{H}^+$) hacia la forma desprotonada, cargada negativamente. Por debajo del punto de carga cero, en cambio, el equilibrio se desplaza hacia la forma protonada neutra, que no adquiere carga positiva dada la ausencia de grupos con carácter básico en estas condiciones [23]. De esta manera, se puede interpretar la caída en la extracción a partir de $\text{pH} = 3$ en adelante como una consecuencia de la aparición de carácter superficial negativo en el sorbente. Por debajo de este valor, en cambio, las características de la superficie se mantienen cercanas a la neutralidad de carga, permitiendo así la interacción con el complejo apolar.

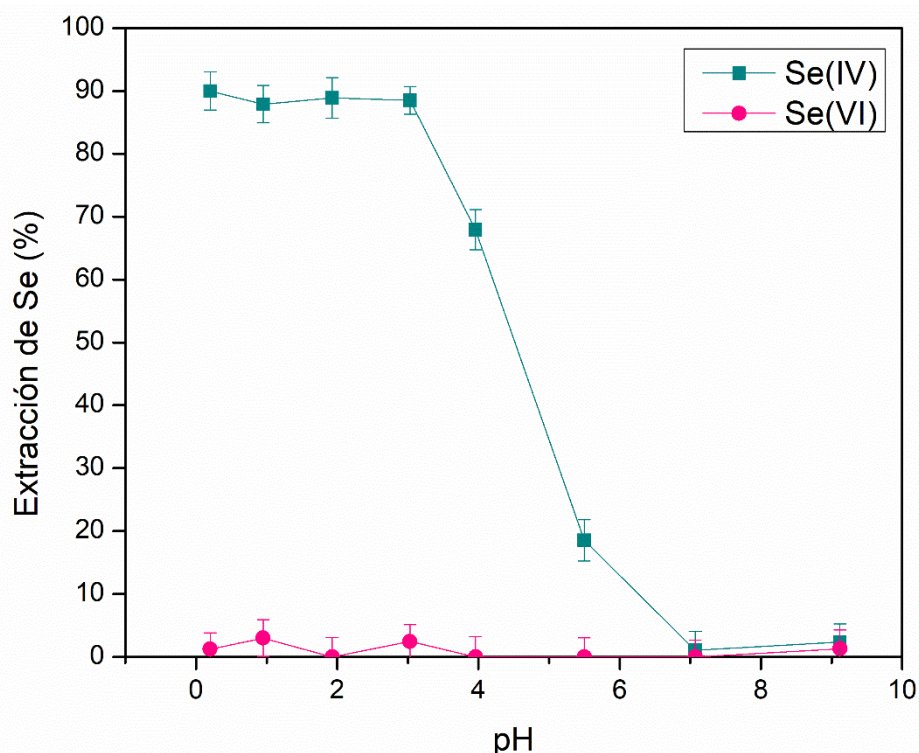


Fig. 3.1.4. Efecto del pH sobre la extracción de Se(IV) y Se(VI) en presencia de APDC $0,48 \text{ mmol L}^{-1}$. Las concentraciones de ambas especies fueron $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Por otro lado, se corroboró que la especie hexavalente Se(VI) no formaba complejos con los reactivos evaluados y, por lo tanto, no se extraía dentro del rango de pH estudiado, de manera tal que la extracción de Se(IV) entre $\text{pH} 0,2$ y $3,0$ era altamente selectiva. En base a estos resultados, un pH de $2,0$ fue seleccionado para los experimentos subsiguientes, de manera tal de asegurar la selectividad y la extracción óptima de Se(IV). Adicionalmente, con el objetivo de mantener el pH constante durante el proceso de extracción, se evaluaron concentraciones de hasta $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de buffer ácido cítrico/citrato de $\text{pH} 2$, confirmándose que su presencia no afectaba en ningún

aspecto la extracción del analito. Más resultados relacionados con la selectividad del método se presentan en la Sección 3.1.7.

3.1.3.3. Volumen de muestra, cantidad de sorbente y tiempo de extracción

El volumen de muestra es considerado una variable clave en el desarrollo de los métodos de preconcentración, dado que volúmenes elevados de muestra normalmente significan mayores factores de preconcentración y de refuerzo de la sensibilidad. Sin embargo, cuando este volumen se vuelve excesivo, algunos inconvenientes se pueden presentar en métodos dispersivos, especialmente en relación con una pobre dispersión del material sorbente. Para su evaluación, muestras con $1,0 \mu\text{g}$ de Se(IV) como masa constante en presencia de la concentración ideal de APDC en volúmenes de agua de entre 2 y 50 mL ajustadas a $\text{pH} = 2,0$ fueron sujetas al procedimiento de extracción. Los resultados, presentados en la Figura 3.1.5, mostraron que la retención era máxima con volúmenes de muestra de hasta 10 mL, decayendo para valores mayores a este. Por esto, 10 mL fue el volumen de muestra elegido para continuar con los experimentos.

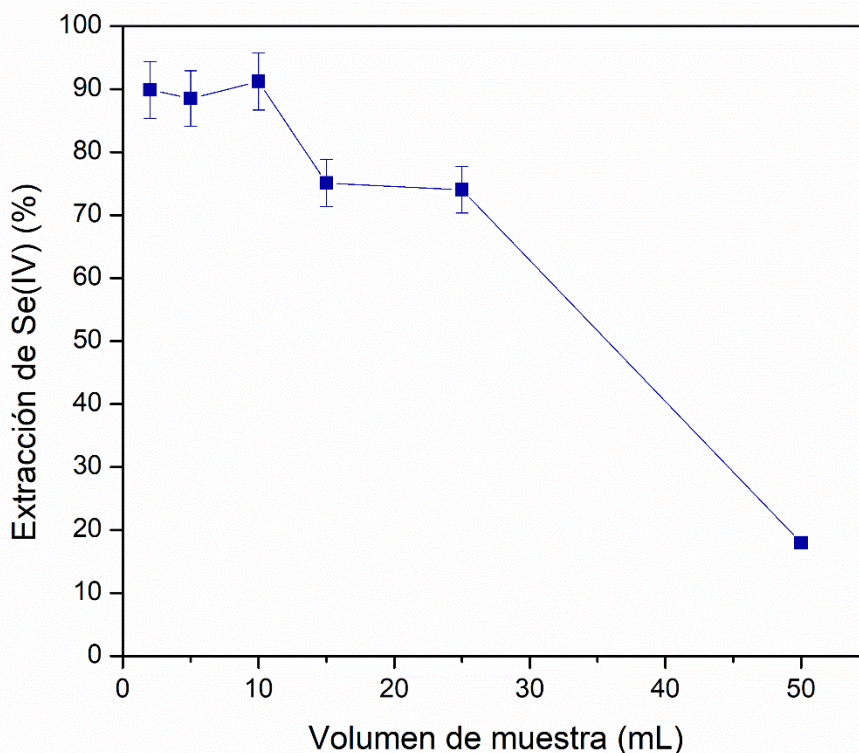


Fig. 3.1.5. Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Se(IV). La masa de Se se mantuvo constante en $1,0 \mu\text{g}$ en todos los casos y la concentración de APDC fue de $0,48 \text{ mmol L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

En términos de eficiencia de preconcentración, otro factor clave relacionado con la extracción es la masa de sorbente utilizada. En la búsqueda de la cantidad óptima de nanosílica capaz de extraer eficientemente el Se(IV) desde 10 mL de una muestra estándar con una concentración de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ (valor significativamente por encima de los esperados en muestras reales), cantidades de nanosílica de entre 1,0 y 50 mg fueron evaluadas. En todos los casos, la mayor extracción posible de Se(IV) fue lograda, independientemente de la cantidad de sorbente. Estos resultados son indicativos de una gran capacidad de retención de la nanosílica para con el complejo Se(IV)-APDC, como consecuencia de su gran relación área superficial-masa. Debido a la dificultad de pesar y manipular con precisión y exactitud cantidades de nanosílica por debajo de 1,0 mg, esta cantidad fue la seleccionada como óptima para el método.

Por su parte, la evaluación del tiempo de extracción es también importante en el desarrollo de métodos de extracción y preconcentración, dado que este influye fuertemente a la frecuencia analítica (es decir, la cantidad de muestras que pueden ser tratadas por unidad de tiempo). En consecuencia, se evaluó la extracción de Se(IV)-APDC en términos de los tiempos de extracción y centrifugación, ya que estos representan las etapas más prolongadas del proceso de separación. Las condiciones necesarias para lograr una eficiencia de extracción máxima incluyeron al menos 5 min para la extracción, tal como se observa en la Figura 3.1.6, y 3 min para la centrifugación. En base a estos resultados, y con la mira puesta en asegurar la eficiencia de ambos procesos, 6 min para la extracción y 4 min para la centrifugación fueron finalmente seleccionados para el método. Es importante apuntar a esta altura que la formación del complejo Se(IV)-APDC resultó ser virtualmente instantánea, por lo que la optimización del tiempo de formación del mismo no fue considerada necesaria.

3.1.3.4. Efecto de la fuerza iónica

La fuerza iónica del medio puede afectar las propiedades de carga de la superficie de la nanosílica. Por ejemplo, se ha reportado que en el caso de adsorciones que involucran interacciones de tipo electrostáticas, la cantidad de analito extraída decrece a medida que aumenta la fuerza iónica del medio, debido a la competencia por los grupos cargados entre los iones presentes en la solución y el analito [24]. En consecuencia, el efecto de la fuerza iónica en la extracción del complejo Se(IV)-APDC sobre nanosílica fue evaluado en un rango de concentraciones salinas de entre 0,5 y 5,0% (p/v), utilizando NaNO_3 como electrolito modelo. Se observó que los porcentajes de retención no cambiaban en este rango con respecto a las condiciones libres de sal.

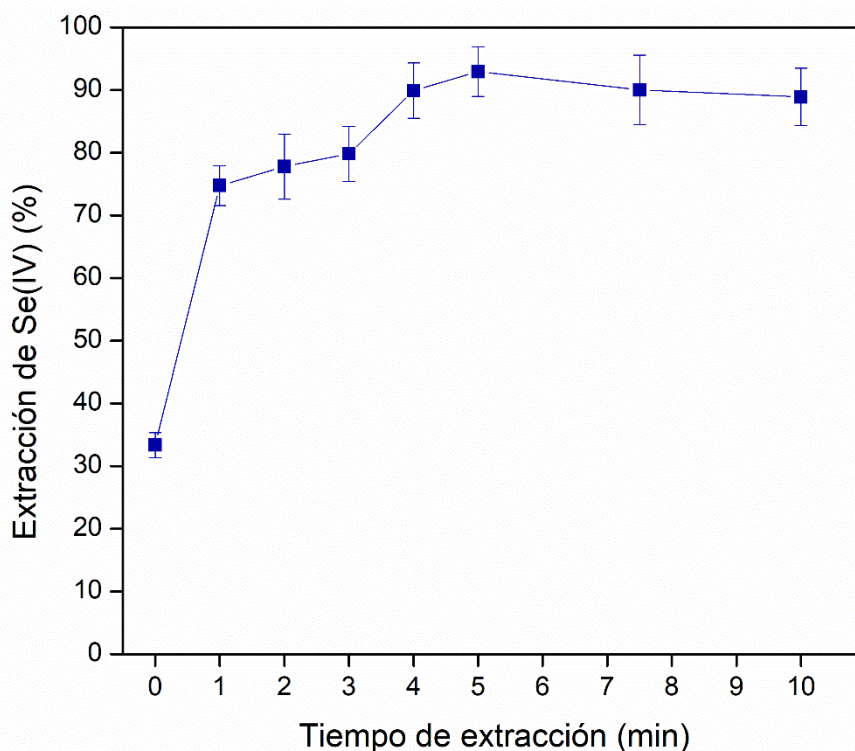


Fig. 3.1.6. Dependencia de la extracción de Se(IV) con el tiempo de extracción. La concentración de Se(IV) fue $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ en todos los casos y la agitación fue de tipo vórtex. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

En términos del mecanismo de adsorción, esto se puede interpretar como una ausencia de componente electrostática en la interacción entre el complejo Se(IV)-APDC y la nanosílica, lo cual resultó estar en concordancia con la hipótesis sobre el carácter poco polar de esta interacción.

3.1.4. Caracterización de la interacción analito-nanosílica

Las características del proceso de adsorción del complejo Se(IV)-APDC sobre la superficie de la nanosílica fueron estudiadas a partir de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) y del análisis de una isoterma de sorción. El espectro ATR-FTIR del complejo adsorbido sobre la nanosílica se presenta en la Figura 3.1.7.A, y en él se pueden observar señales características del complejo Se(IV)-APDC: estiramientos C—N entre 1445 y 1481 cm^{-1} y modos asociados con el grupo —CSS entre 948 y 955 cm^{-1} . La presencia de estos confirmó la presencia del complejo adsorbido sobre la superficie de la nanosílica y la baja intensidad que se observa para sus señales en el espectro es lógica, considerando la baja relación molar existente entre el analito y el material.

En conjunto con estos resultados, se llevaron a cabo mediciones del complejo adsorbido sobre la nanosílica utilizando a la nanosílica pura como espectro referencia para la medición, dando como resultado el espectro presentado en la Figura 3.1.7.B. De esta manera, al utilizar a la nanosílica como blanco de la medición, se logró eliminar de los espectros las señales del material de manera mucho más eficiente que a través del tratamiento matemático de los mismos, lo cual permitió observar con claridad un mayor número de señales correspondientes al complejo Se(IV)-APDC, así como sus frecuencias correspondientes. De esta manera, se reconfirmó la existencia de una interacción entre este y el material. Adicionalmente, al comparar estas señales con las del espectro original del complejo no adsorbido sobre nanosílica, se observó un desplazamiento de 3 cm^{-1} en la señal del estiramiento C—N, lo cual podría apuntar a un posible sitio de interacción en la estructura molecular del complejo.

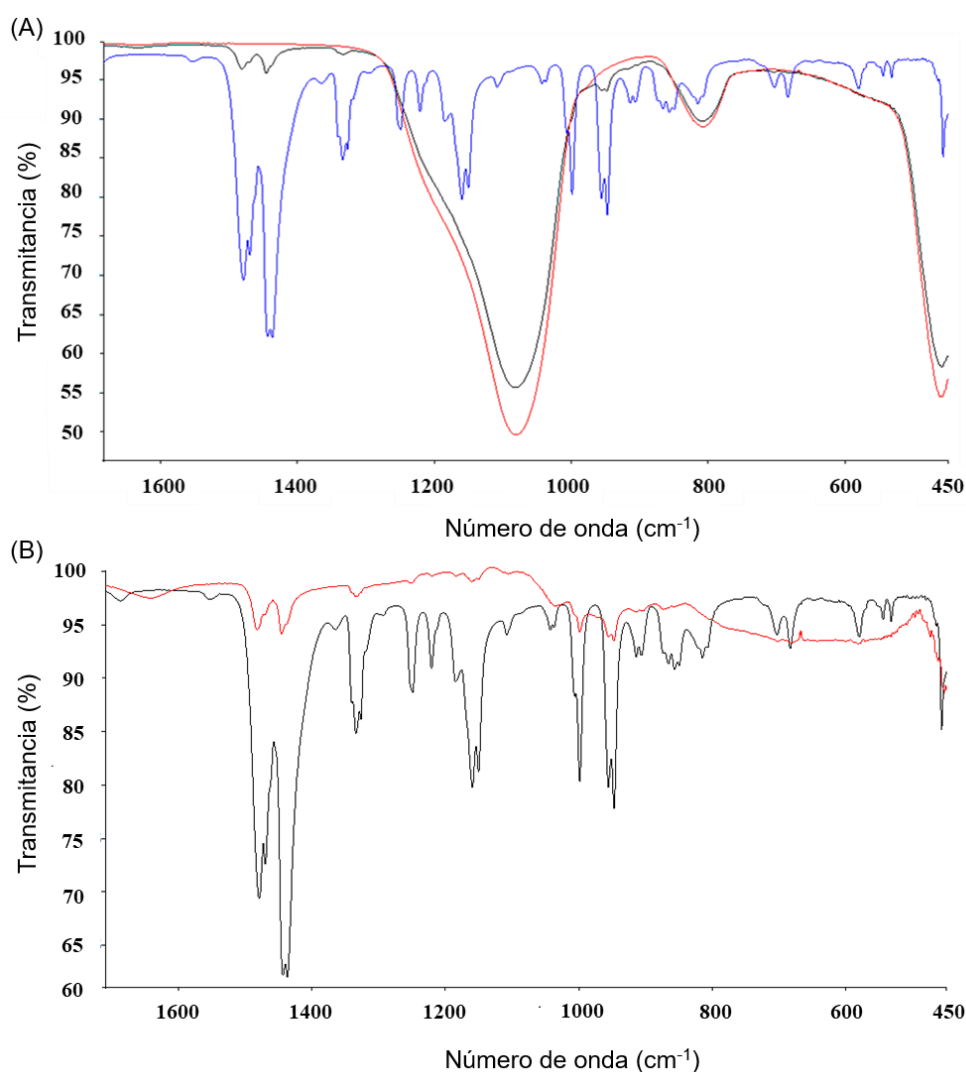
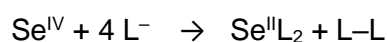


Fig. 3.1.7. Espectros ATR-FTIR de **(A)** nanosílica (rojo), Se(IV)-APDC (azul) y el producto de adsorción (negro), **(B)** Se(IV)-APDC (negro) y el producto de adsorción medido contra un blanco de nanosílica pura (rojo).

El hecho de que la retención observada involucraba la interacción entre un sorbente con características esencialmente polares y un complejo no polar no fue algo que se pasara por alto durante el desarrollo del método. Información estructural sobre diversos complejos entre Se(IV) y complejantes de la familia de los ditiocarbamatos (entre los que se encuentra el APDC) se encuentra disponible en reportes bibliográficos. La evidencia experimental disponible en estos estudios apunta a una reacción de complejación reductiva en la que la especie aniónica Se(IV) (SeO_3^{2-}) reacciona con cuatro ligandos ditiocarbamato, dando como productos un complejo de fórmula SeL_2 , en el cual el estado de oxidación del Se es +2, y un dímero oxidado de ligandos unidos por un puente disulfuro, tal como se puede observar a continuación [25]:



La Figura 3.1.8 muestra las estructuras de resonancia parciales correspondientes al complejo Se(IV)-DDTC, análogo al Se-(APDC), propuestas a partir de análisis cristalográfico por difracción de rayos X [26]. En estas estructuras se puede observar la presencia de una densidad de carga positiva parcial sobre el átomo de nitrógeno del anillo pirrolidínico. Esta da lugar a la posibilidad de una interacción a través de un dipolo transitorio con los grupos silanol presentes en la superficie de la nanosílica, lo cual se encuentra en concordancia no solo con el hecho de que el complejo efectivamente se retiene sobre el material, sino también con el desplazamiento de la señal del estiramiento C—N observado en el espectro ATR-FTIR (Fig. 3.1.7.B).

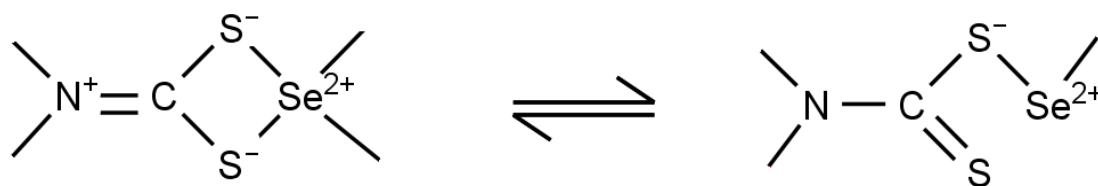


Fig. 3.1.8. Estructuras de resonancia parciales propuestas para un complejo análogo al Se^{II} -pirrolidinditiocarbamato: Se^{II} -dietilditiocarbamato. Adaptado de Husebye y Helland-Madsen: "The Crystal Structure of Selenium Bis(diethyl-dithiocarbamate)" [26].

Además, la isoterma correspondiente a la adsorción del complejo Se(IV)-APDC sobre nanosílica a 20 °C, presentada en la Figura 3.1.9, se obtuvo a partir de la aplicación del método de extracción a muestras con distintas concentraciones iniciales de Se(IV)-APDC, utilizando 1,0 mg de nanosílica como sorbente. La evaluación de los resultados se llevó a cabo de acuerdo con el modelo de Langmuir-Freundlich [27], cuyo

ajuste de los datos experimentales resultó ser el mejor entre los modelos evaluados. Este propone la siguiente relación matemática para el proceso de adsorción:

$$q = \frac{Q_m(K_A C_{eq})^n}{1 + (K_A C_{eq})^n}$$

donde q es la cantidad de Se adsorbido sobre la nanosílica (mg g^{-1}), Q_m es la capacidad de adsorción máxima del material (mg g^{-1}), C_{eq} es la concentración de Se en el medio acuoso en contacto con el material (mg L^{-1}), K_A es la constante de afinidad de la adsorción (L mg^{-1}) y n es el índice de heterogeneidad.

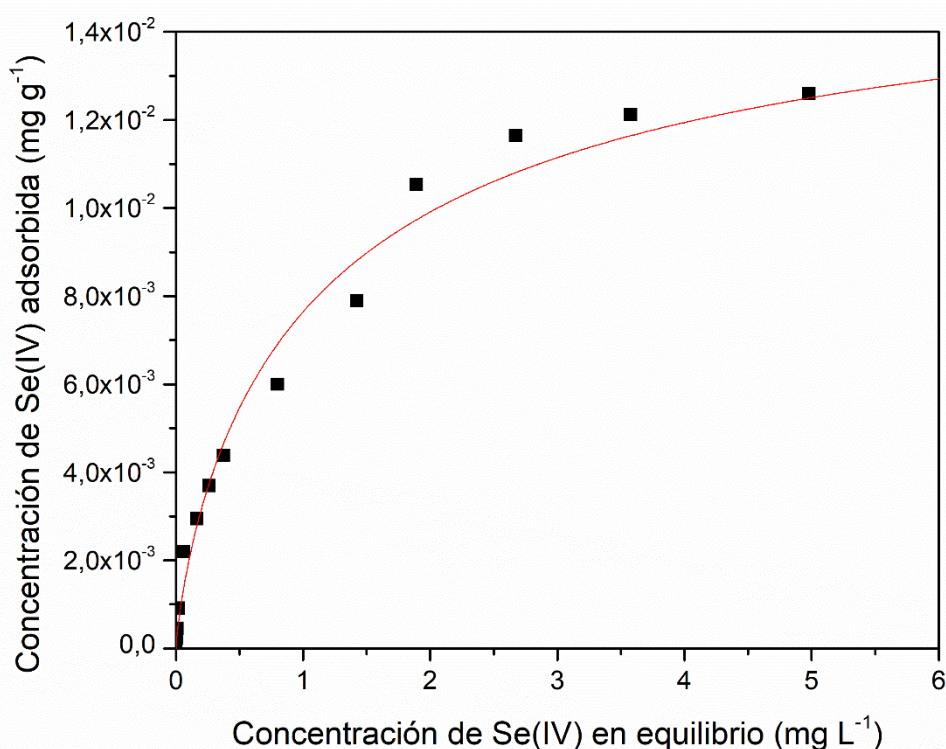


Fig. 3.1.9. Isoterma de sorción de Se (como Se(IV)-APDC) sobre nanosílica a 20 °C. Línea roja: ajuste por el modelo Langmuir-Freundlich. $Q_m = (0,016 \pm 0,002) \text{ mg g}^{-1}$; $K_A = (0,9 \pm 0,2) \text{ L mg}^{-1}$; $n = (0,8 \pm 0,1)$. $r^2 = 0,9856$.

La isoterma ajustada se presenta en la Figura 3.1.9. Los parámetros de ajuste optimizados resultaron ser: $Q_m = (0,016 \pm 0,002) \text{ mg}$ de Se por gramo de nanosílica, $K_A = (0,9 \pm 0,2) \text{ L mg}^{-1}$ y $n = (0,8 \pm 0,1)$. La adsorción máxima (Q_m) presenta un valor sobresalientemente alto para la adsorción del analito, lo cual es una consecuencia directa de la gran relación entre la superficie y la masa del nanomaterial. K_A es la constante de equilibrio del proceso y representa información relacionada con la afinidad entre el sorbente y el adsorbato. El factor de heterogeneidad n da cuenta de la desviación del proceso estudiado respecto a un sistema homogéneo; esto es, un

sistema que puede ser descrito según el modelo de Langmuir de adsorción en monocapa (de hecho, cuando $n = 1$, la ecuación se reduce a la de este modelo). El valor observado de 0,8 representa una desviación significativa respecto al caso homogéneo, indicando que el modelo de monocapa no es adecuado para describir la adsorción del complejo Se(IV)-APDC sobre nanosílica.

3.1.5. Elución del complejo Se(IV)-APDC

Previo a la determinación de Se por ETAAS, el complejo Se(IV)-APDC debió ser eluido de la nanosílica. Esto fue consecuencia de la imposibilidad de descomponer térmicamente al material durante el programa electrotérmico de temperatura, dado su elevado punto de ebullición (2950 °C) [28]. Diversos eluyentes y metodologías de elución fueron evaluados en búsqueda de la máxima eficiencia de elución, tanto en términos de la eficiencia de retroextracción del analito como de su repetibilidad. Se realizaron experimentos iniciales con el objetivo de eluir la totalidad del analito en sólo 100 μL de eluyente (la máxima capacidad del horno de grafito utilizado para la determinación por ETAAS), para lo cual se ensayaron diversos solventes orgánicos e inorgánicos. Sin embargo, tal como se puede observar en la Figura 3.1.10, la elución fue pobre en todos los casos debido a la insuficiente dispersión de la nanosílica en un volumen tan reducido.

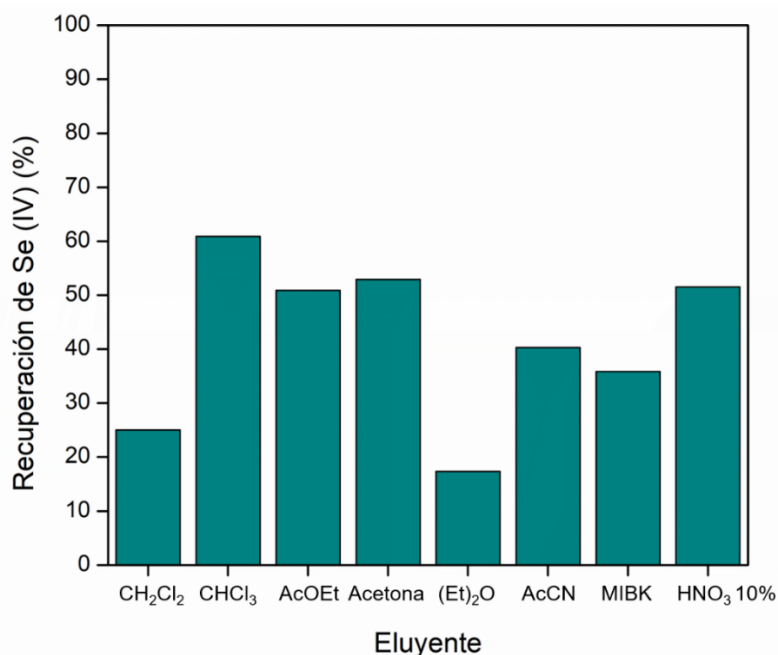


Fig. 3.1.10. Efecto de la aplicación de 100 μL de diversos eluyentes sobre la recuperación de Se retenido sobre nanosílica. AcOEt = acetato de etilo, (Et)₂O = éter etílico, AcCN = acetonitrilo, MIBK: Metil isobutil cetona.

En consecuencia, se decidió aumentar el volumen de eluyente a los efectos de obtener una mejora en la dispersión del material, a través de una elución en dos pasos. Esta consistió en la aplicación de una primera etapa con un volumen de eluyente mayor a 100 μL , seguida por la separación del eluato y la evaporación del mismo. Luego, el sedimento resultante se redisolvió en 100 μL de un solvente adecuado para su posterior determinación por ETAAS. Un resumen esquemático del proceso se puede observar en la Figura 3.1.11.

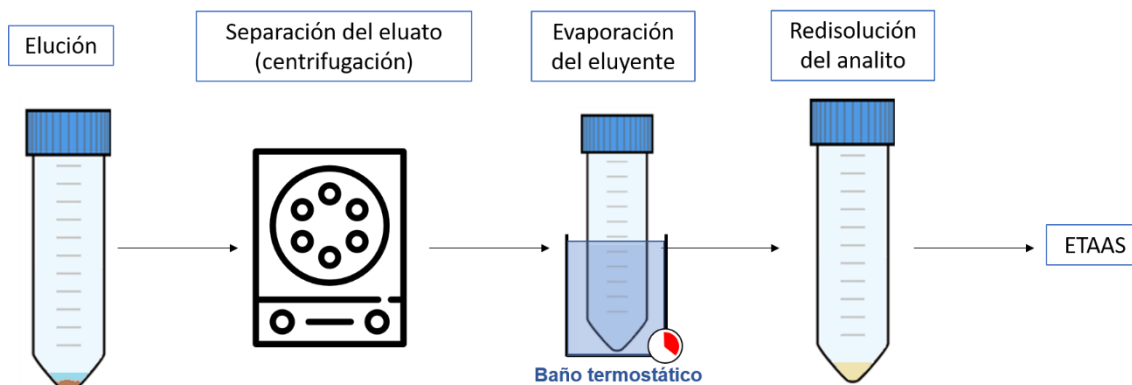


Fig. 3.1.11. Representación esquemática del proceso de elución en dos pasos aplicado para la retroextracción y determinación instrumental de Se(IV) tras su microextracción con nanosilica.

La elución en dos pasos propuesta se estudió en orden inverso a su aplicación. En primera instancia se realizó un análisis de sensibilidad con algunos solventes que se presentaban como buenos candidatos para las determinaciones instrumentales por ETAAS, de manera de encontrar el medio ideal para la detección de Se. Un volumen de 500 μL de una solución de Se(IV)-APDC de concentración 4,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ en metil isobutil cetona (MIBK, un solvente tradicionalmente utilizado para la LLE de Se complejoado con APDC) se evaporó a sequedad en un baño termostático a 60 $^{\circ}\text{C}$ y, tras enfriarse, 100 μL de: acetato de etilo, MIBK, ácido perclórico al 1% (v/v), H_2O_2 10% (v/v), HNO_3 al 10% (p/v) y mezclas de estos últimos tres fueron adicionados, agitados manualmente hasta la disolución total del analito sedimentado e inyectados en el horno de grafito para su determinación por ETAAS.

Los resultados de estas mediciones se pueden observar en la Figura 3.1.12 y muestran que el acetato de etilo resultó ser la mejor alternativa como medio para la detección instrumental por ETAAS, debido probablemente a la combinación entre la buena solubilidad del complejo en él y la buena relación instrumental señal-fondo resultante de su uso. Los pésimos resultados observados con HClO_4 representaron un problema que se enfrentó a lo largo de todo el trabajo de Tesis, relacionado con el efecto

negativo sobre la sensibilidad de las mediciones por ETAAS producido por la presencia de compuestos clorados en el medio en el cual se lleva a cabo la determinación. La presencia de HCl tuvo un efecto similar, aunque no tan marcado como en el caso del HClO_4 , razón por la cual ninguno de estos ácidos fue considerado como eluyentes en las etapas posteriores de trabajo que involucraron el uso de esta técnica de detección.

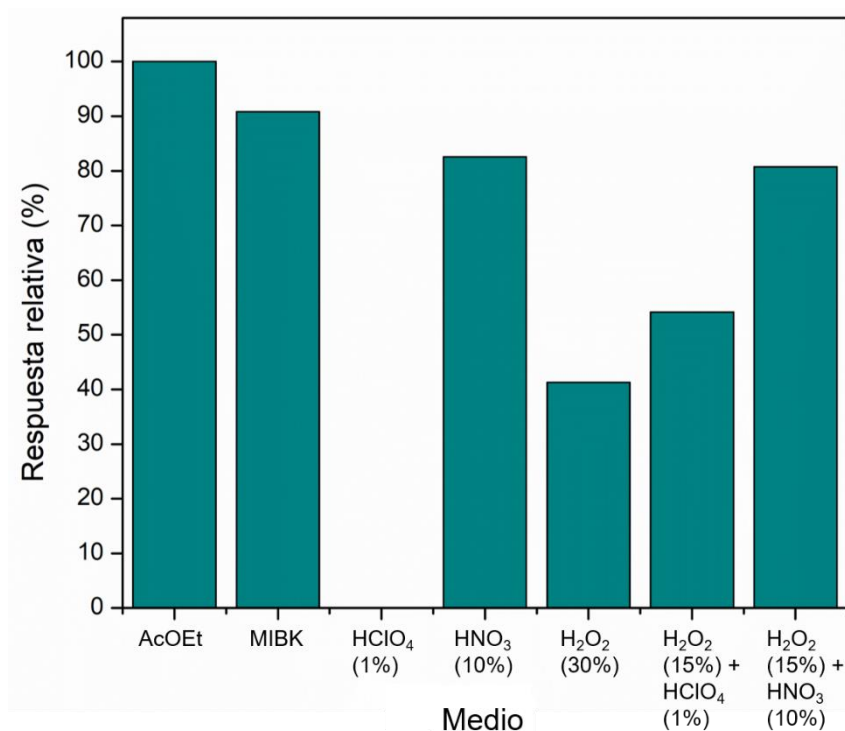


Fig. 3.1.12. Efecto de distintos medios sobre la sensibilidad de las determinaciones de Se por ETAAS. Todas las señales se registraron como áreas de picos de absorción y se normalizaron respecto a la mayor de ellas. AcOEt: acetato de etilo, MIBK: Metil isobutil cetona.

Luego, se realizaron experimentos para encontrar el solvente más eficiente para la retroextracción del analito desde la nanosílica. Para esto, se utilizaron 500 μL de cada uno de los mejores solventes entre los evaluados en primera instancia (cloroformo, acetato de etilo, acetona y HNO_3 al 10% (v/v)). Estos fueron mezclados con la nanosílica cargada con el complejo Se(IV) -APDC y agitados en un baño ultrasónico a 20 °C durante 15 min. La mezcla fue luego centrifugada y el sobrenadante separado, evaporado a sequedad y redisolto en 100 μL de acetato de etilo para analizar por ETAAS. Nuevamente, el mejor resultado se obtuvo con acetato de etilo como eluyente, por lo que este fue el solvente seleccionado para ambas etapas de la elución en dos pasos.

El volumen de eluyente también fue estudiado y optimizado una vez que el acetato de etilo fue seleccionado como solvente óptimo para esta tarea. En base a este

estudio, se encontró que la elución era máxima a partir de 500 μL , por lo que este fue seleccionado como valor óptimo. Finalmente, los efectos del tiempo y temperatura de agitación ultrasónica fueron evaluados utilizando 500 μL de acetato de etilo. Se analizaron las diferentes combinaciones de tiempo y temperatura mostradas en la Figura 3.1.13 y, como se puede observarse en ella, el tratamiento a 60 °C durante 15 minutos resultó ser el más eficiente, por lo que fue el seleccionado para el método definitivo.

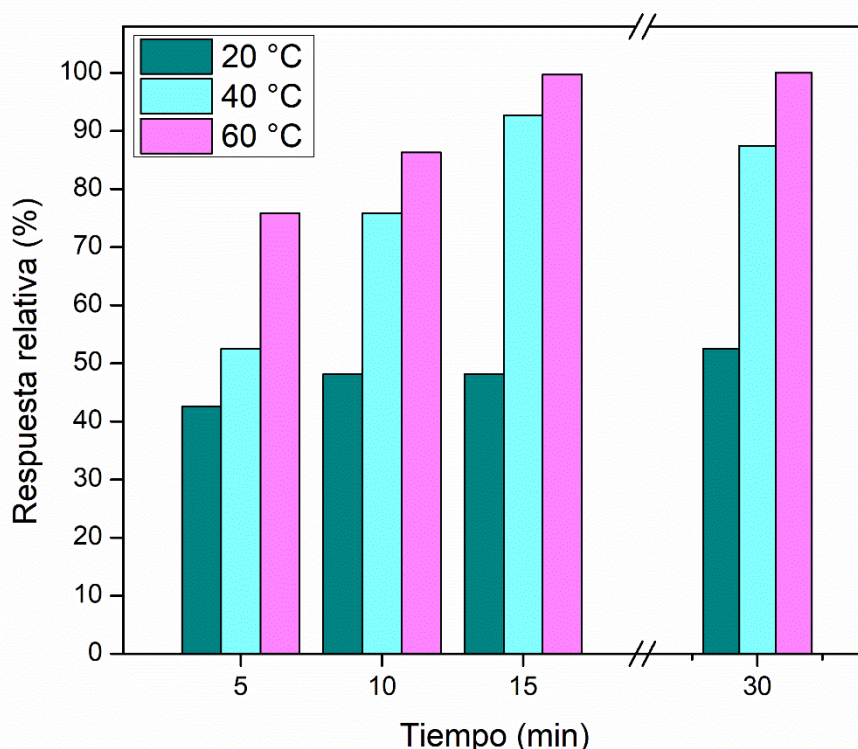


Fig. 3.1.13. Efecto del tiempo y la temperatura de elución del complejo Se(IV)-APDC desde nanosílica, con 500 μL de acetato de etilo como eluyente. Todas las señales se registraron como áreas de picos de absorción y se relativizaron respecto al mayor valor de cada una.

3.1.6. Reutilización de la nanosílica

La posibilidad de reciclar la nanosílica luego de su aplicación en el proceso de preconcentración fue estudiada en esta etapa del trabajo de Tesis. Con este objetivo, se aplicó un paso de lavado del material con acetato de etilo y agitación ultrasónica tras su utilización en cada ciclo de preconcentración-elución, de manera de evitar la transferencia de analito entre determinaciones. Sin embargo, se observó que la retención del complejo Se(IV)-APDC se reducía en un 60% al utilizar el material reciclado, probablemente debido a la disminuida capacidad de dispersión de la nanosílica como consecuencia de su aglomeración tras el lavado. En consecuencia,

teniendo en cuenta el bajo costo del material (2,1 centavos de dólar estadounidense por mg, según la cotización del fabricante, Sigma-Aldrich, en 2020), la mínima cantidad utilizada en cada análisis y el hecho de que cada paso de limpieza del material consumía tiempo e involucraba el uso de un solvente orgánico, se decidió no reutilizar el material en esta parte del trabajo de Tesis.

3.1.7. Selectividad del método para especies de selenio

Un estudio de recuperación se realizó para confirmar la selectividad del método hacia la retención de Se(IV) en presencia de Se(VI). Tal como se ha mencionado, cuando el pH del medio se mantenía en un valor de 2,0, la especie Se(IV) era la única extraída gracias a la selectividad dada por el uso de APDC como complejante. Diferentes relaciones molares Se(VI)/Se(IV), en el rango entre 0,01 a 200 fueron evaluadas, combinando distintas concentraciones de las especies, con los resultados presentados en la Tabla 3.1.2. Como puede observarse, la recuperación de Se(IV) arrojó valores de entre 96,0% y 108%, quedando demostrada de esta manera la alta selectividad del método desarrollado.

Tabla 3.1.2. Selectividad del método D- μ -SPE-ETAAS con nanosílica propuesto para la determinación de especies de Se.

Relación molar Se ^{VI} /Se ^{IV}	Se(IV)			Se(VI)		
	Inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)	Inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)
0,01	25	24,6	98,4	0,25	0,27	108
0,025	10	9,9	99,0	0,25	0,24	96,0
0,25	2	2	100	0,50	0,52	104
1	2	1,97	98,5	2	1,95	97,5
5	0,50	0,48	96,0	2,50	2,49	99,6
10	0,25	0,27	108	2,5	2,55	102
50	0,25	0,26	104	12,5	12,7	102
100	0,25	0,27	108	25	24,2	96,8
200	0,25	0,26	104	50	48,6	97,2

^a Recuperación = $100 \times [(\text{encontrado} - \text{inicial}) / \text{inicial}]$

Adicionalmente, se llevaron a cabo experimentos para determinar la selectividad del método respecto a algunas especies orgánicas de Se. Para ello, se prepararon soluciones patrones acuosas con concentraciones equivalentes a 200 µg de Se por litro, tanto de selenometilseleno-L-cisteína como de seleno-L-metionina, que fueron sujetas al proceso de microextracción optimizado, con y sin la adición de APDC. Las determinaciones por ETAAS revelaron que ninguna de las especies orgánicas evaluadas fue extraída bajo las condiciones experimentales aplicadas, confirmando así la selectividad del método hacia la especie inorgánica Se(IV) incluso ante la presencia de las orgánicas.

3.1.8. Condiciones de ETAAS para la determinación de selenio

En la Tabla 3.1.1 se expusieron las condiciones instrumentales óptimas para la determinación de Se por ETAAS. Sin embargo, algunos inconvenientes que afectan la sensibilidad de las determinaciones de Se por esta técnica han sido reportados previamente, especialmente cuando la determinación se realiza sobre complejos de tipo Se(IV)-APDC. Estos problemas de sensibilidad se han encontrado incluso utilizando modificadores de matriz ampliamente utilizados para el Se, tal como es el Pd(NO₃)₂. El efecto observado ha sido atribuido a la alta volatilidad de los complejos del elemento con ditiocarbamatos, que se volatilizan significativamente durante el desarrollo del programa de temperatura aplicado para la descomposición electrotérmica de la muestra, lo cual promueve pérdidas del analito y una reducción significativa de la sensibilidad [29]. Sin embargo, un trabajo desarrollado con anterioridad por nuestro grupo reveló que este inconveniente puede ser superado utilizando Cu como modificador de matriz junto con Pd [20]. Por lo tanto, cantidades de Pd y Cu de entre 5 y 25 µg fueron combinadas y su efecto sobre las señales obtenidas fue evaluado. De esta manera, se observó que la inyección de 10 µg de cada modificador resultó suficiente para obtener la máxima sensibilidad analítica.

Además, para maximizar el volumen de eluato analizado y, por ende, la cantidad de analito inyectado en el horno de grafito para su determinación, se desarrolló un programa que incluyó dos etapas de inyección. Usualmente, la muestra (en este caso el eluato) y las soluciones de los modificadores de matriz se inyectan simultáneamente antes de la aplicación del programa de temperatura utilizado para la determinación por ETAAS. En este caso, para aprovechar la totalidad de la capacidad del horno de grafito

y maximizar así la sensibilidad durante las mediciones, se procedió de otra manera. Inicialmente, se inyectaron los 100 μL de eluato, tras lo cual se aplicó un paso de calentamiento a 100 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 s para evaporar el solvente. Una vez finalizado este y cuando la temperatura del horno se había reducido hasta alcanzar la del ambiente, se inyectaron los modificadores de matriz, para finalmente proseguir con el programa de temperatura y la determinación (Tabla 3.1.1).

Adicionalmente, se evaluaron distintas etapas de pirólisis durante el programa de temperatura para promover la descomposición eficiente de la matriz. En este caso, esta contiene compuestos orgánicos concomitantes que acompañan al analito desde las muestras, así como el exceso de APDC utilizado para la complejación de Se(IV) y el acetato de etilo utilizado como medio. Se decidió en consecuencia aplicar tres etapas de pirólisis, con el objetivo de lograr una descomposición gradual de la matriz inyectada. Las primeras dos se fijaron a temperaturas de 600 $^{\circ}\text{C}$ y 900 $^{\circ}\text{C}$, a partir de resultados de optimizaciones previas, mientras que la temperatura de la tercera etapa fue seleccionada en base a su optimización dentro de un rango de entre 1000 $^{\circ}\text{C}$ y 1600 $^{\circ}\text{C}$. Tal como se observa en la curva de pirólisis incluida en la Figura 3.1.14, la mayor sensibilidad se obtuvo cuando la temperatura de esta etapa era de 1300 $^{\circ}\text{C}$. Una vez determinado este valor óptimo, la temperatura de atomización fue evaluada entre 1700 $^{\circ}\text{C}$ y 2300 $^{\circ}\text{C}$, alcanzándose la máxima absorbancia a 2100 $^{\circ}\text{C}$. Además, un paso de enfriamiento a 300 $^{\circ}\text{C}$ durante 15 s entre la última etapa de pirólisis y la de atomización resultó ser también necesario para obtener picos gaussianos y completos.

3.1.9. Estudio de potenciales interferencias

La evaluación de potenciales interferentes es fundamental durante el desarrollo de cualquier método de extracción y/o preconcentración, ya que esto contribuye a evitar errores durante el análisis debido a la presencia de otras especies presentes en las muestras. En este caso, se prepararon soluciones de 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV) adicionadas con diferentes iones concomitantes en niveles de concentración similares o superiores a aquellos en los cuales suelen encontrarse en las muestras, para posteriormente someterlas al procedimiento de microextracción y cuantificación por ETAAS. El límite de tolerancia para los interferentes se definió como la concentración que pudiera modificar la recuperación de Se(IV) por un valor igual o superior al 5% respecto al caso del patrón sin agregados. Cationes comunes como Na^{+} y K^{+} fueron tolerados en concentraciones de hasta 10 g L^{-1} , Ca^{2+} hasta 2,0 g L^{-1} y Mg^{2+} y Zn^{2+} hasta 1,0 g L^{-1} . Más aún, aniones

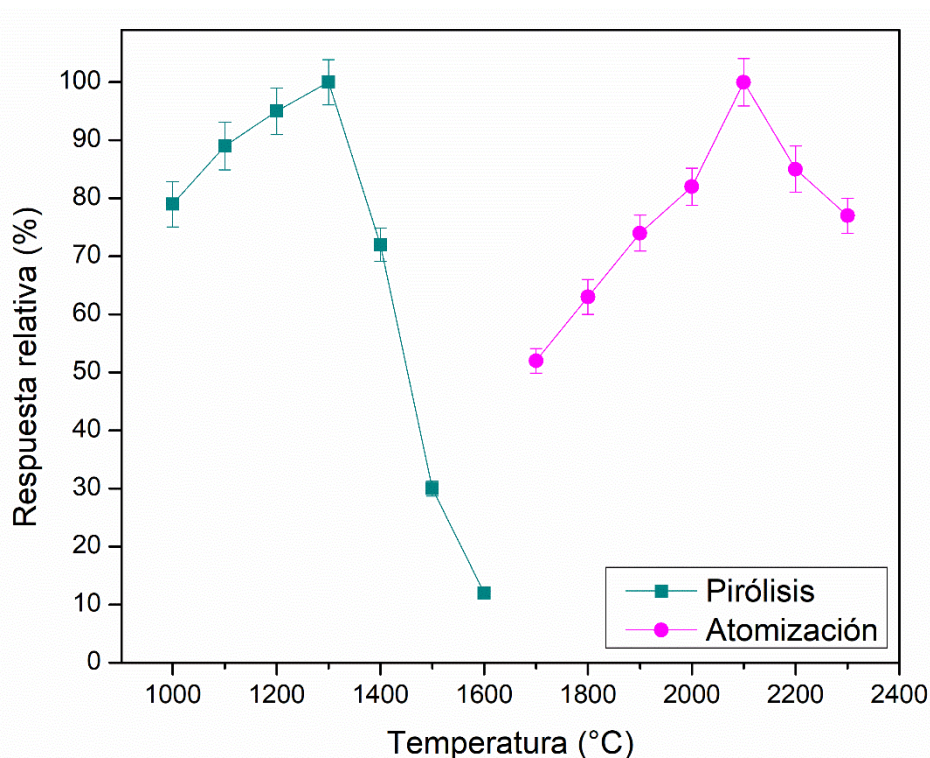


Fig. 3.1.14. Curvas de pirólisis y atomización para la determinación de Se por ETAAS. Todas las señales se registraron como áreas de picos de absorción y se relativizaron respecto a la mayor de ellas. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

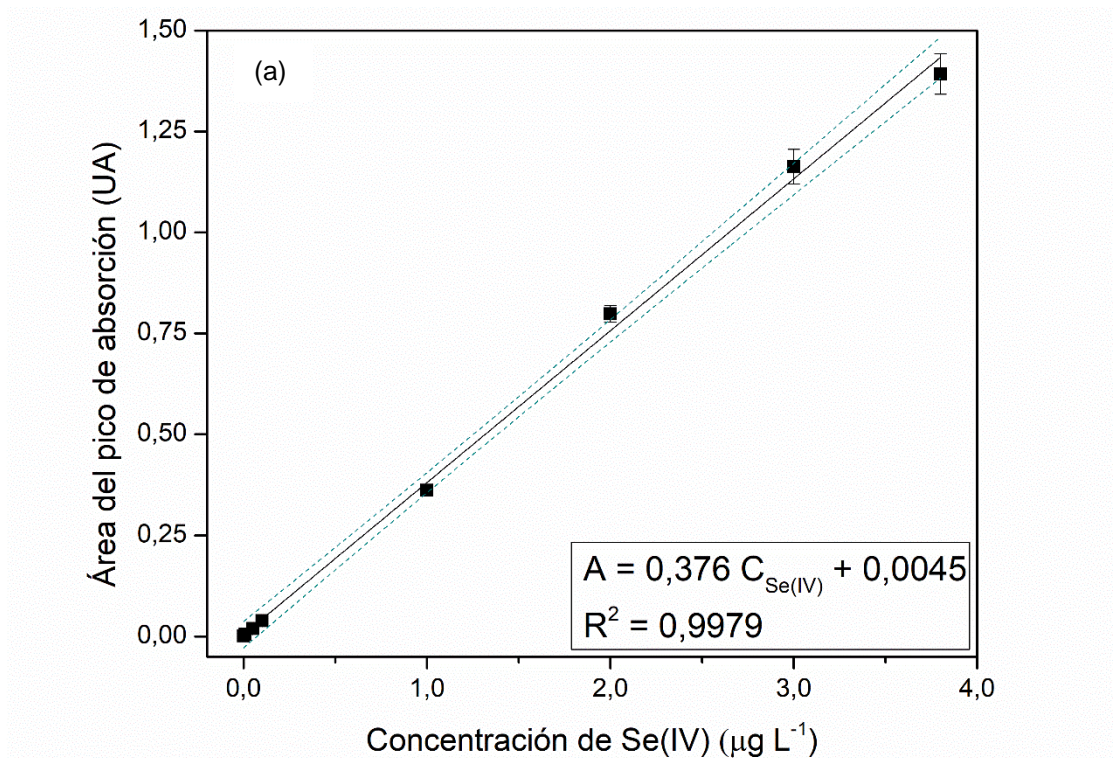
comúnmente encontrados en aguas, tales como Cl^- y Br^- , no interfirieron hasta concentraciones tan altas como 20 g L^{-1} , mientras que NO_3^- y SO_4^{2-} fueron tolerados hasta una concentración de $5,0 \text{ g L}^{-1}$. Finalmente, es importante destacar que en ningún caso se modificaron significativamente las señales de los blancos por la presencia de los interferentes estudiados.

3.1.10. Rendimiento analítico del método propuesto

Una serie de soluciones patrón de Se(IV) y Se(VI) fueron sometidas al método de preconcentración optimizado y cuantificadas por ETAAS para la obtención de las correspondientes curvas de calibración externas (Figuras 3.1.15.a y b). Un rango dinámico desde $4,7 \text{ ng L}^{-1}$ hasta $3,8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ fue logrado para la determinación de Se(IV) y desde $6,8 \text{ ng L}^{-1}$ hasta $4,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para Se(VI). Los parámetros derivados de los ajustes lineales de las curvas de calibración se presentan en la Tabla 3.1.3, junto con un resumen de otras cifras de mérito analítico relevantes del método optimizado. Dado que los efectos de la matriz resultaron ser despreciables, algo que se confirmó a través de la aplicación del método optimizado sobre muestras con agregados de concentraciones

conocidas de una solución estándar, la cuantificación de las especies en las muestras fue llevada a cabo a partir de las curvas de calibración externas obtenidas.

Límites de detección de $1,4 \text{ ng L}^{-1}$ y $2,0 \text{ ng L}^{-1}$ y límites de cuantificación de $4,7 \text{ ng L}^{-1}$ y $6,8 \text{ ng L}^{-1}$ fueron obtenidos para Se(IV) y Se(VI), respectivamente, habiéndose llevado a cabo su cálculo según las recomendaciones de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), en base a 3 y 10 veces la relación entre el desvío estándar del blanco y la pendiente de la curva de calibración, respectivamente [30]. Los factores de refuerzo de la sensibilidad, que se definen como el cociente entre las curvas de calibración antes y después de la preconcentración, fueron de 90 para Se(IV) y de 88 para Se(VI), mientras que los factores de preconcentración, que contemplan la relación entre el volumen de muestra analizado, el volumen final resultante de la preconcentración y la eficiencia de extracción, fue de 90 en ambos casos. La eficiencia de extracción de Se(IV) con nanosílica fue del 90% en las condiciones ideales y el desvío estándar relativo (RSD), calculado para seis réplicas a una concentración de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$, resultó ser de 4,9% y 5,4% para la especie tetra- y hexavalente, respectivamente.



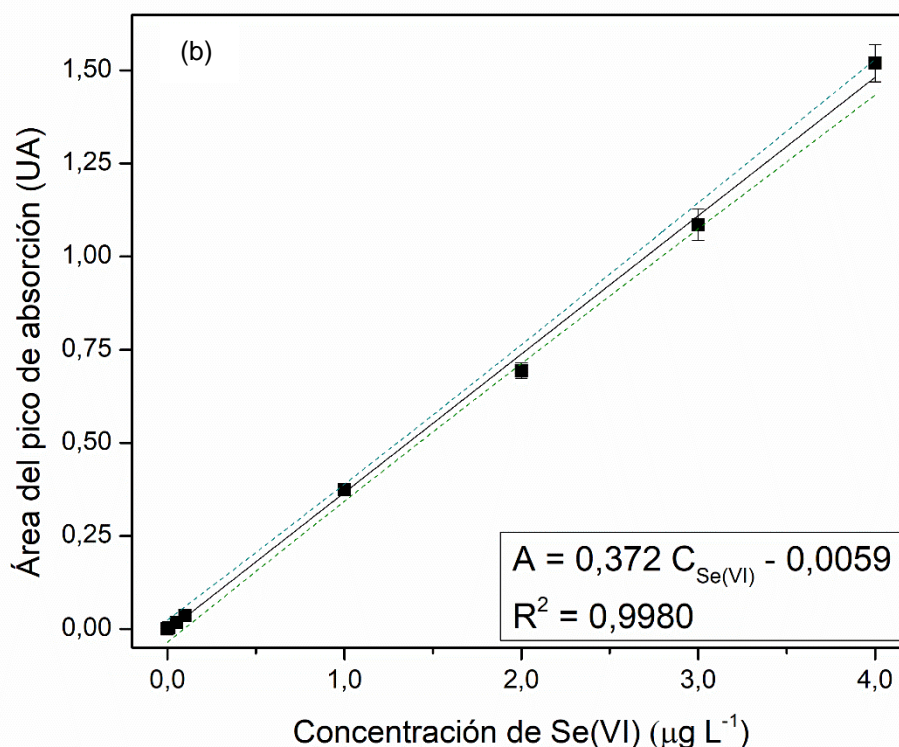


Fig. 3.1.15. Curvas de calibración para (a) Se(IV) y (b) Se(VI), obtenidas tras la aplicación del método D- μ -SPE con nanosílica propuesto y la determinación por ETAAS. Las bandas punteadas representan el intervalo de confianza (95%) del ajuste lineal.

Tabla 3.1.3. Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método D- μ -SPE-ETAAS con nanosílica desarrollado.

	Se(IV)	Se(VI)
Curva de calibración		
Pendiente	$0,376 \pm 0,007$	$0,372 \pm 0,006$
Ordenada	$0,0045 \pm 0,0012$	$- 0,0059 \pm 0,0021$
R^2	0,9979	0,9980
Cifras de mérito analítico		
EF	90	88
LOD (ng L^{-1})	1,4	2,0
RSD (%)	4,9	5,4

Por último, la performance analítica del método propuesto se evaluó en comparación con otros métodos reportados recientemente que involucran el uso de nanomateriales para la preconcentración y análisis de especiación de Se en muestras acuosas, cuyas cifras de mérito analítico se encuentran resumidas en la Tabla 3.1.4. En términos de valores tales como los LODs, el método propuesto es comparable o incluso

superior a otros previamente reportados. Simultáneamente, el índice de consumo (CI), definido como el volumen de muestra requerido para lograr una unidad de EF (y calculado como la relación entre el volumen de muestra en mL y el EF) que se obtuvo a través del método propuesto en esta sección fue de 0,11, un valor bajo e indicativo de la alta eficiencia del proceso de preconcentración. Cuatro de los trabajos presentados en la Tabla 3.1.4 muestran valores de CI comparables o mayores al obtenido por el método propuesto, mientras que solo uno de ellos presenta un valor menor. Es importante también tener en cuenta que la mayoría de estos trabajos incluyen el uso de materiales híbridos: NPs de Fe_3O_4 recubiertas con sílica y funcionalizadas con grupos mercaptano, MWCNTs magnéticos funcionalizados con Bismuthiol II y nano- Al_2O_3 funcionalizada con un IL [13, 19, 31]. De este modo, es importante tener en cuenta que, si bien los materiales funcionalizados brindan mejoras en términos de eficiencia de extracción, tal como se verá más adelante en la presente tesis, su preparación demanda tiempo y reactivos, lo cual ha sido evitado en esta parte del trabajo. Esto hace al método desarrollado no solo más eficiente en términos del tiempo requerido, sino también en relación al impacto ambiental del mismo. Adicionalmente, el método desarrollado es el único que fue aplicado a una de las muestras acuosas más complejas que existen: el agua de mar. Esto es una ventaja notable dada la alta complejidad de esta muestra, debida a la elevada salinidad e interferentes tanto orgánicos como inorgánicos presentes en su matriz.

3.1.11. Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de selenio en muestras de agua

Un Material de Referencia Certificado (CRM) fue utilizado para evaluar la exactitud del método desarrollado. En este caso, se analizó el CRM SRM 1643e – Elementos traza en aguas, del *National Institute of Standards and Technology* (NIST), con una concentración declarada de $11,97 \pm 0,14 \mu\text{g Se L}^{-1}$. Es importante destacar que este, así como otros CRMs, reporta la concentración total de los elementos sin distinguir la correspondiente a cada una de sus especies, lo cual es inconveniente al momento de evaluar la exactitud de una metodología analítica destinada al análisis de especiación de un dado elemento. En este caso, el CRM se sometió al paso de pre reducción al cual se sometieron las muestras para la determinación de Se total, a lo cual se le sumó una dilución de 1 en 6 respecto a la solución inicial, para asegurar una concentración final dentro del rango lineal del método. La concentración de Se total determinada en el CRM

Tabla 3.1.4. Métodos analíticos recientemente reportados para preconcentración y análisis de especiación de Se inorgánico utilizando nanomateriales.

Método	Muestras	Extractante	LOD (ng L ⁻¹)	Factor de refuerzo (EF)	RSD (%)	Índice de consumo (CI, mL)	Volumen muestra (mL)	Ref.
SDSPME-ICP-MS	Agua de río	nano-Al ₂ O ₃ funcionalizadas con Aliquat-336	1,4	850	1,9	0,059	50	[13]
MSPE-ICP-MS	Aguas ambientales	NPs mercapto- sílica-Fe ₃ O ₄	0,094	282	8,1	0,18	50	[19]
MSPE	Agua y alimentos	MWCNTs magnéticos funcionalizados con bismuthiol II	3	196	5,2	0,51	100	[31]
SPE-ETAAS	Aguas ambientales	Híbrido GO-TiO ₂	40	27,8	9,4	0,9	25	[34]
Reducción <i>in situ</i> -adsorción-ETAAS	Agua subterránea	NPs Pd	25	100	N.R.	1	100	[35]
D-μ-SPE-ETAAS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de mar	Nanosílica	1,4 (Se ^{IV}) 2,0 (Se ^{VI})	90 (Se ^{IV}) 88 (Se ^{VI})	4,9 (Se ^{IV}) 5,4 (Se ^{VI})	0,11 (Se ^{IV}) 0,11 (Se ^{VI})	10	Presente trabajo

N.R.: No reportado. GO: Óxido de grafeno. SDSPME: Microextracción en fase sólida por fase dispersa suspendida.

fue de $11,90 \pm 0,20 \mu\text{g L}^{-1}$, lo que indica una buena exactitud del método ($p < 0,01$). Adicionalmente, se realizaron ensayos de recuperación sobre todas las muestras reales analizadas, constituyendo estos un segundo indicador de la exactitud del método (Tabla 3.1.5). Este análisis presenta una utilidad adicional respecto al análisis del CRM, ya que sí permite evaluar este parámetro para cada una de las especies de Se por separado. Valores de recuperación de entre 94,4% y 105% para Se(IV) y entre 94,8% y 103% para Se(VI) fueron obtenidos, demostrando la alta confiabilidad del método propuesto para el análisis de especiación de Se inorgánico, incluso en matrices de alta complejidad como el agua de mar.

Finalmente, el método optimizado fue aplicado para la cuantificación de las especies inorgánicas de Se en muestras de aguas ambientales. La Tabla 3.1.5 muestra las concentraciones determinadas para cada una de las especies de Se en agua de canilla, de lluvia, subterránea y de mar. Estos resultados se encuentran en concordancia con valores previamente reportados por otros autores para este tipo de muestras [32, 33]. Uno de los resultados más importantes reportados en la tabla es la concentración de las especies en las muestras de agua de canilla, que representa la principal fuente de consumo humano de agua en la Ciudad de Mendoza. La suma de las concentraciones de ambas especies encontradas no llegaba en este caso a $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$, por lo que se encontraba bien por debajo del límite máximo establecido por el Código Alimentario Argentino de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ y más alejado aún del máximo recomendado por la OMS de $40 \mu\text{g L}^{-1}$. De hecho, solamente la muestra de agua subterránea resultó contener más de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se total, probablemente debido al contacto directo y prolongado con sedimentos ricos en el elemento. Es interesante también que, tanto en este último caso como en el agua de mar, se puede observar una predominancia de la especie Se(VI) por sobre la especie Se(IV), lo cual se correlaciona bien con el hecho de que esta última tiende a adsorberse fácilmente sobre la superficie de sedimentos y sólidos en suspensión, resultando en una reducción de su concentración en solución, que se ve reflejada en estos resultados.

Tabla 3.1.5. Resultados del análisis de especiación de Se inorgánico en diversas muestras de agua y estudios de recuperación (n = 3).

Muestra de agua	Se adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Se(IV) encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recup. (%) ^a	Se(VI) encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recup. (%) ^a
	Se(IV)	Se(VI)				
Canilla	-	-	$0,09 \pm 0,01$	-	$0,85 \pm 0,04$	-
	2,5	-	$2,50 \pm 0,09$	96,4	$0,80 \pm 0,06$	-
	-	2,5	$0,11 \pm 0,03$	-	$3,34 \pm 0,08$	99,6
Lluvia	-	-	$0,37 \pm 0,02$	-	$0,04 \pm 0,01$	-
	2,5	-	$3,0 \pm 0,1$	105	$0,05 \pm 0,02$	-
	-	2,5	$0,35 \pm 0,03$	-	$2,45 \pm 0,08$	96,4
Subterránea	-	-	$0,52 \pm 0,04$	-	$0,95 \pm 0,05$	-
	2,5	-	$2,88 \pm 0,09$	94,4	$0,99 \pm 0,06$	-
	-	2,5	$0,50 \pm 0,06$	-	$3,32 \pm 0,08$	94,8
Mar	-	-	< LOD	-	$0,30 \pm 0,03$	-
	2,5	-	$2,62 \pm 0,09$	105	$0,26 \pm 0,03$	-
	-	2,5	< LOD	-	$2,88 \pm 0,09$	103

^a $100 \times [(\text{encontrado} - \text{inicial}) / \text{adicionado}]$

3.1.12. Conclusiones

En esta primera parte del trabajo experimental de la Tesis Doctoral, se desarrolló un método de preconcentración y análisis de especiación de especies inorgánicas de Se basado en la técnica D- μ -SPE, que utilizó nanosílica como material sorbente. La aplicación directa de la nanosílica evitó la necesidad de pasos de funcionalización que no solo consumen tiempo, sino que también pueden demandar cantidades significativas de reactivos y solventes potencialmente peligrosos para el ambiente. Mientras tanto, el uso de APDC como agente complejante fue clave en términos de la selectividad del método, ya que su presencia permitió discriminar entre las especies de Se presentes en las muestras. Esto resultó en la posibilidad de realizar el análisis de especiación del elemento en las mismas y alcanzar un alto factor de refuerzo de la sensibilidad tras la optimización de las variables involucradas en la extracción, elución y determinación instrumental. Más aún, el buen grado de retención del analito sobre la nanosílica se atribuyó a una interacción de tipo

dipolo-dipolo transitorio entre el complejo Se(IV)-APDC y la superficie del material sorbente gracias al análisis del espectro ATR-FTIR del material con el complejo adsorbido.

La aplicación del método en modalidad dispersiva evitó problemas relacionados con la aglomeración de la nanosílica, los cuales son muy comunes en sus aplicaciones en formato SPE clásico y en métodos en flujo. Sumado a esto, el método desarrollado pudo ser exitosamente aplicado para la determinación y análisis de especiación de Se inorgánico en muestras de agua de variada complejidad, tales como agua subterránea o de mar. Este éxito se reflejó no solo en la coherencia de los resultados obtenidos en término de las concentraciones de las especies, sino también en los buenos resultados de los estudios de recuperación realizados, que fueron secundados por la determinación de la concentración total de Se en un material de referencia certificado. Consecuentemente, el método propuesto representa una opción de bajo costo, precisa, rápida y a la vez fácilmente implementable para el análisis rutinario de Se en muestras ambientales con bajo impacto ecológico.

3.1.13. Bibliografía

[1] V.K. Gupta, I. Ali, *Environmental Water: Advances in Treatment, Remediation and Recycling*, 1^a ed., Elsevier Science, Amsterdam, 2012.

[2] R.G. Wuilloud, P. Berton, *Selenium Speciation in the Environment*, en: S. Bakirdere (Ed.), *Speciation Studies in Soil, Sediment and Environmental Samples*, CRC Press, Florida, EEUU, 2013, pp. 263-305.

[3] R. Brigelius-Flohé, *Selenium in Human Health and Disease: An Overview*, en: B. Michalke (Ed.), *Selenium*, Springer International Publishing, Cham, Suiza, 2018, pp. 3-26.

[4] A.H. Panhwar, M. Tuzen, T.G. Kazi, *Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples*, *Talanta* 175 (2017) 352-358.

[5] A.D. Lemly, *Selenium Transport and Bioaccumulation in Aquatic Ecosystems: A Proposal for Water Quality Criteria Based on Hydrological Units, Ecotoxicology and Environmental Safety* 42(2) (1999) 150-156.

[6] W.H.O., *Guidelines for Drinking-water Quality*, World Health Organization, Ginebra, Suiza, 2011.

[7] Código Alimentario Argentino - Capítulo XII, Art. 982, Argentina, 2019.

[8] J.Y. Zhang, Y.H. Dong, Z.F. Xu, *Determination of trace selenium in Ca-rich groundwater samples by ion molecule reaction ICP-MS and CH₄ plasma modifier*, *International Journal of Mass Spectrometry* 410(C) (2016) 31-35.

[9] C. Herrero Latorre, J. Barciela García, S. García Martín, R.M. Peña Crecente, *Solid phase extraction for the speciation and preconcentration of inorganic selenium in water samples: A review*, *Analytica Chimica Acta* 804(C) (2013) 37-49.

[10] I. Ali, *Microwave assisted economic synthesis of multi walled carbon nanotubes for arsenic species removal in water: Batch and column operations*, *Journal of Molecular Liquids* 271 (2018) 677-685.

[11] H. Rashidi Nodeh, W.A. Wan Ibrahim, I. Ali, M.M. Sanagi, *Development of magnetic graphene oxide adsorbent for the removal and preconcentration of As(III) and As(V) species*

from environmental water samples, *Environmental Science and Pollution Research* 23(10) (2016) 9759-9773.

[12] C. Bendicho, I. Costas-Mora, V. Romero, I. Lavilla, Nanoparticle-enhanced liquid-phase microextraction, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 68 (2015) 78-87.

[13] L. Nyaba, J.M. Matong, K.M. Dimpe, P.N. Nomngongo, Speciation of inorganic selenium in environmental samples after suspended dispersive solid phase microextraction combined with inductively coupled plasma spectrometric determination, *Talanta* 159 (2016) 174-180.

[14] T. Khezeli, A. Daneshfar, Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 89 (2017) 99-118.

[15] K. Pyrzynska, Use of nanomaterials in sample preparation, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 43 (2013) 100-108.

[16] H. Sereshti, Y. Entezari Heravi, S. Samadi, A. Badiei, N. Hayati Roodbari, Selective Determination of Selenium in Garlic, Mushroom and Water Samples by Chemically Modified Mesoporous Silica Solid Phase Coupled with ICP-OES, *Food Analytical Methods* 6(2) (2013) 548-558.

[17] L. Yan, B. Deng, C. Shen, C. Long, Q. Deng, C. Tao, Selenium speciation using capillary electrophoresis coupled with modified electrothermal atomic absorption spectrometry after selective extraction with 5-sulfosalicylic acid functionalized magnetic nanoparticles, *Journal of Chromatography A* 1395 (2015) 173-179.

[18] Y. Cao, L. Yan, H. Huang, B. Deng, Selenium speciation in radix puerariae using ultrasonic assisted extraction combined with reversed phase high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry after magnetic solid-phase extraction with 5-sulfosalicylic acid functionalized magnetic nanoparticles, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 122(C) (2016) 172-177.

[19] C. Huang, W. Xie, X. Liu, J. Zhang, H. Xu, X. Li, Z. Liu, Highly sensitive method for speciation of inorganic selenium in environmental water by using mercapto-silica-Fe₃O₄ nanoparticles and ICP-MS, *Analytical Methods* 4(11) (2012) 3824-3829.

[20] A. Castro Grijalba, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, Inorganic selenium speciation analysis in Allium and Brassica vegetables by ionic liquid assisted liquid-liquid microextraction with multivariate optimization, *Food Chemistry* 219 (2017) 102-108.

[21] Y. Liu, M. He, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction

combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 142 (2015) 213-220.

[22] V. Gun'ko, Turov, V., *Nuclear Magnetic Resonance Studies of Interfacial Phenomena*, CRC Press, Boca Raton, EEUU, 2013.

[23] T. Yokoyama, H. Masuda, M. Suzuki, K. Ehara, K. Nogi, M. Fuji, T. Fukui, H. Suzuki, J. Tatami, K. Hayashi, K. Toda, *Basic Properties and measuring methods of nanoparticles*, en: M. Hosokawa, K. Nogi, M. Naito, T. Yokoyama (Eds.), *Nanoparticle Technology Handbook*, Elsevier, Amsterdam, Países Bajos, 2008, pp. 3-48.

[24] E. Killmann, *Polymer and Polyelectrolyte Adsorption-Stability of Silica Suspensions*, en: E. Papirer (Ed.), *Adsorption on Silica Surfaces*, Marcel Dekker, Inc., New York, EEUU, 2000, pp. 463-522.

[25] P.J. Heard, *Main Group Dithiocarbamate Complexes*, en: K.D. Karlin (Ed.), *Progress in Inorganic Chemistry*, Volume 53, John Wiley and Sons, Inc., New York, EEUU, 2005, pp. 1-69.

[26] S. Husebye, G. Helland-Madsen, *The Crystal Structure of Selenium Bis(diethyl-dithiocarbamate)*, *Acta Chemica Scandinavica* 24 (1970) 2273-2284.

[27] A.W. Adamson, A.P. Gast, *Physical chemistry of surfaces*, 6^a ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, EEUU, 1997.

[28] J.R. Rumble, *Handbook of Chemistry and Physics*, 100^a ed., CRC Press, Boca Raton, EEUU, 2019.

[29] T. Kamada, Y. Yamamoto, *Use of transition elements to enhance sensitivity for selenium determination by graphite-furnace atomic-absorption spectrophotometry combined with solvent extraction with the APDC-MIBK system*, *Talanta* 27(6) (1980) 473-476.

[30] IUPAC, *Compendium of Chemical Terminology*, 2^a ed. ("Gold Book"). Compilado por A. D. McNaught y A. Wilkinson, Oxford, Reino Unido, 1997. Versión online (2019-) creada por S. J. Chalk.

[31] Z.D. Firouzabadi, S. Dadfarnia, A.M. Haji Shabani, M.H. Ehrampoush, E.N. Tafti, *Magnetic dispersive solid phase extraction using modified magnetic multi-walled carbon nanotubes combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of selenium*, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 98(6) (2018) 555-569.

[32] A.R. Kumar, P. Riyazuddin, Speciation of selenium in groundwater: Seasonal variations and redox transformations, *Journal of Hazardous Materials* 192(1) (2011) 263-269.

[33] D. Wallschläger, J. London, Determination of inorganic selenium species in rain and sea waters by anion exchange chromatography-hydride generation-inductively-coupled plasma-dynamic reaction cell-mass spectrometry (AEC-HG-ICP-DRC-MS), *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19(9) (2004) 1119-1127.

[34] Y. Zhang, B. Chen, S. Wu, M. He, B. Hu, Graphene oxide-TiO₂ composite solid phase extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the speciation of inorganic selenium in water samples, *Talanta* 154 (2016) 474-480.

[35] G.K. Kumar, P.S. Sharma, S. Sounderajan, D. Datta, R.K. Singhal, A.C. Udas, Optimization of the preconcentration of selenium IV on palladium nanoparticles (PdNPs), using multivariate analysis for the inorganic speciation of selenium in environmental water samples, *Analytical Methods* 7(19) (2015) 8262-8270.

3.2. PRECONCENTRACIÓN DE ESPECIES INORGÁNICAS DE SELENIO POR MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA EN FASE SÓLIDA CON UN MATERIAL HÍBRIDO NANOSÍLICA-LÍQUIDO IÓNICO

3.2.1. Introducción

Tal como se ha mencionado en la introducción de la presente Tesis Doctoral, el Se posee una naturaleza dual en lo que se refiere a su efecto sobre los seres humanos y en términos de las características que lo definen como un elemento esencial o tóxico dependiendo de su concentración. Ante la necesidad de contar con métodos precisos y sensibles para su determinación, la combinación de técnicas eficientes de separación con detectores elementales, tales como ETAAS, representa una alternativa accesible para separar y cuantificar las especies de este elemento.

Los ILs son considerados una nueva generación de solventes alternativos que han resultado de gran utilidad para el desarrollo de métodos de microextracción en análisis elemental [1]. Diversos ILs han sido utilizados para la preconcentración de especies de Se como parte de distintos métodos analíticos fundamentados en técnicas de LLME, entre las que se destacan DLLME [2], CIAME [3], VA-LLME [4] y DLLME magnética asistida por un agitador *up-and-down* [5]. Sin embargo, existen algunas desventajas relacionadas con el uso de ILs en preconcentraciones basadas en LLME, pudiéndose resumir las principales como: i) dificultad para mezclarse con la fase líquida que contiene al analito debido a la alta viscosidad del IL, ii) solubilización parcial de muchos ILs hidrofóbicos en agua y iii) necesidad de ILs más densos que el agua para lograr una separación de fases eficiente cuando se utilizan las técnicas tradicionales de centrifugación y/o decantación [6, 7].

Una propuesta válida para superar algunas de las dificultades mencionadas previamente y extender así la aplicación de los ILs en preconcentración consiste en combinarlos con materiales sólidos soporte que posean altas áreas superficiales, tales

como los nanomateriales [8]. De hecho, en los últimos años se han introducido innovaciones significativas en el campo de la preconcentración en base al uso de nanomateriales en D-SPE y, más específicamente, en D- μ -SPE, donde la rápida y eficiente retención de los analitos se logra con apenas algunos miligramos de material sólido dispersado. Esto se traduce también en una importante reducción de la cantidad de sorbente utilizado y de solventes requeridos para la elución de los analitos, lo cual contribuye a la disminución del impacto ambiental de la técnica [9]. De esta manera, en la primera parte del desarrollo experimental de esta Tesis se utilizó nanosílica sin funcionalizar como sorbente para la retención de especies inorgánicas de Se, lográndose cifras de mérito analítico muy interesantes, pero aún mejorables.

Este margen de mejoramiento puede ser alcanzado a través de la funcionalización del material con un extractante que mejore sus propiedades de retención para con los analitos, tal como un IL. Esta funcionalización puede estar fundamentada en fenómenos químicos o físicos. Por un lado, la sorción química permite una mayor flexibilidad al momento de elegir un IL y un mayor control sobre el grado de funcionalización, pero puede demandar también síntesis con múltiples pasos que contribuyen a la generación de desechos [10]. Por otro lado, la funcionalización por fisiorción es usualmente más simple y rápida, facilitando el proceso como un todo. En este último caso, cuando los ILs contienen cationes con cadenas alquílicas largas, se ha planteado que la funcionalización de la superficie del nanomaterial ocurre a través de un mecanismo de adsorción que involucra la formación de hemimicelas y admicelas [11]. Como consecuencia, el desarrollo de métodos de preconcentración novedosos basados en sorbentes híbridos IL-nanomaterial constituye una alternativa interesante para el aprovechamiento de todo el espectro de ILs disponibles y sus propiedades.

En esta etapa de la Tesis, se desarrolló una técnica D- μ -SPE eficiente y selectiva, basada en el uso de un novedoso híbrido compuesto por nanosílica y el IL bromuro de 1-dodecil-3-metilimidazolio ($[C_{12}mim]Br$) para la separación y preconcentración de especies inorgánicas de Se, que fue comparada con la aplicación directa del nanomaterial sin funcionalización. El método demostró la posibilidad de emplear un IL soluble en agua que no podría utilizarse de forma directa como fase extractante en medio acuoso, cuya combinación con el nanomaterial soporte hizo posible su uso y el aprovechamiento de sus excelentes propiedades extractantes. Además, la utilización de nanosílica como material soporte resultó ventajoso en términos de su extensa área superficial y permitió no solo la miniaturización del proceso, sino también la simplificación de los pasos de separación. Los diversos factores implicados

en los procesos de funcionalización, extracción, elución y determinación instrumental fueron optimizados y el método resultante se aplicó para la separación y determinación de especies inorgánicas de Se en muestras de agua naturales que presentaron matrices de diversa complejidad. Un diagrama conceptual del desarrollo experimental llevado a cabo en esta etapa de la Tesis se presenta en la Figura 3.2.1.

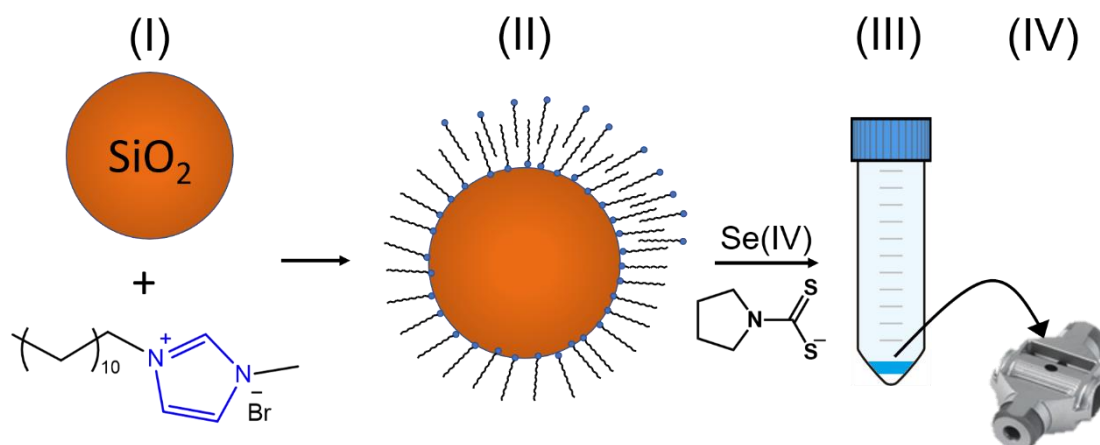


Fig. 3.2.1. Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.2. (I) Funcionalización de la nanosílica con el IL $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$, (II) Formación de ad- y hemimicelas, (III) Adición del agente complejante y extracción de la especie Se(IV) , (IV) Determinación por ETAAS.

3.2.2. Preparación y caracterización del híbrido nanosílica-IL y proceso general de microextracción y preconcentración

Para su funcionalización, 1,0 mg de nanosílica fue inicialmente suspendido en 4 mL de agua ultrapura contenidos en un tubo de centrifuga. Luego, 40 μL de una solución acuosa al 5,0% (p/v) de $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ fueron adicionados a la suspensión y mezclados con un agitador vórtex durante 10 s, para posteriormente realizar la separación de fases mediante centrifugación durante 3 min a 2090xg. El sobrenadante fue luego removido por inversión cuidadosa del tubo y el material resultante fue evaluado utilizando diversas técnicas. Por una parte, se estudió el material antes y después de la funcionalización por espectroscopía FTIR de transmisión en pastillas de KBr que incluían a los materiales en polvo. Por otro lado, se obtuvieron también imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de las dispersiones acuosas evaporadas a sequedad antes y después de la funcionalización con el IL. Los detalles experimentales de estas técnicas de caracterización han sido descriptos con anterioridad en las secciones 2.2.3 y 2.2.5.

La cantidad de IL adsorbido sobre la nanosílica se determinó por diferencia de peso tras la impregnación del nanomaterial con un exceso de IL. En todos los casos, los materiales híbridos sorbentes se lavaron por duplicado con agua ultrapura y se secaron durante 2 h a 60 °C previo a los análisis.

Para el desarrollo del método basado en D- μ -SPE, se tomaron 15 mL de muestra o de solución estándar de Se(IV) 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ y se ajustó el medio a pH = 4,0 utilizando 300 μL de buffer ácido cítrico/citrato de concentración 0,1 mol L^{-1} . Un volumen de 60 μL de una solución etanólica de APDC al 1,0% (p/v) fue también adicionado, tras lo cual la mezcla se agitó manualmente durante 10 s para dar lugar a la formación del complejo Se(IV)-APDC. A continuación, la muestra tratada se adicionó al híbrido nanosílica-IL en un tubo de centrífuga de vidrio y se agitó con vórtex durante 3 min. La separación de fases se realizó por centrifugación a 2090xg durante 4 min y el sobrenadante se removió invirtiendo cuidadosamente los tubos, tras lo cual la pequeña fracción de líquido remanente en la fase sólida se eliminó por evaporación. Finalmente, el analito fue eluido con el agregado de 100 μL de una solución de Triton X-114 al 0,5% (p/v) en acetato de etilo tras agitación en un baño ultrasónico a 60 °C durante 10 min. El eluato fue luego separado de la fase sólida por centrifugación (5 min a 2090xg) y 60 μL del mismo fueron directamente inyectados en el horno de grafito para su determinación por ETAAS bajo las condiciones descritas en la Tabla 3.2.1.

Como la retención de Se sobre el híbrido nanosílica-[C₁₂mim]Br se basó en la formación selectiva del complejo entre la especie Se(IV) y APDC, la estrategia para el análisis de especiación incluyó la aplicación del método a una segunda alícuota de muestra sometida a una etapa previa de reducción, cuyo desarrollo detallado se presentó en la Sección 2.3.4. De esta manera, el análisis de esta alícuota permitió la determinación de la concentración de Se inorgánico total, a partir de la cual se pudo obtener la concentración de Se(VI) por diferencia.

3.2.3. Funcionalización de la nanosílica y selección del líquido iónico

Diversos factores relacionados con el proceso de funcionalización de la nanosílica con distintos ILs fueron optimizados previo a la preconcentración de Se, con el objetivo de asegurar el mayor recubrimiento posible de la superficie del nanomaterial.

Tabla 3.2.1. Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método D- μ -SPE-ETAAS con el híbrido nanosílica-IL desarrollado para la determinación de Se.

Longitud de onda	196,0 nm			
Ancho de banda espectral	2,0 nm			
Corriente de la lámpara (EDL)	210 mA			
Modificadores de matriz	10 μ g Pd [como Pd(NO ₃) ₂]			
	10 μ g Cu [como Cu(NO ₃) ₂]			
Programa de temperatura de atomización electrotérmica				
Paso	T (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo (s)	Flujo de argón (mL min ⁻¹)
Secado 1	110	1	30	250
Secado 2	130	15	30	250
Pirólisis 1	600	90	30	250
Pirólisis 2	900	90	30	250
Pirólisis 3	1300	10	15	250
Enfriamiento	300	1	15	250
Atomización	1800	0	3	0
Limpieza	2400	1	2	250
Condiciones de D-μ-SPE				
Volumen de muestra	15 mL			
Concentración de APDC	0,48 mmol L ⁻¹			
pH	4,0			
Masa de nanosílica	1,0 mg			
Concentración de IL para la funcionalización	0,01% (m/v)			
Tiempo de extracción	3 min			
Modo de agitación durante extracción	Vórtex			
Tiempo de centrifugación	4 min			
Eluyente	Triton X-114 al 0,5% (m/v) en acetato de etilo			
Volumen de eluyente	100 μ L			
Tiempo de elución	10 min			
Temperatura de elución	60 °C			
Modo de agitación durante elución	Ultrasonido			
Volumen inyección ETAAS	60 μ L			

Todos los estudios de esta sección se llevaron a cabo utilizando 5,0 mL de una solución estándar de Se(IV) $200 \mu\text{g L}^{-1}$ y la determinación instrumental se realizó sobre el sobrenadante de los experimentos, calculándose los porcentajes de extracción a partir de la diferencia entre la concentración inicial de Se en las soluciones patrón y la concentración encontrada en el sobrenadante.

Para este estudio se evaluaron como agentes de funcionalización de la nanosílica ILs solubles en agua con diferentes cationes pertenecientes a las familias de los imidazolios y de los fosfonios, determinándose su eficacia en base al rendimiento alcanzado para la extracción de Se de los materiales híbridos resultantes. La estructura de los ILs ensayados se puede observar en la Figura 2.1.3 y las eficiencias de extracción de Se(IV) alcanzadas con los materiales resultantes de la funcionalización de la nanosílica con cada uno de ellos se presentan en la Fig. 3.2.2. Si bien se lograron extracciones satisfactorias en todos los casos, con valores de entre 66% y 97%, los mejores resultados se obtuvieron con $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$. Estos valores se pudieron racionalizar teniendo en cuenta el balance entre las regiones hidrofóbicas e hidrofílicas de las moléculas de los ILs. Las primeras como factor que afectaba directamente la extracción del complejo de baja polaridad Se(IV)-APDC y las segundas como determinantes de la capacidad del IL para interaccionar con la superficie de la nanosílica y de su solubilidad. En este contexto, el $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ resultó ser el IL que dio lugar al material más eficiente. Si bien el $[\text{C}_{16}\text{mim}]\text{Br}$ resultaba más hidrofóbico por la mayor longitud de su cadena alquílica -lo cual en principio lo haría un extractante más adecuado para el analito poco polar-, su solubilidad en agua era limitada a temperatura ambiente. Como consecuencia, la capacidad de este IL para funcionalizar la superficie de la nanosílica se vio reducida y, por ende, el material resultante fue menos eficiente para la retención del analito que en el caso del $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$, que sí era completamente soluble en estas condiciones. Adicionalmente, se corroboró que el material derivado de la funcionalización con un IL de la familia de los fosfonios, $[\text{P}_{4,4,4,1}]\text{CH}_3\text{SO}_4$, era menos eficiente que el $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ para la extracción de Se(IV).

En paralelo, se evaluó al IL $[\text{P}_{4,4,4,1}]\text{CH}_3\text{SO}_4$ como agente de funcionalización del nanomaterial para la extracción del analito sin complejación con APDC. Esto se vio motivado por antecedentes reportados de algunos ILs de la familia de los tetraalquilfosfonios en los que estos actúan como extractantes de analitos aniónicos a través de un mecanismo de intercambio iónico [12]. Sin embargo, en este caso no se observó retención alguna de las especies aniónicas Se(IV) y Se(VI) bajo estas

condiciones, por lo que se puede suponer que el intercambio iónico no es un mecanismo dominante sobre el que se fundamenta la extracción de Se en el método propuesto.

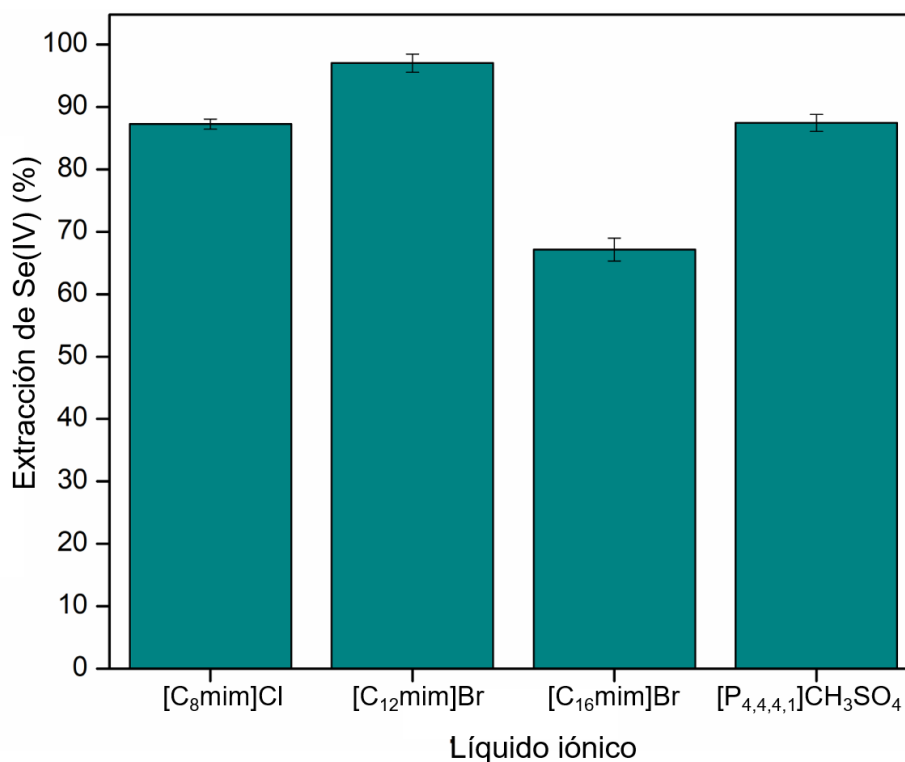


Fig. 3.2.2. Influencia del tipo de IL utilizado para la preparación del híbrido nanosílica-IL sobre la extracción de Se(IV). La concentración de Se fue de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ en todos los casos. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Los efectos de la concentración de [C₁₂mim]Br y del tiempo de contacto con la nanosílica fueron también estudiados. Estos dos factores fueron determinantes para la impregnación de los poros de la nanosílica y la funcionalización de su superficie, condicionando así la eficiencia del material híbrido resultante para la retención del complejo Se(IV)-APDC. Tras algunos experimentos previos, se decidió trabajar con 4,0 mL de solución de IL por cada mg de nanosílica, ya que de esta manera se aseguraba una buena dispersión del material en el medio. Los resultados, que se presentan en la Figura 3.2.3, mostraron que fue posible alcanzar una extracción del 100% del analito complejoado cuando 1,0 mg de nanosílica se puso en contacto con 4,0 mL de una solución al 0,01% (p/v) de [C₁₂mim]Br (equivalente a 400 μg de IL). Incrementos en la concentración del IL no produjeron modificaciones significativas en la capacidad de retención del material híbrido resultante. Con respecto al tiempo de contacto, se encontró que 10 s eran suficientes para lograr un grado de funcionalización satisfactorio que permitiese la extracción completa del analito presente en las soluciones estándar, por lo que se seleccionó este tiempo como óptimo sin la necesidad de llevar a cabo una

evaluación exhaustiva. En consecuencia, para asegurar un 100% de eficiencia de extracción, 800 μg de $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ y un tiempo de contacto de 10 s fueron seleccionados para la obtención del material funcionalizado.

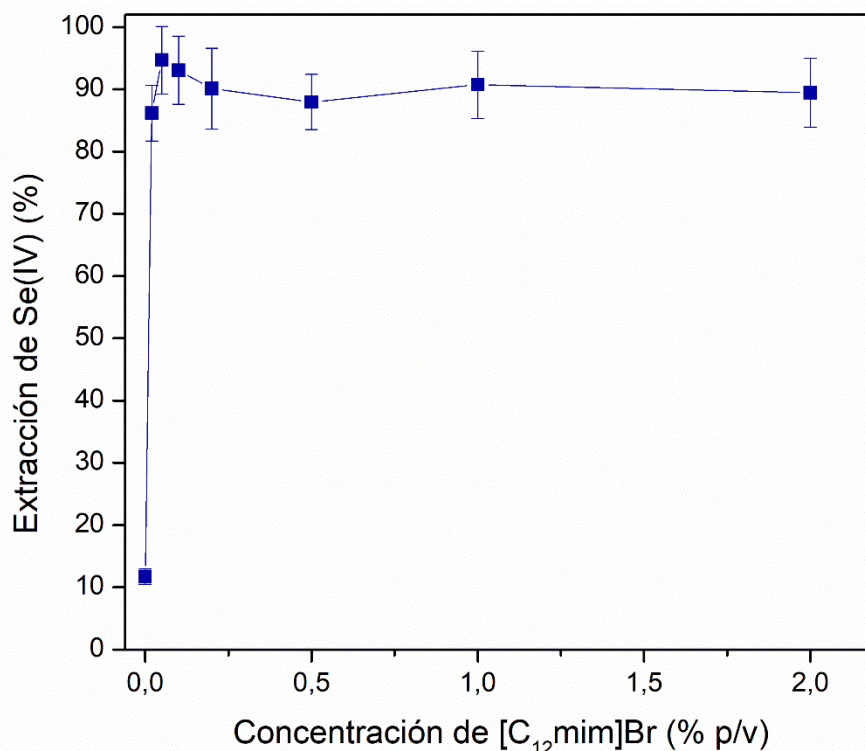


Fig. 3.2.3. Efecto de la concentración de $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$ sobre la capacidad de extracción de Se(IV) del material resultante de su sorción sobre nanosílica. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Como se puede inferir, si bien la obtención del nanomaterial híbrido significó una etapa adicional vinculada al método de preconcentración, el hecho de que la funcionalización se realizase a través de un proceso de fisorción del IL en los poros y superficie del nanomaterial hizo que éste no sea altamente demandante en términos de tiempo y consumo de reactivos. De hecho, el único desecho que se generó durante la obtención del material sorbente fue una solución acuosa diluida de $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$. Respecto al mecanismo de la funcionalización, los diferentes resultados obtenidos para la extracción de Se(IV) pueden ser explicados al considerar la formación de hemimicelas y/o admicelas sobre la superficie de la nanosílica, cuya disposición molecular se encuentra esquematizada en la Figura 3.2.4. En esta, se puede observar como inicialmente se forma una monocapa de IL (hemimicela), otorgándole a la superficie un carácter hidrofóbico como consecuencia de las cadenas alquílicas que quedan expuestas al medio circundante. Luego, a medida que la concentración de IL se incrementa en el medio, la formación de una segunda capa de moléculas resulta en la

formación de admicelas (micelas adsorbidas), de naturaleza anfifílica. Consecuentemente, la formación de hemi- y/o admicelas le otorga un carácter apolar a la superficie de la nanosílica, dando así lugar a la retención eficiente del complejo Se(IV)-APDC de baja polaridad.

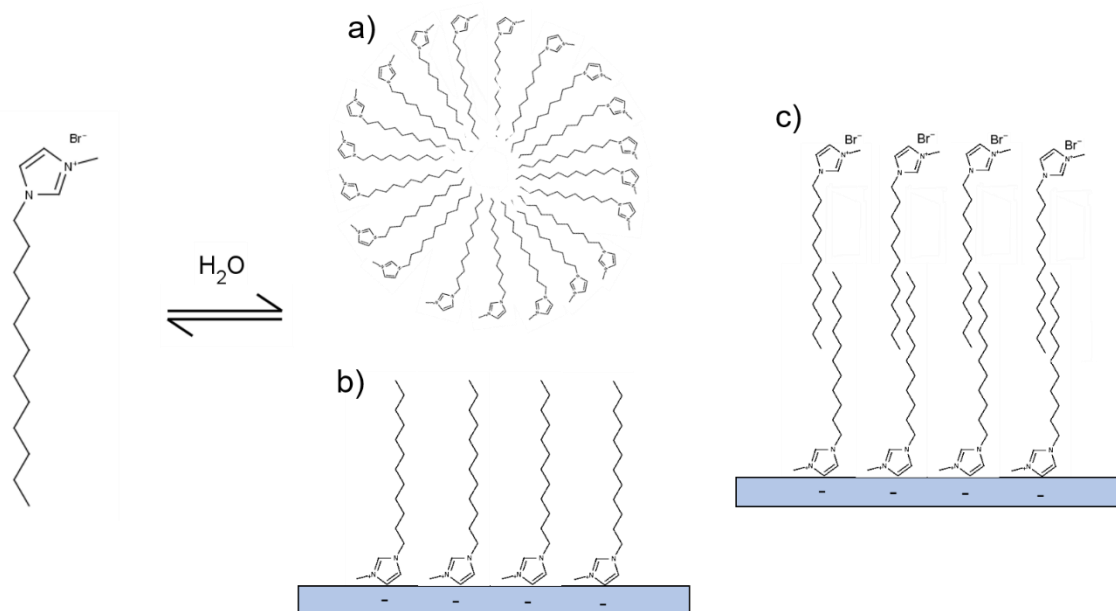


Fig. 3.2.4. Representación esquemática de la formación de **a)** micelas acuosas de $[C_{12}mim]Br$, **b)** hemimicelas de $[C_{12}mim]Br$ sobre un soporte sólido y **c)** admicelas de $[C_{12}mim]Br$ sobre un soporte sólido. Adaptado de V. Pino *et al.*, "Ionic Liquid-Based Surfactants in Separation Science" [11].

Se evaluó también en esta instancia la posibilidad de llevar a cabo simultáneamente la funcionalización del material y la extracción en un único paso. Para lograr esto, se analizó la extracción a partir del agregado del IL y de la muestra acondicionada con buffer y APDC en simultáneo sobre la nanosílica. La extracción lograda en estas condiciones se comparó con la extracción utilizando el nanomaterial híbrido obtenido en un paso previo, evaluándose distintas concentraciones de IL en el medio y comparándose los resultados obtenidos (Figura 3.2.5). Como muestra esta figura, la extracción más eficiente se logró al utilizar el material previamente funcionalizado. Adicionalmente, se puede observar que en los casos en los cuales se adicionó muestra + IL en simultáneo, la extracción se deterioró a medida que aumentaba la concentración de IL en el medio. Este efecto podría deberse a que, en presencia de un exceso de $[C_{12}mim]Br$, la agregación de las nanopartículas recubiertas con el IL disminuye su eficiencia para la extracción del complejo Se(IV)-APDC. Este comportamiento ha sido observado para el sistema nanosílica- $[C_{12}mim]Br$ por Liu y

colaboradores, quienes determinaron que a partir de concentraciones de $[C_{12}mim]Br$ de 0,01% (p/v) comienza la agregación de las nanopartículas, que se vuelve crítica a concentraciones de IL por encima de 0,03% (p/v) [13]. Al llevar a cabo la funcionalización en un paso previo, lavando el exceso de IL antes de re dispersar el material en la muestra, este problema pudo ser evitado, tal como se ve reflejado en los resultados.

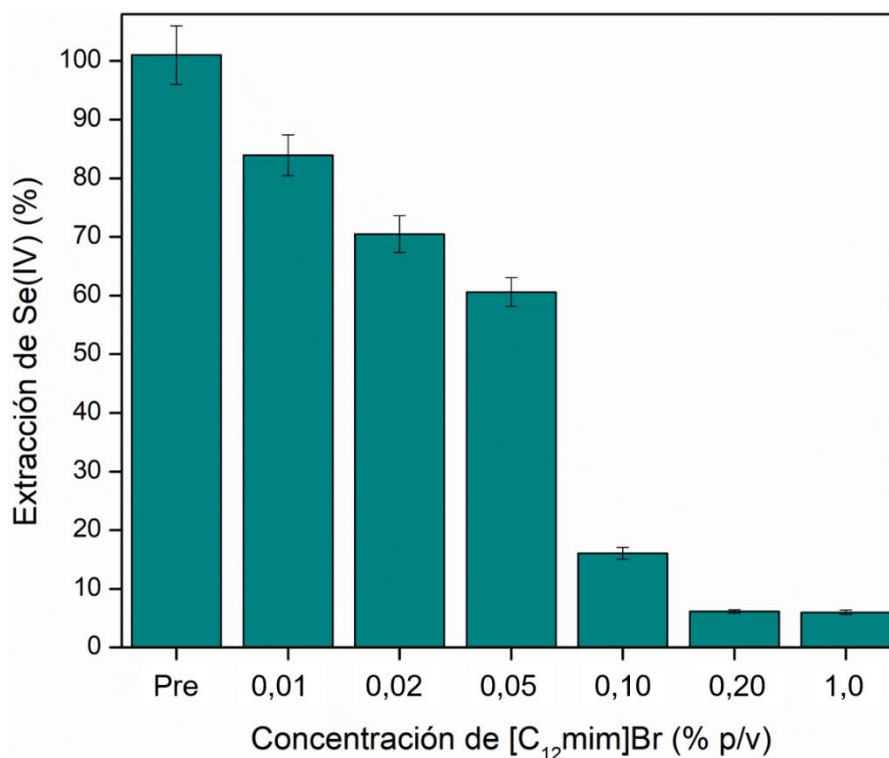


Fig. 3.2.5. Efecto de la concentración de $[C_{12}mim]Br$ sobre la extracción de Se(IV) utilizando una mezcla de nanosílica pura e IL sobre la muestra. La condición "Pre" corresponde a la extracción con el material funcionalizado en un paso previo. La concentración de Se fue de $200 \mu g L^{-1}$ en todos los casos. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Además, se realizaron experimentos tendientes a evaluar la influencia del pH durante la funcionalización sobre la subsecuente extracción de Se(IV). En ese caso, no se observaron diferencias significativas en la eficiencia de extracción de los materiales obtenidos en el rango de pH entre 2,0 y 11,0. Esto se atribuyó a la existencia de interacciones tanto electrostáticas como de enlace tipo puente hidrógeno entre la superficie del material y el $[C_{12}mim]Br$. De esta manera, las interacciones con el IL fueron posibles independientemente de la carga superficial de la nanosílica. A valores de pH bajos, la interacción predominante fue el enlace hidrógeno entre los grupos silanol superficiales protonados ($-Si-OH$) y el anillo imidazólico del IL. Mientras tanto, a valores de pH por encima del punto isoeléctrico de la nanosílica, la desprotonación parcial de estos grupos dio lugar también a interacciones electrostáticas entre los grupos $-Si-O^-$ y

los grupos imidazolio cargados positivamente [13]. Dado que el pH no ejercía una influencia significativa en términos del objetivo ulterior del desarrollo (la extracción de Se(IV)), su ajuste no fue necesario para la obtención del nanomaterial híbrido utilizado en esta etapa de la Tesis.

3.2.3.1. Caracterización del nanomaterial híbrido

La caracterización del material sorbente se llevó a cabo por técnicas FTIR y TEM. En la Figura 3.2.6.a se muestran los espectros FTIR de la nanosílica pura, del IL [C₁₂mim]Br y del híbrido nanosílica-[C₁₂mim]Br. Las señales principales del nanomaterial híbrido corresponden a las señales características de la sílica nanoestructurada: estiramientos O—H a 3500 cm⁻¹, estiramientos asimétricos Si—O—Si alrededor de 1100 cm⁻¹ y torsiones asimétricas Si—O cerca de 550 cm⁻¹. Sin embargo, picos adicionales correspondientes al IL también son visibles en este espectro: estiramientos C—H (2853 y 2928 cm⁻¹), deformaciones angulares C—H (697, 834 y 1108 cm⁻¹) y una señal característica del nC=N⁺ de anillo imidazólico (2076 cm⁻¹). Estos picos -si bien levemente desplazados debido a las diferencias en el entorno químico- confirmaron la presencia de [C₁₂mim]Br en la superficie de la nanosílica.

Las micrografías TEM (Figura 3.2.6.b) revelaron que la forma y la distribución de tamaños de las nanopartículas de sílica se encontraban preservadas tras la funcionalización con el IL. La formación de aglomerados de un mayor número de nanopartículas se observó en el caso de la nanosílica funcionalizada en comparación con el material puro (Figura 3.2.6.c). Esto es resultado de una disminución en las interacciones repulsivas entre nanopartículas, probablemente como consecuencia de la modificación de su superficie, que pasó de tener un carácter polar con algunas cargas negativas a un carácter apolar debido a la presencia de las cadenas alquílicas del catión [C₁₂mim]⁺ adsorbido.

Finalmente, la capacidad de adsorción de la nanosílica para retener al IL fue determinada por diferencia de pesada. Se encontró que la capacidad fue de 854 ± 33 µg [C₁₂mim]Br por mg de nanosílica. Esto confirmó el supuesto de que la alta superficie de la nanosílica era capaz de adsorber una gran cantidad de moléculas de IL durante la funcionalización.

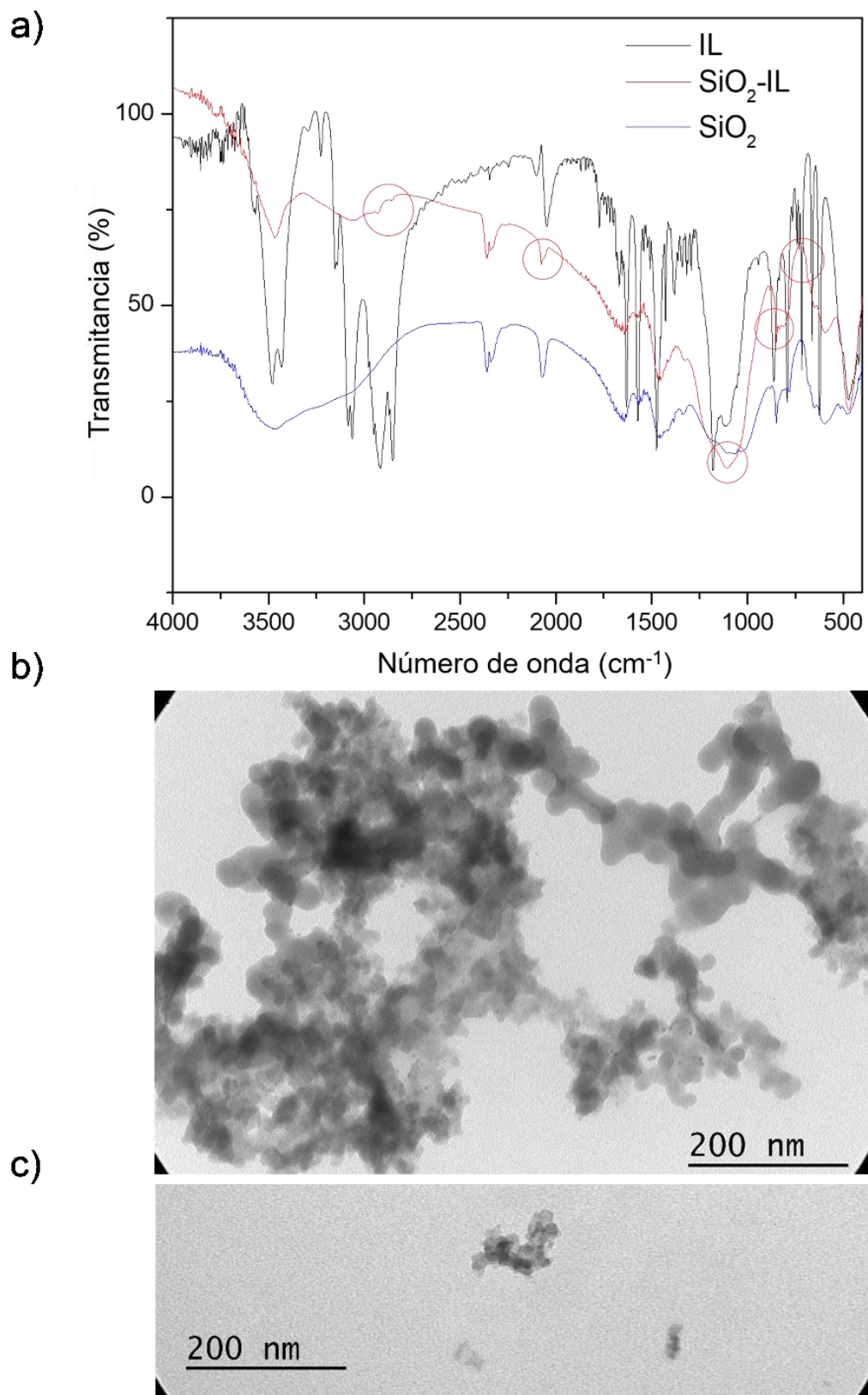


Fig 3.2.6. a) Espectro FTIR de $[C_{12}mim]Br$, nanosílica e híbrido nanosílica-IL. Señales marcadas (de izq. a der.): 2928 y 2853, 2076, 1108, 834 y 697 cm^{-1} . **b)** Micrografía TEM del nanomaterial híbrido nanosílica-IL. **c)** Micrografía TEM de la nanosílica sin funcionalizar.

3.2.4. Optimización de las condiciones de extracción y selectividad

Una vez determinadas las condiciones ideales para la obtención del nanomaterial híbrido, las condiciones vinculadas a su aplicación como sorbente para la extracción de Se(IV) fueron evaluadas. Los resultados se presentan en las secciones subsiguientes.

3.2.4.1. Elección del agente complejante

A diferencia del sistema de extracción presentado en la Sección 3.1 del presente Capítulo, el híbrido nanosílica-IL preparado en esta etapa poseía una superficie con carácter esencialmente apolar. En consecuencia, la derivatización del analito con un agente quelante fue también necesaria para obtener un compuesto derivado de baja polaridad y hacer posible de este modo la retención de Se. En este caso, se evaluaron tres agentes complejantes para la extracción de Se(IV): APDC, DDTC y DDTP. Cabe destacar que estos reactivos son selectivos para con la especie tetravalente de Se bajo ciertas condiciones y que los complejos resultantes son de muy baja polaridad. Por lo tanto, se realizaron estudios para seleccionar el reactivo que permitiese obtener la mejor extracción de Se(IV) en condiciones de pH ideales para cada uno de ellos: 2,0 para APDC, 1,0 para DDTC (según los resultados previos presentados en la Figura 3.1.2, en la sección anterior) y 1,0 para DDTP, determinado este último a partir de un reporte bibliográfico [14], y a dos concentraciones. Los resultados, presentados en la Figura 3.2.7.a, mostraron que, al igual que en el caso de la extracción con nanosílica pura, el APDC representaba la mejor alternativa en ambas concentraciones, superioridad que se encontraba relacionada a la menor polaridad del complejo resultante. Sin embargo, a diferencia de lo observado en la sección anterior, el nanomaterial híbrido permitió la extracción completa (100%) del analito, cosa que no fue posible utilizando la nanosílica sin funcionalizar.

Una vez que el APDC fue seleccionado como complejante, el efecto de su concentración sobre la extracción de Se(IV) fue estudiado. Concentraciones de entre 0 y 12 mmol L⁻¹ fueron evaluadas y los resultados se exponen en la Figura 3.2.7.b. Al igual que en los resultados presentados en la sección previa, una concentración de APDC de 0,24 mmol L⁻¹ -que representa un exceso molar de aproximadamente 100 entre APDC y Se(IV)- resultó ser adecuada para la extracción total de la especie Se(IV). Sin

embargo, para asegurar la correcta formación del complejo a través de un exceso del reactivo complejante, se decidió utilizar el doble, $0,48 \text{ mmol L}^{-1}$, en los ensayos subsecuentes. Es interesante notar que a concentraciones de APDC por encima de $1,2 \text{ mmol L}^{-1}$, la extracción de Se(IV) se vio significativamente reducida. Esto puede ser atribuido a la competencia entre el complejante libre y el complejo Se(IV)-APDC por los sitios de sorción del nanomaterial híbrido, resultando en una menor extracción de este último a costa de la extracción de APDC.

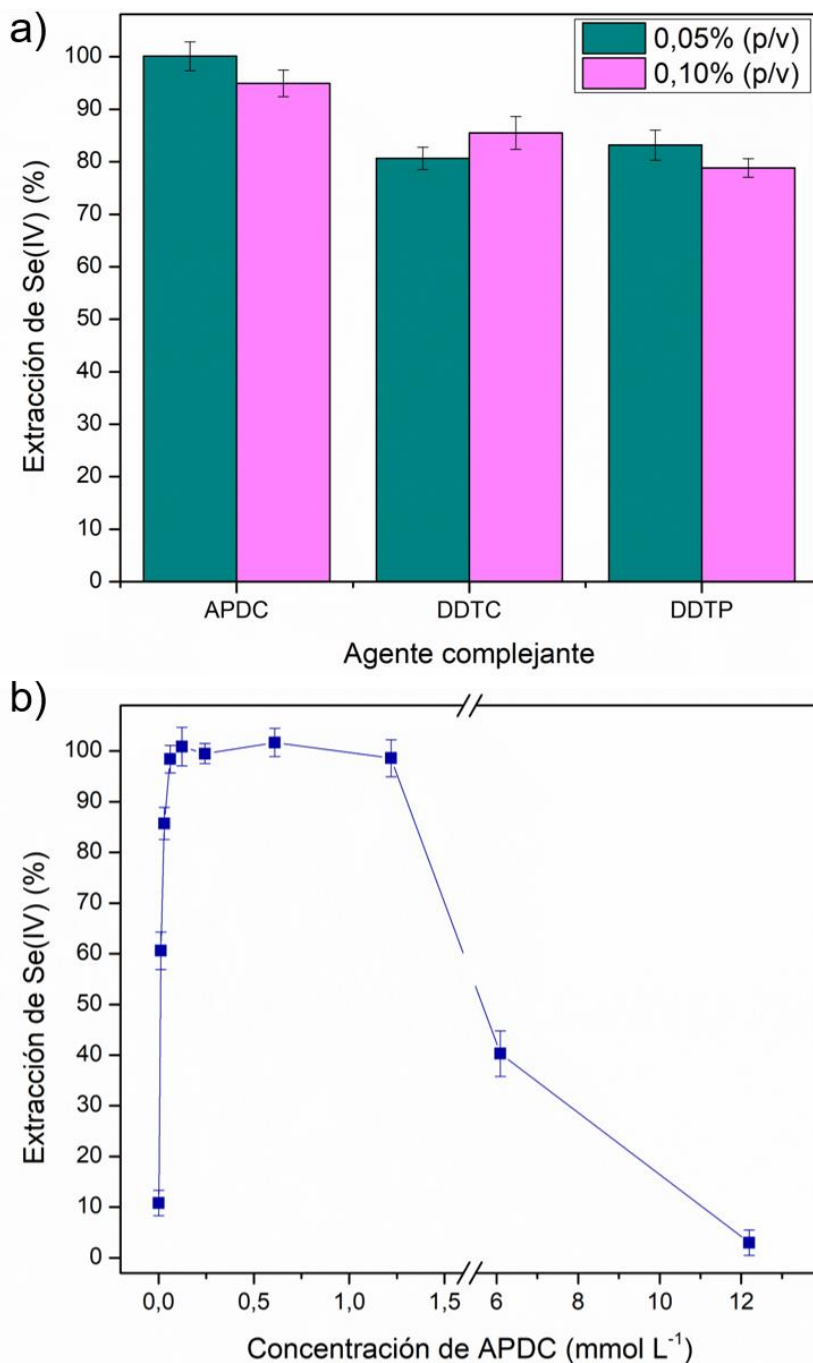


Fig. 3.2.7. Efecto de **a)** Tipo de complejante y **b)** Concentración de APDC, sobre la extracción de Se(IV) con el nanomaterial híbrido. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.2.4.2. Evaluación del pH

Al igual que en el caso presentado en la Sección 3.1, el efecto del pH fue de gran relevancia en esta parte del trabajo, especialmente teniendo en cuenta su influencia sobre la formación selectiva del complejo Se(IV)-APDC, que depende fuertemente de este parámetro. Con este objetivo, se evaluaron soluciones estándar de Se(IV) y Se(VI) con valores de pH de entre 1,0 y 10,0, de manera tal de observar el efecto de este parámetro sobre la eficiencia de extracción y la selectividad de la misma. Como se puede observar en la Figura 3.2.8, un pH de 4,0 resultó ser óptimo tanto para una extracción 100% eficiente de la especie Se(IV) como para la formación selectiva de su complejo con APDC, siendo la extracción de la especie Se(VI) nula bajo estas condiciones. Además, fue posible observar que la selectividad se veía parcialmente deteriorada en el rango de pH entre 1,0 y 3,0, probablemente por la formación de una mínima fracción de complejo Se(VI)-APDC.

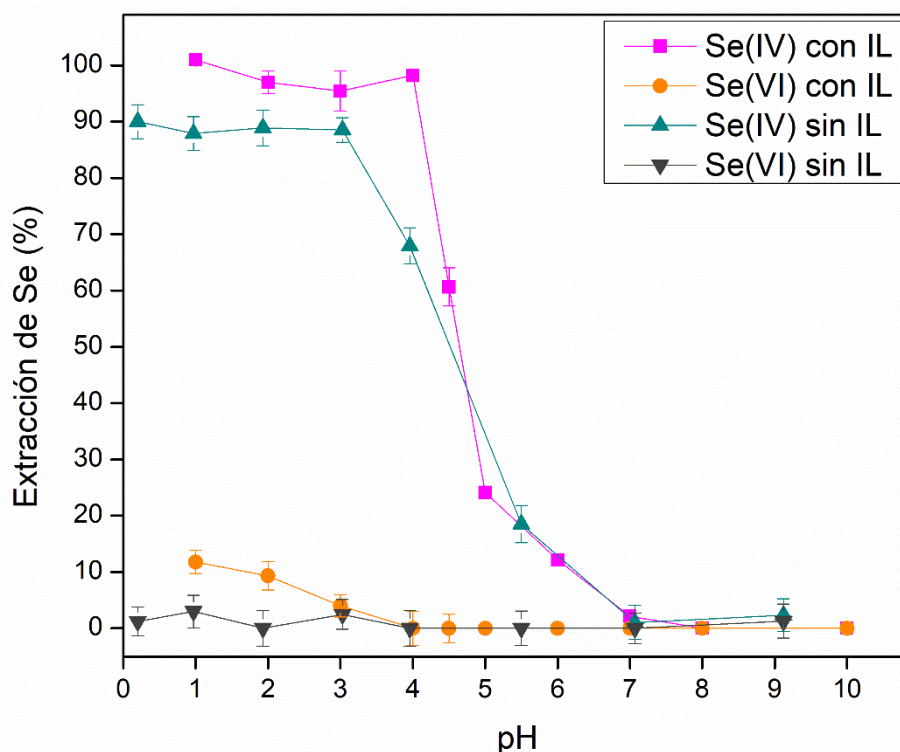


Fig. 3.2.8. Influencia del pH sobre la extracción de Se(IV) y Se(VI) en presencia de APDC como agente complejante con y sin funcionalización de la nanosílica con [C₁₂mim]Br. Las barras de error indican el desvío estándar con n = 3.

Es importante destacar que, a diferencia de la extracción con nanosílica pura (cuyos resultados se reproducen en la Figura 3.2.8 con fines comparativos) en este caso

no era esperable que las características de la superficie del material sorbente dependieran del pH, ya que las cadenas alquílicas del [C₁₂mim]Br, que se encuentran expuestas al medio, no presentan actividad ácido-base. Es por esto que los resultados obtenidos en esta parte del trabajo no son coincidentes con los expuestos en la Sección 3.1 del presente capítulo, demostrando así nuevamente que la funcionalización de la nanosilica con el [C₁₂mim]Br efectivamente modifica sus propiedades extractantes. Un buffer ácido cítrico/citrato de concentración 0,10 mol L⁻¹ fue ensayado para mantener el pH en el valor óptimo de 4,0, sin observarse ningún efecto sobre la extracción por su presencia, razón por la cual fue seleccionado para ajustar el pH en el resto de los experimentos. Un buffer fosfato diácido/fosfato ácido también fue ensayado y tampoco resultó en modificaciones en la performance del material.

3.2.4.3. Tiempo de extracción y separación

Considerando que la formación del complejo entre Se(IV) y APDC es prácticamente instantánea, la optimización del tiempo necesario para su obtención no resultó ser necesaria. Sí lo fue la evaluación de los tiempos de extracción y de separación de fases por centrifugación, ya que estos afectan de manera directa a la frecuencia analítica. Se analizaron por separado los efectos de los tiempos de extracción con agitación vórtex y de centrifugación a 2090xg, y los resultados se presentan en la Figura 3.2.9. En esta, se puede observar que 2 min para la extracción y 3 min para la centrifugación fueron suficientes para obtener una extracción del analito del 100%. A partir de estos resultados, y con el objetivo de asegurar la eficiencia de la extracción, se establecieron en el método definitivo 3 min para el mezclado de los reactivos y 4 min para la centrifugación. Si se compara con la extracción obtenida al utilizar nanosilica sin funcionalizar, el uso de nanosilica funcionalizada se traduce en una mejora del 30% en términos del tiempo necesario para el proceso de extracción/separación.

3.2.4.4. Volumen de muestra, cantidad de material sorbente y capacidad

Puesto que las cifras de mérito analítico dependen del volumen de muestra utilizado (por ej.: el factor de preconcentración), se realizó un estudio a los efectos de determinar el máximo valor que permitiera alcanzar la total extracción del analito.

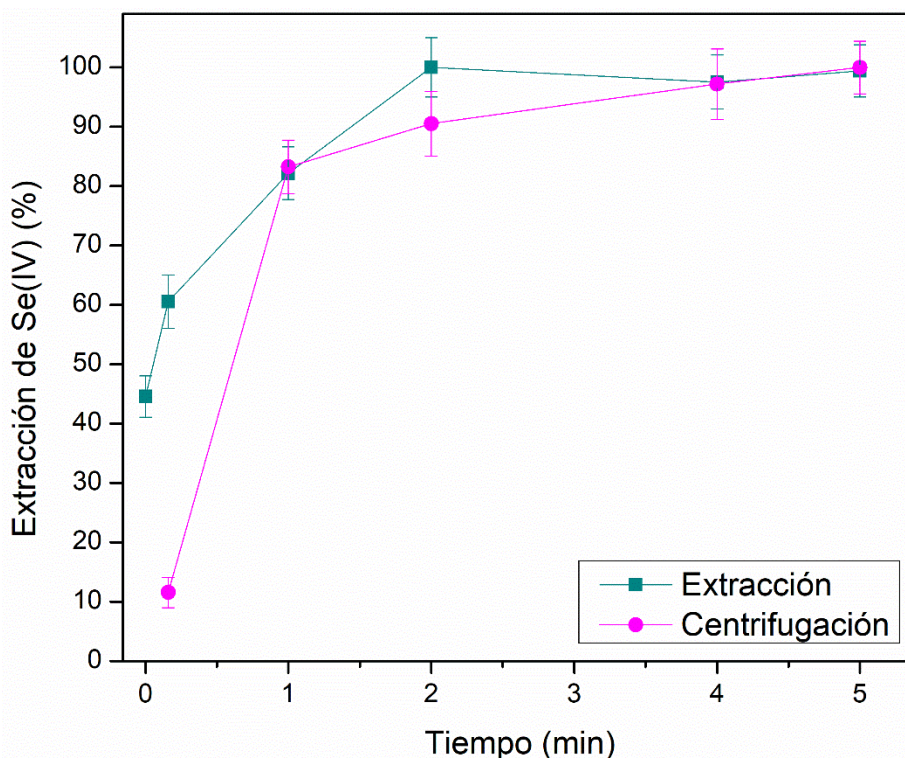


Fig. 3.2.9. Efecto del tiempo de extracción con agitación vórtex y de la centrifugación a 2090xg sobre la extracción de Se(IV), utilizando 1,0 mg de nanomaterial híbrido. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Como se observa en la Figura 3.2.10, un 100% de extracción de Se(IV) se logró con volúmenes de hasta 15 mL, utilizando 1,0 mg de material de partida. De ese valor en adelante, la eficiencia de retención del material se vio limitada, probablemente debido a la dificultad de lograr una adecuada dispersión de una cantidad tan baja de material en un volumen tan alto de muestra, a pesar de haberse aplicado condiciones de agitación vigorosa sobre la mezcla.

La búsqueda de la menor cantidad posible de material sorbente necesaria para la extracción total de Se(IV) desde 15 mL de solución con una concentración de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (una cantidad bien por encima de la esperada en muestras reales) fue también realizada en esta parte del trabajo. Para esto, distintas cantidades del híbrido nanosílica-[C₁₂mim]Br se pusieron en contacto con las soluciones patrón y se llevó a cabo el proceso de extracción optimizado. Las cantidades utilizadas para este estudio oscilaron entre 1,0 y 50 mg, y se alcanzó la máxima extracción en todos los casos. En consecuencia, se decidió utilizar 1,0 mg en los experimentos subsiguientes para minimizar el consumo de reactivos. Esto demuestra que, a pesar de la existencia de otros materiales basados en sílica con mayores relaciones de área superficial/masa (por ej. MCM-41 [15] o materiales basados en SBA [16]), que probablemente darían lugar a

excelentes resultados en bajas cantidades, la nanosílica modificada con IL utilizada en este trabajo constituye una excelente alternativa de bajo costo para lograr altas eficiencias de extracción en sistemas miniaturizados. Mientras tanto, en comparación con la nanosílica pura estudiada en la etapa previa del presente trabajo de Tesis (Sección 3.1.3.3), el nanomaterial híbrido presentó una mayor capacidad respecto al volumen de muestra analizable, ya que utilizando 1,0 mg se pudieron analizar 15 mL de muestra, contra los 10 mL máximos analizables con la misma cantidad de nanosílica sin funcionalización.

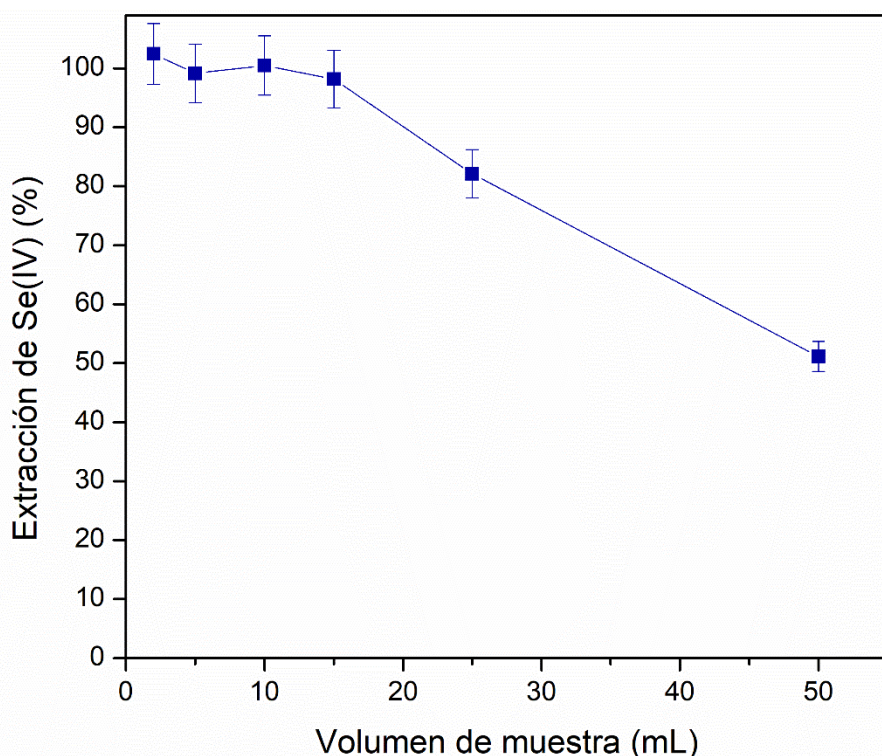


Fig. 3.2.10. Efecto del volumen de muestra sobre la eficiencia de extracción de Se(IV) utilizando 2,0 mg de híbrido nanosílica-IL. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Adicionalmente, se determinó la capacidad extractante del nanomaterial híbrido hacia Se. En este caso, se obtuvo que la capacidad del mismo fue de $470 \pm 20 \mu\text{g}$ de Se(IV) por g de material. Este valor representa una mejora de casi el 3000% respecto a la capacidad de la nanosílica pura (Sección 3.1.4), demostrando así el mejoramiento de las propiedades extractantes del sorbente como producto de su funcionalización con el IL.

3.2.5. Elución del analito

Debido a las limitaciones ya mencionadas en la Sección 3.1.5 respecto a las determinaciones directas por ETAAS en presencia de nanosílica, el analito también debió ser eluido desde el material sorbente previo a su determinación instrumental en esta etapa. Para esto, se ensayaron diversas estrategias y eluyentes a los efectos de poder obtener la mayor eficiencia de elución del analito desde el material híbrido, minimizando el volumen de eluyente para evitar diluciones innecesarias y el consecuente deterioro de la sensibilidad analítica del método propuesto. Inicialmente, se trabajó con tres grupos de reactivos, utilizando 200 μL de cada uno de ellos como primera aproximación para eluir el complejo Se(IV)-APDC retenido en 1,0 mg de sorbente:

- Solventes orgánicos que pudiesen solubilizar al complejo Se(IV)-APDC: acetato de etilo, MIBK, etanol y metanol.
- Soluciones oxidantes inorgánicas para descomponer el complejo y así liberar el Se(IV) hacia la solución: soluciones acuosas de HNO_3 , H_2O_2 y HClO_4 .
- Soluciones inorgánicas básicas, con la idea de favorecer la disociación del complejo Se(IV)-APDC: soluciones acuosas de NaOH y KOH.

Sumado a esto, algunos de los eluyentes fueron acompañados por calentamiento o radiación UV como posibles métodos adicionales de descomposición del reactivo complejante. En la Tabla 3.2.2 se muestran todas las combinaciones estudiadas. Los resultados se encuentran expresados en función del factor de refuerzo de la sensibilidad obtenido en cada caso, calculado como la relación entre el área de pico de absorción atómica detectado tras la preconcentración y elución con el eluyente indicado y la resultante de la medición de un patrón acuoso. De esta manera, los resultados incluyen tanto el efecto de la capacidad eluyente para retroextraer el analito como el efecto del mismo sobre la señal analítica de ETAAS.

Como puede observarse en la Tabla 3.2.2, el mejor resultado en términos del refuerzo de la señal analítica se obtuvo utilizando acetato de etilo. Ante esto, se hipotetizó que, al ser el eluyente menos polar entre los ensayados, este resultaba el más eficiente para la remoción del complejo Se(IV)-APDC desde la superficie de la nanosílica funcionalizada. Sin embargo, este resultado distaba de ser ideal si se considera que, en términos de la eficiencia de elución, la recuperación del analito en este caso fue de aproximadamente 50%, existiendo aún un margen considerable de

Tabla 3.2.2. Efecto de las estrategias de elución sobre el factor de refuerzo de la sensibilidad.

Eluyente	Factor de refuerzo de la sensibilidad
Acetato de etilo	28
Acetato de etilo + calor	17
Acetato de etilo/metanol (1:1)	16
Acetato de etilo/etanol (1:1)	13
1) HNO ₃ + H ₂ O ₂ + calor hasta evaporación - 2) Acetato de etilo	12
1) Acetato de etilo + calor hasta evaporación - 2) Acetato de etilo	8
Acetato de etilo + luz UV	6
MIBK	15
MIBK + luz UV	13
1) MIBK + calor hasta evaporación 2) MIBK	12
1) HNO ₃ + H ₂ O ₂ + calor hasta evaporación - 2) MIBK	9
MIBK/etanol (1:1)	8
MIBK + calor	7
MIBK/metanol (1:1)	3
HNO ₃ 10%	19
1) HNO ₃ 10% + calor hasta evaporación - 2) HNO ₃ 10%	21
HNO ₃ 10% + calor	18
HNO ₃ 10% + UV	5
HNO ₃ 10% + calor	4
HNO ₃ 10%/Metanol (1:1)	3
H ₂ O ₂ 10%	19
H ₂ O ₂ 10% + HClO ₄ 1%	18
1) HNO ₃ 10% + H ₂ O ₂ 10% + calor hasta evaporación 2) HNO ₃ 10%	29
1) HNO ₃ 10% + H ₂ O ₂ 10% + calor hasta evaporación 2) HNO ₃ 10% + H ₂ O ₂ 10%	28
HNO ₃ 10% + H ₂ O ₂ 10% + calor	27
HNO ₃ 10% + H ₂ O ₂ 10%	20
Etanol/HNO ₃ 10%/H ₂ O ₂ 10% (2:1:1)	20
HNO ₃ 10% + H ₂ O ₂ 10% + UV	16
Metanol/HNO ₃ 10%/H ₂ O ₂ 10% (2:1:1)	8

mejora utilizando este solvente. También es importante mencionar la ocurrencia de diversos inconvenientes prácticos que se presentaron durante el uso de varios de los eluyentes. Por ejemplo, con MIBK y con los eluyentes inorgánicos no se lograron buenas recuperaciones del analito, mientras que con los alcoholes se observó una mayor dispersión del material sorbente, lo cual imposibilitó su separación por centrifugación, independientemente del tiempo o velocidad aplicados. Adicionalmente, se obtuvieron muy buenos resultados en términos de la capacidad de elución con los eluyentes básicos y el peróxido de hidrógeno. Sin embargo, en todos estos casos la sensibilidad se vio profundamente afectada por estas soluciones, lo cual se tradujo en señales instrumentales extremadamente bajas en comparación con las obtenidas con la matriz acuosa, haciendo que su implementación resultara poco útil.

Como se mencionó en el párrafo previo, el acetato de etilo resultó ser el mejor eluyente en función de la combinación de sus propiedades como eluyente y como medio para la determinación por ETAAS, aunque las recuperaciones obtenidas no superaron el 50%. Sumado a esto, la repetibilidad de las eluciones resultó ser deficiente, principalmente por la limitada dispersión del sorbente sólido en el solvente. Con el objetivo de mejorar esto, se evaluó qué efecto tenía sobre la elución del analito la adición de un tensoactivo junto con el acetato de etilo. Para ello, se realizaron pruebas con tensoactivos de la familia de los Triton (X-100 y X-114) y con $[C_{12}mim]Br$ a dos niveles de concentración, utilizando nuevamente 200 μL de eluyente, con los resultados presentados en la Figura 3.2.11. Como se observa, el mejor resultado se obtuvo utilizando Triton X-114 al 0,5% (p/v), no solo en términos del factor de refuerzo de la sensibilidad, sino también en términos de la precisión (dada por el desvío estándar de la medición de 3 réplicas). Esta mejora se puede explicar como consecuencia de una dispersión más eficiente del material sorbente en presencia de Triton X-114 de concentración 0,5 % (p/v), lo cual resultó en una mayor área de contacto con el eluyente y, consecuentemente, en una recuperación más alta del analito. La gran dispersión observada en los resultados obtenidos con una concentración de 1,0% (p/v) puede explicarse al considerar el efecto que tuvo la presencia del tensoactivo en la matriz de la muestra sobre la determinación instrumental de Se por ETAAS. De hecho, se observa la misma tendencia en las determinaciones con Triton X-100.

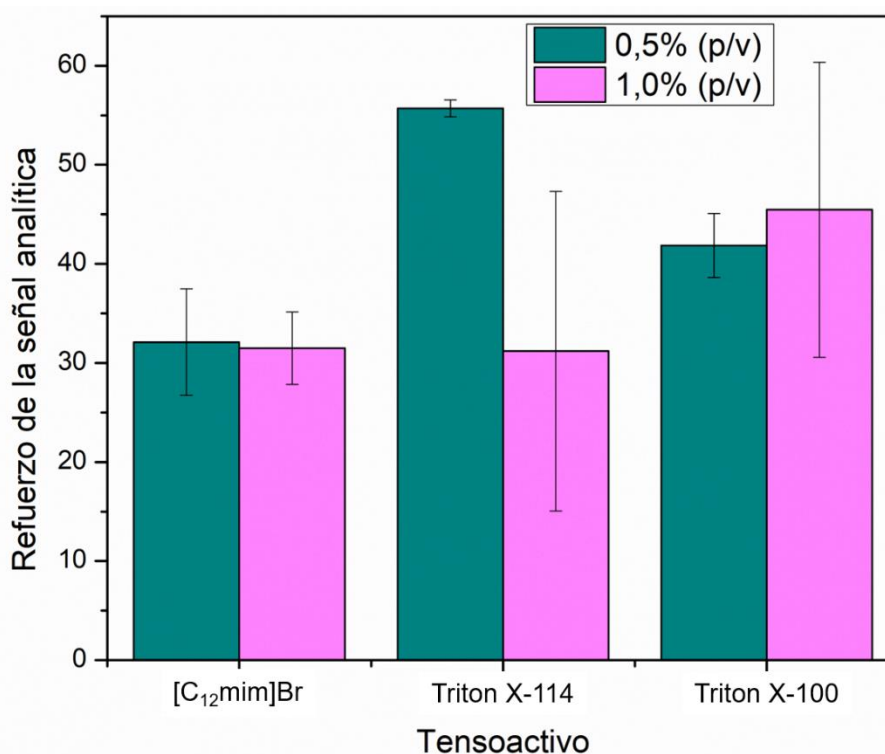


Fig. 3.2.11. Efecto del tipo y concentración de tensoactivo adicionado al acetato de etilo sobre el refuerzo de la señal analítica de las determinaciones por ETAAS. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Una vez definidos el tipo de eluyente y el procedimiento de elución, se optimizó el volumen de este de manera de alcanzar el factor de preconcentración más elevado posible sin sacrificar el buen contacto entre las fases, que se deteriora a medida que disminuye el volumen de eluyente. En estos experimentos se utilizaron diferentes volúmenes de acetato de etilo con Triton X-114 al 0,5% (p/v) y se observó que 100 μL resultó ser el menor volumen posible que no afectaba la retroextracción del analito, por lo que este valor fue seleccionado como el volumen ideal. Los volúmenes por debajo de 100 μL no permitieron una adecuada dispersión del material, mientras que los volúmenes mayores dieron lugar a una disminución en el factor de preconcentración debido a la dilución del analito.

A continuación, se evaluó el efecto del tiempo de elución y la temperatura del proceso con asistencia de agitación ultrasónica. En este caso, la agitación vórtex fue descartada ya que provocaba la adhesión del sólido a las paredes del tubo impidiendo un contacto eficiente con el eluyente. Las temperaturas evaluadas estuvieron entre 20 y 60 $^{\circ}\text{C}$ (no mayores, para evitar la evaporación del acetato de etilo) y los tiempos entre 5 y 30 min. Los resultados se pueden observar en la Figura 3.2.12 y muestran que la retroextracción del analito mejoró significativamente con los aumentos de la temperatura

y que 10 min fueron suficientes para lograr la mayor elución posible. Por ende, se seleccionaron 10 min a 60 °C como las condiciones ideales para la elución en el método.

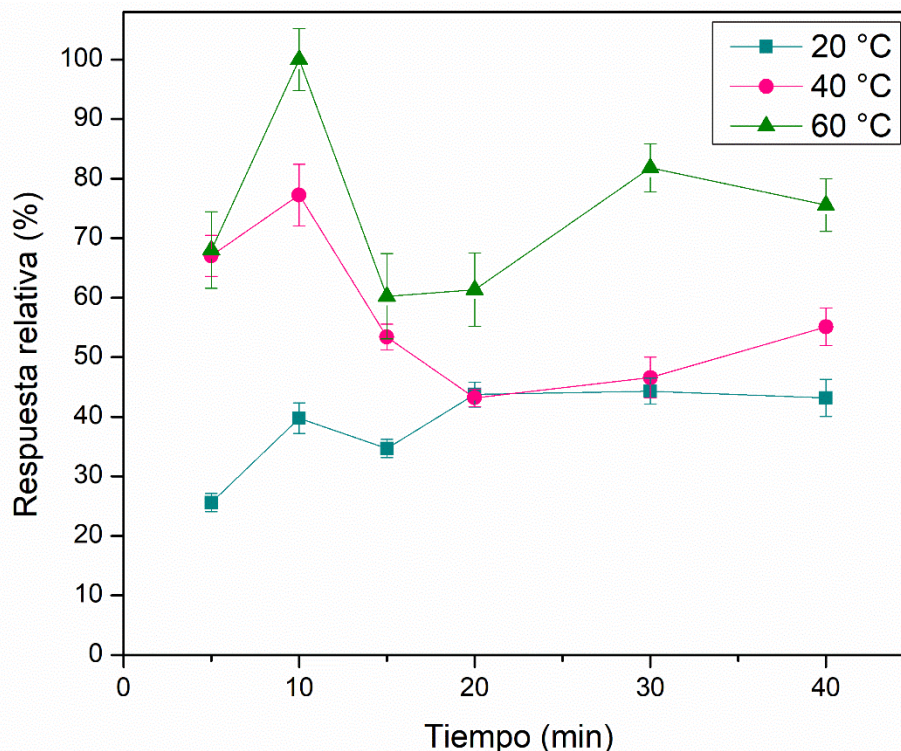


Fig. 3.2.12. Efecto del tiempo y de la temperatura de elución utilizando 100 μL de acetato de etilo con Triton X-114 al 0,5% (p/v) como eluyente y agitación ultrasónica. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.2.6. Reutilización del material sorbente

La posibilidad de reutilizar el híbrido nanosílica-IL fue considerada también en esta etapa, utilizando soluciones estándar con una concentración de Se(IV) de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Se observó así que el material sorbente podría ser utilizado para hasta 3 ciclos de extracción-elución sin perder su capacidad extractante. Para lograr esto, fue necesario incorporar un paso de lavado con acetato de etilo de manera de eliminar cualquier fracción de analito remanente tras la elución y así evitar efectos de memoria durante las determinaciones analíticas. Este fue seguido por un paso de secado del material a 60 °C previo a su reutilización. Sin embargo, considerando el tiempo requerido para reacondicionar el material sorbente, sumado al hecho de que el paso de limpieza insumía una cantidad significativa de solvente orgánico y que cada determinación requería menos de 1,0 mg de nanosílica con tan solo 800 μg de IL, se optó por no reutilizar el material durante el desarrollo experimental para determinaciones sucesivas.

3.2.7. Selectividad del método para especies de selenio

La selectividad de la preconcentración de Se(IV) en presencia de Se(VI) fue también evaluada en esta etapa del trabajo, a través de ensayos de recuperación. Como se ha mencionado previamente, la especie tetravalente podía ser extraída cuantitativamente a pH 4,0, mientras que la especie hexavalente no formaba un complejo con APDC en esas condiciones (Figura 3.2.8). El estudio se llevó a cabo en los siguientes rangos de concentración para las especies de Se: 0,25 – 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Se(IV) y 0,25 – 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Se(VI). Esto resultó en relaciones molares entre Se(VI) y Se(IV) que fueron desde 0,01 hasta 200. Como se puede observar en la Tabla 3.2.3, el método propuesto dio lugar a una alta selectividad y una buena precisión bajo estas condiciones, con valores de recuperación para la especie Se(IV) de entre 96,0% y 108%.

Tabla 3.2.3. Selectividad del método D- μ -SPE-ETAAS con el híbrido nanosílica-IL propuesto para la determinación de especies de Se.

Relación molar Se ^{VI} /Se ^{IV}	Se(IV)			Se(VI)		
	Inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)	Inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)
0,01	25	24,8	99,2	0,25	0,26	104
0,025	10	10,2	102	0,25	0,24	96,0
0,25	2	1,99	99,5	0,50	0,48	96,0
1	2	1,94	97,0	2	1,95	97,5
5	0,50	0,51	102	2,50	2,40	96,0
10	0,25	0,24	96,0	2,5	2,54	102
50	0,25	0,25	100	12,5	11,9	95,2
100	0,25	0,26	104	25	25,7	103
200	0,25	0,27	108	50	49,2	98,4

^a Recuperación = 100 x [encontrado/ inicial]

3.2.8. Condiciones instrumentales para la determinación de selenio por ETAAS

El programa de temperaturas optimizado para la determinación por ETAAS se presenta en la Tabla 3.2.1. Tal como se abordó en la Sección 3.1.9, el problema de la baja sensibilidad en la determinación de Se en presencia de APDC se solucionó con la utilización de Cu como modificador de matriz, sumado al modificador clásico que se utilizaba para las mediciones por ETAAS, que es el Pd. En este caso, al igual que en la sección previa, se observó que 10 µg de cada uno de los modificadores resultaban suficientes para obtener la máxima sensibilidad posible. Además, se evaluó el efecto de distintos volúmenes de inyección de eluato sobre la señal analítica. Teniendo en cuenta que la máxima capacidad del horno de grafito es de 100 µL, se encontró que 60 µL del eluato de acetato de etilo con Triton X-114 0,5% (p/v) resultaba ser la cantidad óptima para poder obtener la mayor sensibilidad posible. Cuando los volúmenes inyectados fueron superiores, las burbujas generadas en el atomizador como consecuencia de la presencia del IL producían proyecciones que expulsaban parte del líquido durante el calentamiento, impidiendo así el uso de volúmenes mayores al determinado como óptimo.

Es importante tener en cuenta que, en este caso, la matriz orgánica compuesta por Triton X-114, APDC co-extraído y [C₁₂mim]Br inicialmente retenido sobre la nanosílica durante su funcionalización causó una reducción significativa en la sensibilidad de la determinación de Se por ETAAS, incluso en presencia de los modificadores de matriz de Cu y Pd. Entonces, con el objetivo de optimizar las determinaciones, se evaluaron diversos pasos de pirólisis para descomponer la matriz eficientemente y de manera secuencial, evitando el riesgo de volatilizar el analito y posibles interferencias espectrales que pudieran producirse por efecto de componentes orgánicos e inorgánicos todavía presentes en el horno de grafito en la etapa de atomización y lectura. Para esto, se utilizó una estrategia similar a la descrita en la Sección 3.1.9, es decir, se incluyeron tres etapas de pirólisis en el programa de temperatura de ETAAS. Las primeras dos se fijaron a 600 °C y 900 °C, según optimizaciones previas, mientras que la tercera se evaluó en el rango entre 1000 °C y 1600 °C con los resultados que se pueden observar en la curva de pirólisis de la Figura 3.2.13, lográndose una respuesta óptima con 1300 °C, resultado idéntico al obtenido en el desarrollo presentado en la Sección 3.1. Una vez fijado este valor, se procedió a estudiar el efecto de la temperatura de atomización. Para esto, se procedió a atomizar la mezcla de componentes orgánicos y Se(IV) a temperaturas de entre 1700 °C y 2300

°C tras los pasos de pirólisis, lográndose la máxima sensibilidad al aplicar una temperatura de 1800 °C durante la atomización (curva de atomización en la Figura 3.2.13). Este último fue significativamente menor que el valor óptimo para la determinación por ETAAS en el método presentado en la sección previa. Esto da la pauta de que la matriz ejerce una influencia significativa sobre la determinación instrumental aún después de las tres etapas de pirólisis aplicadas. Adicionalmente, se debió incluir un paso intermedio de 15 s a 300 °C entre la última etapa de pirólisis y la de atomización a los efectos de asegurar la obtención de picos de absorción gaussianos y completos.

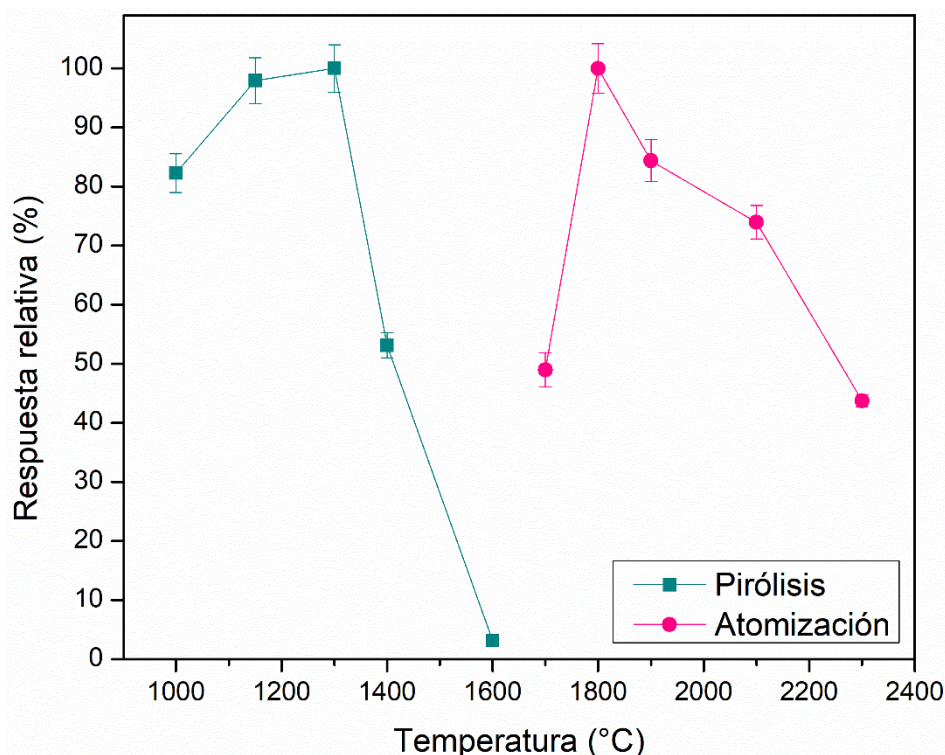


Fig. 3.2.13. Curvas de pirólisis y atomización para la determinación de Se por ETAAS. Todas las señales se registraron como áreas de picos de absorción y se relativizaron respecto a la mayor de ellas. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.2.9. Estudio de potenciales interferentes

El posible efecto de diversos interferentes en la preconcentración y determinación de Se utilizando el híbrido nanosílica-[C₁₂mim]Br fue analizado también en esta etapa. Al igual que en los ensayos descritos en la Sección 3.1.8, se utilizaron soluciones con una concentración de Se(IV) de 2,0 µg L⁻¹ preparadas en presencia de diversos iones concomitantes que se encontraban a concentraciones iguales o mayores

a las esperadas en muestras reales. Dichas soluciones fueron analizadas siguiendo el método optimizado descrito previamente. Los límites de tolerancia hasta los que se consideró el efecto interferente fueron nuevamente fijados como la concentración que ocasionaba una modificación de la recuperación de Se(IV) en más de un 5% con respecto a la concentración conocida y establecida inicialmente en los experimentos. De esta manera, se observó que cationes comunes como sodio y potasio fueron tolerados hasta 10 g L^{-1} , calcio hasta $2,0 \text{ g L}^{-1}$ y magnesio y zinc hasta $1,0 \text{ g L}^{-1}$. Adicionalmente, aniones que se encuentran frecuentemente en aguas, tales como cloruro y bromuro, no interfirieron sino hasta una concentración de 20 g L^{-1} , mientras que nitrato y sulfato fueron tolerados hasta concentraciones de $5,0 \text{ g L}^{-1}$. Además, las señales de absorbancia de las soluciones de blanco de reactivos correspondientes no se vieron significativamente modificadas por la presencia de los iones interferentes.

3.2.10. Rendimiento analítico

Se trazaron curvas de calibración para las determinaciones de Se(IV) y Se(VI) tras el análisis de una serie de muestras estándar sometidas al método de preconcentración desarrollado. De esta manera, se observó una respuesta lineal desde concentraciones cercanas al LOQ hasta al menos $4,1 \mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,9986 para Se(IV) (Figura 3.2.14.a) y desde el LOQ hasta $4,0 \mu\text{g L}^{-1}$ con un R^2 de 0,9992 para Se(VI) (Figura 3.2.14.b). Los límites de detección, calculados en base a la concentración correspondiente a tres veces el desvío estándar del blanco, fueron de $1,1 \text{ ng L}^{-1}$ para Se(IV) y de $1,7 \text{ ng L}^{-1}$ para Se(VI), mientras que los límites de cuantificación fueron de $3,7 \text{ ng L}^{-1}$ y $5,7 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente. Estos significaron una mejora del 21% respecto a los valores obtenidos utilizando nanosílica. Los factores de refuerzo de la sensibilidad, calculados como el cociente entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin preconcentración, fueron de 110 para Se(IV) y de 104 para Se(VI). Estos representaron también mejoras significativas respecto a los valores obtenidos con el método desarrollado utilizando nanosílica sin funcionalizar, que fueron de 90 y 88, respectivamente, demostrando que su funcionalización con el IL representa una ventaja también en términos de los parámetros analíticos logrados. El factor de preconcentración, por su parte, fue de 150, mientras que la eficiencia de extracción lograda en las condiciones óptimas fue del 100%, superando al 90% logrado con nanosílica pura. Los valores de RSD en este caso fueron de 5,7% y 5,2% para seis determinaciones replicadas a una concentración de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV) y Se(VI),

respectivamente. Un resumen de los parámetros derivados de las curvas de calibración y de las cifras de mérito analítico más relevantes se puede observar en la Tabla 3.2.4.

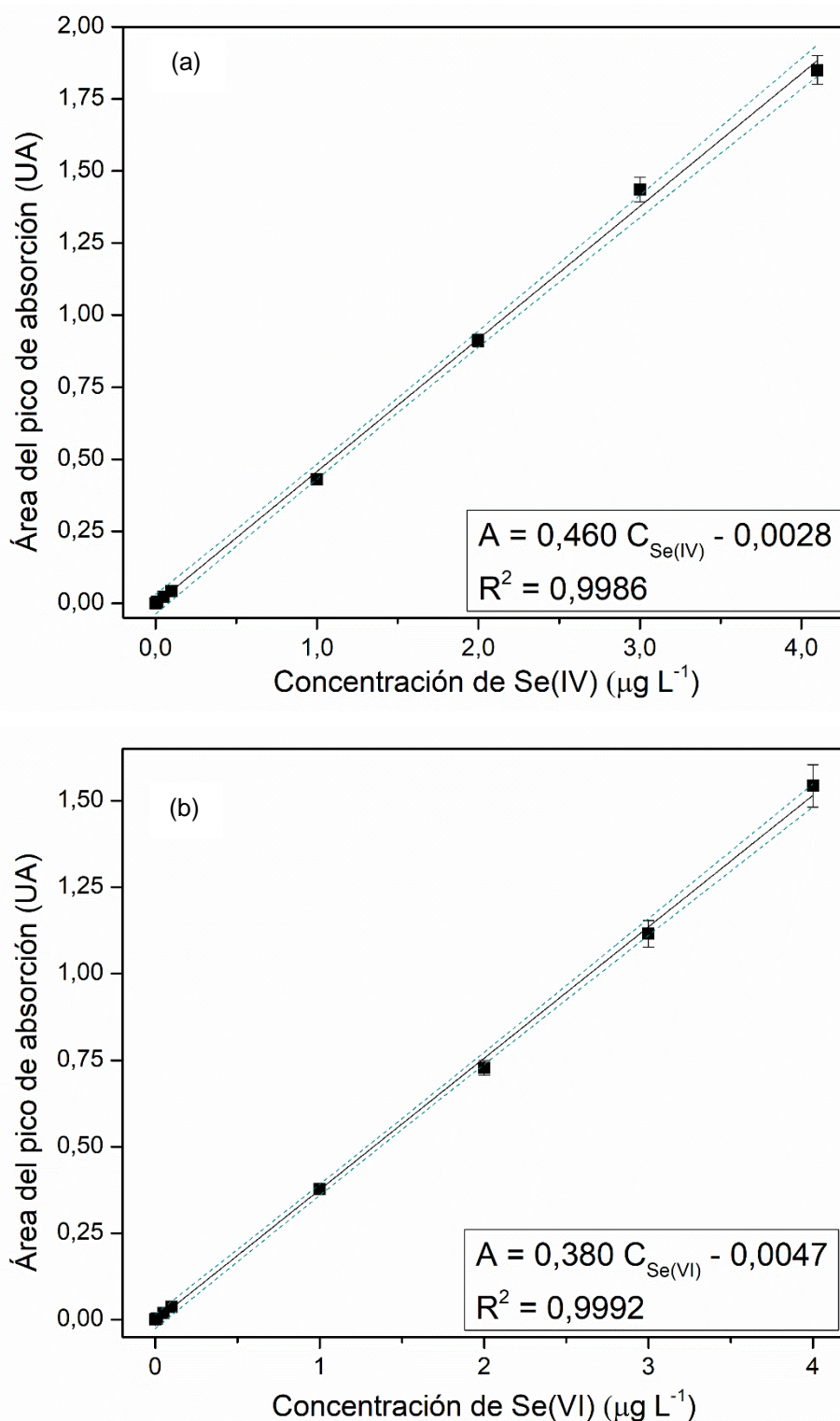


Fig. 3.2.14. Curvas de calibración para (a) Se(IV) y (b) Se(VI), obtenidas tras la aplicación del método D- μ -SPE-ETAAS con el material híbrido nanosilica-[C₁₂mim]Br. Las bandas punteadas representan el intervalo de confianza (95%) del ajuste lineal.

Tabla 3.2.4. Parámetros obtenidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método D- μ -SPE-ETAAS con el híbrido nanosílica-IL desarrollado.

	Se(IV)	Se(VI)
Curva de calibración		
Pendiente	0,460 \pm 0,007	0,380 \pm 0,004
Ordenada	0,0028 \pm 0,0005	- 0,0047 \pm 0,0008
R ²	0,9986	0,9992
Cifras de mérito analítico		
EF	110	104
LOD (ng L ⁻¹)	1,1	1,7
RSD (%)	5,7	5,2

La frecuencia analítica fue calculada considerando los pasos involucrados en el procedimiento para cada determinación: a) complejación de Se(IV) con APDC (10 s), b) extracción sobre el sorbente sólido dispersado (3 min), c) centrifugación y separación de fases (4 min) y d) elución (15 min, incluyendo también la centrifugación). Teniendo en cuenta estos pasos, se totalizan aproximadamente 22 min para el tratamiento de una muestra. Sin embargo, si se tiene en consideración la posibilidad de tratar varias muestras simultáneamente, el proceso está limitado únicamente por la cantidad de tubos que se puedan colocar en la centrífuga utilizada. Para el desarrollo de la presente Tesis Doctoral, el uso de una centrífuga con capacidad para 4 tubos de 50 mL (necesarios para lograr una adecuada dispersión del sorbente en 15 mL de muestra) permitió lograr una frecuencia analítica de 12 muestras por hora utilizando el método propuesto. Si bien esto es una aparente reducción en comparación con el uso de la nanosílica pura, se debe tener en cuenta que el incremento en el volumen de análisis modifica las condiciones instrumentales del proceso, derivando en este menor valor de frecuencia analítica. Sin embargo, si se elimina o mejora la limitación en la capacidad de centrifugación, la frecuencia analítica del método puede incrementarse.

De manera similar al método previo donde se utilizó nanosílica pura, una evaluación comparativa de las cualidades analíticas del método se realizó en relación con otros reportes de preconcentración y/o análisis de especiación de Se en muestras de agua utilizando ILs, nanomateriales o híbridos resultantes de su combinación. Los trabajos más destacados de años recientes con estas características se pueden encontrar en la Tabla 3.2.5. Se observa entonces que las cifras de mérito analítico obtenidas con el método analítico propuesto en esta parte del trabajo de Tesis son

comparables o aún mejores que aquellas reportadas previamente. Cuando se compara directamente con el trabajo de Nyaba y colaboradores, que utiliza un híbrido de nano- Al_2O_3 y el IL Aliquat-336, debe destacarse que el método desarrollado en esta Tesis involucra una etapa de funcionalización más simple y directa, lo que trae aparejadas ventajas tales como la simplificación del proceso, reducciones de tiempo considerables y menor consumo de reactivos y generación de desechos [17]. Además, entre todos los métodos reportados previamente que se detallan en la Tabla 3.2.5, el aquí propuesto es el único aplicado a una muestra que presenta una matriz de tan alta complejidad como la de agua de mar. Esta, sin duda, es una de las muestras acuosas más complejas que existe para realizar análisis de especiación, debido a la composición de su matriz y a la alta salinidad que presenta.

3.2.11. Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de selenio en muestras de agua

Con la evaluación de la exactitud como objetivo, el método propuesto en esta parte del trabajo de tesis fue aplicado para la determinación de Se total en un material de referencia certificado. Se utilizó el mismo material utilizado en la Sección 3.1: CRM 1643e – Elementos traza en agua del NIST, con una concentración declarada de Se de $11,97 \pm 0,14 \mu\text{g L}^{-1}$. Debido a la ya discutida ausencia de información acerca de las especies de Se en el material, se procedió a reducir todo el Se por calentamiento con HCl de concentración $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min, tras lo cual se lo diluyó a 1/6 de su concentración original, de manera de ajustar la concentración de Se para que la absorbancia resultante se encontrase dentro del rango lineal del método. De esta manera, la concentración de Se total encontrada en el material tras la aplicación del método optimizado fue de $11,92 \pm 0,19 \mu\text{g L}^{-1}$, lo cual indica una precisión aceptable al nivel $p < 0,01$. Adicionalmente, para reforzar el análisis de exactitud teniendo en cuenta la distribución de especies del elemento, se realizaron estudios de recuperación en todas las muestras analizadas, obteniéndose resultados en el rango de 95,5% a 107% para Se(IV) y 95,0% a 104% para Se(VI), tal como se observa en la Tabla 3.2.6. Estos valores son indicadores de la confiabilidad del método para el análisis de especiación de Se inorgánico, incluso en matrices complejas, tal como el agua de mar. Además, dado que no se observaron efectos de matriz durante el análisis de las muestras al llevar a cabo mediciones con agregado patrón, las curvas de calibración externas pudieron ser aplicadas de forma directa para la cuantificación de las especies de Se.

Tabla 3.2.5. Métodos analíticos de preconcentración y análisis de especiación de Se inorgánico utilizando nanomateriales, ILS o sus combinaciones.

Método	Muestras	Extractante	Análisis especiación	LOD (ng L ⁻¹)	Factor de refuerzo (EF)	RSD (%)	Índice de consumo (CI) (mL)	Volumen muestra (mL)	Ref.
IL-DLLME-ETAAS on-line	Ajos y agua	[P _{6,6,6,14}]Cl	Sí	15,0	20	5,1	0,27	4,0	[1]
IL-CIAME-UV-Vis	Arroz y agua	[C ₄ mim]PF ₆	No	1500	25	1,2	1	25	[3]
SDSPME-ICP-MS	Agua de río	NPs Al ₂ O ₃ funcionalizadas con Aliquat-336	Sí	1,4	850	1,9	0,059	50	[17]
Reducción <i>in situ</i> -adsorción-ETAAS	Agua subterránea	NPs Pd	Sí	25	100	N.R.	1	100	[18]
SPE-HG-AFS	Agua de río	Nano-TiO ₂	Sí	24	N.R.	7,8 (Se ^{IV}) 7,0 (Se ^{VI})	4,2	100	[19]
D-μ-SPE-ETAAS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de mar	Nanosílica	Sí	1,4 (Se ^{IV}) 2,0 (Se ^{VI})	90 (Se ^{IV}) 88 (Se ^{VI})	4,9 (Se ^{IV}) 5,4 (Se ^{VI})	0,11 (Se ^{IV}) 0,11 (Se ^{VI})	10	Sección 3.1 de esta tesis
D-μ-SPE-ETAAS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de mar	Nanosílica-[C ₁₂ mim]Br	Sí	1,1 (Se ^{IV}) 1,7 (Se ^{VI})	110 (Se ^{IV}) 104 (Se ^{VI})	5,7 (Se ^{IV}) 5,2 (Se ^{VI})	0,13 (Se ^{IV}) 0,14 (Se ^{VI})	15	Presente trabajo

N.R.: No reportado. SDSPME: Microextracción en fase sólida por fase dispersa suspendida.

Finalmente, el método fue aplicado para el análisis de las especies inorgánicas de Se y la determinación de las mismas en muestras de agua reales, arrojando los resultados que se detallan en la Tabla 3.2.6. Las concentraciones halladas de cada una de las especies en las muestras analizadas estuvieron en concordancia con los valores reportados por otros autores [18, 20, 21]. La comparación directa con los resultados obtenidos en la Sección 3.1.11 no fue posible para estos resultados, ya que se analizaron muestras distintas por una cuestión de disponibilidad de las mismas asociadas al momento en el cual se desarrolló cada uno de los métodos mencionados. Sin embargo, es posible destacar en este punto que el uso del híbrido nanosílica-[C₁₂mim]Br permitió la determinación de las especies en muestras de agua de río, algo que no había sido posible con el uso de nanosílica pura, probablemente por limitaciones asociadas a la alta carga orgánica que presenta esta muestra.

Tabla 3.2.6. Resultados del análisis de especiación de Se inorgánico en diversas muestras de agua y estudios de recuperación (n = 3).

Muestra de agua	Se adicionado (µg L ⁻¹)		Se(IV) encontrado (µg L ⁻¹)	Recup. (%) ^a	Se(VI) encontrado (µg L ⁻¹)	Recup. (%) ^a
	Se(IV)	Se(VI)				
Canilla	-	-	0,73 ± 0,03	-	0,66 ± 0,02	-
	2,0	-	2,64 ± 0,09	95,5	0,62 ± 0,02	-
	-	2,0	0,75 ± 0,03	-	2,74 ± 0,08	104
Lluvia	-	-	0,33 ± 0,02	-	0,29 ± 0,04	-
	2,0	-	2,31 ± 0,07	99,0	0,29 ± 0,03	-
	-	2,0	0,32 ± 0,03	-	2,33 ± 0,08	102
Subterránea	-	-	1,09 ± 0,06	-	0,48 ± 0,05	-
	2,0	-	3,0 ± 0,1	95,5	0,47 ± 0,05	-
	-	2,0	1,10 ± 0,07	-	2,38 ± 0,08	95,5
Río	-	-	0,37 ± 0,02	-	0,10 ± 0,01	-
	2,0	-	2,49 ± 0,08	106	0,11 ± 0,01	-
	-	2,0	0,39 ± 0,03	-	2,09 ± 0,05	99,5
Mar	-	-	0,23 ± 0,02	-	0,25 ± 0,03	-
	2,0	-	2,36 ± 0,09	106	0,24 ± 0,03	-
	-	2,0	0,25 ± 0,02	-	2,17 ± 0,07	96,0

^a100×[(encontrado – inicial)/adicionado]

3.2.12. Conclusiones

Las limitaciones típicas que muchos ILs pueden presentar durante el desarrollo de técnicas de microextracción, tales como aquellas ocasionadas por su solubilización en medios acuosos o por la densidad menor a estos, han sido superadas en esta parte del trabajo de Tesis Doctoral al combinarlos con un nanomaterial. De esta manera, el método aquí desarrollado representa el primer reporte de la aplicación de un híbrido obtenido entre un nanomaterial y un IL soluble en agua para la preconcentración y separación de especies inorgánicas de Se. La formación de hemi- y admicelas del IL soluble en agua [C₁₂mim]Br sobre la superficie y poros de las nanopartículas de sílica resultó ser el principio a través del cual se obtuvo un material sorbente de alta eficiencia de extracción, estable químicamente y con potencial de reutilización. A lo largo del método D- μ -SPE desarrollado pudo asegurarse que los consumos de IL y de solventes fueran mínimos, resultando así un método amigable con el ambiente.

Además, un excelente factor de refuerzo de la sensibilidad analítica y una sobresaliente eficiencia de extracción fueron obtenidos al utilizar una cantidad mínima de material híbrido, siendo estos parámetros analíticos significativamente superiores a los obtenidos en la etapa previa del trabajo de Tesis, con el uso de la nanosílica pura. Además, se demostró la exitosa aplicación del método propuesto para el análisis de muestras con matrices complejas, tales como el agua de mar y el agua de río, habiendo sido el análisis de esta última imposible de realizar utilizando nanosílica sin una funcionalización de su superficie. De esta manera, el método propuesto puede considerarse como un ejemplo de las mejoras en las propiedades analíticas de un nanomaterial que pueden obtenerse como consecuencia de su funcionalización con un IL. Además, el método en sí puede ser considerado como una alternativa de bajo costo, precisa y simple para ser implementada en laboratorios dedicados al análisis rutinario de especies de Se inorgánica en muestras de interés ambiental.

3.2.13. Bibliografía

- [1] E.M. Martinis, P. Berton, R.G. Wuilloud, Ionic liquid-based microextraction techniques for trace-element analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 60 (2014) 54-70.
- [2] E.M. Martinis, L.B. Escudero, P. Berton, R.P. Monasterio, M.F. Filippini, R.G. Wuilloud, Determination of inorganic selenium species in water and garlic samples with on-line ionic liquid dispersive microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta* 85(4) (2011) 2182-2188.
- [3] R. Rahnema, Z. Abed, Application of cold-induced aggregation microextraction as a fast, simple, and organic solvent-free method for the separation and preconcentration of Se(IV) in rice and various water samples, *Environmental Monitoring and Assessment* 186(7) (2014) 4209-4216.
- [4] A. Castro-Grijalba, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, Inorganic selenium speciation analysis in *Allium* and *Brassica* vegetables by ionic liquid assisted liquid-liquid microextraction with multivariate optimization, *Food Chemistry* 219 (2017) 102-108.
- [5] 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 (2016) 1-8.
- [6] T.V. Hoogerstraete, B. Onghena, K. Binnemans, Homogeneous Liquid-Liquid Extraction of Metal Ions with a Functionalized Ionic Liquid, *The Journal of Physical Chemistry Letters* 4(10) (2013) 1659-1663.
- [7] S.L.I. Toh, J. McFarlane, C. Tsouris, D.W. DePaoli, H. Luo, S. Dai, Room-Temperature Ionic Liquids in Liquid-Liquid Extraction: Effects of Solubility in Aqueous Solutions on Surface Properties, *Solvent Extraction and Ion Exchange* 24(1) (2006) 33-56.
- [8] L.L. Zhu, L. Guo, Z.J. Zhang, J. Chen, S.M. Zhang, The preparation of supported ionic liquids (SILs) and their application in rare metals separation, *Science China Chemistry* 55(8) (2012) 1479-1487.
- [9] A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena, Dispersive micro-solid phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019) 226-233.
- [10] M. Tunckol, J. Durand, P. Serp, Carbon nanomaterial-ionic liquid hybrids, *Carbon* 50(12) (2012) 4303-4334.

- [11] V. Pino, M. Germán-Hernández, A. Martín-Pérez, J.L. Anderson, Ionic Liquid-Based Surfactants in Separation Science, *Separation Science and Technology* 47(2) (2012) 264-276.
- [12] 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.
- [13] Y. Liu, L. Qiao, Y. Xiang, R. Guo, Adsorption Behavior of Low-Concentration Imidazolium-Based Ionic Liquid Surfactant on Silica Nanoparticles, *Langmuir* 32(11) (2016) 2582-2590.
- [14] F. Dos Santos Depoi, D. Pozebon, The use of cloud point extraction and hydride generation for improving the Sb and Se limits of detection in ICP OES, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 23(12) (2012) 2211-2221.
- [15] N. Thanabodeekij, S. Sathayanon, E. Gulari, S. Wongkasemjit, Extremely high surface area of ordered mesoporous MCM-41 by atrane route, *Materials Chemistry and Physics* 98(1) (2006) 131-137.
- [16] S.M.L. dos Santos, K.A.B. Nogueira, M. de Souza Gama, J.D.F. Lima, I.J. da Silva Júnior, D.C.S. de Azevedo, Synthesis and characterization of ordered mesoporous silica (SBA-15 and SBA-16) for adsorption of biomolecules, *Microporous and Mesoporous Materials* 180 (2013) 284-292.
- [17] L. Nyaba, J.M. Matong, K.M. Dimpe, P.N. Nomngongo, Speciation of inorganic selenium in environmental samples after suspended dispersive solid phase microextraction combined with inductively coupled plasma spectrometric determination, *Talanta* 159 (2016) 174-180.
- [18] A.R. Kumar, P. Riyazuddin, Speciation of selenium in groundwater: Seasonal variations and redox transformations, *Journal of Hazardous Materials* 192(1) (2011) 263-269.
- [19] J. Fu, X. Zhang, S. Qian, L. Zhang, Preconcentration and speciation of ultra-trace Se (IV) and Se (VI) in environmental water samples with nano-sized TiO₂ colloid and determination by HG-AFS, *Talanta* 94 (2012) 167-171.
- [20] Y. Liu, M. He, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 142 (2015) 213-220.
- [21] V.A. Lemos, M.V. Maciel, An on-line preconcentration system for the determination of selenium in seawater samples, *Analytical Methods* 5(17) (2013) 4501-4505.

3.3. PRECONCENTRACIÓN DE ULTRA TRAZAS DE ESPECIES DE TELURIO CON UN NANOMATERIAL COMPUESTO MAGNÉTICO BASADO EN UN LÍQUIDO IÓNICO POLIMÉRICO Y EXTRACCIÓN MAGNÉTICA DISPERSIVA EN FASE SÓLIDA

3.3.1. Introducción

El franco incremento en las aplicaciones del Te ocurrido en los últimos años y la ausencia de señales de que el mismo se detendrá en el futuro cercano, hacen del estudio del destino de este elemento en el ambiente un campo de creciente importancia. Si bien los mecanismos asociados con la toxicología del Te en humanos son escasos, justamente debido a su alta toxicidad, se conoce que tiene el potencial de acumularse en glóbulos rojos y en el bazo [1]. Los reportes también indican que, al igual que con el Se, su toxicidad, biodisponibilidad y mecanismos de transporte ambientales dependen fuertemente de su estado de oxidación, siendo la especie tetravalente Te(IV) significativamente más tóxica que la especie hexavalente Te(VI) [2]. Sin embargo, a diferencia de lo que sucede con el Se, las especies orgánicas de Te no son de relevancia ambiental, ya que son poco comunes [1]. De cualquier manera, es claro que la importancia de las determinaciones de Te no obedece solamente a la concentración elemental total, sino también a conocer el tipo y concentración de cada una de sus especies. En este contexto, como el Te se encuentra usualmente a nivel de ultra trazas (por debajo de los $\mu\text{g L}^{-1}$) en muestras naturales [3], y cada especie representa solo una fracción del total, métodos analíticos altamente sensibles son necesarios para el análisis de especiación.

Al igual que en el caso del Se, diversos instrumentos analíticos pueden ser utilizados para la determinación de Te: HG-AFS [4], ETAAS [5] e ICP-MS [6] han sido hasta el día de hoy las técnicas con más usos reportados. Sin embargo, las bajas concentraciones del elemento, junto con la complejidad que presentan las matrices de

diversas muestras ambientales, suelen generar inconvenientes aún con las metodologías más sensibles. La preconcentración de Te se ha convertido entonces en una herramienta fundamental para su eficiente determinación en distintas muestras, a través de diversas técnicas de microextracción: DLLME [7], UA-IL-DLLME [6], microextracción por emulsificación y solidificación de gota orgánica asistida por ultrasonido [8], SPE clásica [9, 10] y HF-LPME [5]. Entre las metodologías basadas en SPE, se han empleado exitosamente diferentes estrategias modernas que implican un bajo consumo de muestra y reactivos, por ej. μ -SPE [11] y D- μ -SPE [12]. Estas se presentan como alternativas interesantes para reducir el impacto ambiental del proceso de preconcentración de Te sin sacrificar calidad de análisis.

Los ILs han sido ya introducidos en la presente tesis como protagonistas principales de una nueva generación de solventes de bajo impacto ambiental para el desarrollo de métodos de análisis elemental de alta eficiencia [13, 14]. En esta sección del trabajo se presentará el uso de una familia alternativa de los ILs: los ILs poliméricos (PILs). Estos permiten alcanzar excelentes selectividades y eficiencias de extracción muy elevadas, otorgándole a la vez una mayor estabilidad mecánica y química a los sorbentes en comparación con los ILs tradicionales [15]. Los PILs han sido aplicados previamente en métodos de preparación de muestras tales como LLME sin centrifugación para la determinación de K^+ en muestras de aceites [16], μ -SPE para la determinación de anilina como producto de degradación en colorantes y de pesticidas en muestras de alimentos [15, 17] y en MSPE para la preconcentración y determinación de Au, Pd y Pt en diversos materiales de referencia certificados [18]. Además, la combinación de ILs (incluyendo PILs) con soportes sólidos, especialmente nanopartículas, da lugar a propiedades sinérgicas especiales, tal como se ha presentado en la Sección 3.2 del Capítulo 3. Las aplicaciones de híbridos obtenidos al combinar nanomateriales e ILs han sido variadas en términos de muestras y analitos, pero el uso de híbridos nanomaterial-PIL ha sido mucho menos explorado, siendo su aplicación para el análisis de Te un campo totalmente vacante al momento del desarrollo de esta tesis.

De esta manera, en la presente sección de la Tesis Doctoral se describe el desarrollo de un nuevo método de preconcentración y separación de especies inorgánicas de Te, que se fundamenta en una estrategia simplificada de la técnica de D- μ -SPE. Su característica principal es sin dudas que se evita uno de los pasos que más tiempo demanda durante el procedimiento analítico, la centrifugación, lo cual es posible gracias al uso de un nanomaterial híbrido con propiedades magnéticas además

de extractantes. Se desarrolló así un método de microextracción magnética dispersiva en fase sólida (M-D- μ -SPE) altamente selectivo y eficiente utilizando un nanomaterial compuesto magnético con un PIL para la separación y preconcentración de especies de Te. Los diversos parámetros que determinan la eficiencia de extracción de Te, así como su elución y determinación por HG-AFS por inyección en flujo (FI-HG-AFS) fueron cuidadosamente evaluados y optimizados, tal como se muestra en la esquematización presentada en la Figura 3.3.1. El método desarrollado fue exitosamente aplicado para la determinación de Te(IV) y Te(VI) en muestras ambientales con distintos niveles de complejidad de matriz, incluyendo aguas naturales, suelos, sedimentos y alimentos.

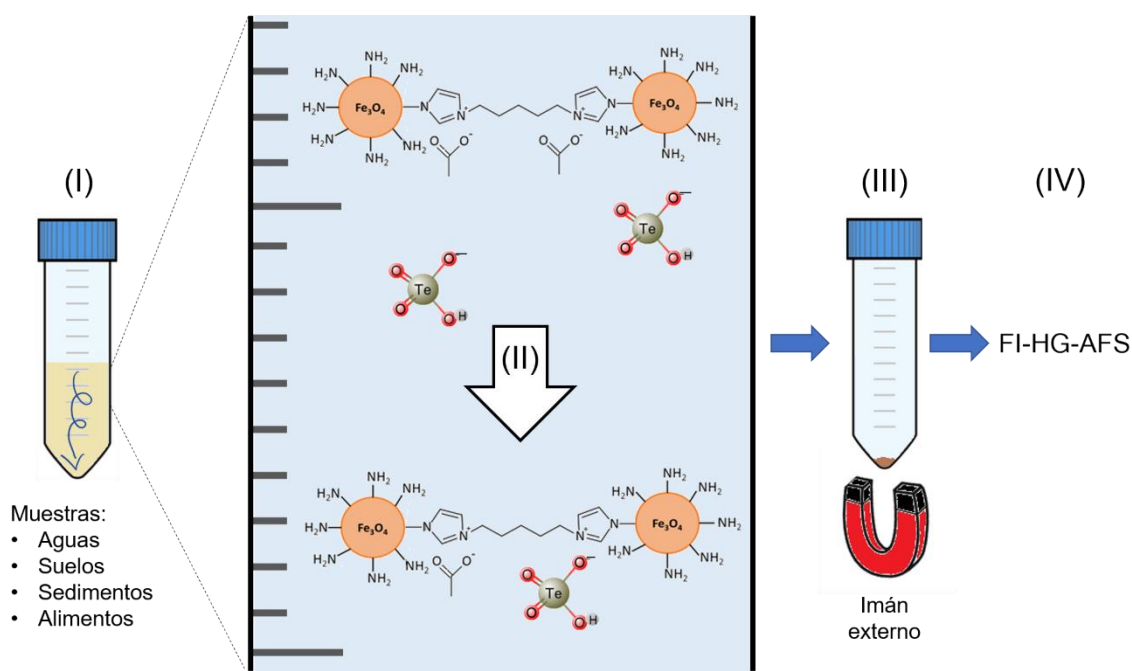


Fig. 3.3.1. Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.3. (I) Agitación de la muestra con el nanomaterial compuesto, (II) Extracción de la especie Te(IV), (III) Separación magnética del sorbente, (IV) Determinación instrumental.

3.3.2. Procedimiento general de microextracción y preconcentración

Inicialmente, para la determinación de Te(IV), se tomó un volumen de 50 mL de muestra acuosa, o de solución acuosa estándar de $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ para los estudios de optimización, que fue ajustado a $\text{pH} = 1,5$ utilizando HCl. La muestra ajustada se mezcló durante 5 min con 3,0 mg de sorbente magnético Fe₃O₄@SiO₂@PIL (obtenido y caracterizado según los procedimientos descritos en la Sección 2.1.4.2) en un tubo de centrífuga bajo agitación vórtex constante. Luego, un imán externo de neodimio fue

utilizado para coleccionar y separar completamente la fase sólida magnética cargada con el analito, seguido por la remoción del sobrenadante por inversión cuidadosa del tubo en contacto con el imán, para favorecer el vertido y la preservación del sorbente. Finalmente, el analito fue eluido del nanomaterial compuesto con 500 μL de HCl 5,0 mol L^{-1} a 20 $^{\circ}\text{C}$ con agitación ultrasónica. El eluato fue luego separado mediante el uso de una jeringa mientras que la fase sólida se mantenía dentro del tubo por contacto del tubo con un imán externo. Esta solución fue posteriormente cargada directamente en el bucle de carga del sistema de inyección en flujo modificado descrito en detalle en la Sección 2.2.2.1, para la determinación de Te por FI-HG-AFS bajo las condiciones descritas en la Tabla 3.3.1.

Como la retención de Te sobre el nanomaterial compuesto se basó en la interacción selectiva de la especie Te(IV) con su superficie, el procedimiento seguido para el análisis de especiación involucró el análisis de una segunda alícuota de muestra, que fue sometida previamente a un paso previo de reducción química cuyos detalles ya han sido mencionados en la Sección 2.3.4. De esta manera, la aplicación del método desarrollado sobre esta alícuota permitió la determinación de la concentración total de Te inorgánico, a partir de la cual se pudo calcular por diferencia la concentración de Te(VI) .

3.3.3. Optimización de las condiciones de extracción y selectividad

En esta etapa del trabajo de Tesis Doctoral se llevó a cabo nuevamente la optimización de las distintas variables involucradas en el proceso de extracción, en búsqueda de las condiciones ideales para la determinación exacta y precisa de los analitos. Los resultados obtenidos se encuentran resumidos en la Tabla 3.3.1 y una discusión profunda de los experimentos realizados para su obtención se presenta en las próximas subsecciones. Todos los resultados mostrados corresponden a experimentos realizados en *batch*. Ensayos para lograr la aplicación de las etapas de extracción y de elución en un sistema en flujo fueron llevados a cabo, pero sin resultados positivos, por lo que el método definitivo no involucra su aplicación en línea. Las limitaciones que impidieron esto estuvieron relacionadas principalmente con la alta compactación del material nanoestructurado al ser retenido por un imán externo en el interior de un conducto. Esto no permitía una buena circulación de las soluciones de extracción o de elución a través de ellas, dando lugar a eficiencias bajas para ambos procesos, además de una presión excesiva en el interior del sistema de flujo.

Tabla 3.3.1. Condiciones experimentales e instrumentales óptimas para la determinación de Te por el método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS desarrollado.

<i>Condiciones instrumentales de AFS</i>	
Tipo de lámpara	HCL
Longitud de onda	214,3 nm
Modo de medición	Altura de pico
Corriente primaria de lámpara	60 mA
Corriente adicional lámpara (<i>boost current</i>)	0
Voltaje del fotomultiplicador	270 V
<i>Condiciones de generación de hidruros en línea</i>	
Volumen de bucle de inyección	400 μ L
Solución transportadora	HCl 10% (v/v)
Caudal de la solución transportadora	4,5 mL min ⁻¹
Solución reductora	NaBH ₄ 1,0% (p/v)
Caudal de la solución reductora	6,0 mL min ⁻¹
Gas transportador y caudal	Ar, 60 mL min ⁻¹
<i>Condiciones de generación de H₂ suplementario</i>	
Concentración de HCl	25% (v/v)
Caudal de la solución de HCl	10 mL min ⁻¹
Concentración de NaBH ₄	1,0% (p/v)
Caudal de la solución de NaBH ₄	10 mL min ⁻¹
Gas transportador y caudal	Ar, 200 mL min ⁻¹
<i>Condiciones óptimas de la M-D-μSPE</i>	
pH de extracción	1,5
Volumen de muestra	50 mL
Cantidad de sorbente	3,0 mg
Tipo de agitación para la extracción	Vórtex
Tiempo de extracción	5 min
Tiempo de separación magnética	5 min
Eluyente	HCl 5,0 mol L ⁻¹
Tipo de agitación para la elución	Ultrasonido
Volumen de eluyente	500 μ L

3.3.3.1. Efecto del pH

Se ha visto ya en las etapas previas de la presente Tesis que el pH constituye uno de los parámetros más importantes al momento de desarrollar métodos de preconcentración, ya que se trata de una variable que condiciona marcadamente las reacciones e interacciones del analito con las fases extractantes, ya sea por sí solos o vía la formación de complejos de alta estabilidad. Durante esta etapa en particular, el efecto del pH se vio relacionado principalmente con las propiedades ácido-base de los analitos y no con su efecto sobre la formación de un complejo, tal como se describió que ocurría en las etapas del trabajo de Tesis presentadas en las secciones 3.1 y 3.2 del presente capítulo. La dependencia de la extracción de las especies Te(IV) y Te(VI) con este parámetro se evaluó tanto en presencia como en ausencia del agente complejante APDC; que había sido utilizado con excelentes resultados en las extracciones de Se ya presentadas. Los resultados de los experimentos en ausencia de APDC se presentan en la Figura 3.3.2. Como se puede observar, la especie Te(IV) fue completamente extraída a valores de pH por encima de 1,5 y hasta 4,0, mientras que la especie Te(VI) fue completamente extraída (100%) en el intervalo desde pH = 4,0 en adelante.

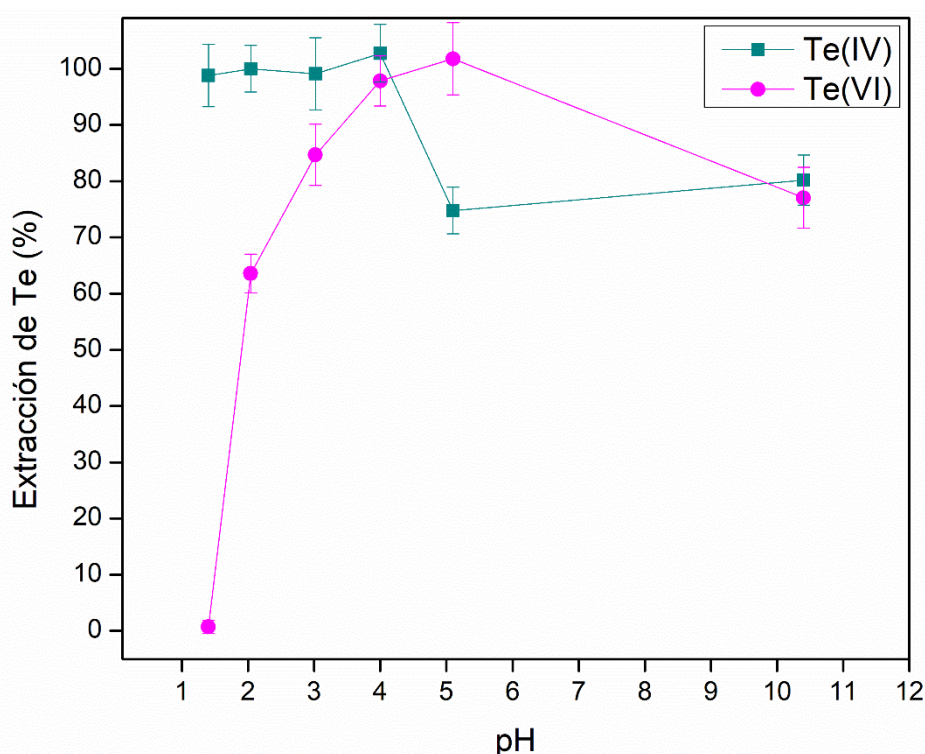


Fig. 3.3.2. Efecto del pH sobre la extracción de las especies de Te en ausencia del reactivo APDC y utilizando el nanomaterial compuesto $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$. La concentración de Te fue de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ en todos los casos y las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Los valores de pH para los cuales se observó la extracción de cada uno de los analitos están directamente relacionados con las condiciones de disociación ácido-base de estos. Los pK_{a1} de los ácidos teluroso (H_2TeO_3) y telúrico (H_2TeO_4), cuyas estructuras pueden observarse en la Figura 3.3.3, son 2,48 y 7,68, respectivamente [19]. En consecuencia, la especie Te(IV) puede encontrarse en forma aniónica en condiciones más ácidas que la especie Te(VI). Esto da lugar a interacciones electrostáticas entre la especie Te(IV) y el nanomaterial compuesto a valores de pH menores que en el caso de la especie Te(VI). De esta manera, los resultados parecen apuntar hacia una interacción electrostática entre los grupos imidazolio provenientes de la estructura del PIL en el material sorbente compuesto, cargados positivamente, y los analitos en forma aniónica, como responsable de la retención. Este supuesto fue apoyado por el hecho de que, en presencia de APDC, la especie Te(IV) no fue retenida por el material sorbente en todo el rango de pH estudiado. Esto se puede interpretar teniendo en cuenta que la especie Te(IV) forma selectivamente un complejo eléctricamente neutro y poco polar con APDC, eliminando así la posibilidad de interaccionar electrostáticamente con el sorbente y, por ende, imposibilitando la retención del analito. En base a los resultados obtenidos, se determinó un valor de pH de 1,5 como el óptimo para la extracción selectiva de Te(IV), mientras que se descartó la utilización de un agente complejante para asistir al proceso de extracción como sí fue necesario en las secciones previas del presente trabajo de Tesis.

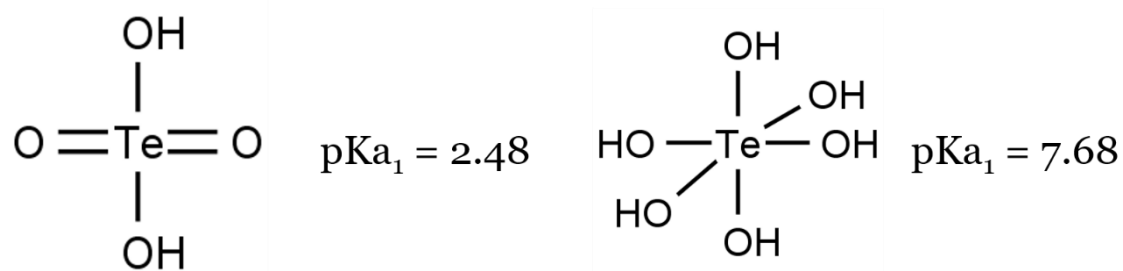


Fig 3.3.3. Estructuras y pK_{a1} de las especies inorgánicas de Te.

3.3.3.2. Volumen de muestra, cantidad de sorbente y tiempo de extracción

A mayor volumen de muestra, mayores son los factores de preconcentración y de refuerzo de la sensibilidad alcanzables. Sin embargo, como se ha mencionado con anterioridad, existe un límite dado por la adecuada dispersión del material, la cual se hace más difícil de lograr en forma eficiente a medida que aumenta el volumen con el

cual se lo mezcla. En esta parte del trabajo de Tesis, distintas soluciones con una masa constante de $0,025 \mu\text{g}$ de Te(IV) a $\text{pH} = 1,5$ fueron sometidas al proceso de extracción utilizando $3,0 \text{ mg}$ de sorbente. Como puede apreciarse en la Figura 3.3.4, se alcanzó una extracción del 100% del analito en todos los casos a medida que se incrementaba el volumen de solución desde $2,0$ y hasta 50 mL , valor a partir del cual la extracción comenzó a verse afectada. Consecuentemente, 50 mL de muestra (o de volumen final en el caso de las determinaciones de Te total que requieren un paso previo de reducción) fue seleccionado como el volumen óptimo para los experimentos subsiguientes. En comparación con los desarrollos presentados en las secciones 3.1 y 3.2 del presente capítulo, que permitieron la extracción de Se desde 10 y 15 mL de muestra como máximo, se hace evidente la gran capacidad del nanomaterial magnético compuesto utilizado durante esta etapa. Especialmente en términos de su dispersabilidad en el medio acuoso, que deriva en la posibilidad de utilizarlo para obtener una eficiente extracción del analito aún desde elevados volúmenes de muestra.

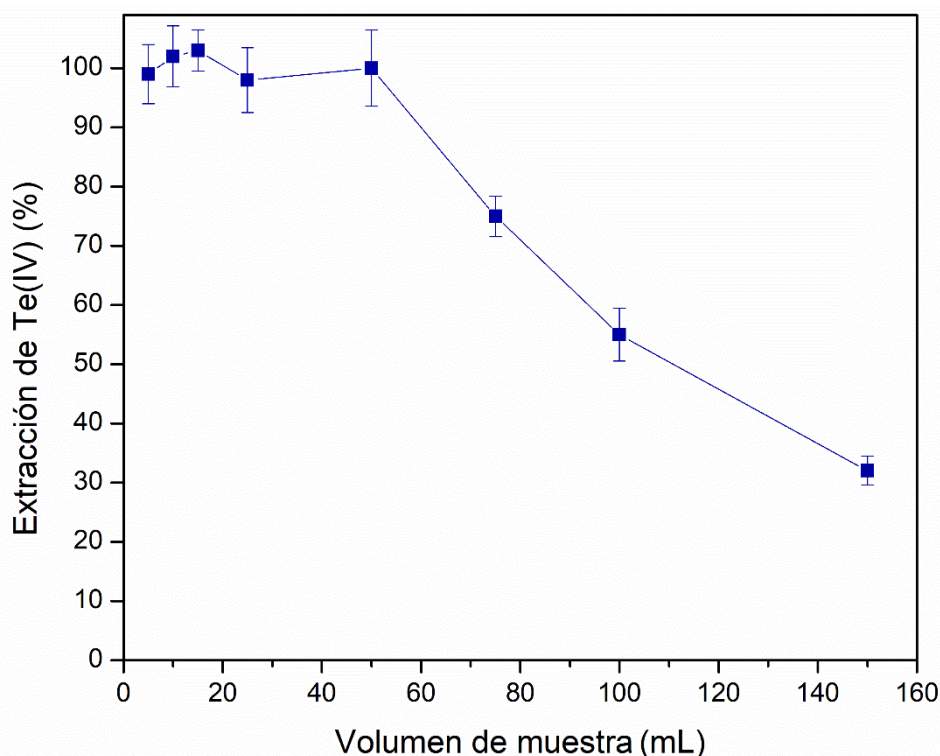


Fig. 3.3.4. Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Te(IV) . La masa de Te(IV) en todos los casos fue de $0,025 \mu\text{g}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Además, se realizó una evaluación de la mínima masa de sorbente necesaria para la extracción total desde 50 mL de solución de Te(IV) de concentración $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (muy por encima del valor esperado en una muestra real). En este caso, se tomaron cantidades de entre $1,0$ y $5,0 \text{ mg}$ de material, lográndose la máxima extracción a partir

de 2,0 mg, tal como se puede observar en la Figura 3.3.5. En consecuencia, y con el objetivo de asegurar la máxima eficiencia de la extracción, se decidió utilizar 3,0 mg de nanomaterial en el método definitivo. De cualquier manera, como se puede observar en la figura, se lograron excelentes eficiencias de extracción incluso al utilizar 1,0 mg de nanomaterial compuesto, demostrando su alta capacidad para la retención del analito.

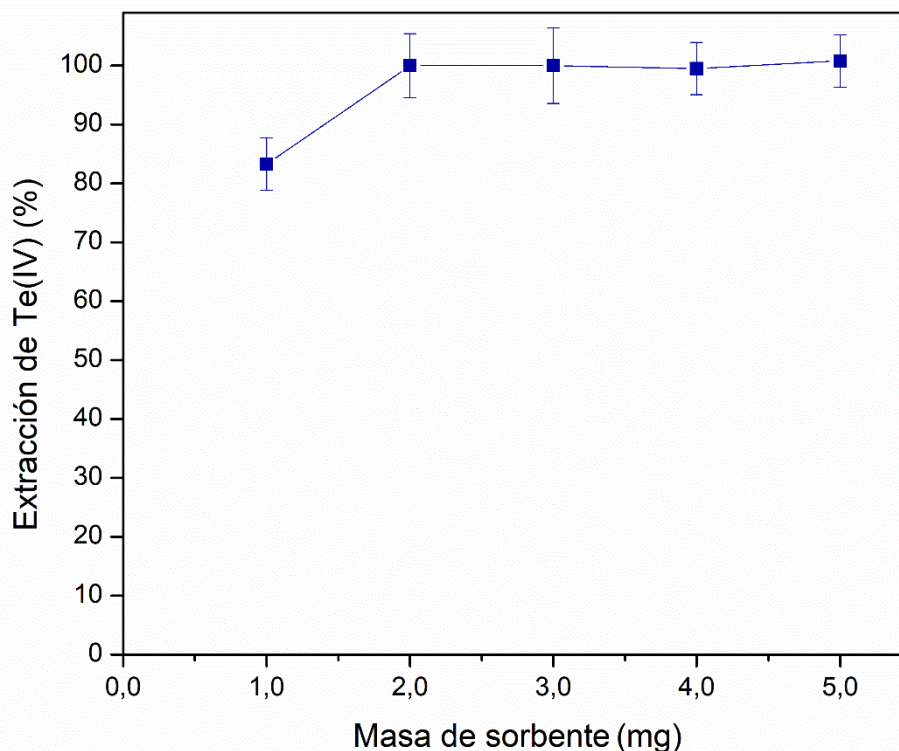


Fig. 3.3.5. Efecto de la cantidad de sorbente sobre la extracción de Te(IV) desde 50 mL de solución con una concentración de la especie de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

El tiempo requerido para el análisis resulta clave también, ya que define la frecuencia analítica del método desarrollado. En este caso se optimizaron los dos pasos más largos del proceso, es decir, la extracción y la separación del material por efecto de la aplicación de un campo magnético externo. De esta manera, se evaluó por una parte el tiempo de extracción, manteniendo un tiempo de separación magnética fijo de 10 min y, por otra, el tiempo de separación magnética dejando fijo el tiempo de extracción en 10 min. Como se puede observar en los resultados, plasmados en la Figura 3.3.6, tan solo 5 min de extracción y 2 min de separación magnética bastaron para obtener la máxima recuperación de Te(IV) desde las soluciones estándar. Se decidió entonces aplicar 6 min para la extracción y 3 min de separación magnética, para asegurar la eficiencia de ambos pasos del proceso.

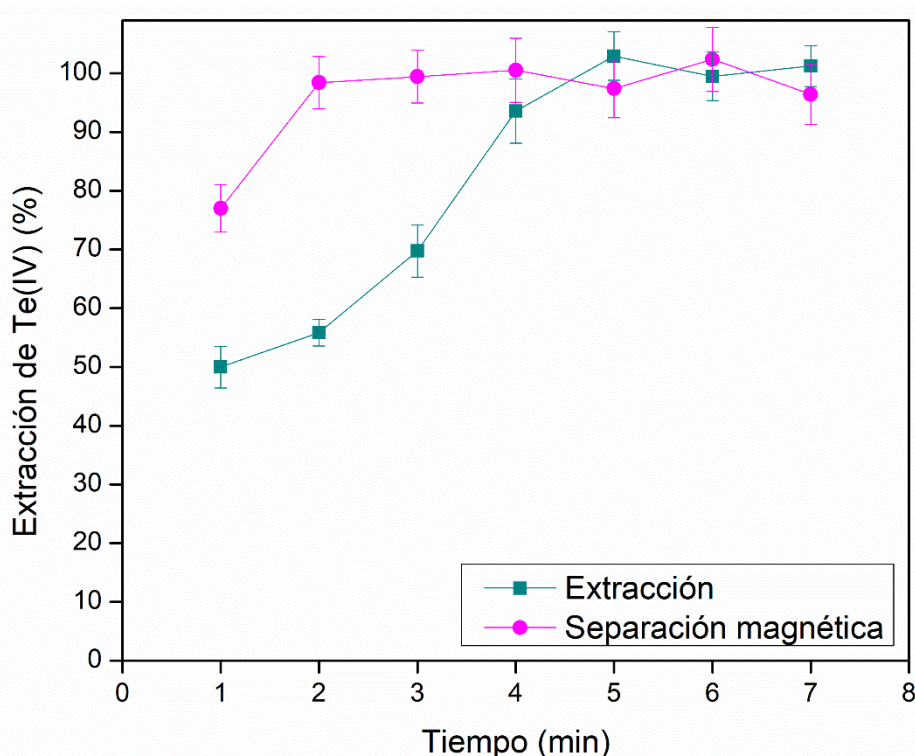


Fig. 3.3.6. Efecto del tiempo de extracción y de separación magnética durante la preconcentración de Te(IV) sobre su extracción. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Finalmente, se evaluó la capacidad de extracción del nanomaterial $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$ a través de una isoterma de sorción a $20\text{ }^\circ\text{C}$, presentada en la Figura 3.3.7. Para la construcción de la misma, se llevaron a cabo experimentos de extracción en *batch* sobre distintas muestras estándar de $\text{pH} = 1,5$ con distintas concentraciones iniciales de Te(IV), utilizando $3,0\text{ mg}$ de material sorbente. Una vez separado este último, la concentración de Te(IV) en equilibrio remanente en el sobrenadante fue determinada por HG-AFS bajo las condiciones de medición instrumental detalladas en la Tabla 3.3.1, pudiendo luego determinarse la concentración de la especie en equilibrio en solución por diferencia con la cantidad inicial. Tal como se puede observar en la gráfica, la capacidad máxima del material resultó ser de $101 \pm 6\text{ }\mu\text{g}$ de Te(IV) por mg de sorbente. Esta alta capacidad de retención está justificada considerando dos factores. El primero de ellos está relacionado con la superficie cargada positivamente del nanomaterial compuesto magnético, esquematizada en las Figuras 2.1.4 y 3.3.1, que da lugar a una interacción electrostática eficiente con el analito en su forma aniónica. Mientras tanto, el segundo factor está vinculado con la naturaleza nanoestructurada del material por la presencia de las nanopartículas de Fe_3O_4 recubiertas con sílica en su estructura, que se traduce en una relación área-masa significativa y una alta capacidad de retención con cantidades bajas de sorbente.

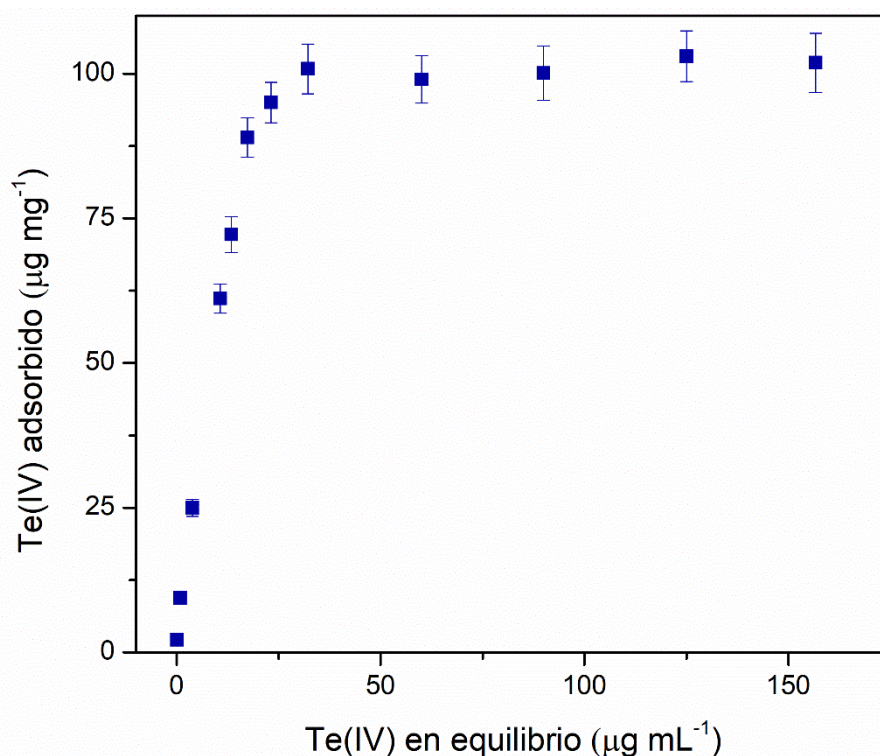


Fig. 3.3.7. Isoterma de sorción de Te(IV) sobre el nanomaterial $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$ a $20\text{ }^\circ\text{C}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.3.4. Elución de la especie Te(IV)

Debido a la imposibilidad de inyectar suspensiones de cualquier tipo en el sistema en flujo para la determinación por FI-HG-AFS, el analito debió ser eluido desde sólido sorbente previo a su determinación instrumental. Durante la evaluación de las condiciones de elución todos los experimentos se llevaron a cabo utilizando agitación ultrasónica, dado que esta permite un mezclado de fases eficiente cuando los volúmenes involucrados se encuentran por debajo de 1 mL. Una evaluación preliminar aportó indicios de la necesidad de utilizar un eluyente ácido, ya que ensayos con NaOH como eluyente básico y con NaCl y NH_4Cl como eluyentes de alta fuerza iónica no dieron resultados positivos. En cambio, el uso de diversos ácidos minerales aparentaba ser más prometedor, por lo que en una segunda instancia se realizaron experimentos con HCl, HNO_3 , HClO_4 y H_2SO_4 en tres concentraciones: 1,0, 3,0 y 5,0 mol L^{-1} . Cabe destacar en este punto que la elección del eluyente se realizó en búsqueda de una situación de compromiso que permitiera definir condiciones bajo las cuales se obtuviese la mayor eficiencia de retroextracción posible del analito desde el material sorbente, pero considerando también la influencia del ácido sobre la generación de hidruros y la sensibilidad de la determinación instrumental por FI-HG-AFS.

Los resultados mostrados en la Figura 3.3.8 demuestran que la mayor eficiencia de elución se logró con HCl a una concentración de $5,0 \text{ mol L}^{-1}$. Una posible explicación para estos resultados se encuentra en estrecha relación con la alta acidez de la solución eluyente, que induce la protonación del analito. De esta manera se elimina la capacidad del mismo de interactuar con el sorbente al convertirlo en una especie eléctricamente neutra, imposibilitada de formar el par iónico responsable de su retención. Esto se observa claramente para todos los eluyentes ensayados, ya que la elución es más eficiente en todos los casos al aumentar la concentración del ácido. Adicionalmente, las ventajas asociadas al uso de HCl en el proceso de generación de hidruros, que lo hacen el ácido más frecuentemente utilizado en este tipo de técnicas, hacen que su influencia en la determinación instrumental por la técnica HG-AFS sea también la más favorable para la cuantificación del analito. Estas se asocian principalmente con la ausencia de carácter oxidante (que sí es característico de los otros ácidos ensayados), que evita cualquier tipo de interferencia con la reacción de reducción para obtener el hidruro.

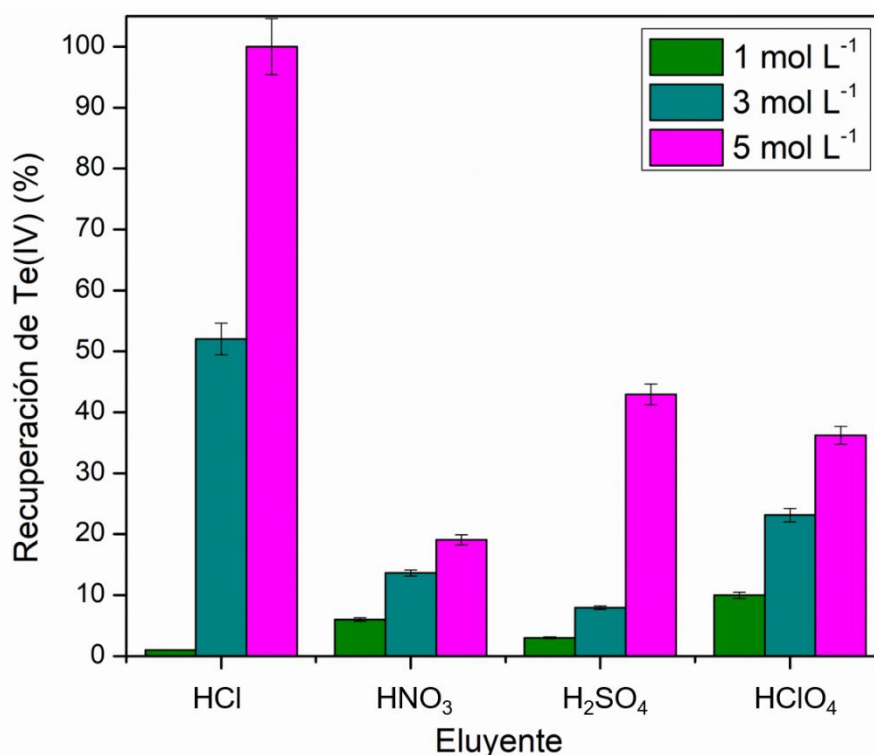


Fig. 3.3.8. Efecto de diferentes ácidos y sus concentraciones sobre la elución y determinación de Te(IV) por FI-HG-AFS, inyectando $400 \mu\text{L}$ de muestra. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Otro parámetro de considerable importancia durante el desarrollo del método propuesto fue el volumen de eluyente. En este caso, se pretendía determinar el mínimo volumen de eluyente necesario para poder eluir completamente el analito desde el

nanomaterial sorbente. Distintos volúmenes de solución de HCl 5,0 mol L⁻¹ se ensayaron aplicando agitación ultrasónica durante 15 min a temperatura ambiente. Mediciones llevadas a cabo en paralelo por agregado de una cantidad conocida de una solución estándar de Te(IV) a los eluatos permitieron concluir que el volumen de muestra no tenía efecto sobre la sensibilidad instrumental de HG-AFS, por lo que se asumió que el volumen de eluyente afectaba únicamente a la eficiencia de retroextracción de la especie Te(IV). En consecuencia, los resultados de los ensayos con distintos volúmenes de eluyente se presentan en la Figura 3.3.9 como función de la recuperación de Te(IV). Se encontró en este caso que 500 µL de eluyente permitieron alcanzar la máxima elución del analito y la menor dilución posible del mismo. Por lo tanto, 500 µL de HCl 5,0 mol L⁻¹ fue elegido como la condición de elución ideal para el método.

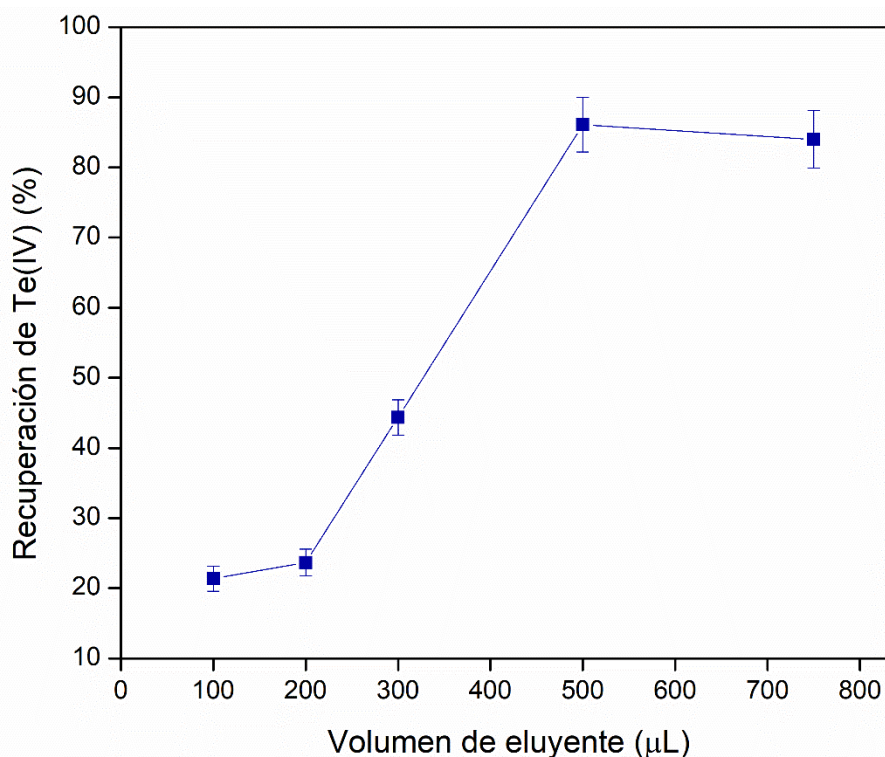


Fig. 3.3.9. Efecto del volumen de HCl 5,0 mol L⁻¹ utilizado como eluyente de Te(IV). Las barras de error indican el desvío estándar con n = 3.

Finalmente, la influencia del tiempo y la temperatura necesarios para la elución fue también estudiada. En este caso, tiempos de elución bajo agitación ultrasónica de entre 1 y 20 min fueron evaluados a una temperatura de 20 °C, con los resultados volcados en la Figura 3.3.10. Una vez definido este parámetro, el efecto de la temperatura fue evaluado a otros dos niveles: 40 °C y 60 °C. Tal como se observa en la figura, los resultados indicaron que 10 min a 20 °C eran suficientes para obtener la máxima retroextracción del analito.

Es interesante destacar que, cuando la temperatura del proceso de elución fue mayor a 20 °C, la remoción de Te(IV) desde el nanomaterial magnético compuesto condujo a una sensibilidad más pobre en las determinaciones por FI-HG-AFS. Este efecto puede ser una consecuencia de la degradación parcial del sorbente a altas concentraciones de HCl, lo que lleva a un aumento de la concentración de Fe^{3+} y Fe^{2+} provenientes de las NPs de Fe_3O_4 en el eluato, que pueden afectar negativamente la generación del hidruro de Te(IV) debido al efecto interferente que generan [20]. La aceleración de este proceso al aumentar la temperatura podría ser la causa más probable de la disminución de sensibilidad observada. Es importante destacar que esto resulta ser una ventaja en términos del método definitivo, ya que demuestra que la elución óptima se puede lograr en condiciones relativamente suaves, que coinciden con la temperatura ambiente del laboratorio. De esta manera, se evita la necesidad de calentar la mezcla, haciendo innecesario el uso de instrumental complejo que aumentaría el costo de aplicación del método.

Finalmente, el tiempo requerido para una separación magnética eficiente del material sorbente fue también optimizado, determinándose que tal solo 3 min resultaban ser suficientes para la adecuada separación del eluato con una jeringa.

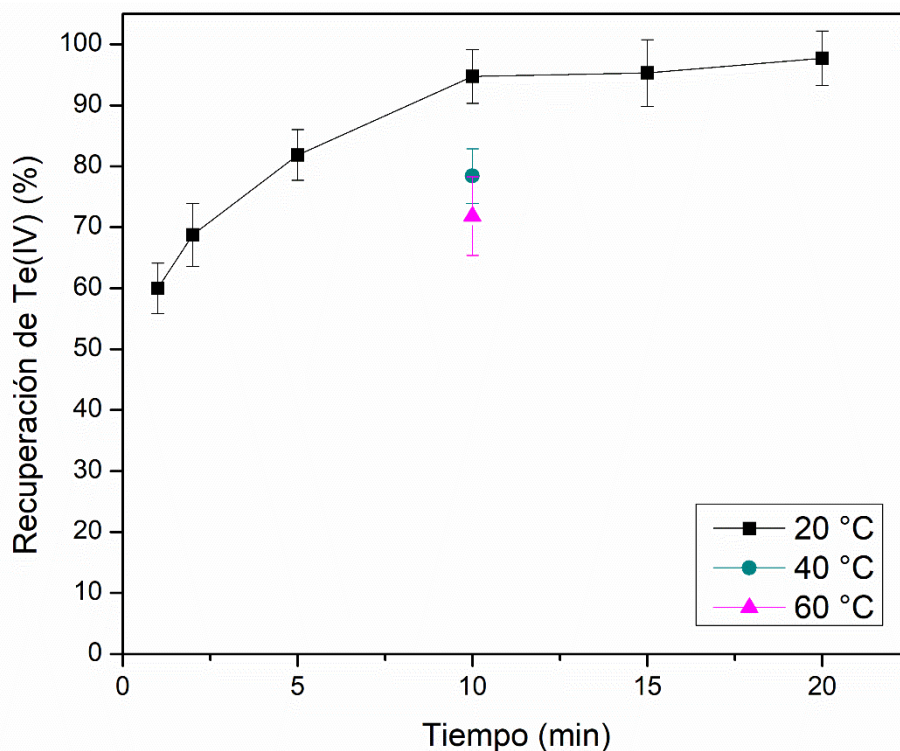


Fig. 3.3.10. Efecto del tiempo y la temperatura sobre la elución de Te(IV) utilizando HCl 5,0 mol L^{-1} como eluyente. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.3.5. Selectividad del método para especies de telurio

Tal como se comentó en la Sección 3.3.3.1, la selección criteriosa del pH de extracción permitió la extracción selectiva de la especie Te(IV) sin la necesidad de utilizar un agente complejante. De esta manera, la especie Te(IV) podía ser extraída cuantitativamente a pH 1,5, mientras que la especie Te(VI) no era retenida en esta condición. Adicionalmente, la predominancia cinética de la reacción de generación de hidruros para con la especie Te(IV) representó una segunda etapa de selectividad en el proceso total. La Tabla 3.3.2 muestra los resultados obtenidos en el estudio de selectividad para la determinación de Te(IV) en presencia de Te(VI) a pH 1,5, demostrando la alta especificidad del método propuesto en esta parte del trabajo de Tesis para el análisis de especiación del elemento. El estudio se realizó a concentraciones de ambas especies en el rango entre 0,05 y 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, resultando en relaciones molares de Te(IV):Te(VI) de entre 0,05 y 20. Como es posible observar, se logró una alta selectividad y una muy buena precisión en estas condiciones, con valores de recuperación de entre 94% y 106% para la especie tetravalente.

Tabla 3.3.2. Selectividad del método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS propuesto para la determinación de especies de Te.

Relación molar Te ^{VI} /Te ^{IV}	Te(IV)			Te(VI)		
	Inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)	Inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)
0,05	1,00	1,02	102	0,050	0,052	104
0,1	0,500	0,476	95,2	0,050	0,050	100
0,5	0,100	0,105	105	0,050	0,049	98
1	0,100	0,097	97,0	0,100	0,103	103
2	0,050	0,053	106	0,100	0,104	104
10	0,050	0,047	94,0	0,500	0,486	97,2
20	0,050	0,050	100	1,00	0,997	99,7

^a Recuperación = $100 \times [\text{encontrado} / \text{inicial}]$

3.3.6. Acoplamiento de un generador de hidruros miniaturizado para la determinación de Te(IV) por FI-HG-AFS

En la Tabla 3.3.1 se presentan las condiciones instrumentales optimizadas para la determinación de Te(IV). Durante esta etapa del trabajo, los modos clásicos de introducción de muestra en el equipo de HG-AFS recomendados por el fabricante (inyección en flujo discreto o continuo) resultaron insuficientes para alcanzar la máxima sensibilidad analítica a partir del bajo volumen de eluyente conteniendo Te resultante del método optimizado. Los elevados caudales de solución transportadora y reductora, junto con el gran volumen del separador gas-líquido utilizado en el generador estándar provisto por el fabricante, resultaban en una dilución significativa del analito durante la formación del hidruro. Esto, lógicamente, iba en detrimento del objetivo del método desarrollado de alcanzar una elevada sensibilidad, ya que deterioraba significativamente los factores de preconcentración y refuerzo promovidos por la alta eficiencia de extracción del método M-D- μ -SPE. En consecuencia, con el objetivo de lograr una generación de hidruros eficiente a partir de la inyección de un volumen reducido -los 500 μ L resultantes del método M-D- μ -SPE-, la posibilidad de acoplar un segundo generador de hidruros independiente al incluido en el espectrómetro AFS fue evaluada [21, 22].

Para ello, el sistema de generación de hidruros por inyección en flujo propio del espectrómetro AFS, que contaba con un separador gas-líquido de 50 mL de volumen interno, se utilizó exclusivamente para la generación de una corriente de H_2 que permitiese iniciar y mantener estable la llama en la celda de atomización. Por otro lado, un generador de hidruros externo, con un separador gas-líquido de volumen interno de 2,2 mL relleno de esferas de vidrio, fue utilizado para generar la corriente de TeH_2 a partir del eluato como parte de un sistema que se encuentra esquematizado en la Figura 2.2.3. Este sistema de inyección de muestra contaba con un bucle de inyección de 400 μ L, que permitía realizar inyecciones reproducibles a partir de los 500 μ L de solución de HCl 5,0 mol L^{-1} utilizados para la elución del analito. La salida de este generador externo fue acoplada de manera directa a la celda de atomización utilizando un fragmento de manguera de teflón, de manera tal que el hidruro del analito fuera transportado directamente hacia el atomizador para su determinación. Este acoplamiento dio lugar a la aplicación de caudales de soluciones transportadora y reductora mucho menores que los tradicionalmente utilizados en HG-AFS, lo cual resultó en la menor generación de H_2

obtenido como subproducto y, por ende, en una reducción significativa en la dilución del TeH_2 gaseoso, mejorando así la sensibilidad de las determinaciones de Te.

Adicionalmente a la mejora en la sensibilidad, se observó también una reducción significativa en el límite de detección de Te(IV). Este pasó de tener un valor de $0,40 \mu\text{g L}^{-1}$ con el generador de hidruros del instrumento a un valor de $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ con el generador miniaturizado para la determinación de Te(IV) sin preconcentración. En la Figura 3.3.11 se muestran comparativamente las señales instrumentales crudas obtenidas a partir de la inyección de $400 \mu\text{L}$ de solución estándar de Te(IV) de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de concentración en $\text{HCl } 5,0 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando el sistema de inyección en flujo convencional del espectrómetro AFS y el generador de hidruros miniaturizado. Las diferencias en la posición temporal de los picos se deben exclusivamente a los distintos programas de inyección utilizados y, como se puede observar, la mejora tanto en la altura como en la forma de los picos lograda es evidente.

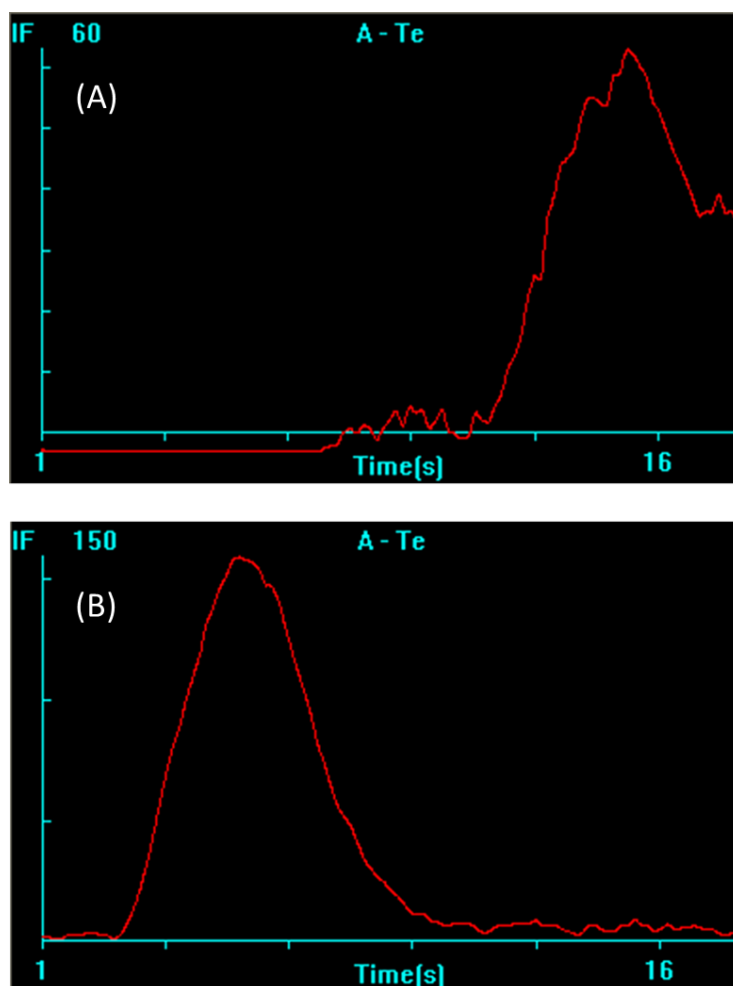
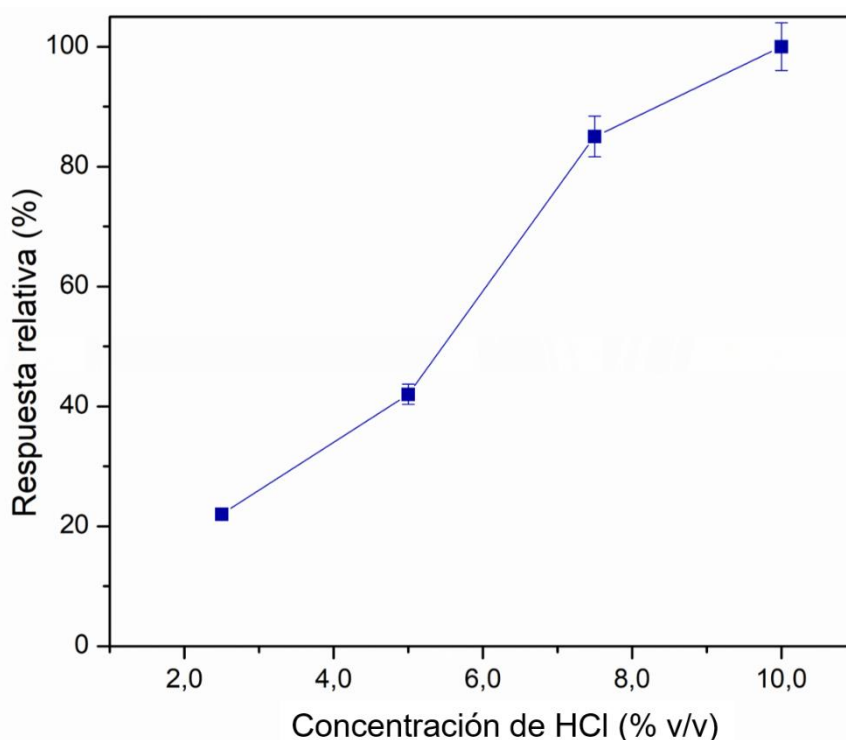
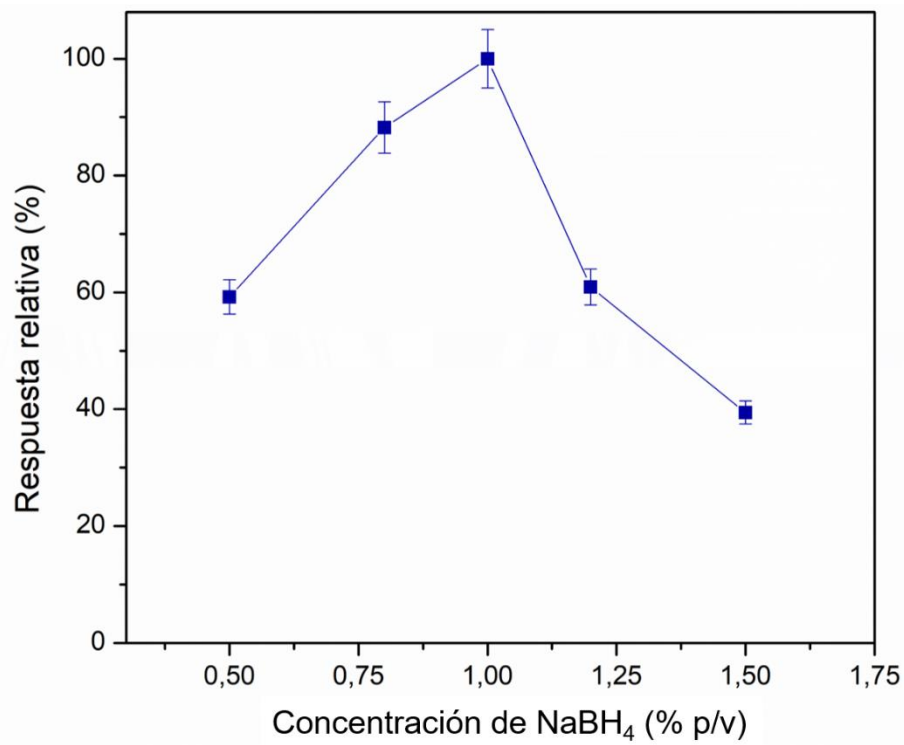
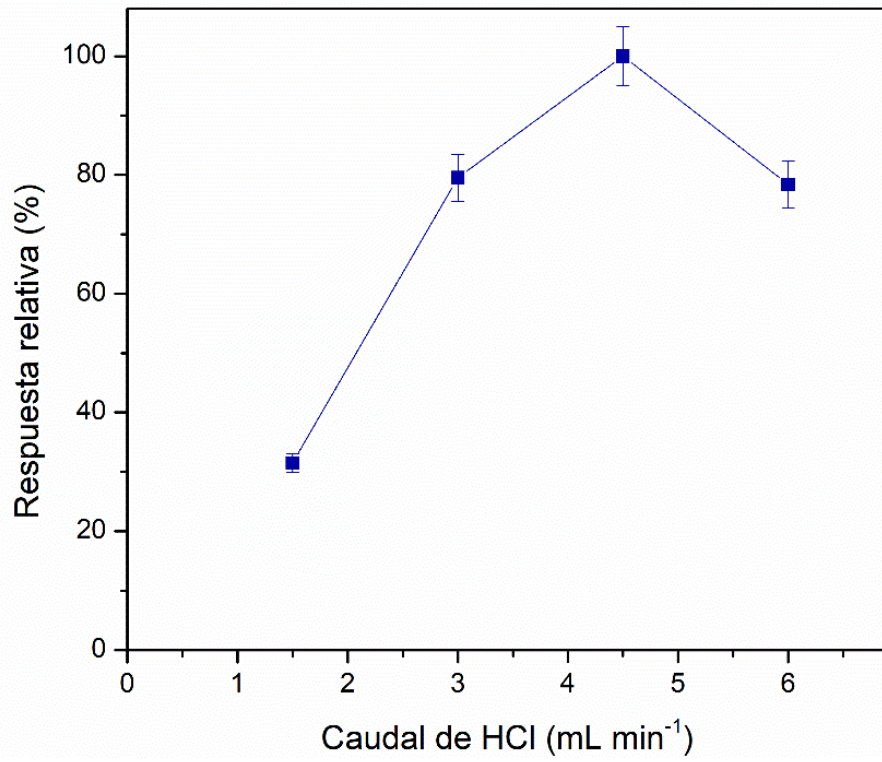


Fig. 3.3.11. Señales de AFS resultantes de la inyección de $400 \mu\text{L}$ de Te(IV) $50 \mu\text{g L}^{-1}$ utilizando: (A) el sistema de inyección en flujo del espectrómetro AFS y (B) el generador de hidruros miniaturizado. Los gráficos fueron reescalados automáticamente por el software del equipo.

3.3.7. Condiciones óptimas para la generación de hidruros y H₂

Los factores involucrados en la obtención de TeH₂ en el generador de hidruros miniaturizado y de H₂ en el instrumento AFS fueron estudiados y los valores óptimos para los parámetros involucrados en ambos procesos se presentan en la Tabla 3.3.1. Tal como se observa en la Figura 3.3.12, la mayor sensibilidad en la determinación de Te(IV) por HG-AFS se obtuvo con HCl 10% (v/v) a 4,5 mL min⁻¹ y con NaBH₄ 1,00% (p/v) a 6,0 mL min⁻¹ para la formación del hidruro en el generador miniaturizado. Flujos y/o concentraciones de solución reductora mayores a los óptimos resultaban en un deterioro significativo de la sensibilidad de la determinación, principalmente debido a la generación de un exceso de H₂ en conjunto con el TeH₂, que provocaba la dilución de este último antes de llegar al atomizador. Paralelamente, incrementos en el flujo y/o la concentración de la solución transportadora ácida resultaban en el desbordamiento del separador gas-líquido de 2,2 mL, con la consecuente pérdida de analito.





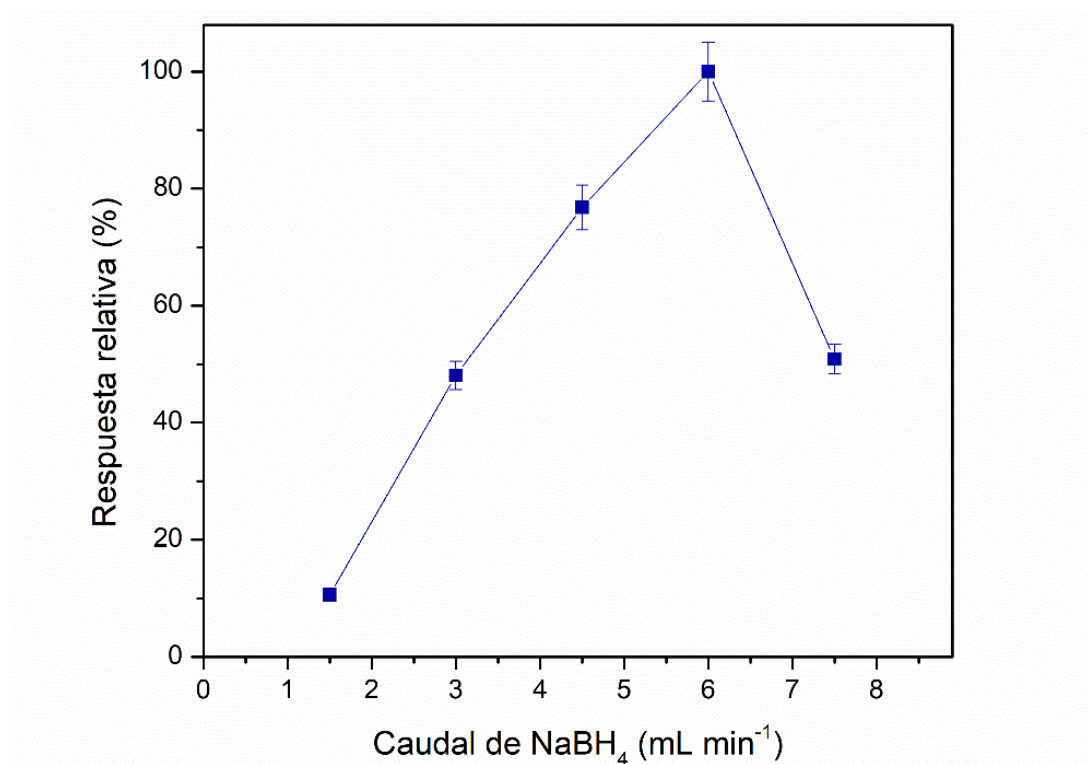
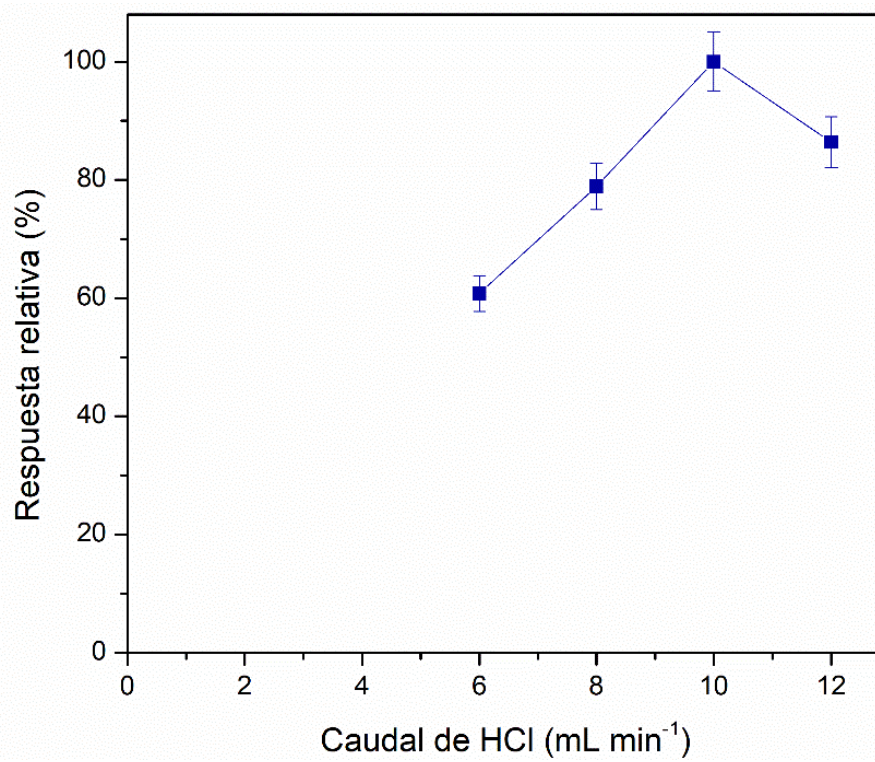
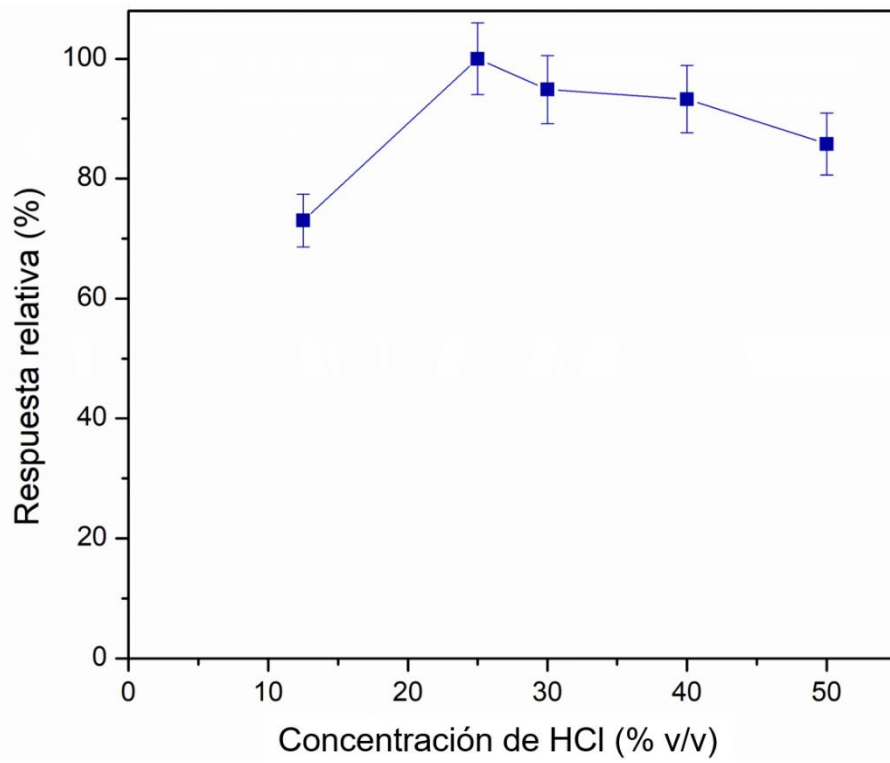


Fig. 3.3.12. Efecto de las variables involucradas en la generación de TeH₂ en el generador de hidruros miniaturizado utilizado para la determinación de Te por HG-AFS, bajo las condiciones especificadas en la Tabla 3.3.1 e inyectando 400 μ L de solución de Te(IV) de 10 μ g L⁻¹. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Por otro lado, las limitaciones por rebalse del separador gas-líquido no fueron un impedimento para el funcionamiento normal del sistema de generación de H₂ del instrumento AFS, ya que este se encuentra diseñado para operar a caudales y concentraciones elevadas de las soluciones transportadoras y reductoras. Los resultados de la evaluación de condiciones para este proceso se pueden observar en la Figura 3.3.13, donde se aprecia que las concentraciones óptimas de HCl y NaBH₄ fueron 25% (v/v) y 1,0% (p/v), respectivamente, a caudales de 10 mL min⁻¹ en ambos casos. Más aún, al comparar las figuras 3.3.12 y 3.3.13, se corroboró que la influencia de los parámetros evaluados jugaba un rol más preponderante en la generación de TeH₂ que en la generación de H₂, observándose cambios más marcados a medida que las variables se alejaban de los valores determinados como óptimos en el primer caso. Adicionalmente, la evaluación del caudal de Ar como gas transportador del hidruro y del H₂ dio como resultado valores ideales de 60 mL min⁻¹ para el generador de TeH₂ y de 200 mL min⁻¹ para el generador de H₂, quedando una vez más en evidencia el efecto del menor volumen del generador gas-líquido adaptado al sistema para la determinación de Te(IV).



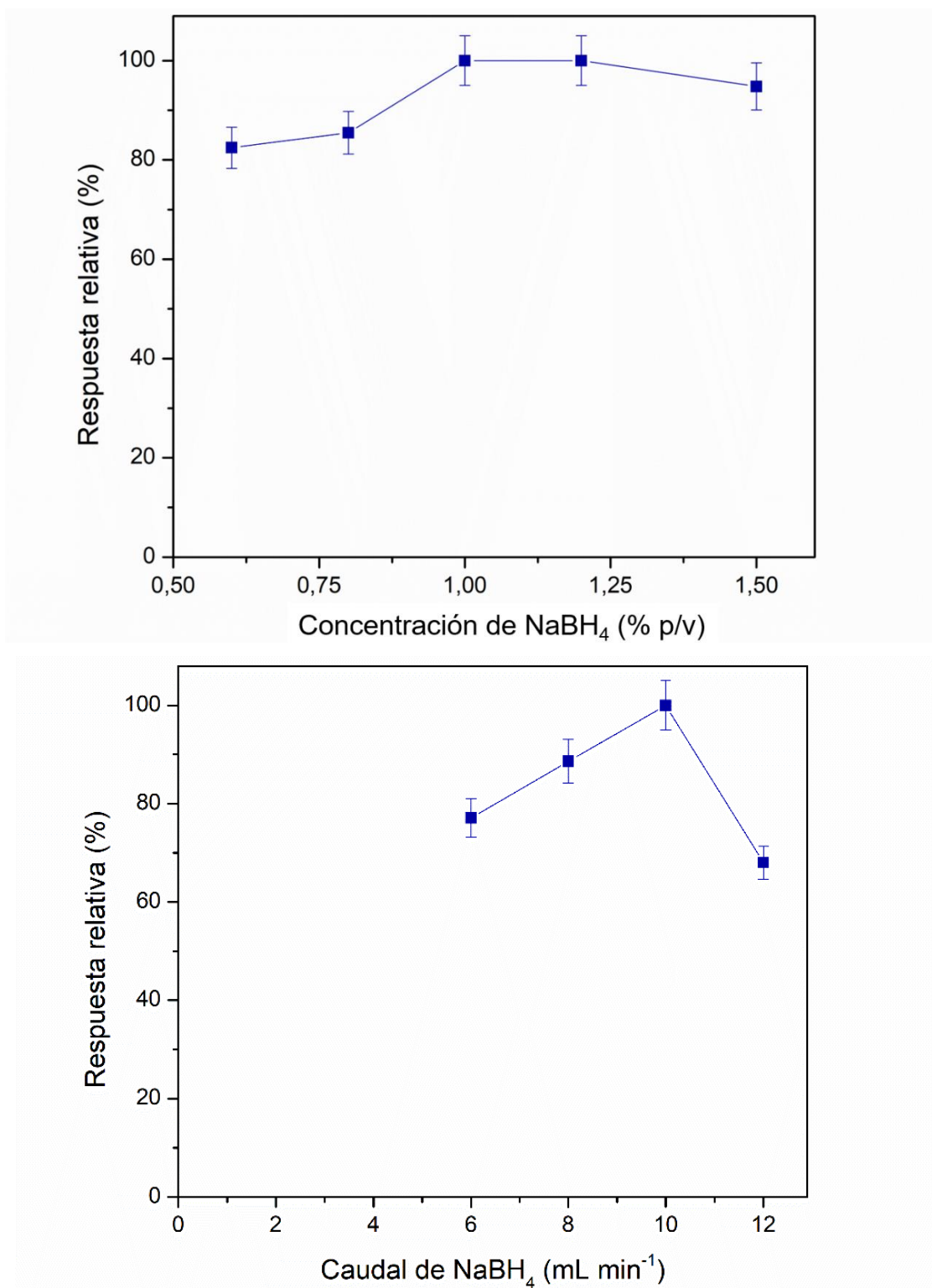


Fig 3.3.13. Efecto de las variables involucradas en la generación de H₂ en el sistema de inyección en flujo del instrumento utilizado para la determinación de Te por HG-AFS, bajo las condiciones especificadas en la Tabla 3.3.1 e inyectando 400 μL de solución de Te(IV) de 10 μg L⁻¹. Las barras de error indican el desvío estándar con n = 3.

3.3.8. Estudio de potenciales interferentes

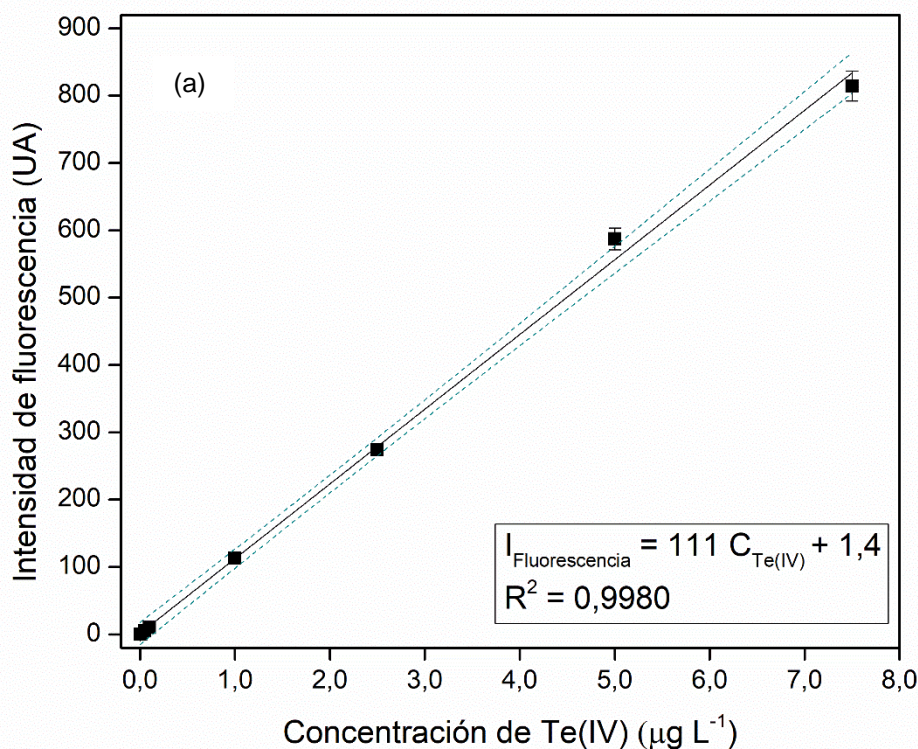
Como en todo desarrollo de un método analítico, en esta etapa del trabajo de Tesis se realizó una evaluación del efecto de potenciales interferentes en la determinación de Te. Para esto, se prepararon soluciones estándar con una concentración de Te(IV) de $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ que fueron adicionadas con diversos iones a niveles de concentración similares o aún mayores a los que usualmente pueden encontrarse en las muestras analizadas en este trabajo. El criterio de tolerancia adoptado fue el mismo utilizado en las secciones previas de análisis de interferencia, es decir, las especies fueron consideradas como interferentes cuando generaron una variación superior al 5% en la señal de Te con respecto a la que se obtenía en su ausencia. De este modo, se observó que los aniones nitrato y sulfato pudieron ser tolerados hasta concentraciones de $5,0 \text{ g L}^{-1}$, mientras que halogenuros comunes como Cl^- y Br^- no generaron cambios significativos recién hasta los 10 g L^{-1} . En lo que respecta a los cationes, Na^+ y K^+ fueron tolerados hasta $7,5 \text{ g L}^{-1}$, Ca^{2+} hasta $5,0 \text{ g L}^{-1}$ y Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} y Zn^{2+} hasta $2,0 \text{ g L}^{-1}$. Adicionalmente, Co^{2+} , Cu^{2+} y Ni^{2+} no resultaron en efectos interferentes hasta $1,0 \text{ g L}^{-1}$.

Como se puede observar, se analizaron en esta etapa algunos iones que no se habían analizado en las etapas del trabajo de Tesis presentadas en las secciones 3.1 y 3.2 del presente capítulo. Esto se debió a que en el presente método no se utilizó un agente complejante, algo que sí fue requerido en los desarrollos previos y que contribuyó a la selectividad de estos. De cualquier manera, tal como se observa en los resultados y como se presentará posteriormente en el análisis de las muestras, las concentraciones a las cuales estos interferentes tienen un efecto significativo se encuentran muy por encima de las que pueden verificarse en las muestras analizadas.

3.3.9. Rendimiento analítico

La eficiencia de retención del nanomaterial $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$ hacia Te fue del 100%. Esta propiedad, además de demostrar la excelente capacidad de sorción y selectividad para con la especie Te(IV) sin la necesidad de utilizar un agente complejante, muestra el gran potencial que posee el material sorbente para el desarrollo de métodos de extracción y de preconcentración en general. Curvas de calibración externas resultantes de la determinación de las especies de Te fueron obtenidas tras el análisis de una serie de soluciones estándar sujetas al método de preconcentración

propuesto y la detección por FI-HG-AFS. La curva de calibración obtenida para Te(IV) arrojó un intervalo de respuesta lineal desde concentraciones cercanas al LOQ y hasta $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$, con la siguiente ecuación de calibración: $I = (111 \pm 2)C + (1,4 \pm 0,6)$, donde I es la intensidad máxima de fluorescencia medida como señal analítica y C es la concentración de Te en $\mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 3.3.14.a). Por otro lado, en el caso de Te(VI), el rango de linealidad fue desde el LOQ correspondiente hasta $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ y la ecuación de la curva fue $I = (102 \pm 2)C - (1,8 \pm 0,7)$ (Figura 3.3.14.b). Los coeficientes de correlación (R^2) para las calibraciones fueron de 0,9980 y 0,9982, respectivamente. Los límites de detección, calculados al igual que en el resto de la presente Tesis como la concentración correspondiente a tres veces el desvío estándar de las mediciones del blanco fueron $1,9 \text{ ng L}^{-1}$ para Te(IV) y $3,7 \text{ ng L}^{-1}$ para Te(VI), este último obtenido tras la aplicación del paso de pre reducción descrito en la Sección 2.3.4 sobre una segunda alícuota de las muestras para la determinación de Te inorgánico total. Los límites de cuantificación, por su parte, fueron de $6,3 \text{ ng L}^{-1}$ y de $12,3 \text{ ng L}^{-1}$. Los factores de refuerzo de la sensibilidad obtenidos fueron de 67 (Te^{IV}) y 62 (Te^{VI}), mientras que el factor de preconcentración fue de 100 para ambas especies. Los desvíos estándar relativos, calculados en base a la aplicación del método sobre 6 réplicas de concentración de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, fueron de 4,3% para la especie Te(IV) y de 5,1% para la especie Te(VI). Un resumen de los parámetros obtenidos a partir del ajuste lineal de las curvas de calibración y de las cifras de mérito más relevantes del método se expone en la Tabla 3.3.3.



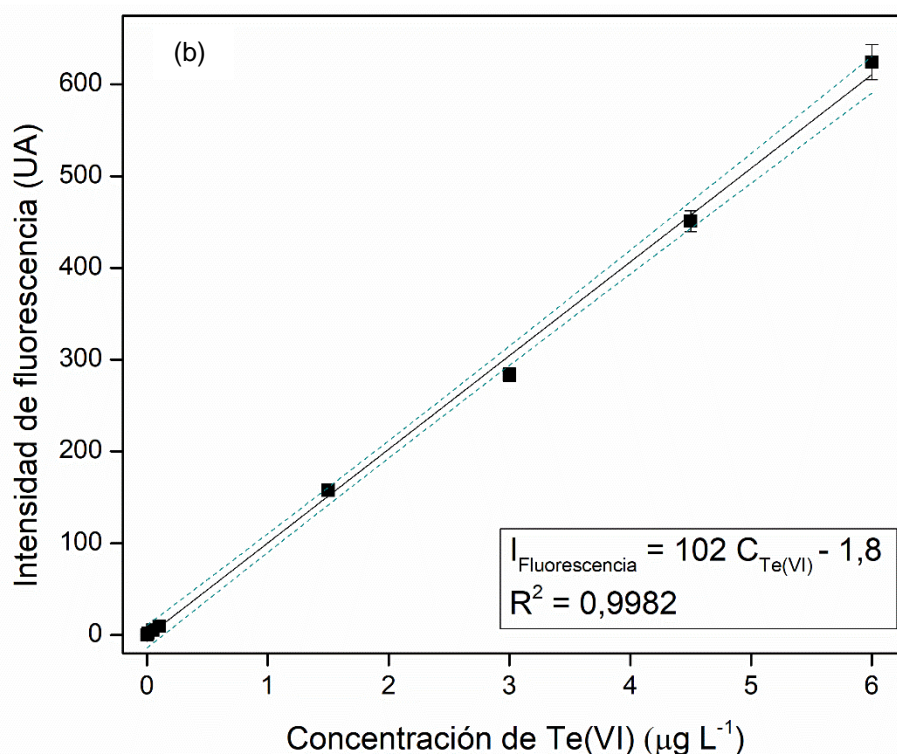


Fig. 3.3.14. Curvas de calibración para (a) Te(IV) y (b) Te(VI), obtenidas tras la aplicación del método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS propuesto. Las bandas punteadas representan el intervalo de confianza (95%) del ajuste lineal.

Tabla 3.3.3. Parámetros obtenidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método D- μ -SPE-FI-HG-AFS desarrollado.

	Te(IV)	Te(VI)
Curva de calibración		
Pendiente	111 ± 2	102 ± 2
Ordenada	$1,4 \pm 0,6$	$-1,8 \pm 0,7$
R^2	0,9980	0,9982
Cifras de mérito analítico		
EF	67	62
LOD (ng L^{-1})	1,9	3,7
RSD (%)	4,3	5,1

La frecuencia analítica se calculó teniendo en cuenta el tiempo invertido en cada una de las etapas involucradas en el método propuesto: a) Retención de la especie Te(IV) en el nanomaterial compuesto magnético (6 min), b) recolección magnética del sorbente sólido y separación desde la fase acuosa (3 min) y c) elución + separación magnética + detección instrumental (18 min). Considerando los pasos mencionados, el

método de preconcentración completo demandó 25 min por cada muestra. Sin embargo, dado que sería posible el análisis simultáneo de múltiples muestras al procesar en paralelo varios tubos de extracción, una frecuencia de análisis de 48 muestras por hora puede ser esperable, teniendo en cuenta que la mayoría de los pasos no requieren una manipulación activa de las muestras.

Asimismo, se evaluó el desempeño analítico logrado con el método propuesto mediante su comparación con otras metodologías SPE aplicadas a la determinación de Te en muestras ambientales recientemente reportadas, tal como se realizó también para las etapas anteriores del trabajo de Tesis. En la Tabla 3.3.4 se puede observar que, en términos de cifras de mérito analítico tales como el LOD, el método propuesto es comparable o aún mejor que otros trabajos previamente publicados. El método reportado en la referencia [23] resulta en un mejor LOD, aunque este fue logrado a través del uso de ICP-MS, una técnica que presenta mejores LODs por su características intrínsecas, pero que es a la vez mucho menos accesible en términos de disponibilidad y costo. También, entre las técnicas en las cuales se ha reportado la cantidad de sorbente utilizado, el desarrollo presentado en esta sección resulta ser el que menor cantidad requiere por muestra, siendo la diferencia con los otros valores muy significativa. El segundo método con menor demanda de sorbente requiere 50 mg, contra los 3,0 mg del método propuesto.

Adicionalmente, y a pesar de ser los sedimentos una de las muestras más importantes como indicadores de la presencia prolongada de Te en cursos o cuerpos de agua, el método aquí presentado es el único entre los trabajos reportados en la Tabla 3.3.4 que ha sido aplicado a ellos. Otro parámetro destacable es la frecuencia analítica, la cual está reportada solamente en dos de los trabajos de la tabla, que reportan valores de este parámetro de 10 y 8 muestras por hora. La frecuencia analítica es crucial al momento de determinar la utilidad de las metodologías desarrolladas para los laboratorios de análisis de rutina o servicios, ya que las demandas actuales se enfocan principalmente en contar con métodos de análisis novedosos que sean rápidos y de bajo costo. La frecuencia analítica obtenida con la metodología propuesta en esta parte del trabajo de tesis fue de 48 muestras por hora, lo cual representa un valor excelente, especialmente si se considera que se trata de una aplicación en *batch*. En comparación directa con el método reportado para la preconcentración de Te en ajos, se puede destacar que el desarrollo aquí presentado dio lugar a un LOD unas 20 veces menor y, al mismo tiempo, permitió el análisis de especiación del elemento, hecho que no había logrado el grupo responsable de la publicación [24].

Tabla 3.3.4. Métodos analíticos reportados recientemente para la preconcentración y análisis de especiación de Te en muestras ambientales y de alimentos.

Método	Muestras	Extractante	Análisis especiación	LOD (ng L ⁻¹)	Factor de refuerzo (EF)	RSD (%)	Volumen muestra (mL)	Masa de sorbente (mg)	Ref.
FI-SPE-ETAAS	Agua de canilla	Resina Dowex 1x8	No	7	42	5,8	9	N.R.	[9]
FI-SPE + coprecipitación con La(OH) ₃ - ETAAS	Agua de canilla	Resina XAD-4	No	66	25	8,3	9	N.R.	[9]
SPE-ETAAS	Agua de canilla, superficial, subterránea y de desecho	Nano-TiO ₂ sobre gel de sílica	No	40	45	N.R. ^a	100	100	[10]
MSPE-ICP-MS	Agua de mar	NPs magnéticas recubiertas con sílica modificada con γ -MPTMS	Sí	0,079	N.R.	7,0	160	50	[23]
SPE-HGAAS	Agua mineral, de canilla y de mar	Sílica mercapto-modificada	Sí	37	N.R.	5,1	5	N.R.	[25]
FI-SPE + coprecipitación con La(OH) ₃ - ETAAS	Ajos	Resina XAD-4	No	30	10	3,5	25	N.R.	[24]
M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de río, suelos, sedimentos y alimentos	Nanomaterial compuesto Fe ₃ O ₄ -SiO ₂ -PIL	Sí	1,9 (Te ^{IV}) 3,7 (Te ^{VI})	67 (Te ^{IV}) 62 (Te ^{VI})	2,6 (Te ^{IV}) 3,1 (Te ^{VI})	50	3,0	Presente trabajo

N.R.: No reportado. γ -MPTMS: γ -(3-mercaptopropil)trimetoxisilano.

Finalmente, el método presentado en esta sección no solo representa la primera aplicación del novedoso nanomaterial híbrido $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{PIL}$, sino que también puede considerarse una alternativa libre de solventes volátiles y potencialmente dañinos para el medio ambiente, algo que no sucede en varios de los trabajos resumidos en la Tabla 3.3.4. Sin dudas, este aspecto es fundamental al momento de evaluar el impacto ambiental de un nuevo método analítico.

3.3.10. Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de telurio en muestras naturales y de alimentos

Dado que los efectos de matriz resultaron ser despreciables al momento de analizar las muestras, tal como se comprobó a través de mediciones utilizando el método de agregado patrón, la cuantificación de las especies de Te se realizó utilizando las curvas de calibración externas previamente descritas. Estas se obtuvieron a partir del análisis de soluciones estándar de Te(IV) y Te(VI) preparadas en medio acuoso luego de la aplicación del método de preconcentración optimizado. El análisis de especiación del elemento se realizó sobre distintas muestras de interés ambiental que presentaron matrices de composición variada: aguas (de canilla, subterránea, lluvia y río) y lixiviados de suelos y sedimentos, cuya preparación a partir de las muestras fue descrita en la Sección 2.3.2. Adicionalmente, el método desarrollado en esta etapa de la Tesis fue útil también para la determinación de Te en algunas muestras de alimentos: ajo, brócoli y puerro, cuya preparación se ha descrito en la Sección 2.3.3. La relevancia del análisis de Te en estas muestras reside en que corresponden a plantas conocidas por sus propiedades acumuladoras y transformadoras de Se inorgánico, el cual comparte diversas propiedades químicas con el Te, por lo que existe la posibilidad de que este sea también incorporado [26]. Curiosamente, el análisis sobre muestras de cebollas sometidas al mismo tratamiento no fue exitoso, obteniéndose recuperaciones por debajo del 70% al realizarse agregados de soluciones estándar, tanto para Te(IV) como Te(VI).

Los resultados de todas las determinaciones se presentan en la Tabla 3.3.5. Adicionalmente a estas, se realizaron estudios de recuperación sobre todas las muestras con el objeto de evaluar la exactitud del método para la determinación de especies de Te en las diversas matrices analizadas, debido a la inexistencia de materiales de referencia certificados para estas. De cualquier manera, los resultados

que arrojaron los estudios de recuperación fueron positivos, con valores de entre 95,4% y 105% para las adiciones de Te(IV) y de entre 90,0% y 107% para las de Te(VI). De esta manera, quedó demostrada la posibilidad de aplicar exitosamente el método propuesto, incluso para analizar muestras con matrices complejas, tales como los suelos, sedimentos y alimentos. Es importante notar que la muestra de agua de canilla, que es de consumo generalizado en la Ciudad de Mendoza, no presentó una concentración detectable de ninguna de las especies de Te analizadas. Esto es positivo a la luz de las características tóxicas del elemento ya que, si bien no hay aún un límite legal establecido por el Código Alimentario Argentino para la concentración de Te en aguas de consumo (ni tampoco un valor de referencia por parte de la OMS al momento de redactar esta Tesis), que las concentraciones de las especies se encuentren por debajo de los LODs es muy importante para preservar la salud de la población. Por otro lado, sí se detectaron concentraciones por encima del LOD en el agua de río analizada (del Río Mendoza en este caso), aunque estas no resultaron ser más altas que aquellas usualmente reportadas en este tipo de muestras [27]. Además, el análisis de la mayoría de las muestras sólidas (suelos y sedimentos) arrojó concentraciones por encima de los LODs, aunque estas resultaron ser unas 150 veces más bajas que las encontradas en suelos que se consideran contaminados, por lo que se puede asumir que estos no representan riesgos por exposición. Las concentraciones determinadas en la muestra de ajo estuvieron en concordancia con las mencionadas en publicaciones previas en donde se analizaron muestras similares [24].

Tabla 3.3.5. Resultados del análisis de especiación de Te en diversas muestras y de los estudios de recuperación (n = 3). Las unidades de concentración se expresan en $\mu\text{g L}^{-1}$ para las muestras líquidas y $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) para las muestras de suelos, sedimentos y alimentos.

Muestra	Te adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Te(IV) encontrado	Recup. (%) ^a	Te(VI) encontrado	Recup. (%) ^a
	Te(IV)	Te(VI)				
Agua de canilla	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	$0,511 \pm 0,011$	102	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,480 \pm 0,008$	96,0
Agua de lluvia	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	$0,486 \pm 0,010$	97,2	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,494 \pm 0,009$	98,8

Agua subterránea	-	-	< LOD	-	0,011 ± 0,002	-
	0,500	-	0,496 ± 0,009	99,2	0,010 ± 0,002	-
	-	0,500	< LOD	-	0,541 ± 0,008	106
Agua de río	-	-	0,020 ± 0,003	-	0,017 ± 0,002	-
	0,500	-	0,529 ± 0,009	102	0,019 ± 0,002	-
	-	0,500	0,021 ± 0,002	-	0,500 ± 0,008	96,6
Suelo 1	-	-	0,022 ± 0,002	-	0,015 ± 0,002	-
	0,500	-	0,498 ± 0,010	95,2	0,016 ± 0,003	-
	-	0,500	0,022 ± 0,003	-	0,532 ± 0,012	103
Suelo 2	-	-	0,035 ± 0,003	-	0,012 ± 0,002	-
	0,500	-	0,547 ± 0,010	102	0,011 ± 0,002	-
	-	0,500	0,034 ± 0,003	-	0,492 ± 0,010	96,0
Suelo 3	-	-	< LOD	-	0,014 ± 0,002	-
	0,500	-	0,524 ± 0,010	105	0,014 ± 0,002	-
	-	0,500	< LOD	-	0,490 ± 0,009	95,2
Sedimento 1	-	-	0,039 ± 0,004	-	0,022 ± 0,003	-
	0,500	-	0,522 ± 0,010	96,6	0,025 ± 0,003	-
	-	0,500	0,037 ± 0,003	-	0,558 ± 0,012	107
Sedimento 2	-	-	0,015 ± 0,001	-	0,020 ± 0,002	-
	0,500	-	0,492 ± 0,010	95,4	0,025 ± 0,003	-
	-	0,500	0,016 ± 0,003	-	0,522 ± 0,009	100
Sedimento 3	-	-	0,026 ± 0,004	-	0,022 ± 0,002	-
	0,500	-	0,546 ± 0,010	104	0,025 ± 0,003	-
	-	0,500	0,026 ± 0,003	-	0,472 ± 0,009	90,0
Ajo	-	-	0,041 ± 0,005	-	0,022 ± 0,004	-
	0,500	-	0,563 ± 0,011	104	0,027 ± 0,004	-
	-	0,500	0,044 ± 0,005	-	0,501 ± 0,008	95,8
Brócoli	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	0,496 ± 0,011	99,2	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	0,504 ± 0,009	101
Puerro	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	0,520 ± 0,013	104	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	0,511 ± 0,008	102

^a100×[(encontrado – inicial)/adicionado]

3.3.11. Conclusiones

En la presente sección del trabajo de Tesis Doctoral, se desarrolló un método novedoso de preconcentración y separación de especies de Te, basado en la técnica M-D- μ -SPE y el empleo de un nanomaterial magnético compuesto resultante de la combinación de nanopartículas magnéticas y un PIL como sorbente sólido. Este método representa la primera aplicación de un nanomaterial híbrido preparado con un PIL para la extracción directa y preconcentración de Te, permitiendo así obtener un incremento sustancial en la sensibilidad analítica cuando se utilizó la técnica HG-AFS. Las propiedades excepcionales de extracción del material, derivadas de la presencia del PIL y de su naturaleza nanoestructurada, permitieron la retención eficiente de la especie Te(IV), mientras que sus propiedades magnéticas simplificaron notablemente los procesos de recolección del sorbente sólido luego de la extracción del analito y la eliminación de la solución de desecho. El uso de compuestos potencialmente peligrosos tales como solventes orgánicos volátiles no fue necesario, haciendo del método una alternativa de bajo impacto ambiental, costo reducido y riesgo reducido para la salud de los laboratoristas.

Para ambas especies de Te se obtuvieron excelentes límites de detección, factores de refuerzo de la sensibilidad y una excelente frecuencia analítica con la aplicación del método desarrollado, tras la optimización de los diversos factores relacionados con los pasos de extracción, separación y elución. Más aún, un análisis en profundidad de las condiciones necesarias para la determinación instrumental con la técnica HG-AFS, incluyendo la adaptación de una unidad de generación de hidruros externa miniaturizada, permitió mejorar la sensibilidad y la eficiencia del sistema de detección de manera significativa. Esto, además, hizo posible la lectura instrumental mediante la inyección de un volumen muy reducido de solución de muestra (500 μ L de eluato). Adicionalmente, la metodología optimizada pudo ser aplicada exitosamente para la determinación de Te(IV) y Te(VI) en muestras que presentaron matrices con composiciones químicas tan variadas como aguas (de canilla, subterránea, de lluvia y de río), suelos, sedimentos, ajo, brócoli y puerro, lográndose excelentes recuperaciones en todos los casos. Consecuentemente, el método desarrollado es sin lugar a dudas una alternativa eficiente y de bajo costo para la preconcentración y separación de especies de Te en diversas muestras de interés ambiental.

3.3.12. Bibliografía

[1] L.A. Ba, M. Döring, V. Jamier, C. Jacob, Tellurium: an element with great biological potency and potential, *Organic & Biomolecular Chemistry* 8(19) (2010) 4203-4216.

[2] B. Zare, M. Nami, A.R. Shahverdi, Tracing Tellurium and Its Nanostructures in Biology, *Biological Trace Element Research* 180(2) (2017) 171-181.

[3] M. Biver, F. Quentel, M. Filella, Direct determination of tellurium and its redox speciation at the low nanogram level in natural waters by catalytic cathodic stripping voltammetry, *Talanta* 144 (2015) 1007-1013.

[4] M. Chen, L. Wu, X. Yi, K. Yang, H. Xie, Tellurium speciation in a bioleaching solution by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Analytical Methods* 9(20) (2017) 3061-3066.

[5] 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(1-3) (2010) 491-496.

[6] L. Nyaba, N.R. Biata, J.C. Ngila, P.N. Nomngongo, Ultrasound assisted-ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration of inorganic tellurium in environmental water samples prior to inductively coupled plasma – Optical emission spectrometry detection, *Journal of Molecular Liquids* 231 (2017) 154-159.

[7] N.M. Najafi, H. Tavakoli, R. Alizadeh, S. Seidi, Speciation and determination of ultra trace amounts of inorganic tellurium in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 670(1) (2010) 18-23.

[8] F. Fathirad, D. Afzali, A. Mostafavi, M. Ghanbarian, Ultrasound-assisted emulsification solidified floating organic drops microextraction of ultra trace amount of Te (IV) prior to graphite furnace atomic absorption spectrometry determination, *Talanta* 88 (2012) 759-764.

[9] J. Pedro, J. Stripekis, A. Bonivardi, M. Tudino, Determination of tellurium at ultra-trace levels in drinking water by on-line solid phase extraction coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometer, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 63(1) (2008) 86-91.

[10] Q. Tan, Y. Pan, L. Liu, S. Shu, Y. Liu, Determination of ultratrace tellurium in water by hydride generation atomic absorption spectrometry using online separation and preconcentration with nano-TiO₂ microcolumn, *Microchemical Journal* 144 (2019) 495-499.

[11] D. Liang, W. Liu, R. Raza, Y. Bai, H. Liu, Applications of solid-phase micro-extraction with mass spectrometry in pesticide analysis, *Journal of Separation Science* 42(1) (2019) 330-341.

[12] A. Chisvert, S. Cárdenas, R. Lucena, Dispersive micro-solid phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 112 (2019) 226-233.

[13] J. Nawała, B. Dawidziuk, D. Dziedzic, D. Gordon, S. Popiel, Applications of ionic liquids in analytical chemistry with a particular emphasis on their use in solid-phase microextraction, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 105 (2018) 18-36.

[14] K.D. Clark, M.J. Trujillo-Rodríguez, J.L. Anderson, Advances in the analysis of biological samples using ionic liquids, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 410(19) (2018) 4567-4573.

[15] M.Q. Cai, X.Q. Wei, C.H. Du, X.M. Ma, M.C. Jin, Novel amphiphilic polymeric ionic liquid-solid phase micro-extraction membrane for the preconcentration of aniline as degradation product of azo dye Orange G under sonication by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* 1349 (2014) 24-29.

[16] A. Beiraghi, M. Shokri, A novel task specific magnetic polymeric ionic liquid for selective preconcentration of potassium in oil samples using centrifuge-less dispersive liquid-liquid microextraction technique and its determination by flame atomic emission spectroscopy, *Talanta* 178 (2018) 616-621.

[17] E. Gionfriddo, É.A. Souza-Silva, T.D. Ho, J.L. Anderson, J. Pawliszyn, Exploiting the tunable selectivity features of polymeric ionic liquid-based SPME sorbents in food analysis, *Talanta* 188 (2018) 522-530.

[18] S. Zhou, N. Song, X. Lv, Q. Jia, Magnetic dual task-specific polymeric ionic liquid nanoparticles for preconcentration and determination of gold, palladium and platinum prior to their quantitation by graphite furnace AAS, *Microchimica Acta* 184(9) (2017) 3497-3504.

[19] C. Housecroft, *Inorganic Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Ltd., Londres, Reino Unido, 2018.

[20] K. Marcucci, R. Zamboni, A. D'Ulivo, Studies in hydride generation atomic fluorescence determination of selenium and tellurium. Part 2 — effect of thiourea and thiols, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 56(4) (2001) 393-407.

[21] P. Cava-Montesinos, M.L. Cervera, A. Pastor, M. de la Guardia, Determination of arsenic and antimony in milk by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Talanta* 60(4) (2003) 787-799.

[22] P. Cava-Montesinos, M.L. Cervera, A. Pastor, M. de la Guardia, Hydride generation atomic fluorescence spectrometric determination of ultratraces of selenium and tellurium in cow milk, *Analytica Chimica Acta* 481(2) (2003) 291-300.

[23] C. Huang, B. Hu, Speciation of inorganic tellurium from seawater by ICP-MS following magnetic SPE separation and preconcentration, *Journal of Separation Science* 31(4) (2008) 760-767.

[24] M.M. Kaplan, S. Cerutti, J.A. Salonia, J.A. Gásquez, L.D. Martinez, Preconcentration and Determination of Tellurium in Garlic Samples by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry, *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 88(4) (2019) 1242-1246.

[25] A. Körez, A.E. Eroğlu, M. Volkan, O. Yavuz Ataman, Speciation and preconcentration of inorganic tellurium from waters using a mercaptosilica microcolumn and determination by hydride generation atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15(12) (2000) 1599-1605.

[26] A. Castro Grijalba, E.M. Martinis, R.G. Wuilloud, Inorganic selenium speciation analysis in Allium and Brassica vegetables by ionic liquid assisted liquid-liquid microextraction with multivariate optimization, *Food Chemistry* 219 (2017) 102-108.

[27] N. Belzile, Y.W. Chen, Tellurium in the environment: A critical review focused on natural waters, soils, sediments and airborne particles, *Applied Geochemistry* 63 (2015) 83-92.

3.4. MICROEXTRACCIÓN EN PUNTO DE NUBE ASISTIDA POR UN LÍQUIDO IÓNICO PARA LA PRECONCENTRACIÓN Y ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN DE TELURIO

3.4.1. Introducción

Como se mencionó previamente en la presente Tesis Doctoral, el Te es un elemento poco abundante en la corteza terrestre, tóxico y es cada vez más utilizado en aplicaciones tecnológicas. Por ende, los estudios de su presencia en compartimentos naturales resultan de creciente interés a nivel mundial. Sin embargo, al encontrarse usualmente en concentraciones por debajo de las partes por billón en muestras ambientales, el uso de técnicas altamente sensibles con bajos límites de detección se torna necesario para su eficiente determinación. Entre ellas, HG-AAS [1], AFS [2] e ICP-MS [3] han sido utilizadas para la cuantificación de este elemento, pero sumando a su baja concentración la complejidad de las matrices ambientales y la importancia del análisis de especiación, los métodos de preconcentración pasan a representar una etapa casi obligatoria al momento de analizar muestras de origen natural [4].

En este contexto, la técnica de extracción en punto de nube (CPE) ha recibido mucha atención recientemente como alternativa eficiente para el desarrollo de métodos de preconcentración, tanto para la determinación de analitos hidrofóbicos como de metales complejados. La mayor ventaja de la técnica CPE es que se basa en la formación y separación de micelas de un tensoactivo no iónico en solución acuosa, lo que permite concentrar a los analitos en un volumen reducido de fase rica en tensoactivo [5]. El microambiente micelar único provee excelentes condiciones para una interacción eficiente y selectiva con los analitos, resultando en un método simple, de bajo costo, seguro y rápido [6]. Además, la CPE es considerada una técnica amigable con el ambiente, ya que no involucra el uso de solventes dañinos usuales en las LLE clásicas, reemplazándolos por mínimos volúmenes de tensoactivos de baja toxicidad e impacto ambiental [7]. Adicionalmente, la CPE ha probado ser una técnica versátil en relación

con el uso de aditivos para mejorar la capacidad extractante de los tensoactivos, tal como es el caso de los ILs.

Los ILs son uno de los protagonistas principales de la presente Tesis como representantes de una nueva generación de solventes alternativos ampliamente aplicados en el desarrollo de métodos de separación y extracción para análisis elemental [8]. Sus capacidades excepcionales para interaccionar con distintos analitos, su excelente estabilidad química y térmica, su baja presión de vapor y su miscibilidad con varios solventes los hace candidatos ideales para desarrollos analíticos [9]. Los ILs han sido utilizados como aditivos en CPE para incrementar la eficiencia de extracción y mejorar la determinación de diversos analitos, tales como: Cu en sangre y muestras ambientales utilizando naftenato de cetilpiridinio como aditivo [6], el colorante *Coralene Red* en aguas utilizando tetrafluoroborato de tetraetilamonio [10], Cd(II) en aguas de desecho con hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio [11] y Ni(II) en muestras ambientales utilizando también hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio [12].

En el trabajo desarrollado en esta etapa de la Tesis, el efecto del cloruro de 1-octil-3-metilimidazolio ($[C_8mim]Cl$) como aditivo para mejorar la capacidad de extracción del tensoactivo no iónico Triton X-114 fue evaluado no solamente en términos de las mejoras analíticas resultantes, sino también a nivel molecular. En lo que hace a las mejoras analíticas, un método CPE asistido por IL (IL-CPE) para la extracción y preconcentración de Te con determinación por ETAAS fue desarrollado y la versión final optimizada fue aplicada exitosamente para la determinación de Te(IV) y Te(VI) en diversas muestras ambientales complejas, tales como suelos, sedimentos y aguas. A nivel molecular, se realizaron experimentos de fluorescencia utilizando la sonda de polaridad Laurdan, de manera de profundizar en el estudio del mecanismo a través del cual el IL influye sobre el proceso de extracción micelar. En lo que al autor concierne, al momento de desarrollar la presente Tesis este trabajo representó la primera aplicación de una metodología CPE para la determinación de Te en muestras ambientales complejas. Un resumen esquemático del trabajo desarrollado se puede encontrar en la Figura 3.4.1.

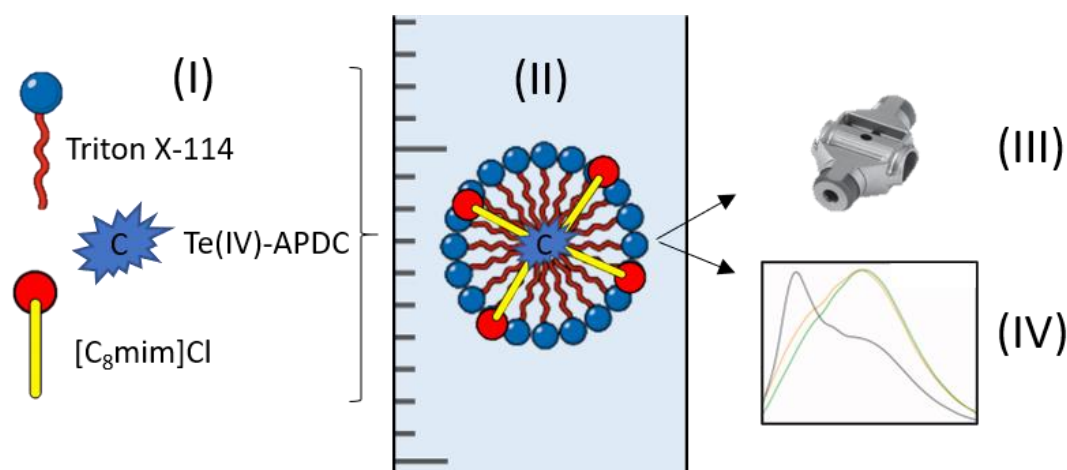


Fig. 3.4.1. Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.4. (I) Componentes de la mezcla de extracción, (II) Extracción del complejo Te(IV)-APDC en micelas compuestas, (III) Detección por ETAAS, (IV) Estudio molecular del efecto del líquido iónico.

3.4.2. Procedimiento general de microextracción y preconcentración

Un volumen de 10 mL de muestra de agua, de solución de lixiviado (en el caso de suelos y sedimentos) o de solución patrón de Te de concentración $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (para los estudios de optimización) fue inicialmente ajustado a pH 4,0 utilizando un buffer ácido cítrico/citrato en un tubo de centrifuga de vidrio. Un volumen de 100 μL de una solución de APDC 1,0% (p/v) fue luego adicionado a la muestra ajustada y la mezcla se agitó manualmente durante 10 s para obtener el complejo Te(IV)-APDC. Luego, 25 μL de [C₈mim]Cl al 5,0% (p/v) y 850 μL de Triton X-114 al 3,0% (p/v) fueron agregados, ambos como soluciones acuosas. Esta mezcla fue calentada en un baño de agua a 80 °C durante 30 min para dar lugar a la extracción de la especie Te(IV) complejada con APDC por IL-CPE. Tras este periodo, la solución turbia se centrifugó durante 10 min a 2090xg para decantar la fase rica en tensoactivo e IL. Los tubos fueron luego enfriados en una heladera a 4 °C durante 10 min para aumentar la viscosidad de la fase extractante, permitiendo la fácil separación del sobrenadante por inversión cuidadosa de los tubos. Finalmente, el extracto fue diluido con 50 μL de etanol absoluto e inyectado de forma directa en el horno de grafito para la determinación de Te por ETAAS bajo las condiciones descriptas en la Tabla 3.4.1.

Como la retención de Te en la fase micelar de tensoactivo e IL resultó ser selectiva gracias a la formación selectiva del complejo Te(IV)-APDC, la estrategia de especiación se basó en el análisis de una segunda alícuota de muestra sometida a una

pre reducción, cuyo procedimiento detallado se presentó en la Sección 2.3.4. De esta manera, el análisis de esta alícuota por el método desarrollado permitió la determinación de la concentración de Te inorgánico total, a partir de la cual se calculó la concentración de Te(VI) por diferencia entre esta y la concentración de Te(IV).

Tabla 3.4.1. Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método IL-CPE-ETAAS desarrollado para la determinación de especies de Te.

Longitud de onda	214,3 nm			
Ancho de banda espectral	2,0 nm			
Corriente de la lámpara (HCL)	15 mA			
Modificador de matriz	10 µg Pd [como Pd(NO ₃) ₂]			
Programa de temperatura de atomización electrotérmica				
Paso	T (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo (s)	Flujo de argón (mL min ⁻¹)
Secado 1	110	1	30	250
Secado 2	130	15	30	250
Pirólisis 1	180	90	30	250
Pirólisis 2	600	90	30	250
Pirólisis 3	1400	10	15	250
Enfriamiento	300	1	15	250
Atomización	2100	0	3	0
Limpieza	2400	1	2	250
Condiciones de IL-CPE				
Volumen de muestra	10 mL			
Concentración de APDC	60 µmol L ⁻¹			
pH	4,0			
Concentración [C ₈ mim]Cl	0,005% (p/v)			
Volumen Triton X-114	25,5 µL			
Temperatura de extracción	80 °C			
Tiempo de extracción	30 min			
Tiempo de centrifugación	10 min			
Diluyente de la fase rica en tensoactivo	Etanol absoluto			
Volumen de diluyente	50 µL			

3.4.3. Estudios del mecanismo de acción del IL sobre la extracción

Experimentos de fluorescencia utilizando Laurdan (2-dimetilamino-6-dodecanoilnaftaleno), un compuesto aromático utilizado como sonda de polaridad, fueron realizados con el objetivo de dilucidar el mecanismo a través del cual el IL utilizado modificaba las propiedades extractantes del tensoactivo no iónico. Estos fueron llevados a cabo a una concentración de $3,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de la sonda en soluciones de Triton X-114 que replicaban las condiciones de extracción, en presencia y ausencia de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$, a fines comparativos. Durante las mediciones, los anchos de banda de excitación y emisión se fijaron en 3,0 nm y 1,5 nm, respectivamente. La longitud de onda de excitación fue de 370 nm y los espectros de emisión se colectaron en el rango entre 400 nm y 580 nm a 10°C , para evitar el enturbiamiento de la solución por la coalescencia de las micelas del tensoactivo. La velocidad de escaneo se seleccionó a 600 nm min^{-1} en todas las mediciones. La polarización generalizada (*generalized polarization*, GP), una función utilizada como indicador de la polaridad del microentorno alrededor de las moléculas de Laurdan, fue calculada a partir de las intensidades de emisión promedio utilizando la siguiente ecuación (Ecuación 1), adaptada del trabajo de Parasassi y colaboradores [13]:

$$GP = \frac{I_{430} - I_{488}}{I_{430} + I_{488}} \quad \text{Ecuación 1}$$

donde I_{430} e I_{488} son las intensidades de emisión promedio a 430 nm y 488 nm, las longitudes de onda correspondientes a los máximos en los espectros de emisión de Laurdan en mezclas Triton X-114/ $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ y agua/metanol, respectivamente.

3.4.4. Optimización de las condiciones de extracción y selectividad

Con el objetivo de optimizar las diferentes variables involucradas en el proceso de extracción, se evaluó el efecto de estas sobre la eficiencia de extracción de los analitos. Un análisis detallado de cada uno de los parámetros se puede encontrar en las próximas subsecciones. En este contexto, tres de los aspectos evaluados considerados como claves en la etapa de extracción (pH, tipo de tensoactivo e IL), fueron estudiados

en simultáneo para evitar obviar las posibles interacciones cruzadas que pudieran existir entre ellos. Un resumen de las condiciones experimentales e instrumentales resultantes se puede encontrar en la Tabla 3.4.1.

3.4.4.1. Tipo de agente complejante y su concentración

Los métodos de extracción CPE están basados en el equilibrio de partición de los analitos entre una fase acuosa y una fase hidrofóbica rica en tensoactivo y aditivo (de haberlo), lo cual la hace inefectiva para la extracción directa de especies polares o cargadas, tales como los oxoaniones de las especies Te(IV) y Te(VI). Debido a esto, la adición de un agente quelante es usualmente un requerimiento para la extracción eficiente de este tipo de analitos. En este trabajo, APDC y DDTc a valores de pH de 4,0 y 7,0, respectivamente, fueron evaluados y comparados a distintas concentraciones. Estos reactivos dan lugar a la formación de complejos poco polares con la especie Te(IV), lo cual además de contribuir a alcanzar un alto rendimiento de extracción, permite una eficiente discriminación de especies gracias a esta selectividad, de igual manera que en el caso del Se.

Los resultados de estos experimentos se presentan en la Figura 3.4.2, donde se puede observar que, a concentraciones bajas, tanto el APDC como el DDTc dan lugar a eficiencias de extracción similares. Sin embargo, a concentraciones mayores, ambos casos llegan a una meseta de capacidad extractante, siendo el APDC visiblemente más eficiente que el DDTc. Esto se debe probablemente a la menor polaridad del complejo Te(IV)-APDC en comparación con el complejo Te(IV)-DDTc, lo cual favorece la extracción del primero en la fase rica en tensoactivo. En consecuencia, APDC fue elegido como complejante para los experimentos subsiguientes, con una concentración de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Esta concentración de complejante representa un exceso molar de aproximadamente 45, teniendo en cuenta la concentración de Te(IV) en las soluciones estándar utilizadas para la optimización de las variables del proceso. Este valor es prácticamente la mitad del que resultó ser necesario para la extracción de Se(IV) utilizando APDC en las secciones 3.1 y 3.2 de esta Tesis y puede considerarse consecuencia de una mayor afinidad del APDC para con la especie Te(IV) en comparación con Se(IV). Una tendencia similar se observó durante el desarrollo del método descrito en la próxima sección, en la cual se analizan simultáneamente ambos elementos. A la vez, es interesante notar que no se observó una disminución en la extracción del analito para concentraciones de los complejantes por encima de la cual resultó en la máxima extracción, lo cual puede ser un indicio de que no existió co-

extracción de APDC, como sí sucedió durante la extracción de Se(IV) con el híbrido nanosílica-[C₁₂mim]Br (Sección 3.2.4.1).

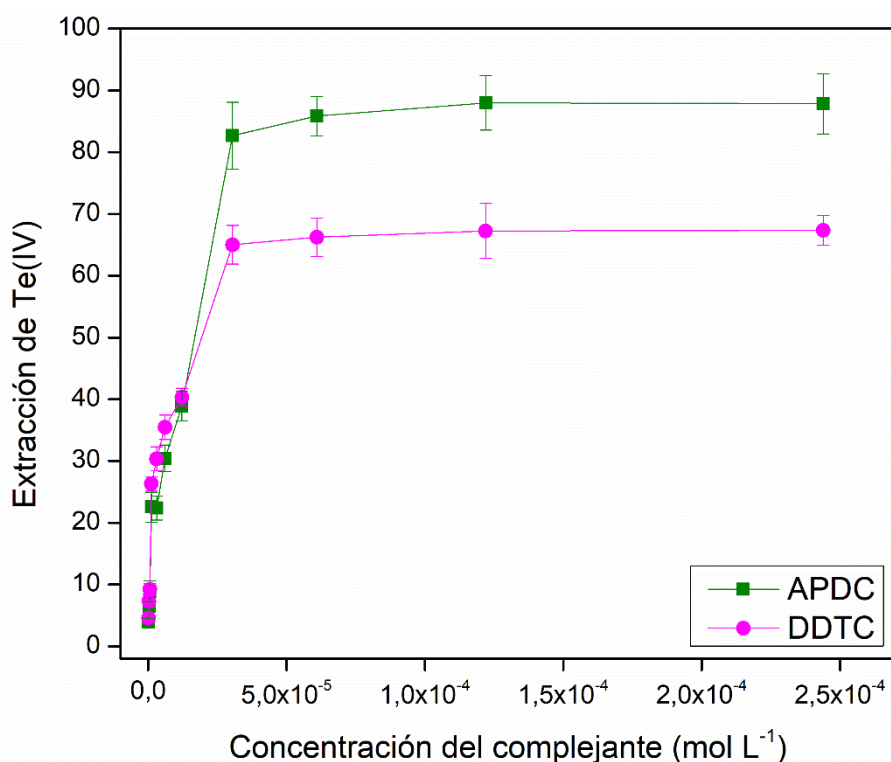


Fig. 3.4.2. Efecto de la concentración de APDC y de DDTc sobre la extracción de Te(IV) por IL-CPE. La concentración de analito en todos los casos fue de 1,0 µg L⁻¹. Las barras de error indican el desvío estándar con n = 3.

3.4.4.2. Efecto del pH, tipo de tensoactivo y líquido iónico

Con el objetivo de no obviar posibles interacciones cruzadas entre los factores más importantes relacionados con la extracción del complejo Te(IV)-APDC, diferentes fases extractantes a distintos valores de pH se evaluaron simultáneamente. Para esto, combinaciones de tensoactivos no iónicos de la familia de los Triton (X-100 y X-114) y diferentes ILs ([C₈mim]Cl, [C₁₂mim]Br y [P_{4,4,4,1}]CH₃SO₄) fueron evaluados a 4 valores de pH: 1,0, 2,0, 4,0 y 6,0.

Inicialmente, la extracción de Te(IV) utilizando algunas de las combinaciones propuestas no fue factible:

- El uso de Triton X-100, independientemente del pH y del IL con el cual se combinase, no dio lugar a la separación de fases tras 30 min de extracción IL-CPE a 90 °C, ya que la fase rica en tensoactivo volvía a disolverse en la fase acuosa

durante el paso de centrifugación para la separación de fases. Debido a la poca practicidad de trabajar a temperaturas mayores a 90 °C con muestras acuosas, el uso de este tensoactivo se descartó.

- En los experimentos con Triton X-114 y $[C_{12}mim]Br$ como aditivo no se observó separación de fases alguna tras 30 min de calentamiento a 90 °C. Si bien en experimentos paralelos se había determinado una temperatura de punto de nube de (26 ± 1) °C para Triton X-114 puro, se ha reportado que la presencia de ILs de imidazolio con cadenas alquílicas largas incrementa significativamente este valor para los tensoactivos de esta familia, dándose así comportamientos como el observado en este caso [14].

Las restantes combinaciones de Triton X-114 e ILs sí dieron lugar a la separación eficiente de la fase rica en tensoactivo a diferentes valores de pH, permitiendo así la extracción del complejo Te(IV)-APDC, cuya dependencia con las distintas condiciones ensayadas se puede observar en la Figura 3.4.3. En este caso, se obtuvo una extracción del analito óptima a pH 4,0 utilizando $[C_8mim]Cl$ en conjunto con Triton X-114, confirmando así el efecto positivo del IL como aditivo para CPE a este pH. La adición de $[P_{4,4,4,1}]CH_3SO_4$ también dio lugar a una mejora en la capacidad de extracción del tensoactivo, con un máximo también a pH = 4,0, aunque en este caso la extracción no fue tan eficiente como con $[C_8mim]Cl$, probablemente debido a la mayor hidrofobicidad del IL de imidazolio en relación con el de fosfonio, por la presencia de la cadena alquílica de ocho átomos de carbono. De esta manera, $[C_8mim]Cl$ fue seleccionado como aditivo para el desarrollo del método con Triton X-114.

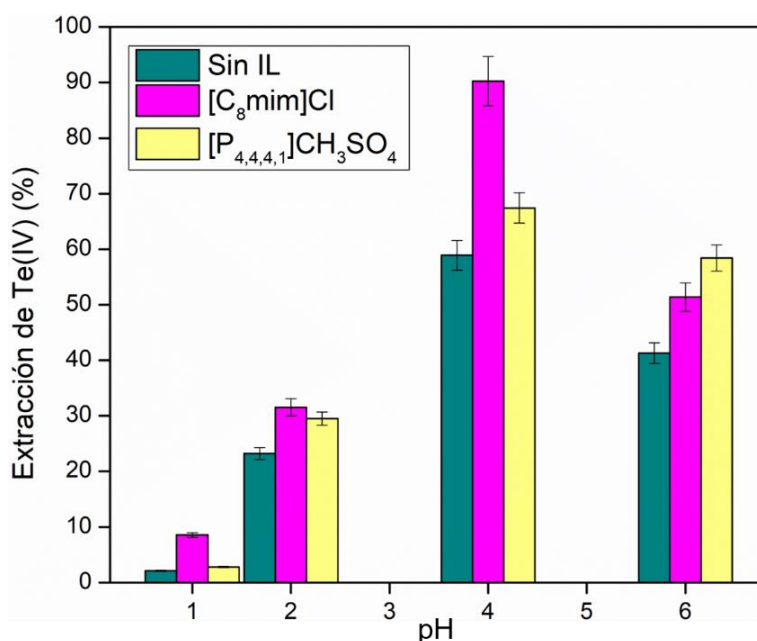


Fig. 3.4.3. Efecto de diversos líquidos iónicos como aditivos para la CPE de Te(IV) $1,0 \mu g L^{-1}$ con Triton X-114 como fase micelar. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Una segunda evaluación más detallada y precisa del pH se llevó a cabo una vez determinada la combinación de tensoactivo e IL ideal, en el rango entre 1,0 y 9,0, con los resultados que se observan en la Figura 3.4.4. Dos conclusiones importantes pudieron ser derivadas a partir de estos resultados. La primera fue la confirmación de que la extracción de Te(IV) alcanzaba un máximo a pH 4,0. Este es coincidente con el valor óptimo usualmente reportado para la formación del complejo Te(IV)-APDC, demostrando así que la formación de este es el factor clave relacionado con la influencia del pH en el proceso de extracción [15]. La segunda tiene que ver con el hecho de que la especie hexavalente Te(VI) no se extrajo de manera significativa a lo largo de todo el rango evaluado, confirmando así también la selectividad del método, conferida por la complejación específica de Te(IV) por parte del APDC. Teniendo esto en cuenta, un pH de 4,0 fue elegido para los experimentos subsiguientes. Se evaluó también la influencia del buffer ácido cítrico/citrato de pH = 4,0 hasta una concentración de 0,50 mol L⁻¹ para el ajuste de este parámetro, sin observarse ningún efecto sobre el rendimiento del método por su presencia.

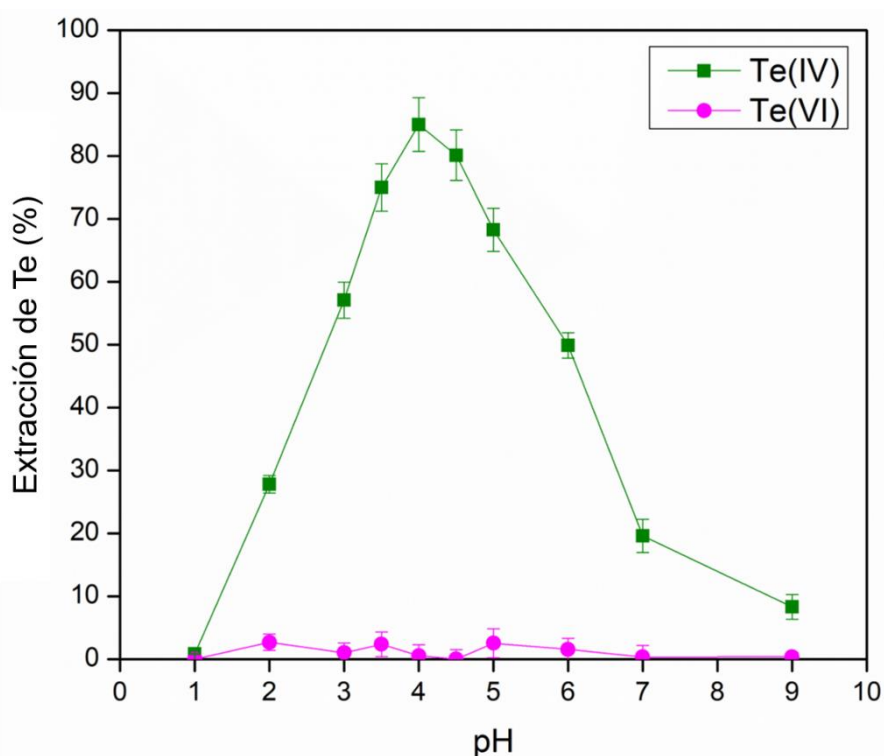


Fig. 3.4.4. Efecto del pH sobre la selectividad y eficiencia de extracción de las especies de Te. Las concentraciones en todos los casos fueron de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Con el pH óptimo y la elección del sistema Triton X-114/[C₈mim]Cl ya definidos, las concentraciones de ambos reactivos fueron evaluadas con los resultados

presentados en la Figura 3.4.5. Como se puede observar en la misma, la extracción de la especie Te(IV) se vio incrementada en la medida en la que el volumen de Triton X-114 aumentaba, llegando a un máximo con 25,5 μL (que equivale a una concentración de 0,255% p/v en el medio), valor a partir del cual esta se mantuvo constante.

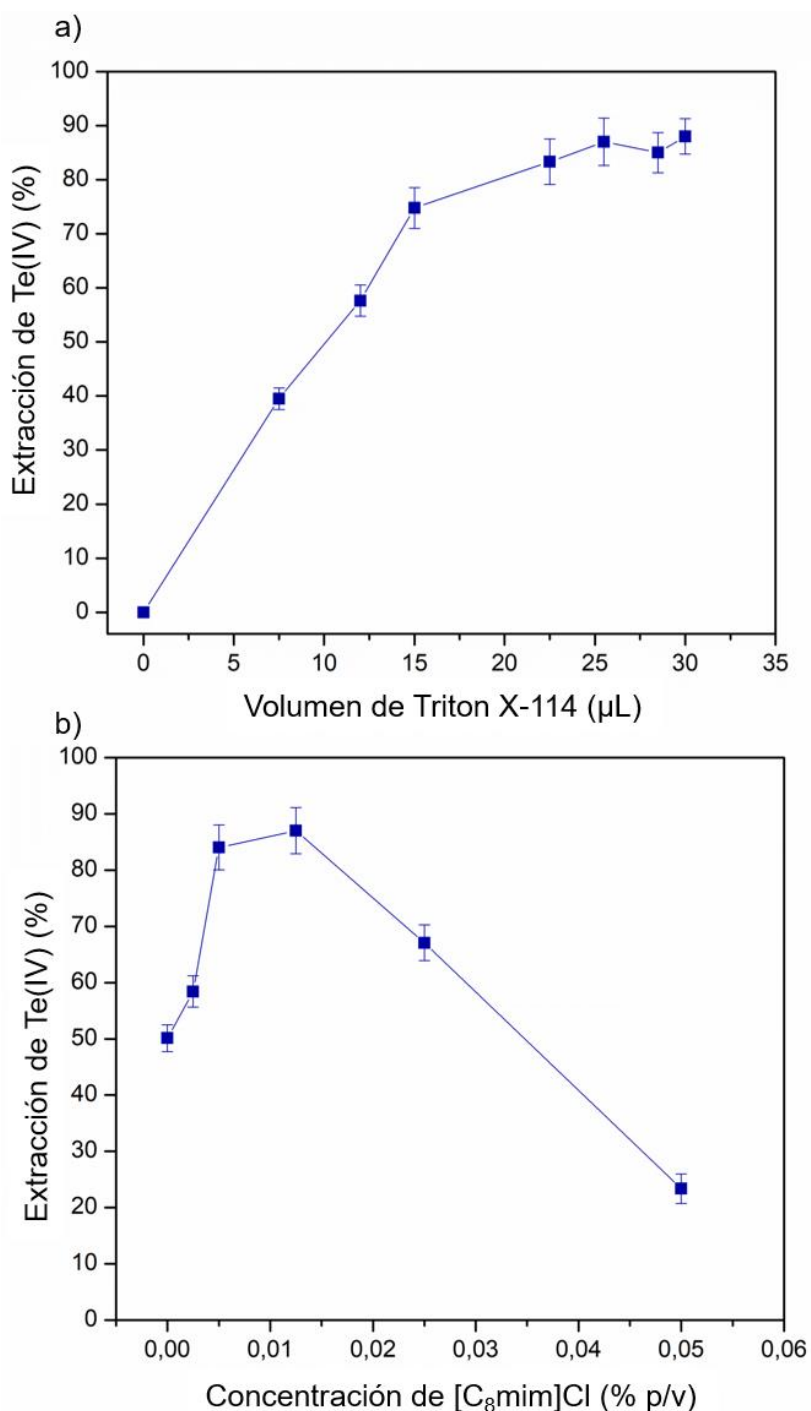


Fig. 3.4.5. Eficiencia de extracción de Te(IV) en función de: a) volumen de Triton X-114 y b) concentración de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ en el medio de extracción. La concentración de Te(IV) fue de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Este comportamiento debió ser analizado teniendo en cuenta la existencia de dos factores con efectos opuestos. Al aumentar la concentración de tensoactivo, la eficiencia de extracción de Te(IV) en las micelas del mismo aumentaba también. Sin embargo, el aumento en volumen también significaba una mayor dilución del analito en la fase extractante, afectando negativamente su preconcentración. De esta manera, el valor mínimo de volumen de tensoactivo para el cual se observa el máximo representa el volumen de fase extractante que maximiza la extracción del analito y minimiza su dilución, por lo que fue seleccionado como el volumen óptimo para el método.

Una tendencia similar se observó con concentraciones crecientes de $[C_8mim]Cl$ (Figura 3.4.5.b), con un mejoramiento de la extracción a medida que aumentaba inicialmente la concentración de IL y un posterior deterioro a partir de 0,005% (p/v) en adelante. Teniendo en cuenta que esta concentración representa un agregado de tan solo 1,25 μL de IL a la mezcla, estos resultados no pueden ser explicados en términos de la dilución del analito, ya que los cambios en el volumen total de fase extractante resultantes de estos agregados no se condicen con los efectos observados en la extracción de Te(IV)-APDC. En cambio, estos resultados sí pueden ser explicados considerando la penetración de las moléculas de IL (especialmente del catión imidazolio) en la estructura de las micelas de tensoactivo. Esto genera una disminución en la polaridad interna de las micelas cuando las concentraciones del IL son bajas y un posterior aumento de la polaridad a medida que más y más moléculas de IL se incorporan a la estructura organizada de tensoactivo como consecuencia de los aumentos en su concentración (más detalles se describen en la Sección 3.4.5).

3.4.4.3. Influencia del volumen de muestra, fuerza iónica, temperatura y tiempo de extracción

En la búsqueda de maximizar el volumen de muestra sobre el cual se pudiera aplicar el método IL-CPE eficientemente, muestras de entre 2,0 y 50 mL con una masa constante de Te(IV)-APDC de 0,010 μg se sometieron al método de preconcentración y se evaluó la extracción del analito en todos los casos. En base a los resultados, presentados en la Figura 3.4.6, se puede observar que la máxima eficiencia de extracción alcanzada fue del 90%, con volúmenes de muestra de hasta 10 mL. Por encima de este valor, la eficiencia de extracción decrecía, por lo que este fue seleccionado como el óptimo para el desarrollo del método. La disminución en la extracción observada con volúmenes mayores a 10 mL se debe probablemente a que la concentración de micelas durante la IL-CPE en estas condiciones se vuelve

insuficiente para extraer la totalidad del analito. Si bien utilizar una mayor cantidad de fase extractante sería una solución para esto, la consecuente dilución del analito contrarrestaría el efecto positivo, por lo que se decidió mantener un volumen de 10 mL de muestra con 25,5 μL de Triton X-114 y 1,25 μL de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ como condiciones ideales, para evitar aumentar innecesariamente las complicaciones asociadas al método sin obtener ningún beneficio aparente en términos analíticos.

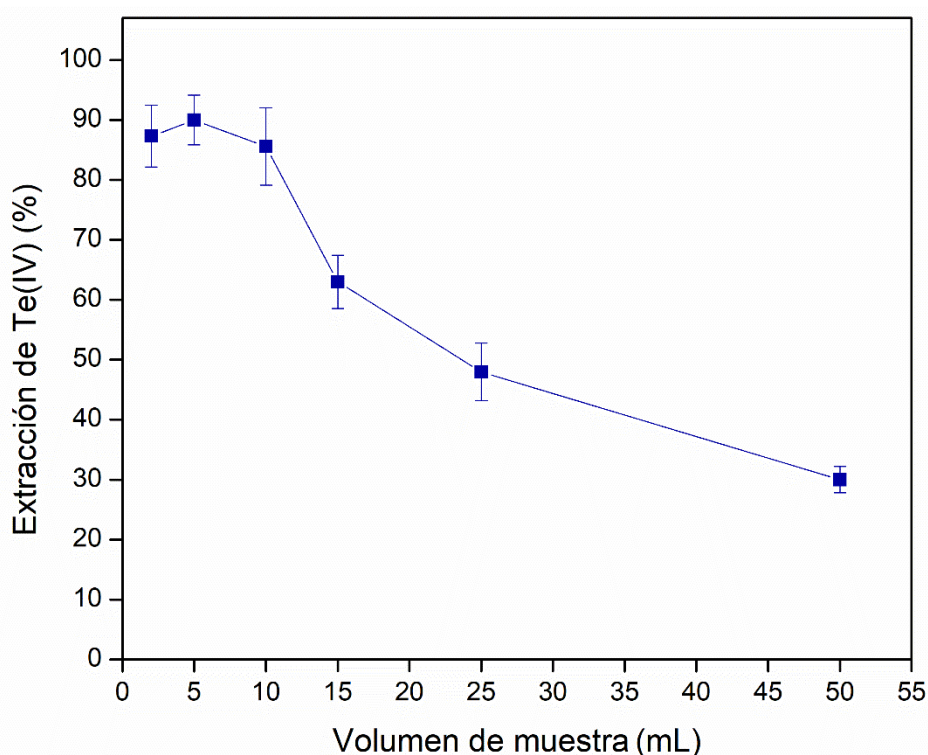


Fig. 3.4.6. Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Te(IV) tras su extracción desde soluciones con una masa constante de 0,010 μg . Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

La fuerza iónica del medio es también usualmente considerada como un factor clave en CPE, ya que los sistemas micelares son fuertemente influenciados por la salinidad del medio circundante. Un estudio del efecto de la presencia de sal sobre la extracción del complejo Te(IV)-APDC se llevó a cabo utilizando NaNO_3 como compuesto salino modelo a distintas concentraciones. Se observó un máximo del 90% en la eficiencia de extracción (equivalente a una mejora del 50% respecto al caso sin sal) con una concentración de NaNO_3 de 0,25% (p/v). Concentraciones por encima de este valor resultaron en un decrecimiento progresivo de la extracción hasta valores de alrededor del 65% para una concentración de sal del 1,0% (p/v), mientras que concentraciones mayores que esta no modificaron la extracción significativamente desde ese punto en adelante. Cuando la concentración de NaNO_3 superaba el 4,0% (p/v), la fase rica en

tensoactivo no podía ser eficientemente separada por centrifugación debido a la alta densidad del medio acuoso causada por la presencia de concentraciones de sal tan elevadas. Los resultados de la evaluación de la fuerza iónica se presentan en la Figura 3.4.7.

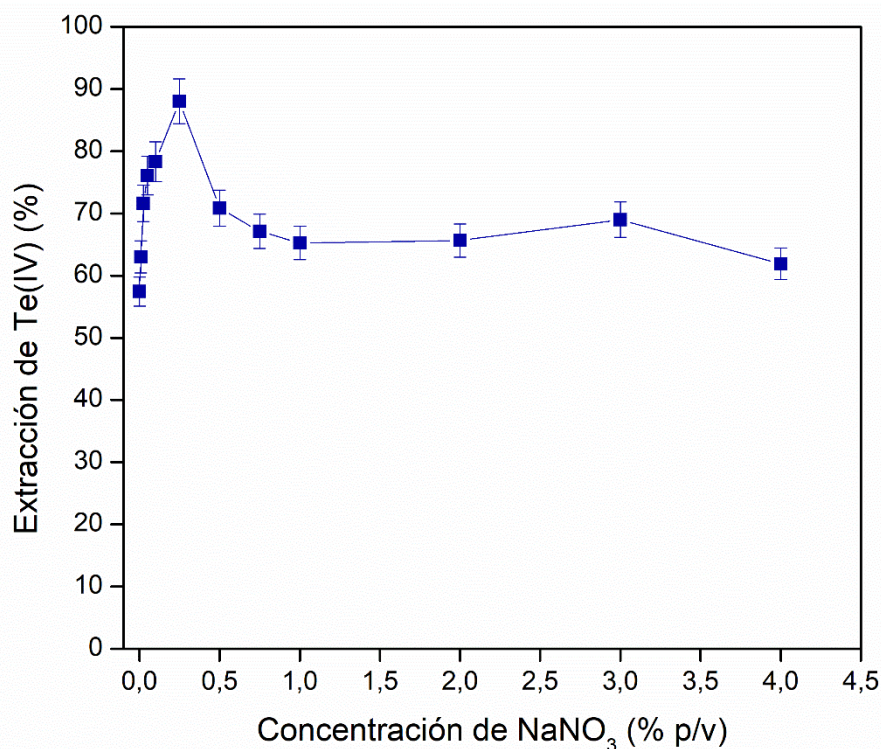


Fig. 3.4.7. Eficiencia de extracción de Te(IV) como función de la fuerza iónica (representada por la concentración de NaNO₃). 1,0 µg L⁻¹ de Te(IV) se utilizó en todos los experimentos. Las barras de error indican el desvío estándar con n = 3.

Es importante destacar que existen dos factores vinculados con la concentración salina que generan efectos significativos sobre el rendimiento de extracción obtenido en CPE. El principal de ellos está relacionado con el llamado “efecto *salting out*”, que favorece la separación de la fase micelar desde la fase acuosa y la partición de los analitos poco polares hacia la primera [16]. El segundo -y generalmente menos considerado- factor es el incremento en la viscosidad de la fase acuosa generada por la sal solubilizada [11]. Este impacta negativamente al coeficiente de difusión de los analitos desde la fase acuosa hacia la fase micelar, afectando así su extracción. La combinación de estos fenómenos explica los resultados obtenidos en esta etapa del trabajo.

Como parámetros adicionales, el tiempo y la temperatura de IL-CPE fueron también fundamentales en el desarrollo del método, ya que son determinantes tanto

para la eficiencia de la extracción en sí como para la posterior separación de fases. Diferentes combinaciones de tiempos y temperaturas fueron evaluadas en simultáneo (ya que sus efectos se encuentran íntimamente relacionados), con los resultados que se presentan en la Figura 3.4.8. La combinación tiempo/temperatura óptima resultó ser un periodo de 30 min a 80 °C. Tiempos menores a 30 min manteniendo la temperatura de 80 °C resultaron en buenas separaciones de fases, pero con recuperaciones de Te(IV) menores a la ideal. Teniendo en cuenta que la transferencia del complejo Te(IV)-APDC hacia las micelas es rápida gracias a la gran área superficial del sistema micelar, es probable que este efecto esté relacionado con una separación incompleta de la fase micelar. Por otro lado, temperaturas menores a 80 °C no dieron lugar a buenas separaciones de fase tras la extracción; esto es: la fase rica en tensoactivo se redisolvió parcialmente en la fase acuosa durante la centrifugación tras haber llegado al punto de nube, siendo esto fácilmente observable al comparar el volumen de fase extractante obtenida en cada uno de los casos por inspección visual. En consecuencia, una disminución en la eficiencia de extracción fue observada en estos casos, ya que una fracción significativa de micelas cargadas con el analito permanecieron en el sobrenadante tras la centrifugación.

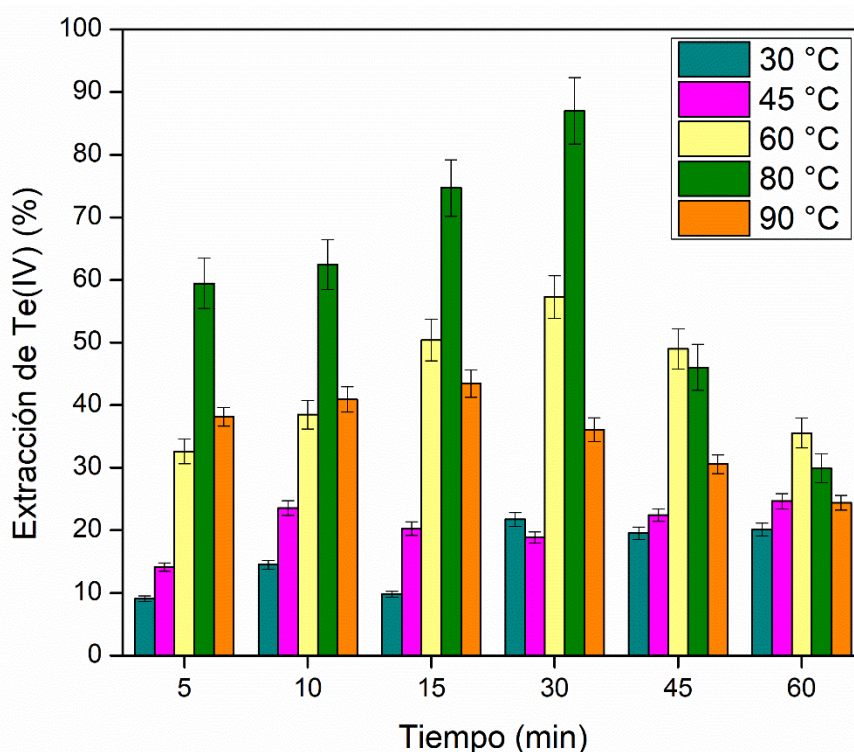


Fig. 3.4.8. Efecto del tiempo y la temperatura de CPE sobre la extracción de Te(IV). Todos los experimentos se realizaron a una concentración de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Adicionalmente, tiempos mayores a 30 min y temperaturas superiores a los 80 °C también resultaron en una reducción en la extracción de Te(IV). Este fenómeno puede ser atribuido a la baja estabilidad del APDC y de sus complejos en medios acuosos, especialmente tras lapsos de tiempo considerables a altas temperaturas. De esta manera, resulta lógico suponer que tanto la formación como la extracción del complejo Te(IV)-APDC se vieran significativamente afectadas por estos tiempos y temperaturas [17].

3.4.5. Evaluación del efecto del líquido iónico sobre el microambiente micelar de extracción

El Laurdan es una sonda utilizada ampliamente en estudios de fluorescencia, ya que su espectro de emisión es altamente sensible a la polaridad del microambiente en el cual la molécula se encuentra inmersa. En particular, la relación entre las intensidades de sus dos picos de emisión principales (a 430 nm y 488 nm en este caso), representada por la función de polarización generalizada (GP, Ecuación 1 en la Sección 3.4.3) depende directamente del medio que rodea al fluoróforo [18]. En esta parte del trabajo, el Laurdan fue utilizado como sonda para estudiar la polaridad de las micelas de Triton X-114 en distintas condiciones. La Figura 3.4.9 muestra los espectros de fluorescencia de la molécula en soluciones acuosas de Triton X-114 y de Triton X-114 + [C₈mim]Cl en las concentraciones óptimas para la extracción de Te(IV)-APDC, así como con un exceso del IL. Como se puede observar, la emisión del fluoróforo resultó ser claramente distinta en cada uno de los casos, así como su GP, lo cual permitió explicar el efecto del IL sobre la extracción de Te(IV)-APDC.

La GP del Laurdan en una solución de Triton X-114 de concentración 0,255% (p/v) dio un valor de (-0,23), que se incrementó a 0,28 en presencia de [C₈mim]Cl 0,005% (p/v) en el medio. Ambos valores se encontraron bien por encima del valor de (-0,89) calculado a partir del espectro de la sonda en una mezcla metanol/agua, que representa el medio más polar en el cual el Laurdan es soluble (este espectro no se muestra en la Figura 3.4.9). El incremento en la GP al adicionar el IL se encontró asociado a una reducción en la polaridad del medio que rodeaba al fluoróforo, fenómeno que puede ser atribuido a una disminución en la polaridad interna de las micelas de Triton X-114 debido a la presencia del IL. Esto es una consecuencia directa de la penetración del IL en las micelas, reemplazando a moléculas del tensoactivo en la estructura ordenada de las mismas, tal como se muestra esquemáticamente en la Figura 3.4.1.

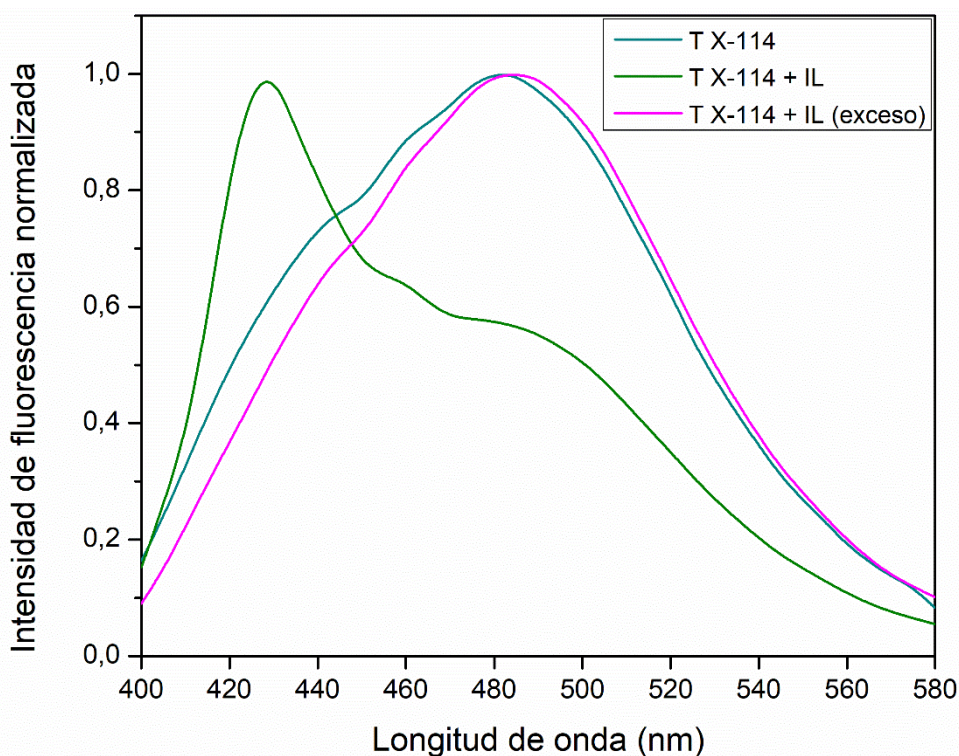


Fig. 3.4.9. Espectros de fluorescencia de Laurdan en soluciones acuosas de Triton X-114 con y sin la adición de $[C_8mim]Cl$. Las condiciones de las mediciones se encuentran detalladas en la Sección 3.4.5.

Además, cuando la concentración de IL fue aumentada a 0,02 % (p/v), un valor cuatro veces por encima del ideal, la GP de la sonda disminuyó hasta un valor de (-0,34). Esto corresponde a una mayor polaridad del microentorno de la molécula fluorescente cuando la concentración de IL supera su valor óptimo para el método, incluso en comparación con las micelas de Triton X-114 puro. El efecto observado se debe probablemente a la formación de micelas mixtas, que se vuelven menos compactas a medida que aumenta la relación molar entre el IL y el tensoactivo cuando la concentración del primero supera su valor óptimo. Esto permite la penetración de moléculas de agua con el consecuente aumento de la polaridad interna de las micelas, afectando negativamente su capacidad de extracción del analito [14]. Estos resultados explicaron el aumento en la extracción de Te(IV)-APDC en presencia de $[C_8mim]Cl$ 0,005% (p/v) y la subsecuente disminución a concentraciones de IL mayores, debido a un fenómeno de partición más favorable para el complejo hidrofóbico hacia la fase extractante causada por una disminución en la polaridad de las micelas, que luego se revirtió al aumentar aún más la concentración de IL.

3.4.6. Selectividad del método para especies de telurio

Con el objetivo de profundizar el estudio de la capacidad de discriminación de especies como consecuencia de la utilización de APDC como complejante a pH = 4,0, la evaluación de la selectividad del método se realizó de la manera presentada en las etapas experimentales previas de este trabajo de Tesis. Para esto, soluciones sintéticas con distintas relaciones molares Te(VI)/Te(IV) fueron sometidas al método de preconcentración, con los resultados presentados en la Tabla 3.4.2. Una excelente precisión y una alta selectividad fueron obtenidas en las condiciones ensayadas, con recuperaciones de entre 96,0% y 106% para Te(IV) en presencia de excesos molares de Te(VI) de hasta 20, lo cual representa una relación muy por encima de las esperadas en cualquier tipo de muestra natural.

Tabla 3.4.2. Selectividad del método IL-CPE-ETAAS propuesto para la determinación de especies de Te.

Relación molar Te ^{VI} /Te ^{IV}	Te(IV)			Te(VI)		
	Inicial (µg L ⁻¹)	Encontrado (µg L ⁻¹)	Recup. ^a (%)	Inicial (µg L ⁻¹)	Encontrado (µg L ⁻¹)	Recup. ^a (%)
0,05	1,00	1,00 ± 0,02	100	0,050	0,052 ± 0,003	104
0,1	0,500	0,524 ± 0,008	105	0,050	0,047 ± 0,001	94,0
0,5	0,100	0,097 ± 0,002	97,0	0,050	0,052 ± 0,002	104
1	0,100	0,099 ± 0,002	99,0	0,100	0,105 ± 0,006	105
2	0,050	0,048 ± 0,003	96,0	0,100	0,098 ± 0,005	98,0
10	0,050	0,050 ± 0,003	100	0,500	0,519 ± 0,009	104
20	0,050	0,053 ± 0,003	106	1,00	0,98 ± 0,01	98,2

^a Recuperación = 100 × (encontrado / inicial)

3.4.7. Determinación de telurio en la fase extractante

La inyección directa de la fase extractante rica en Triton X-114 y [C₈mim]Cl en el horno de grafito para la determinación por ETAAS no fue posible en este caso, ya que su alta viscosidad impedía la medición reproducible del volumen de inyección. Sumado a esto, su alta carga de materia orgánica afectaba negativamente la sensibilidad de las

determinaciones. Por esta razón, se decidió utilizar un diluyente y realizar un ajuste acorde a las condiciones de la determinación por ETAAS para lograr mediciones sensibles y repetibles.

3.4.7.1 Elección del diluyente

Diversos diluyentes para la fase extractante fueron ensayados y su efecto sobre la repetibilidad y sensibilidad de las determinaciones fue evaluado. Para estos experimentos, 25, 50 y 100 μL de metanol y etanol, con y sin HNO_3 al 1,0% (v/v), fueron adicionados a la fase rica en tensoactivo e IL tras la extracción optimizada de Te(IV) e inyectados en el horno de grafito para su determinación por ETAAS. Los resultados, presentados en la Figura 3.4.10, revelaron que la adición de 50 μL de etanol resultaba en las mejores señales, prácticamente duplicando la sensibilidad promedio obtenida en las mediciones sin dilución y mejorando la reproducibilidad significativamente, tal como se puede observar en las barras de error de la figura. Este volumen representó un buen equilibrio entre la mejora en la reproducibilidad y la dilución del analito extraído. En la figura no se muestran los resultados de los diluyentes con agregado de ácido nítrico, ya que estos no fueron significativamente distintos a los obtenidos con los alcoholes puros.

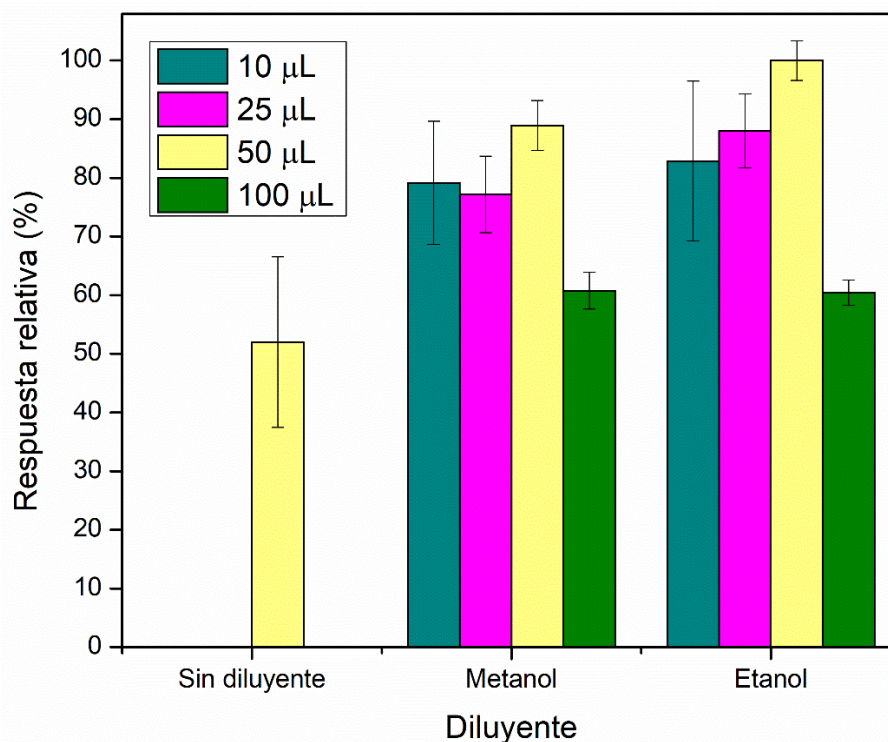


Fig. 3.4.10. Efecto de la adición de distintos volúmenes de diluyentes a la fase extractante sobre las señales obtenidas en la determinación de Te por ETAAS. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

El uso de 25 μL de diluyente no fue suficiente para lograr una reducción en la viscosidad de la fase extractante en ninguno de los dos casos, haciendo su inyección poco reproducible dada la dificultad de asegurar la adecuada succión y expulsión de la mezcla al manipularla con la micropipeta. Mientras tanto, el uso de 100 μL resultó en una viscosidad adecuada para las inyecciones, pero significó una excesiva dilución del analito. Debido a que las señales obtenidas con metanol fueron levemente peores en términos de sensibilidad que las obtenidas con etanol, y que la adición de HNO_3 no resultó en diferencias significativas, 50 μL de etanol absoluto fueron utilizados en los experimentos siguientes como diluyente de la fase de extracción.

3.4.7.2. Optimización de las condiciones de ETAAS

Es importante mencionar que, con el método de extracción utilizado en esta etapa del trabajo de Tesis, la alta carga orgánica presente en el extracto final (Triton X-114 + $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ + APDC + etanol) causó una disminución significativa en la sensibilidad de las determinaciones por ETAAS. Consecuentemente, y al igual que en las etapas instrumentales presentadas en las secciones 3.1 y 3.2, se aplicó un programa con distintas etapas de pirólisis para lograr una descomposición eficiente de la matriz sin volatilizar al analito (Tabla 3.4.1). De manera similar a lo realizado en las secciones previas, se aplicaron tres etapas de pirólisis en el programa de temperaturas; las primeras dos se fijaron a 180 $^\circ\text{C}$ y 600 $^\circ\text{C}$, teniendo en cuenta las recomendaciones del fabricante del equipo, y la tercera se optimizó en el rango entre 1000 $^\circ\text{C}$ y 1500 $^\circ\text{C}$. Como se puede observar en los resultados presentados en la curva de pirólisis de la Figura 3.4.11, una temperatura de 1400 $^\circ\text{C}$ resultó ser óptima para la tercera etapa de descomposición de la matriz. Una vez definida esta, se llevó a cabo la optimización de la temperatura de atomización en el rango entre 1800 $^\circ\text{C}$ y 2200 $^\circ\text{C}$ (el máximo recomendado para las determinaciones de Te). Se encontró entonces que 2100 $^\circ\text{C}$ resultaba ser la temperatura óptima de atomización, tal como se puede observar en la curva de atomización de la Figura 3.4.11. En adición a estas etapas optimizadas, un paso de enfriamiento a 300 $^\circ\text{C}$ entre la última de pirólisis y la de atomización resultó necesario para obtener picos de absorción gaussianos y completos.

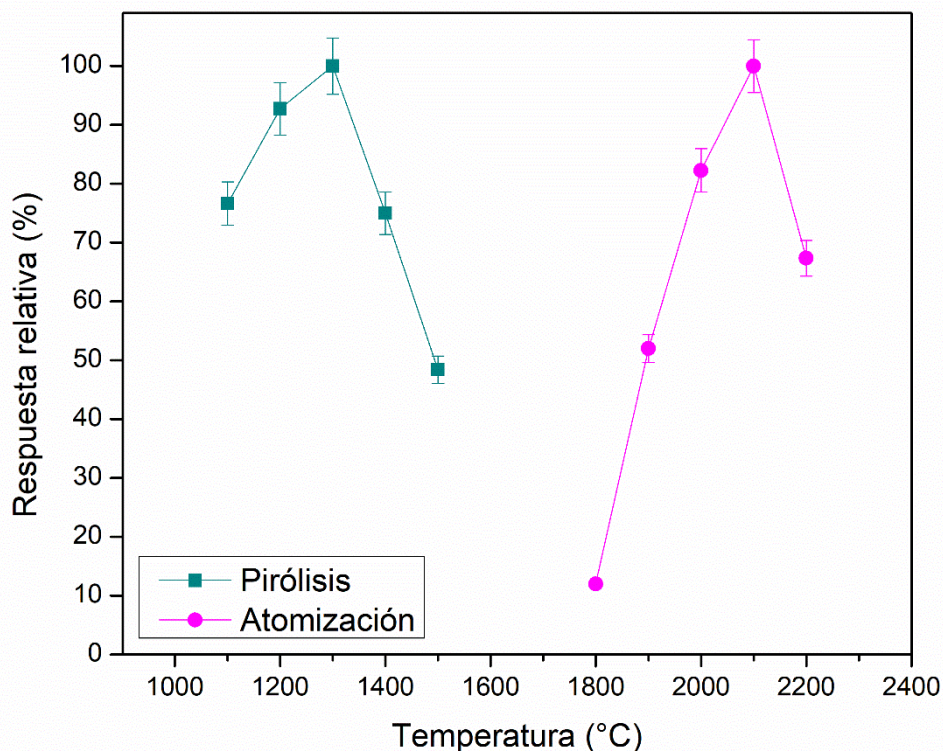


Fig. 3.4.11. Curvas de pirólisis y atomización para la determinación de Te por ETAAS tras su preconcentración por IL-CPE, bajo las condiciones especificadas en la Tabla 3.4.1. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Las condiciones estándar para la determinación de Te en términos de modificadores de matriz resultaron ser óptimas para las determinaciones por ETAAS en este caso. Es decir, se utilizaron 20 μL de una solución de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ de 500 mg L^{-1} en HNO_3 0,1 mol L^{-1} como modificador y se inyectaron 40 μL del eluato diluido con etanol en cada medición. El volumen de este último fue el máximo posible que se pudo inyectar sin producirse pérdidas de la sensibilidad por las proyecciones de solución ocurridas en el horno de grafito, como consecuencia del burbujeo intenso por la presencia del tensoactivo en la mezcla. La utilización de un segundo modificador, tal como es el caso del Cu en las determinaciones de Se por esta técnica, no fue necesaria en esta etapa, ya que no se observaron efectos negativos en la sensibilidad de las determinaciones que pudiesen ocurrir como resultado de la volatilización del complejo $\text{Te}(\text{IV})\text{-APDC}$.

3.4.8. Estudio de potenciales interferencias

Una vez optimizados los diferentes parámetros que determinan la eficiencia de extracción, se evaluó el efecto de potenciales interferentes en la preconcentración de $\text{Te}(\text{IV})$ por el método IL-CPE desarrollado. En ese caso, se mantuvo el criterio de que la

concentración límite para cada interferente fuera aquella que pudiera ocasionar un desvío mayor al 5% en la recuperación de Te(IV) agregado a las soluciones estándar, con respecto al caso libre de interferentes. De esta manera, se evaluaron interferentes comúnmente encontrados en las muestras objetivo, a partir de las concentraciones en las que suelen encontrarse en estas. Se observó que Cl^- y Br^- fueron tolerados hasta 10 g L^{-1} , mientras que NO_3^- y SO_4^{2-} lo fueron hasta $5,0 \text{ g L}^{-1}$. Respecto a los cationes, Na^+ y K^+ no interfirieron hasta una concentración de $7,5 \text{ g L}^{-1}$, Ca^{2+} hasta $5,0 \text{ g L}^{-1}$ y Mg^{2+} y Zn^{2+} hasta $2,0 \text{ g L}^{-1}$. Adicionalmente, se confirmó que las señales de blancos no se vieran significativamente afectadas por la presencia de las especies evaluadas.

3.4.9. Rendimiento analítico

Curvas de calibración externas para Te(IV) y Te(VI) fueron obtenidas tras la aplicación del método optimizado a una serie de soluciones estándar de concentración conocida de los analitos y las correspondientes determinaciones por ETAAS. Se observó un intervalo lineal desde concentraciones cercanas al LOQ hasta $6,2 \mu\text{g L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0,9987, para Te(IV) (Figura 3.4.12.a) y desde el LOQ correspondiente hasta aproximadamente $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$, con un R^2 de 0,9974, para Te(VI) (Fig. 3.4.12.b). Los límites de detección fueron de $1,1 \text{ ng L}^{-1}$ para Te(IV) y de $1,7 \text{ ng L}^{-1}$ para Te(VI), respectivamente, y fueron calculados de la misma manera que a lo largo de todo el presente trabajo de tesis: como tres veces la concentración correspondiente al desvío estándar de 5 réplicas de mediciones de los blancos correspondientes. Los límites de cuantificación, calculados como 10 veces la concentración correspondiente al desvío estándar de las mismas 5 réplicas de los blancos, fueron de $3,7 \text{ ng L}^{-1}$ y $5,7 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente, para Te(IV) y Te(VI). Los factores de refuerzo de la sensibilidad para las especies fueron de 87 y 55, respectivamente, y se obtuvieron a partir de la relación entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin la preconcentración. Como se puede observar, hubo un deterioro importante del factor de refuerzo de Te(VI) en relación al valor obtenido para Te(IV), probablemente por efecto de la alta carga salina resultante del proceso de pre-reducción y el posterior acondicionamiento de la muestra para la aplicación del método optimizado para Te(IV).

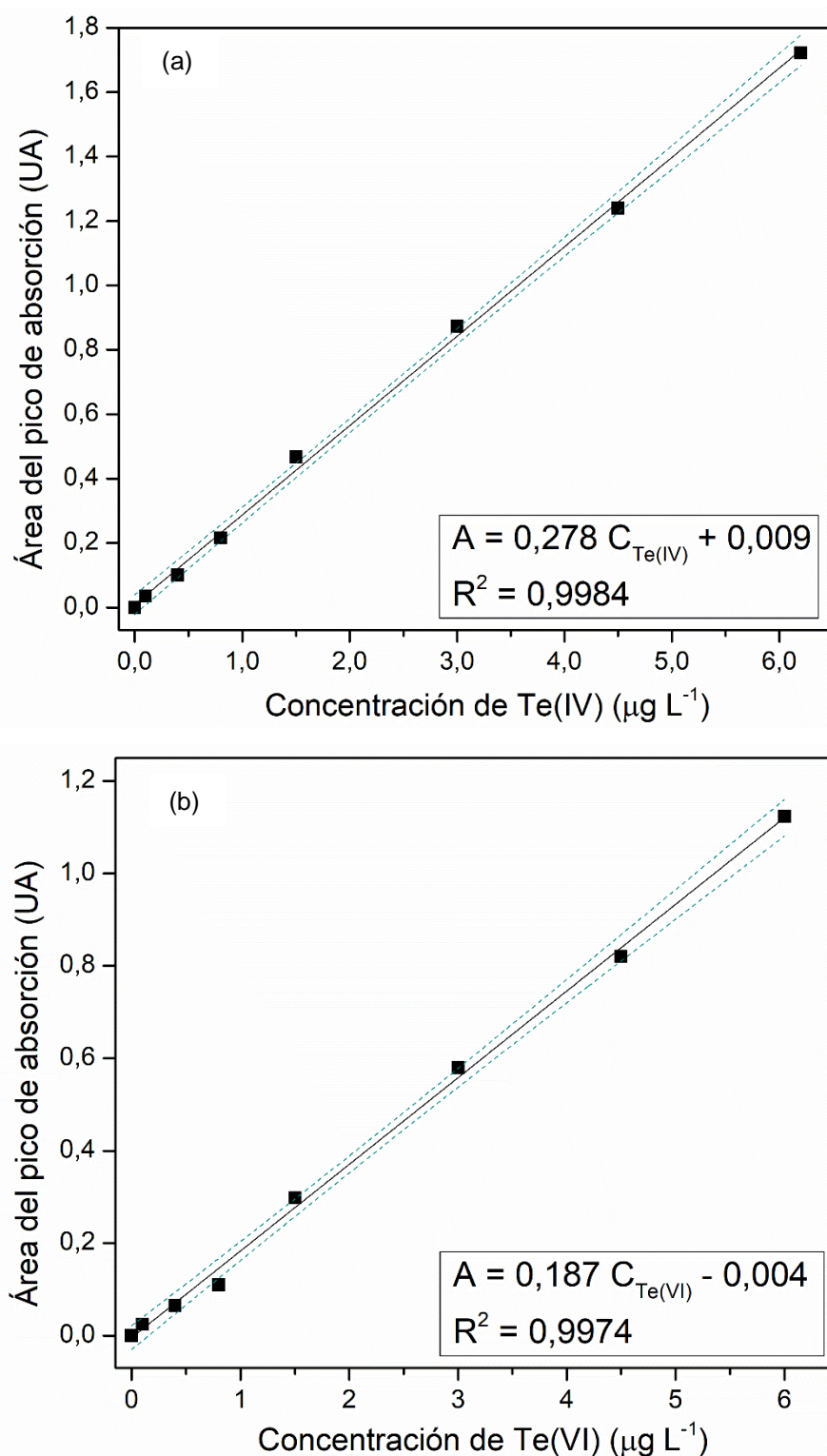


Fig. 3.4.12. Curvas de calibración para (a) Te(IV) y (b) Te(VI), obtenidas tras la aplicación del método IL-CPE-ETAAS optimizado. Las líneas punteadas representan los límites de los intervalos de confianza al 95% del ajuste lineal.

El factor de preconcentración no resultó fácil de calcular en este caso, debido a la dificultad de determinar con certeza el volumen exacto de la fase extractante tras la aplicación del método. Si se considera un volumen de 26,75 μL (25,5 μL de Triton X-

114 y 1,25 μL de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$) más los 50 μL de etanol como diluyente, el valor de este parámetro sería de 117. Los desvíos estándar relativos para 6 determinaciones llevadas a cabo en una misma sesión de experimentos fueron de 3,9% y 5,0% para Te(IV) y Te(VI) en concentraciones de 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, y de 2,0% y 3,4% a una concentración de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Estas determinaciones fueron repetidas en 5 días diferentes también, dando lugar a desvíos estándar relativos inter-día de 4,5% y 7,1% para las determinaciones a 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ y de 2,8% y 3,1% con las soluciones estándar de 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Un resumen de los parámetros derivados del ajuste lineal de las curvas de calibración, sumado a las cifras de mérito analítico más relevantes del método, se presenta en la Tabla 3.4.3.

Tabla 3.4.3. Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método IL-CPE-ETAAS desarrollado.

	Te(IV)	Te(VI)
Curva de calibración		
Pendiente	0,278 \pm 0,004	0,187 \pm 0,004
Ordenada	0,009 \pm 0,001	-0,004 \pm 0,001
R ²	0,9984	0,9974
Cifras de mérito analítico		
EF	87	55
LOD (ng L^{-1})	1,1	1,7
RSD (%)	3,9 (0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$)	5,0 (0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$)
	2,0 (1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)	3,4 (1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)

La frecuencia analítica (cantidad de muestras que se pueden tratar por unidad de tiempo) dependió fuertemente en esta etapa del trabajo de Tesis del equipamiento disponible en el laboratorio, ya que el método permite el tratamiento simultáneo de múltiples muestras. Si bien el proceso conlleva un paso de extracción IL-CPE de media hora a 80 °C, este se puede realizar sobre más de una muestra en forma simultánea, haciendo que la frecuencia analítica dependa, por ejemplo, de la capacidad del baño termostático usado o de la centrifuga con la que se lleva a cabo posteriormente la separación de fases. En el desarrollo aquí presentado, el cuello de botella fue el paso de centrifugación, ya que se contó con una centrifuga de 16 tubos de capacidad. El uso de esta dio lugar a una frecuencia de análisis de 32 muestras por hora.

Adicionalmente, y como se ha presentado para las etapas anteriores de la presente Tesis, las características analíticas del método desarrollado se evaluaron en

comparación con otros métodos de preconcentración de Te por LLE aplicados sobre muestras de interés ambiental. Las características más sobresalientes de estos métodos se encuentran detalladas en la Tabla 3.4.4. Como se puede observar, la aplicación del método desarrollado dio lugar a LODs por debajo de la mayoría de los reportados y al mismo nivel que un trabajo que involucra el uso de ICP-MS, una técnica instrumental intrínsecamente mejor en términos de LOD y sensibilidad que la ETAAS, pero que por otro lado presenta un costo notablemente mayor que esta. Adicionalmente, el trabajo aquí presentado es el único que ha sido aplicado a muestras de sedimentos, que son indicadores importantes de la presencia crónica de Te en aguas. Finalmente, el uso de solventes orgánicos peligrosos, tales como tolueno, CCl₄ y bromobenceno, utilizados en tres de los métodos reportados [15, 19, 20], fue evitado en el desarrollo aquí presentado, al igual que en la mayor parte de la presente Tesis. Esto significa una ventaja en términos de la reducción del impacto ambiental de su aplicación y en concordancia con los preceptos de la Química Verde.

3.4.10. Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de telurio en muestras ambientales

Los efectos de matriz causados por las muestras resultaron despreciables tras la aplicación del método IL-CPE desarrollado, tal como quedó demostrado por mediciones llevadas a cabo utilizando el método del agregado patrón sobre las muestras. Esto permitió la cuantificación de las especies de Te de forma directa a partir de las curvas de calibración externas presentadas y discutidas en detalle en la sección previa. Distintas muestras de origen ambiental con diversos niveles de complejidad de matriz fueron sometidas al método de preconcentración: aguas de canilla, río, mar y subterráneas, junto con tres lixiviados de suelo y tres de sedimentos, con los resultados presentados en la Tabla 3.4.5. Las concentraciones de Te(IV) y Te(VI) encontradas en estas fueron similares a las encontradas en las muestras analizadas con el método descrito en la Sección 3.3 de la presente Tesis y se encuentran también en concordancia con otros reportes [1, 19, 22]. Es importante aclarar a esta altura que la muestra de agua de mar analizada en esta Sección, proveniente de la ciudad de La Serena, en Coquimbo, Chile, no fue la misma que la analizada por el método M-D- μ -SPE-FI-HG-AFS presentado en la Sección 3.3 (proveniente de la ciudad de Viña del Mar, en Valparaíso, Chile), por lo que esos resultados no pudieron ser comparados de manera directa.

Tabla 3.4.4. Métodos analíticos reportados recientemente de preconcentración y análisis de especiación de Te con extracción líquido-líquido en muestras ambientales.

Método	Muestras	Extractante	Análisis de especiación	LOD (ng L ⁻¹)	Factor de refuerzo (EF)	RSD (%)	Volumen muestra (mL)	Ref.
DLLME-ETAAS	Agua de canilla, río, mar y desecho	CCl ₄	Sí	4	N.R.	3,6	5	[19]
DLLME-ETV-ICP-MS	Agua de consumo, río y subterránea	Bromobenceno + metanol	Sí	0,56	95	8,5	5	[20]
USAE-SFODME-ETAAS	Agua de canilla, río, mar y subterránea. Suelo estándar	Undecan-1-ol	No	3	342	3,4	14	[21]
HF-LPME-ETAAS	Agua de canilla, río, mar y desecho y suelos	Tolueno	Sí	4 (Te ^{IV}) 6 (Te ^{VI})	520	3,5	10	[15]
IL-CPE	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de río, suelos y sedimentos	Triton X-114 + [C ₈ mim]Cl	Sí	1,1 (Te ^{IV}) 1,7 (Te ^{VI})	87 (Te ^{IV}) 55 (Te ^{VI})	3,9 (Te ^{IV}) 5,0 (Te ^{VI})	10	Presente trabajo

N.R.: No reportado. ETV-ICP-MS: Espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo y vaporización electrotérmica; USAE-SFODME: microextracción por emulsificación y solidificación de gota orgánica asistida por ultrasonido.

Tabla 3.4.5. Resultados del análisis de especiación de Te en diversas muestras y estudios de recuperación (n = 3). Todas las concentraciones son en unidades de $\mu\text{g L}^{-1}$ para las muestras líquidas y de $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) para las muestras de suelos y sedimentos.

Muestra	Te adicionado		Te(IV) encontrado	Recup. (%) ^a	Te(VI) encontrado	Recup. (%) ^a
	($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	Te(IV)	Te(VI)				
Agua de canilla	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	$0,518 \pm 0,011$	104	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,489 \pm 0,008$	97,8
Agua de mar	-	-	$0,036 \pm 0,006$	-	$0,030 \pm 0,005$	-
	0,500	-	$0,512 \pm 0,011$	95,2	$0,028 \pm 0,005$	-
	-	0,500	$0,039 \pm 0,006$	-	$0,499 \pm 0,009$	93,8
Agua subterránea	-	-	< LOD	-	$0,011 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,504 \pm 0,010$	101	$0,010 \pm 0,002$	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,531 \pm 0,007$	104
Agua de río	-	-	$0,008 \pm 0,002$	-	$0,011 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,519 \pm 0,009$	102	$0,019 \pm 0,002$	-
	-	0,500	$0,009 \pm 0,002$	-	$0,498 \pm 0,008$	97,4
Suelo 1	-	-	$0,025 \pm 0,003$	-	$0,015 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,524 \pm 0,010$	99,8	$0,016 \pm 0,003$	-
	-	0,500	$0,022 \pm 0,003$	-	$0,513 \pm 0,012$	99,6
Suelo 2	-	-	< LOD	-	$0,011 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,495 \pm 0,010$	99,0	$0,012 \pm 0,003$	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,541 \pm 0,010$	106
Suelo 3	-	-	$0,019 \pm 0,002$	-	$0,014 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,499 \pm 0,009$	96,0	$0,014 \pm 0,002$	-
	-	0,500	$0,021 \pm 0,002$	-	$0,524 \pm 0,010$	102
Sedimento 1	-	-	$0,032 \pm 0,004$	-	$0,028 \pm 0,003$	-
	0,500	-	$0,532 \pm 0,010$	100	$0,025 \pm 0,003$	-
	-	0,500	$0,037 \pm 0,003$	-	$0,505 \pm 0,011$	95,4
Sedimento 2	-	-	$0,018 \pm 0,001$	-	$0,021 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,516 \pm 0,010$	99,6	$0,025 \pm 0,003$	-
	-	0,500	$0,016 \pm 0,003$	-	$0,526 \pm 0,010$	101
Sedimento 3	-	-	$0,016 \pm 0,004$	-	$0,007 \pm 0,002$	-
	0,500	-	$0,546 \pm 0,012$	106	$0,009 \pm 0,003$	-
	-	0,500	$0,016 \pm 0,003$	-	$0,507 \pm 0,009$	100

^a $100 \times [(\text{encontrado} - \text{inicial}) / \text{adicionado}]$

Adicionalmente, se realizaron estudios de recuperación sobre las muestras adicionadas con los analitos para evaluar la exactitud del método propuesto, ante la imposibilidad de contar con materiales de referencia certificados para especies de Te en las muestras de interés. Los resultados de los ensayos de recuperación se presentan también en la Tabla 3.4.5, junto con los resultados de las determinaciones en las muestras. Se obtuvieron recuperaciones en los rangos 95,2% - 106% y 93,8% y 106% para Te(IV) y Te(VI), respectivamente. Esto demuestra la potencialidad del método IL-CPE propuesto para el análisis de especiación de Te, incluso en matrices complejas como las aquí estudiadas.

3.4.11. Conclusiones

En esta etapa del trabajo de Tesis Doctoral, se desarrolló un método de preconcentración y separación de especies de Te basado en la aplicación de la técnica CPE con la novedosa inclusión de un IL. Se demostró que la adición de ILs tal como el [C₈mim]Cl al sistema extracción micelar puede mejorar significativamente la extracción de Te(IV). Este efecto fue exitosamente estudiado utilizando la sonda de polaridad Laurdan y se pudo determinar que el IL incrementó la capacidad extractiva del tensoactivo a través de una reducción significativa en la polaridad interna de las micelas. De esta manera, las observaciones realizadas en el presente trabajo permiten concluir que los ILs puede ser no sólo excelentes fases para la extracción de diversos tipos de analitos, sino que además pueden combinarse exitosamente con otros medios extractantes para reforzar su rendimiento.

En términos analíticos, la metodología desarrollada fue exitosamente aplicada para la determinación de Te(IV) y Te(VI) en muestras con diversas complejidades de matriz: aguas de canilla, río, subterránea y de mar, así como en lixiviados de suelos y sedimentos, lográndose excelentes recuperaciones en todos los ensayos de adición. El método propuesto puede ser considerado un protocolo eficiente y de bajo costo para el análisis de especiación de Te en muestras de relevancia ambiental, ya que representa una alternativa simple y rápida para el análisis de rutina. Adicionalmente, al igual que en el resto del trabajo de tesis, no se utilizaron sustancias potencialmente peligrosas, como por ejemplo solventes orgánicos volátiles, lo cual hace del método una alternativa amigable con el ambiente. El método desarrollado demostró tener excelentes características analíticas en términos de la capacidad de extracción y del límite de detección tras la optimización de todos los factores involucrados tanto en el proceso IL-CPE como en la determinación instrumental por ETAAS.

3.4.12. Bibliografía

- [1] Q. Tan, Y. Pan, L. Liu, S. Shu, Y. Liu, Determination of ultratrace tellurium in water by hydride generation atomic absorption spectrometry using online separation and pre-concentration with nano-TiO₂ microcolumn, *Microchemical Journal* 144 (2019) 495-499.
- [2] E. Nováková, J. Smolejová, T. Položijová-Resslerová, J. Hraníček, Increasing the sensitivity of electrochemical generation of volatile Te species, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 149 (2018) 294-299.
- [3] G. Yang, J. Zheng, K. Tagami, S. Uchida, Rapid and sensitive determination of tellurium in soil and plant samples by sector-field inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 116 (2013) 181-187.
- [4] L. Nyaba, N.R. Biata, J.C. Ngila, P.N. Nomngongo, Ultrasound assisted-ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration of inorganic tellurium in environmental water samples prior to inductively coupled plasma – Optical emission spectrometry detection, *Journal of Molecular Liquids* 231 (2017) 154-159.
- [5] M.A. Iturbide-Casas, G. Molina-Recio, F. Cámara-Martos, Manganese Preconcentration and Speciation in Bioaccessible Fraction of Enteral Nutrition Formulas by Cloud Point Extraction (CPE) and Atomic Absorption Spectroscopy, *Food Analytical Methods* 11(10) (2018) 2758-2766.
- [6] M. Aswathi, S. Mathai, S.C. Joseph, V.M. Biju, Room temperature ionic liquid, cetyl pyridinium naphthenate, supported cloud point extractive separation and ultra trace determination of copper in blood and environmental samples, *Separation Science and Technology* 52(16) (2017) 2540-2546.
- [7] V.S. Souza, L.S.G. Teixeira, M.A. Bezerra, Application of multivariate designs in the development of a method for vanadium determination in natural waters by HR-CS GF AAS after cloud-point extraction, *Microchemical Journal* 129 (2016) 318-324.
- [8] J. Nawala, B. Dawidziuk, D. Dziedzic, D. Gordon, S. Popiel, Applications of ionic liquids in analytical chemistry with a particular emphasis on their use in solid-phase microextraction, *TrAC-Trends in Analytical Chemistry* 105 (2018) 18-36.
- [9] E.M. Martinis, A.C. Grijalba, M.B. Pérez, M. Llaver, R.G. Wuilloud, Synergistic analytical preconcentration with ionic liquid–nanomaterial hybrids, *TrAC-Trends in Analytical Chemistry* 97 (2017) 333-344.
- [10] D.R. Bhatt, K.C. Maheria, J.K. Parikh, Determination of thermodynamics and design parameters for ionic liquid-induced cloud point extraction of Coralene red dye, *International Journal of Environmental Science and Technology* 13(2) (2016) 589-598.

[11] K. Naeemullah, T.G. Kazi, H.I. Afridi, F. Shah, S.S. Arain, A.H. Panhwar, S.A. Arain, M.B. Arain, Development of green miniaturized dispersive ionic liquid nano-emulsion method for preconcentration of cadmium from canal and waste water samples prior to coupling with graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Analytical Methods* 6(17) (2014) 6909-6915.

[12] C. Zeng, X. Xu, N. Zhou, Y. Lin, Synergistic enhancement effect of room temperature ionic liquids for cloud point extraction combined with UV-vis spectrophotometric determination nickel in environmental samples, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 94 (2012) 48-52.

[13] T. Parasassi, G. De Stasio, G. Ravagnan, R.M. Rusch, E. Gratton, Quantitation of lipid phases in phospholipid vesicles by the generalized polarization of Laurdan fluorescence, *Biophysical Journal* 60(1) (1991) 179-189.

[14] K. Thakkar, V. Patel, D. Ray, H. Pal, V.K. Aswal, P. Bahadur, Interaction of imidazolium based ionic liquids with Triton X-100 micelles: investigating the role of the counter ion and chain length, *RSC Advances* 6(43) (2016) 36314-36326.

[15] 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(1) (2010) 491-496.

[16] E. Ritter, R. Racheva, S. Storm, S. Müller, T. Ingram, I. Smirnova, Influence of Inorganic Salts on the Phase Equilibrium of Triton X-114 Aqueous Two-Phase Systems, *Journal of Chemical Engineering Data* 61(4) (2016) 1496-1501.

[17] K.S. Subramanian, J.C. Méranger, Stability of tetramethylenedithiocarbamate chelates in the 4-methylpentan-2-one phase after extraction from an aqueous phase, *Analyst* 105(1251) (1980) 620-624.

[18] S.A. Sanchez, A. Tricerri, G. Gunther, E. Gratton, Laurdan Generalized Polarization: from cuvette to microscope, en: J.D. A. Méndez-Vilas (Ed.), *Modern research and educational topics in microscopy*, Formatex, Badajoz, Spain, 2007.

[19] N.M. Najafi, H. Tavakoli, R. Alizadeh, S. Seidi, Speciation and determination of ultra trace amounts of inorganic tellurium in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 670(1) (2010) 18-23.

[20] Y. Liu, M. He, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 142 (2015) 213-220.

[21] F. Fathirad, D. Afzali, A. Mostafavi, M. Ghanbarian, Ultrasound-assisted emulsification solidified floating organic drops microextraction of ultra trace amount of Te (IV) prior to graphite furnace atomic absorption spectrometry determination, *Talanta* 88 (2012) 759-764.

[22] N. Belzile, Y.W. Chen, Tellurium in the environment: A critical review focused on natural waters, soils, sediments and airborne particles, *Applied Geochemistry* 63 (2015) 83-92.

3.5. MICROEXTRACCIÓN POR FORMACIÓN *IN SITU* DE UN LÍQUIDO IÓNICO PARA LA PRECONCENTRACIÓN Y ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN SIMULTÁNEOS DE SELENIO Y TELURIO EN LÍNEA

3.5.1. Introducción

Los análisis de especiación de Se y Te son de vital importancia, ya que sus reactividades, biodisponibilidades y toxicidades dependen fuertemente del estado químico en el que se encuentran en los diversos compartimentos ambientales [1, 2]. Además, dado que las propiedades químicas de los dos elementos son similares, la determinación de ambos de forma simultánea es deseable, ya que suelen encontrarse juntos. Sin embargo, debido a las bajas concentraciones en las que suelen estar presentes en la mayoría de las muestras ambientales, la necesidad de técnicas de alta sensibilidad y bajo límite de detección se vuelve crítica [3, 4].

La cuantificación simultánea de los dos elementos de interés de la presente Tesis se ha llevado a cabo con anterioridad utilizando diversas técnicas analíticas, tales como HG-AFS [5], espectrofotometría UV-Vis asistida por técnicas quimiométricas [6] e ICP-MS [7]. Sin embargo, tal como ha sido anticipado en secciones anteriores del presente capítulo, sus bajas concentraciones y la complejidad de algunas matrices naturales se traducen en dificultades severas para la determinación precisa de estos elementos de manera directa [8]. Los métodos de preconcentración surgen entonces como variantes para superar estas dificultades, ya que no solo dan lugar a incrementos en la concentración de los analitos, sino que también permiten la eliminación (al menos parcial) de la matriz, reduciendo considerablemente los efectos interferentes producidos por esta en la determinación instrumental [8]. El desarrollo de métodos de preconcentración para la determinación simultánea de ultra trazas de Se y Te es un desafío que no había sido ampliamente resuelto al momento de la realización de la presente Tesis, encontrándose apenas un puñado de reportes utilizando distintas

técnicas de extracción y detectores, incluyendo HF-LPME con ETAAS [9] y tanto SPE clásica como MSPE con detección por ICP-MS [10, 11].

Los ILs han sido el hilo conductor de esta Tesis debido a sus características particulares, que los hacen ideales para aplicaciones analíticas: i) alta flexibilidad para lograr propiedades fisicoquímicas “a medida”, ii) presión de vapor despreciable y iii) capacidad de interactuar con diversos analitos vía interacciones iónicas, no polares o incluso específicas para un dado elemento [12]. La mayoría de las aplicaciones de los ILs en química analítica han involucrado su uso como solventes en microextracciones dispersivas. Estas se basan en la dispersión de unos pocos microlitros de IL en una muestra líquida para lograr un contacto íntimo entre fases, lo cual facilita y acelera la transferencia de masa de los analitos, derivando así en extracciones de alta eficiencia. Sin embargo, una de las desventajas principales de esta familia de técnicas es la necesidad de utilizar un segundo solvente dispersante, que suele ser un compuesto orgánico, volátil y tóxico [13].

Teniendo presentes dichos aspectos, existen modificaciones de la técnica de microextracción dispersiva más clásica, la DLLME, que hacen uso de las propiedades de ciertos ILs para evitar el uso de solventes dispersantes. Entre ellas, la microextracción por formación *in situ* de IL (IL-ISFME) promueve la formación de un IL hidrofóbico altamente dispersado a través de una reacción de intercambio iónico directamente en el seno de la muestra líquida, favoreciendo así la transferencia de analitos no polares hacia la fase hidrófoba emergente [14]. Esta técnica posee diversas ventajas, tales como una elevada robustez en medios altamente salinos, gran simplicidad y, sobre todo, extrema rapidez del proceso de extracción [15]. Además, la posibilidad de desarrollar la técnica en línea plantea como ventaja adicional la reducción del consumo de reactivos y la manipulación de muestras, sumado a la eliminación de pasos que suelen demandar un tiempo significativo, tales como la mezcla de fases con agitadores mecánicos y las separaciones por centrifugación o decantación.

En esta etapa del trabajo de Tesis, se presenta el desarrollo de un método basado en la técnica IL-ISFME en línea para la preconcentración y análisis de especiación simultáneos de Se y Te. Cabe destacar que, al momento de ser desarrollado y publicado, el método propuesto representó la primera aplicación de la técnica IL-ISFME para la determinación de ambos elementos, más aún de manera simultánea y en línea. La técnica IL-ISFME se desarrolló por completo en un sistema de análisis en flujo incluyéndose todas las etapas, es decir, la formación, separación e inyección de la fase extractante, las cuales se realizaron en línea utilizando una micro

columna acoplada a la detección por HG-AFS. La optimización de los parámetros asociados a estos procesos dio lugar a una extracción eficiente, selectiva y sensible. El método desarrollado fue preciso, rápido y robusto, tal como demuestra su aplicación sobre muestras con matrices complejas tales como aguas de río y mar y lixiviados de suelos y sedimentos. Un resumen esquemático del trabajo presentado en este capítulo se encuentra representado en la Figura 3.5.1.

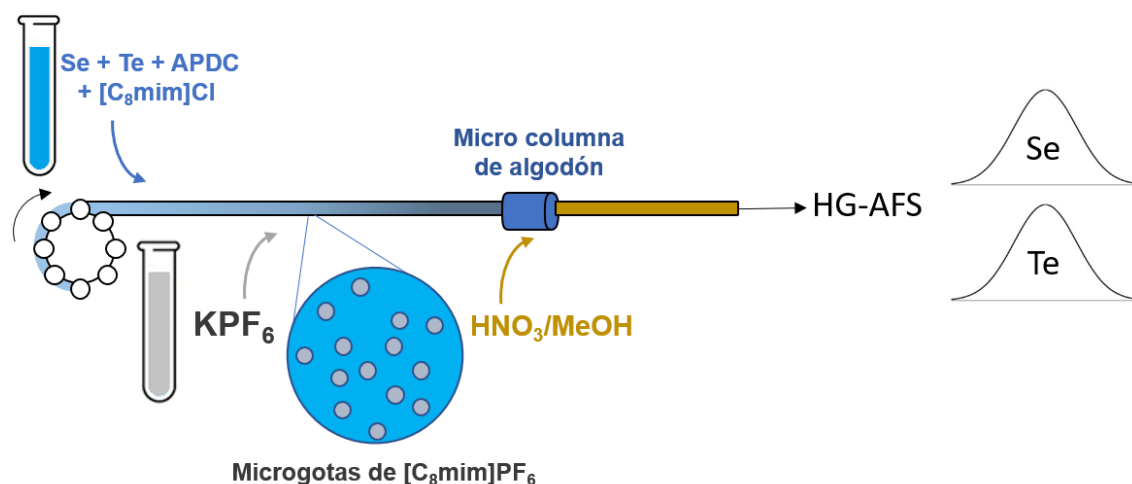


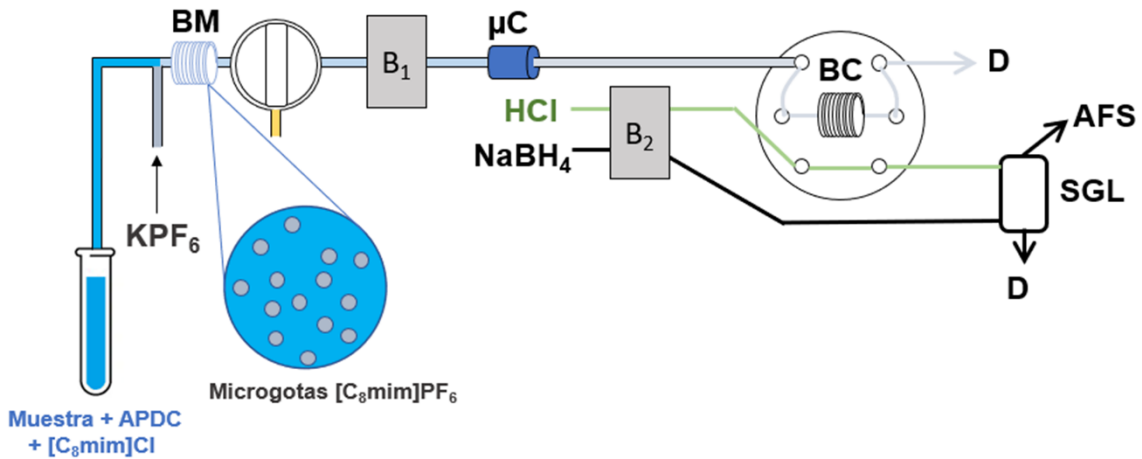
Fig. 3.5.1. Resumen esquemático del desarrollo experimental de la Sección 3.5.

3.5.2. Procedimiento general de microextracción y preconcentración

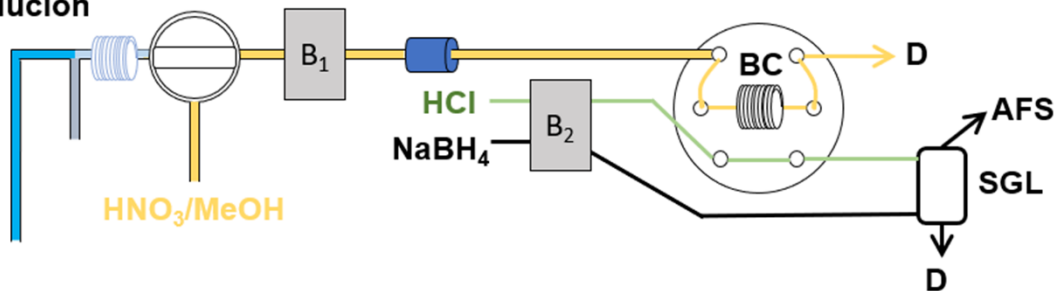
Un volumen de 15 mL de muestra de agua, solución de lixiviado -en el caso de muestras de suelos y sedimentos- o de solución estándar con $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV) y Te(IV) -durante los estudios de optimización del método-, fueron inicialmente ajustados a $\text{pH} = 4,0$ utilizando un buffer de ácido cítrico/citrato, para la determinación de Te(IV) y Se(IV). La muestra ajustada fue mezclada con 250 μL de solución etanólica de APDC al 1,0% (p/v) y 500 μL de solución acuosa al 5,0% (p/v) del IL $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$. La mezcla resultante fue propulsada a $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ hacia el sistema de inyección en flujo mediante una bomba peristáltica y mezclada con una solución saturada de KPF_6 , bombeada a $0,30 \text{ mL min}^{-1}$, para dar lugar a la formación en flujo del IL hidrofóbico $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ en un bucle de mezclado de 1,0 m de largo y con un diámetro interno de 0,50 mm. Los caudales fueron controlados ajustando la velocidad de las bombas peristálticas tras su calibración (esto es, la determinación de la relación entre la velocidad de rotación de la bomba y la velocidad de flujo resultante en mL min^{-1}) para las diversas mangueras de Tygon[®] utilizadas. La mezcla resultante atravesó luego una micro columna de vidrio (2,6

cm de largo x 2,5 mm de diámetro interno) rellena con algodón, para la retención de la fase $[C_8mim]PF_6$ que contenía los analitos complejados (etapa “preconcentración” en la Figura 3.5.2). Esta última fue construida rellendo con algodón comercial una micro columna de vidrio borosilicato con las dimensiones mencionadas y luego ajustando en sus extremos adaptadores de Tygon®, que fueron a la vez conectados con los micro canales de Teflon que componían el sistema de flujo.

1) Preconcentración



2) Elución



3) Medición

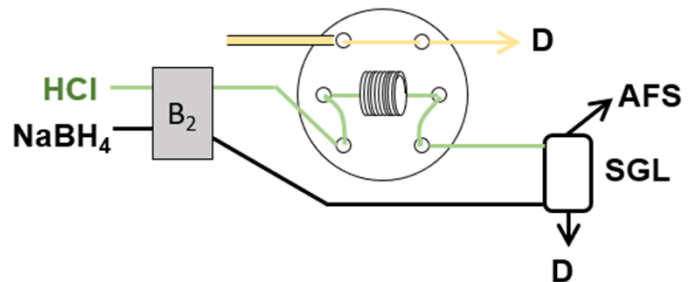


Fig. 3.5.2. Representación esquemática del sistema IL-ISFME-HG-AFS en flujo para la determinación de Se y Te. BM: bucle de mezcla, B: bomba, μC : micro columna, BC: bucle de carga para inyección, D: desecho, SGL: separador gas-líquido, AFS: espectrómetro de fluorescencia atómica.

Subsecuentemente, la elución de los analitos fue llevada a cabo por el bombeo de 250 μL de una solución de HNO_3 5,0 mol L^{-1} en metanol (con un 10% de agua proveniente del ácido concentrado) a través de la micro columna, con una caudal de 0,20 mL min^{-1} . Luego de atravesar la columna, el eluato fue directamente cargado en el bucle de carga del sistema de generación de hidruros por inyección en flujo modificado (etapa “elución” en la Figura 3.5.2) para la determinación de Se y Te por HG-AFS (etapa “medición” en la Figura 3.5.2). Finalmente, el sistema de enjuagó en tres pasos previo al siguiente ciclo de preconcentración utilizando metanol, agua y solución acuosa tamponada con el buffer ácido cítrico/citrato.

El sistema de inyección en flujo utilizado en esta etapa del trabajo para las determinaciones por HG-AFS con volumen reducido fue similar al utilizado en la Sección 3.3 del presente Capítulo (descrito en detalle en la Sección 2.2.2.1). Sin embargo, la principal diferencia se encontró en la capacidad del bucle de carga, que en este caso fue de 210 μL para adaptarse mejor a los 250 μL de eluyente utilizados. Las condiciones detalladas de todo el proceso se pueden observar en la Tabla 3.5.1 y una representación esquemática del sistema en flujo y de su uso se presentan en la Figura 3.5.2.

Como la retención de Se y Te en la fase hidrofóbica generada *in situ* en la matriz acuosa de la muestra se basó en la formación selectiva de complejos de APDC de las especies Se(IV) y Te(IV), el análisis de especiación consistió en someter a una segunda alícuota de muestra a una pre reducción, cuyo desarrollo detallado se presentó en la Sección 2.3.4. De esta manera, el análisis de esta alícuota por el método optimizado permitió la determinación de las concentraciones de Se y Te inorgánicos totales, a partir de las cuales se pudieron calcular las concentraciones de Se(VI) y Te(VI) por diferencia con las concentraciones de Se(IV) y Te(IV).

3.5.3. Optimización de las condiciones de extracción y selectividad

En concordancia con el desarrollo de las etapas previas de esta Tesis, se optimizaron las diferentes variables involucradas en los procesos de extracción, elución y medición, con el objetivo de maximizar la eficiencia del proceso. Si bien diversos parámetros pudieron ser optimizados independientemente, los aspectos relacionados con la aplicación en línea del proceso, como por ejemplo el caudal de las soluciones y las dimensiones de la micro columna, se encontraban fuertemente interrelacionados.

Tabla 3.5.1. Condiciones experimentales e instrumentales óptimas del método IL-ISFME-HG-AFS desarrollado para la determinación de especies de Se y Te.

<i>Condiciones instrumentales de AFS</i>	
Longitudes de onda	196,0 nm (Se), 214,3 nm (Te)
Modo de medición	Altura de pico
Corrientes primarias de lámparas	15 mA
Corrientes adicionales de lámparas (<i>boost currents</i>)	0
Voltaje del fotomultiplicador	300 V
<i>Condiciones de generación de hidruros en línea</i>	
Volumen del bucle de inyección	210 μL
Solución transportadora	HCl 6,0 mol L ⁻¹
Caudal de la solución transportadora	3,0 mL min ⁻¹
Solución reductora	NaBH ₄ 0,80% (p/v)
Caudal de la solución reductora	4,0 mL min ⁻¹
Gas transportador y caudal	Ar, 60 mL min ⁻¹
<i>Condiciones de generación de H₂ suplementario</i>	
Concentración de HCl	3,0 mol L ⁻¹
Caudal de la solución de HCl	10 mL min ⁻¹
Concentración de NaBH ₄	1,0% (p/v)
Caudal de la solución de NaBH ₄	10 mL min ⁻¹
Gas transportador y caudal	Ar, 200 mL min ⁻¹
<i>Condiciones óptimas de la IL-ISFME</i>	
pH de extracción	4,0
Volumen de muestra	15 mL
Concentración de APDC	6,1 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹
Masa de [C ₈ mim]Cl	25 μg
Masa de KPF ₆	84 mg
Longitud del bucle de mezcla	1,0 m
Caudal de la muestra	4,5 mL min ⁻¹
Dimensiones de la columna	2,6 cm x 2,5 mm
Relleno de la columna	Algodón
Eluyente	HNO ₃ 5 mol L ⁻¹ en metanol
Volumen del eluyente	250 μL
Caudal del eluyente	0,20 mL min ⁻¹

En consecuencia, estos fueron evaluados simultáneamente para evitar la omisión de cualquier interacción cruzada que pudiera existir entre ellos.

Los estudios presentados en las secciones 3.5.3.1 y 3.5.3.2 se realizaron en modo *batch*, en tubos de centrífuga de vidrio sin utilizar el sistema de flujo, y la eficiencia de las condiciones determinadas como óptimas en estos fue confirmada en los experimentos en línea que se desarrollaron posteriormente. Los parámetros estudiados desde la Sección 3.5.3.3 en adelante se evaluaron en línea, utilizando el sistema esquematizado en la Figura 3.5.2. Un resumen de todos los resultados se presenta en la Tabla 3.5.1.

3.5.3.1. Elección del líquido iónico y su concentración

La selección del IL para la extracción y análisis de especiación simultáneas de Se y Te se realizó considerando de tres factores:

1. La capacidad de extracción de los analitos.
2. La capacidad de ser retenido por una micro columna y subsecuentemente eluido de la misma.
3. Su comportamiento durante la reacción de generación de hidruros previo a las mediciones por AFS.

En este estudio se evaluaron cuatro ILs solubles en agua de la familia de los imidazolios, con Cl^- y Br^- como contraiones, para la formación de ILs insolubles tras una reacción de metátesis con PF_6^- : $[\text{C}_4\text{mim}]\text{Cl}$, $[\text{C}_6\text{mim}]\text{Cl}$, $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ y $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{Br}$. Dado que el extractante en sí no era el IL soluble en agua, sino el IL insoluble de PF_6^- formado, el efecto del anión presente en el IL de partida pudo considerarse como despreciable.

Distintas cantidades de cada IL y de KPF_6 -manteniendo en esta primera instancia una relación molar constante entre ambos- fueron ensayadas. Los resultados en términos de las eficiencias de extracción de Se y de Te se presentan en la Tabla 3.5.2. Como se puede observar, no se presentan resultados para los ILs que contenían a los cationes $[\text{C}_4\text{mim}]^+$ o $[\text{C}_{12}\text{mim}]^+$. Esto se debe a inconvenientes prácticos que surgieron como consecuencia de su uso. Por ejemplo, se observó una solubilización significativa del IL $[\text{C}_4\text{mim}]\text{PF}_6$ en agua, por lo que la extracción fue deficiente y la separación de fases no tuvo lugar. Mientras tanto, por otro lado, el $[\text{C}_{12}\text{mim}]\text{PF}_6$ resultó

ser sólido a temperatura ambiente y bajo las condiciones de trabajo. Esto último resultaba beneficioso en términos de su separación desde la muestra, facilitándola enormemente, pero representaba un inconveniente para las determinaciones por HG-AFS, ya que su presencia generaba una cantidad excesiva de espuma durante la generación de hidruros, rebalsando el separador gas-líquido y contaminando las tuberías del sistema generador. Como se muestra en la Tabla 3.5.2, tanto $[\text{C}_6\text{mim}]\text{PF}_6$ como $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ resultaron ser efectivos para la extracción del complejo Se(IV)-APDC , pero el último resultó ser más eficiente para Te(IV)-APDC . Esto se debió probablemente a la mayor hidrofobicidad del $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ por sobre el $[\text{C}_6\text{mim}]\text{PF}_6$, como consecuencia del mayor tamaño de su cadena alquílica. Por esto, el $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ fue seleccionado como el IL óptimo para la reacción de metátesis responsable de la extracción de los analitos.

Tabla 3.5.2. Efecto de distintas combinaciones de IL y KPF_6 sobre las extracciones de Se(IV) y Te(IV) complejados con APDC, tras su extracción por IL-ISFME y determinación por HG-AFS ($n = 3$).

IL	Masa IL (μg)	Masa KPF_6 (mg)	Extracción Se(IV) (%)	Extracción Te(IV) (%)
$[\text{C}_6\text{mim}]\text{Cl}$	25	42	94 ± 4	74 ± 4
$[\text{C}_6\text{mim}]\text{Cl}$	50	84	100 ± 5	70 ± 4
$[\text{C}_6\text{mim}]\text{Cl}$	100	168	97 ± 4	70 ± 5
$[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$	25	42	100 ± 5	99 ± 4
$[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$	50	84	93 ± 5	98 ± 4
$[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$	100	168	106 ± 7	98 ± 5

Una vez seleccionado el $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ como el mejor extractante, se evaluaron distintas relaciones molares de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ y KPF_6 con el objetivo de encontrar una condición óptima para la formación de la fase hidrófoba y la extracción de los analitos. Los resultados se pueden observar en la Tabla 3.5.3. Estos se presentan como función de la señal analítica (la intensidad de fluorescencia del máximo del pico de AFS), ya que se observó que la sensibilidad del instrumento HG-AFS dependía fuertemente de la concentración de ambos reactivos. Los casos que no presentan señal alguna representan combinaciones que no dieron lugar a la formación de la fase extractante. Tal como muestra la tabla, el uso de 25 μg de IL y de 336 mg de KPF_6 arrojó la máxima señal posible. Sin embargo, a los efectos de reducir el consumo de reactivos, se decidió utilizar 25 μg de IL y de 84 mg de KPF_6 en los experimentos subsiguientes, ya que esta

combinación no significaba una reducción considerable en la capacidad de extracción del sistema, pero disminuía el consumo de KPF_6 en un 75%.

Tabla 3.5.3. Efecto de distintas combinaciones de cantidades de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ y KPF_6 sobre las señales analíticas de $\text{Se}(\text{IV})$ y $\text{Te}(\text{IV})$ tras su extracción por IL-ISFME y determinación por FI-HG-AFS ($n = 3$).

Masa $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ (μg)	Masa KPF_6 (mg)	Respuesta relativa $\text{Se}(\text{IV})$ (%)	Respuesta relativa $\text{Te}(\text{IV})$ (%)
25	42	93 ± 4	85 ± 4
25	84	97 ± 4	92 ± 5
25	168	97 ± 4	91 ± 5
25	336	100 ± 5	100 ± 5
50	42	0	0
50	84	83 ± 5	65 ± 4
50	168	89 ± 5	80 ± 5
50	336	87 ± 3	100 ± 5
100	84	0	0
100	168	96 ± 5	98 ± 6
100	336	93 ± 4	90 ± 5
100	504	97 ± 7	84 ± 4

3.5.3.2. Efectos del pH y de la concentración de agente complejante

El pH fue también un factor importante en esta parte del trabajo, especialmente para asegurar la formación óptima de los complejos no polares de $\text{Se}(\text{IV})$ y $\text{Te}(\text{IV})$, asegurando una extracción eficiente y una selectividad adecuada para el análisis de especiación. En función de los resultados presentados en las secciones previas de este capítulo respecto a la identidad del agente complejante, que evidenciaron la superioridad del APDC como quelante para estas especies por sobre otros reactivos ensayados, se decidió trabajar nuevamente con este reactivo para el desarrollo del método propuesto basado en la técnica IL-ISFME. En la Figura 3.5.3 se pueden observar los resultados de los experimentos de extracción de $\text{Se}(\text{IV})$ y $\text{Te}(\text{IV})$ en función del pH y en presencia de APDC $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Estos demostraron que el pH ideal para la extracción de ambos era de 4,0, en coincidencia con el valor reportado

usualmente como óptimo para la formación de los complejos de APDC de ambas especies y con los resultados presentados en las secciones 3.2 y 3.4 [9]. Esto demostró que, tal como se esperaba, la formación de los complejos resultaba ser el factor que más fuertemente depende del pH del medio de extracción. Adicionalmente a su alta eficiencia, la extracción de Se(IV) y Te(IV) resultó ser extremadamente selectiva, ya que las especies Se(VI) y Te(VI) no fueron extraídas en todo el rango de pH estudiado.

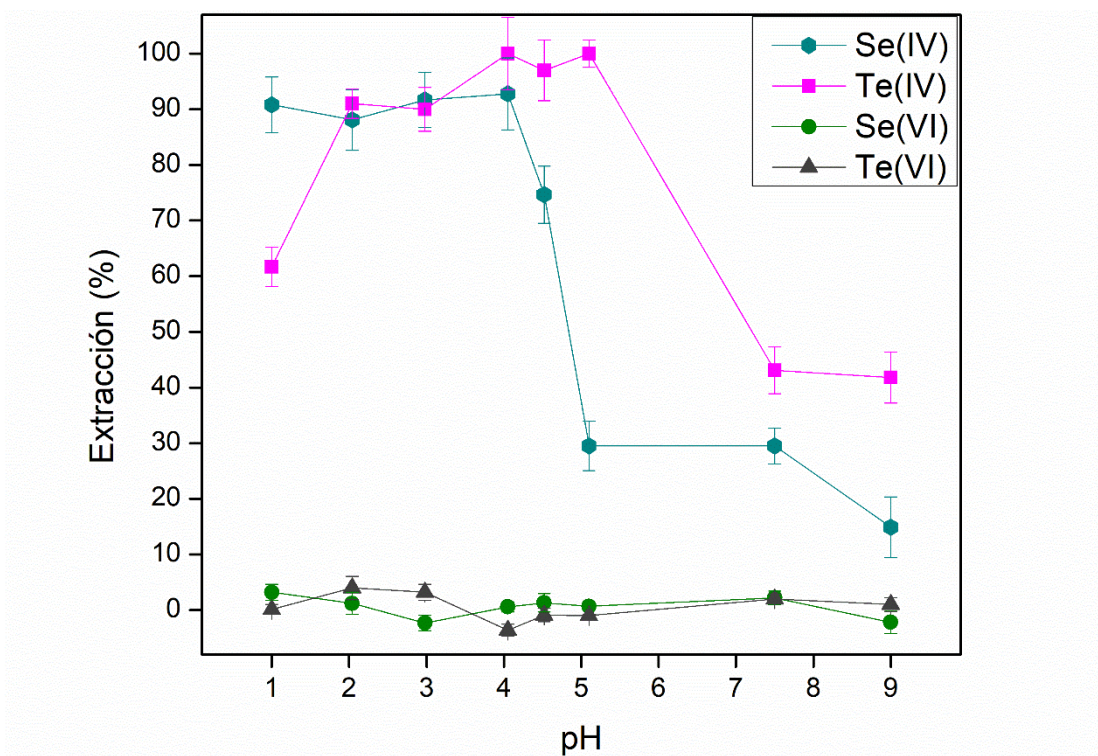


Fig. 3.5.3. Efecto del pH sobre la extracción de las especies de Se y Te. La concentración de los elementos en todos los experimentos fue de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Una vez que el IL y el pH óptimos para la extracción fueron establecidos, se estudió la concentración de APDC para la extracción desde $5,0 \text{ mL}$ de muestra con $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada uno de los analitos, es decir, un valor de concentración muy por encima de lo esperado en muestras de origen natural. Adicionalmente, la optimización de la concentración de APDC fue crítica por el hecho de que, si bien la presencia de un exceso del reactivo complejante no influía en la extracción de las especies, esta sí ocasionaba efectos negativos sobre las señales de fluorescencia obtenidas al momento de la determinación instrumental. Como se puede observar en la Figura 3.5.4, donde se muestran los resultados de estos ensayos, una concentración final de APDC de $6,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ fue la mínima suficiente para extraer la totalidad de Se(IV) y de Te(IV). Es interesante también observar que la especie Te(IV) fue completamente extraída a

concentraciones de APDC menores que las necesarias para la extracción total de la especie Se(IV). Esto se encuentra en concordancia con las observaciones realizadas en las secciones anteriores respecto a la estabilidad de estos complejos, discutidas en la Sección 3.4.4.1.

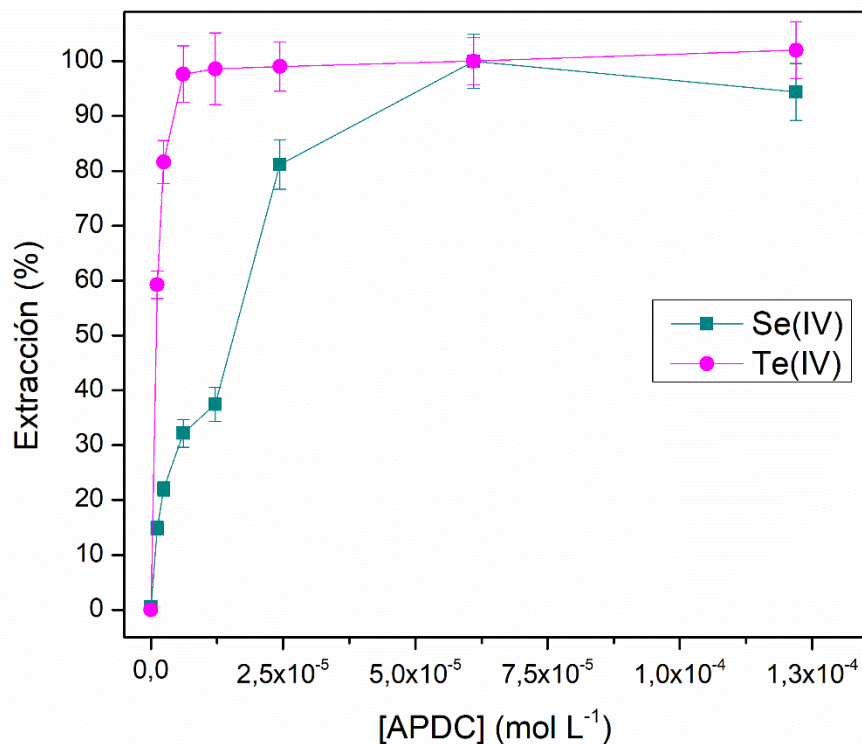


Fig. 3.5.4. Eficiencia de extracción de Se(IV) y Te(IV) en función de la concentración de APDC. La concentración de ambas especies fue de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

3.5.3.3. Condiciones del sistema en flujo

La determinación de un volumen de muestra adecuado es fundamental para alcanzar los mayores rendimientos en los métodos de preconcentración, ya que de él dependen fuertemente los factores de preconcentración y de refuerzo de la sensibilidad. En el método IL-ISFME propuesto, volúmenes de muestra de entre 5,0 y 50 mL fueron ensayados para evaluar el efecto de este parámetro sobre la extracción de Se(IV) y Te(IV). Tal como se puede observar en la Figura 3.5.5, la mayor extracción para ambas especies fue obtenida con volúmenes de entre 5,0 y 15 mL, con una subsecuente disminución para volúmenes desde 20 mL en adelante. Consecuentemente, se decidió trabajar con 15 mL de muestra durante las etapas siguientes de desarrollo del método. Como se mencionó previamente, tanto estos ensayos como todos los presentados de

este punto en adelante se llevaron a cabo en el sistema en flujo esquematizado en la Figura 3.5.2.

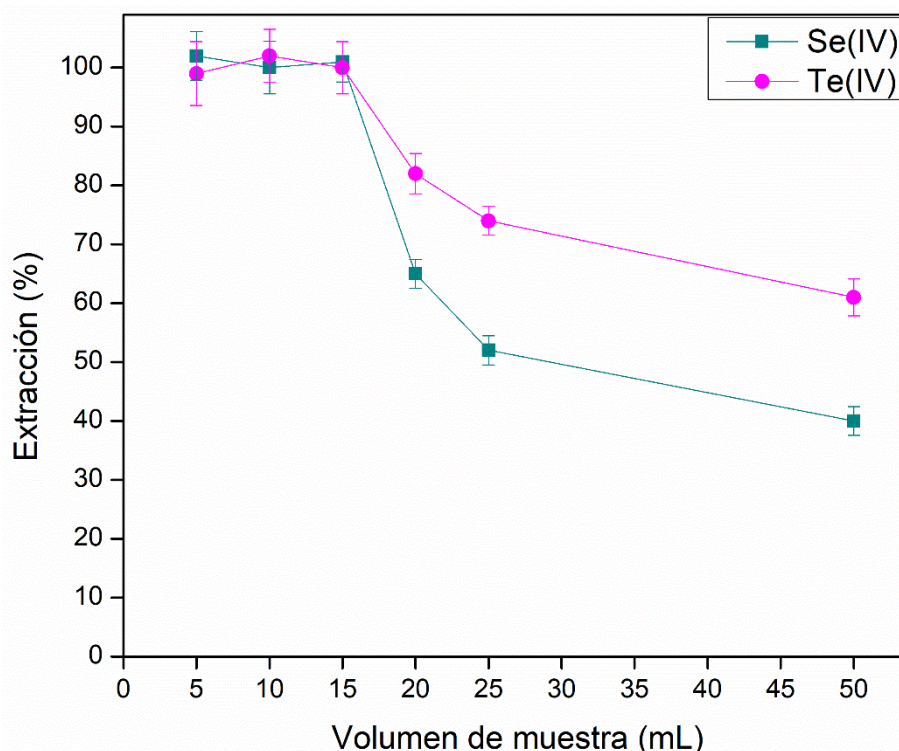


Fig. 3.5.5. Efecto del volumen de muestra sobre la extracción de Se(IV) y Te(IV) complejados con APDC por IL-ISFME en línea. La masa de ambos analitos fue de 0,25 μg en todos los casos. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

Lo caudales aplicados para el mezclado de la muestra con la solución saturada de KPF_6 debieron también ser cuidadosamente optimizados para lograr tanto la formación eficiente del IL hidrofóbico como la extracción de los analitos. Estos parámetros fueron evaluados simultáneamente con columnas de distintas características, ya que sus efectos no son independientes entre ellos. Por ejemplo, columnas más cortas dan lugar a la aplicación de caudales mayores, pero la retención de la fase extractante y los analitos puede verse afectada. En consecuencia, distintas combinaciones de caudal de muestra, longitud de la columna y materiales de relleno de la misma fueron evaluados.

Sorbentes clásicos como la resina polimérica Amberlite™ XAD-16 o Florisil® (silicato de magnesio activado) fueron considerados, junto con materiales comunes como algodón y lana de vidrio. Los resultados de las combinaciones evaluadas pueden observarse en la Tabla 3.5.4. El diámetro interno de las columnas fue de 2,5 mm, mientras que el bucle de mezcla tenía 1,0 m de longitud y 0,5 mm de diámetro interno

en todos los experimentos. Esta longitud del bucle de mezcla permitió un mezclado de las fases eficiente y la rápida extracción de los analitos en la fase IL hidrofóbica dispersa, requiriéndose no más de 20 s para que la mezcla lo recorriera en su totalidad. Debido a la alta eficiencia de mezclado en tan corto tiempo, no se consideró necesario optimizar este parámetro.

Tabla 3.5.4. Eficiencias de extracción de Se(IV) y Te(IV) obtenidas con distintas combinaciones de caudal de muestra, largo de columna y relleno de la misma. Todos los experimentos fueron realizados con 15 mL de solución de concentración $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de ambos analitos.

Caudal muestra (mL min^{-1})	Largo columna (cm)	Relleno columna	Extracción Se(IV) (%)	Extracción Te(IV) (%)
3,0	1,5	Florisil®	62 ± 5	85 ± 5
3,0	1,5	Algodón	65 ± 4	90 ± 6
3,0	2,6	Florisil®	101 ± 6	97 ± 5
3,0	2,6	Algodón	99 ± 4	96 ± 5
4,5	1,5	Florisil®	55 ± 6	74 ± 4
4,5	1,5	Algodón	50 ± 4	70 ± 5
4,5	2,6	Florisil®	103 ± 6	102 ± 5
4,5	2,6	XAD-16™	15 ± 3	20 ± 3
4,5	2,6	Algodón	99 ± 5	105 ± 6
4,5	2,6	Lana de vidrio	87 ± 5	90 ± 4
6,0	1,5	Florisil®	30 ± 4	36 ± 3
6,0	1,5	Algodón	45 ± 5	53 ± 4

En la Tabla 3.5.4 se observa que, entre las mejores condiciones para lograr la mayor extracción y retención de los analitos en la columna sin comprometer la simplicidad del sistema, se encontraban un caudal de muestra de $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ y una columna de 2,6 cm de longitud rellena con algodón. Caudales de muestra de hasta $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ pudieron ser utilizadas sin pérdida alguna en la capacidad de extracción de los analitos o en la retención del $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ en la columna rellena con algodón, mientras que caudales mayores a este resultaron en una extracción incompleta de los analitos. En cuanto a los materiales de relleno de la columna, tanto el Florisil® como el algodón resultaron ser igualmente efectivos para retener la fase extractante, mientras que la lana de vidrio fue menos eficiente y la resina XAD-16™ no fue útil para retener al IL hidrofóbico. Considerando estos resultados, se seleccionó al algodón como material de

relleno, ya que representaba la opción menos costosa y más disponible entre los materiales que resultaron ser eficientes para la retención del extractante.

El algodón comercial consiste principalmente de celulosa (que representa una fracción de entre el 86,5 y 95,0% de su masa total) y otros polisacáridos [16]. Sin embargo, se puede asumir que la composición química del material no es la responsable de la retención de la fase extractante en la columna, sino su alta densidad de empaquetamiento, que da lugar a una retención física de la fase de IL que contiene al analito, debido a la alta viscosidad y tensión superficial del $[\text{C}_8\text{mim}][\text{PF}_6]$ [17]. Además, bajo las condiciones óptimas de preconcentración, la columna rellena con algodón pudo ser utilizada hasta 100 veces sin observarse una pérdida significativa de la eficiencia de retención, lo cual es un atributo notable teniendo en cuenta que se trata de un material de bajo costo y amplio acceso.

Es importante destacar a esta altura que el caudal de la solución saturada de KPF_6 no fue un parámetro que pudiese ser evaluado de manera independiente. Esto se debió a la necesidad de mezclar la totalidad de esta solución con la muestra a lo largo de toda la extensión del segmento de líquido en los canales del sistema en línea. De esta manera, si la relación de flujos no se hubiese ajustado a la relación de volúmenes de ambas soluciones, el mezclado completo no hubiese resultado posible en el bucle de mezcla. En consecuencia, dado que el volumen de muestra era de 15 mL y el volumen de solución de KPF_6 necesario para la extracción completa de los analitos era de 1,0 mL, la relación de flujos necesaria resultó ser de 1:15, dando así lugar a la velocidad de flujo de KPF_6 utilizada a lo largo de los experimentos, que fue $0,30 \text{ mL min}^{-1}$.

3.5.4. Selectividad del método para especies de selenio y telurio

Tal como se discutió en la Sección 3.5.3.2, la utilización de APDC como agente complejante a $\text{pH} = 4,0$ dio lugar a una extracción selectiva de las especies tetravalentes Se(IV) y Te(V) . A partir de esto, y con el objetivo de confirmar la capacidad selectiva del método desarrollado, se llevaron a cabo una serie de ensayos en los cuales se evaluaron las recuperaciones de Se(IV) y Te(VI) en presencia de Se(VI) y Te(VI) en concentraciones correspondientes a relaciones molares de hasta 200 veces. Como se puede observar en los resultados expuestos en la Tabla 3.5.5, el método fue altamente selectivo en todas las situaciones ensayadas.

Tabla 3.5.5. Selectividad del método IL-ISFME-FI-HG-AFS propuesto para la determinación de especies de Se y Te.

Relación molar Se(VI)/Se(IV)	Se(IV)			Se(VI)
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación ^a (%)	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	0,100	0,095 \pm 0,003	95	0,100
10	0,100	0,104 \pm 0,003	104	1,00
50	0,100	0,098 \pm 0,004	98	5,00
100	0,100	0,101 \pm 0,005	101	10,0
200	0,100	0,104 \pm 0,005	104	20,0

Relación molar Te(VI)/Te(IV)	Te(IV)			Te(VI)
	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperación (%)	Agregado ($\mu\text{g L}^{-1}$)
1	0,100	0,105 \pm 0,006	105	0,100
10	0,100	0,099 \pm 0,003	99	1,00
50	0,100	0,095 \pm 0,005	95	5,00
100	0,100	0,105 \pm 0,006	105	10,0
200	0,100	0,108 \pm 0,006	108	20,0

^a Recuperación = $100 \times (\text{encontrado} / \text{inicial})$

3.5.5. Evaluación de los parámetros de elución

En esta etapa del trabajo hubo dos aspectos que se consideraron fundamentales. Por una parte, la remoción eficiente de la fase extractante de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ y la consecuente elución de los analitos desde la columna rellena con algodón y, por otra, el efecto de los eluyentes sobre la sensibilidad de las determinaciones por HG-AFS. Para esto, se realizaron en primera instancia algunos estudios de solubilidad del IL hidrofóbico para determinar potenciales eluyentes. Entre los solventes ensayados, tanto el metanol como el etanol permitieron la disolución completa y rápida del IL, por lo que se los consideró como potenciales eluyentes eficientes, debido a su capacidad de separar al extractante del relleno de la micro columna. Adicionalmente, las mediciones con metanol resultaron ser, en términos generales, un 15% más sensibles que las realizadas en presencia de etanol, por lo que el primero terminó siendo elegido como solvente de elución.

Tal como se mencionó en la Sección 3.5.3.2, se observó durante las mediciones realizadas en la fase de optimización de la extracción una reducción del 60% en promedio de la sensibilidad de las determinaciones por HG-AFS debido a la presencia de APDC, haciéndose esta reducción más marcada a medida que aumentaba la concentración del agente complejante. En la búsqueda de una solución a este problema, diversos reactivos fueron adicionados al eluyente (metanol) para evaluar su efecto sobre las mediciones instrumentales, con los resultados presentados en la Figura 3.5.6.a. Como se puede observar, se ensayaron aditivos que tuvieron diferentes objetivos tentativos:

- Ácidos (HCl y HNO₃), para promover la disociación y/o descomposición de los complejos y liberar los analitos al medio de generación de hidruros.
- Básico (NaOH), a los efectos de desplazar el equilibrio de formación de los complejos hacia la disociación ya que, como muestra la Figura 3.5.3, la formación de los complejos de APDC de ambos analitos se ve desfavorecida a medida que aumenta el pH.
- Oxidante (Na₂S₂O₈ al 0,75% (p/v) en HClO₄), también con el objetivo de favorecer la descomposición de los complejos y del APDC en exceso.

Tal como muestra la figura, los mejores resultados se obtuvieron tras el agregado de HNO₃ al metanol. Esto se debe probablemente a la combinación de la acidez y del poder oxidante de este ácido, que da lugar a la descomposición de los complejos Se(IV)-APDC y Te(IV)-APDC, así como del exceso de APDC que pudiera haber quedado luego de la extracción y elución. Una vez seleccionado el HNO₃ como aditivo del eluyente, se evaluó su concentración en base a su efecto sobre las mediciones por HG-AFS, resultando las mejores con una concentración de 5,0 mol L⁻¹, tal como se observa en la Figura 3.5.7.b. El eluyente resultante contó también con un 10% de agua, proveniente del HNO₃ concentrado utilizado para su preparación.

Es interesante destacar a esta altura que, bajo las condiciones óptimas descritas, se lograron sensibilidades instrumentales comparables a las logradas con muestras patrón de Se(IV) en HCl acuoso de concentración 3,0 mol L⁻¹ (mostrada como la señal “estándar”, en la Figura 3.5.7.a), que representa el medio recomendado por los protocolos estandarizados propuestos por el fabricante del equipo. Para el caso de la especie Te(IV), la sensibilidad lograda en estas condiciones fue aún superior a la resultante de su medición en el medio sugerido como óptimo, obteniéndose señales de fluorescencia un 20% más altas, en promedio, que bajo las condiciones recomendadas.

Es importante destacar que esta mejora no contempla el incremento adicional de la sensibilidad logrado a través del uso del generador de hidruros de volumen reducido que se discute en la próxima subsección.

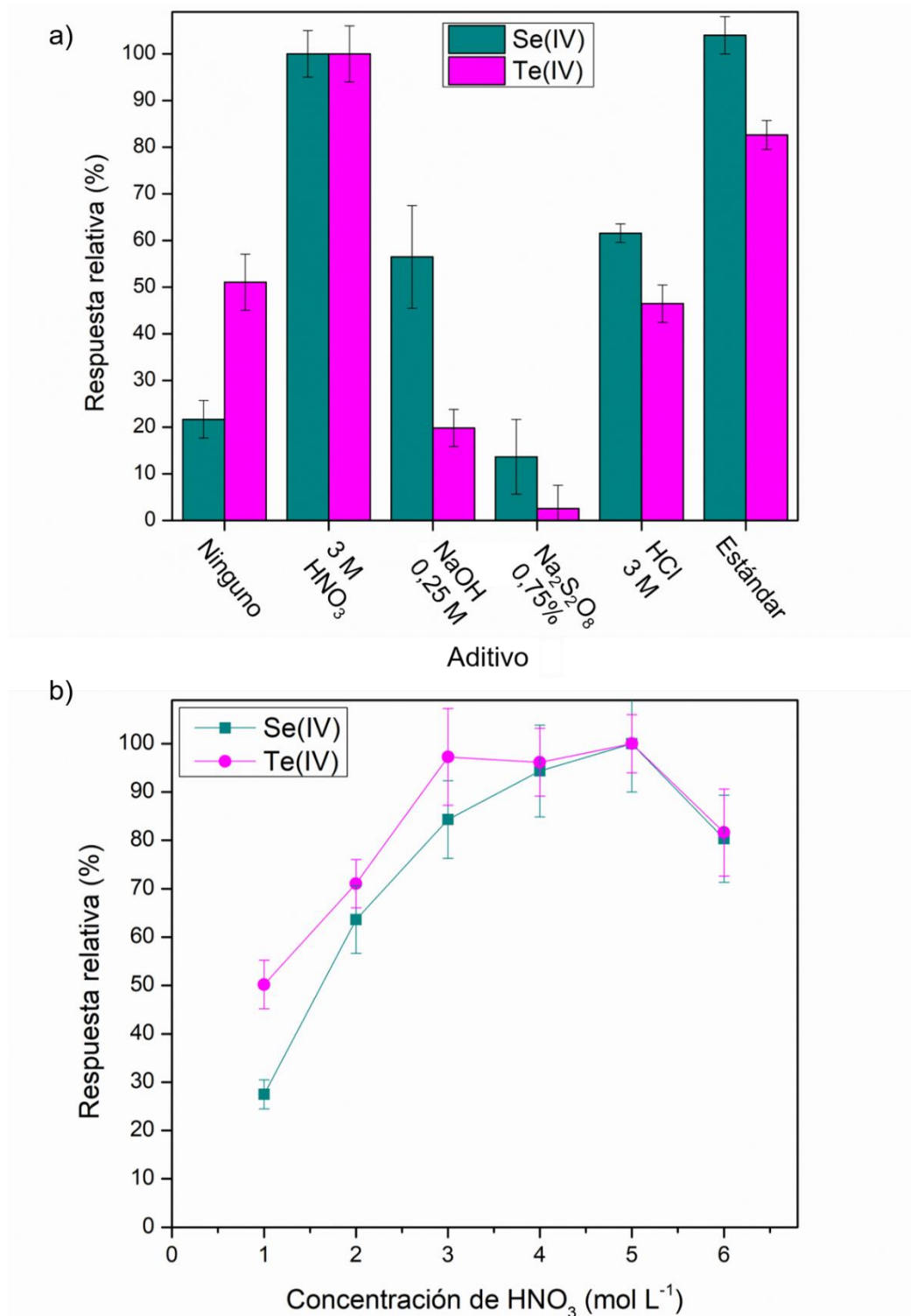


Fig. 3.5.6. Señales instrumentales relativas de las determinaciones de Se(IV) y Te(IV) obtenidas tras la elución de la micro columna con metanol en función de (a) el tipo de aditivo (b) la concentración de HNO₃. Las barras de error indican el desvío estándar con n = 3.

Finalmente, se evaluaron distintos volúmenes (100, 250 y 500 μL) y caudales (0,20, 0,50 y 1,0 mL min^{-1}) de solución eluyente de HNO_3 5,0 mol L^{-1} en metanol para la elución. Tal como muestra la Tabla 3.5.6, la elución óptima de los analitos se alcanzó cuando se utilizaron 250 μL de eluyente a 0,20 mL min^{-1} . Un resultado similar, en términos de la eficiencia de elución, se obtuvo con 500 μL de eluyente a 0,50 mL min^{-1} . Esta última condición, a pesar de representar un caudal mayor, no significaba una ventaja en términos de tiempo, ya que este era contrarrestado por el mayor volumen. Por sobre esto, esta condición significaba una desventaja en términos de la sensibilidad de las determinaciones instrumentales, ya que daba lugar a una mayor dilución de los analitos. En consecuencia, 250 μL de HNO_3 5,0 mol L^{-1} en metanol a un caudal de 0,20 mL min^{-1} fue la condición seleccionada para el método definitivo.

Tabla 3.5.6. Eficiencias de elución de Se(IV) y Te(IV) obtenidas con distintas combinaciones de volúmenes y caudales de HNO_3 5,0 mol L^{-1} en metanol como eluyente. Todos los experimentos se realizaron preconcentrando previamente 5,0 mL de una muestra con concentraciones de los analitos de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 3$).

Volumen (μL)	Caudal (mL min^{-1})	Eficiencia de elución Se(IV) (%)	Eficiencia de elución Te(IV) (%)
100	1,0	29 \pm 6	19 \pm 6
100	0,50	17 \pm 4	16 \pm 5
100	0,20	9 \pm 3	9 \pm 6
250	1,0	75 \pm 5	76 \pm 4
250	0,50	79 \pm 6	75 \pm 2
250	0,20	100 \pm 5	101 \pm 8
500	1,0	60 \pm 6	68 \pm 4
500	0,50	101 \pm 3	100 \pm 6
500	0,20	98 \pm 4	99 \pm 5

3.5.6. Determinación simultánea de Se y Te por FI-HG-AFS

Las condiciones instrumentales resultantes del proceso de optimización del método se presentan en la Tabla 3.5.1. Durante el desarrollo de esta etapa del trabajo de Tesis se arribó a un problema similar al enfrentado en el desarrollo del método M-D- μ -SPE presentado en la Sección 3.3 de este capítulo: la gran dilución de los hidruros de Se(IV) y Te(IV) derivada del uso del sistema de generación de hidruros del instrumento comercial de AFS. Esto fue especialmente importante teniendo en cuenta que, al

momento de realizar la medición, los analitos se encontraban en un volumen de eluato de 250 μL , lo cual representaba un factor de preconcentración de 60 a partir de los 15 mL de muestra iniciales teniendo en cuenta el 100% de eficiencia de extracción logrado. Este podía ser convertido en factores de refuerzo de la sensibilidad aún mejores adecuando correctamente las condiciones instrumentales de la determinación por HG-AFS o en otros sustancialmente peores si estas condiciones no resultaban ideales.

Al igual que en el caso previamente presentado, la dilución del analito al momento de la determinación instrumental se debía al gran volumen muerto del separador gas-líquido del instrumento AFS con el que se contaba (50 mL) y a los altos caudales de soluciones transportadora y reductora necesarios para su uso. En vistas de mejorar esto, se utilizó nuevamente el generador de hidruros externo con un separador gas-líquido de 2,2 mL presentado en la Sección 3.3.6 y descrito en detalle en la Sección 2.2.2.1 para la generación simultánea de SeH_2 y TeH_2 . Al igual que en el desarrollo ya presentado, se utilizó paralelamente el sistema de generación de hidruros del equipo de AFS para producir una corriente de H_2 que mantuviese la llama del atomizador encendida y estable durante las mediciones. Consecuentemente, los caudales de HCl y de NaBH_4 para la generación de hidruros miniaturizada fueron significativamente menores que los requeridos por el sistema tradicional, lo cual significó una mejora importante en los límites de detección de la técnica, que pasaron de tener valores de 0,35 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 0,13 $\mu\text{g L}^{-1}$, tanto para Se(IV) como para Te(IV), utilizando solamente 210 μL de muestra.

Los resultados de la evaluación de las condiciones para la formación de los hidruros de Se y Te se presentan en la Tabla 3.5.7. Como se puede observar, las condiciones óptimas para cada una de las especies no fueron coincidentes. Las máximas señales en el caso de la determinación de Te(IV) se obtuvieron con una concentración de HCl de 3,0 mol L^{-1} y de NaBH_4 de 1,2% (p/v), mientras que la máximas señales en el caso de Se(IV) se obtuvieron cuando la concentración del ácido era 6,0 mol L^{-1} y la de reductor 0,6% (p/v). Esto condujo a la necesidad de seleccionar condiciones de compromiso que resultaran convenientes para la cuantificación de ambos elementos en forma simultánea. Tal como muestran los resultados de la tabla, la condición ideal para la detección de Te significaba una reducción de la señal de Se a un 10% de su valor máximo, mientras que la condición ideal para Se involucraba una reducción de la señal máxima de Te en un 47%. Considerando estas observaciones, se decidió adoptar como ideales para la determinación simultánea concentraciones de 6 mol L^{-1} para el ácido y de 0,8% (p/v) para el reductor. Esta condición significó una

disminución del 35% de la sensibilidad en la determinación de Te y un 3% en la de Se, en ambos casos respecto de los valores máximos de señal obtenidos.

Tabla 3.5.7. Influencia de las concentraciones de HCl y de NaBH₄ sobre la generación de los hidruros de Se(IV) y Te(IV) tras la preconcentración de 5,0 mL de una solución estándar de concentración 5,0 µg L⁻¹ utilizando el método IL-ISFME desarrollado. En todos los casos se inyectaron 210 µL de eluato (n = 3).

Concentración de HCl (mol L ⁻¹)	Concentración de NaBH ₄ (% p/v)	Señal AFS	
		Te	Se
2	1,2	164 ± 5	19 ± 2
3	1,2	215 ± 8	31 ± 2
4	1,2	192 ± 6	50 ± 2
5	1,2	111 ± 3	176 ± 5
6	1,2	105 ± 3	183 ± 7
6	0,6	115 ± 5	319 ± 9
6	0,8	139 ± 5	310 ± 10
6	1,0	139 ± 4	262 ± 8
6	1,5	127 ± 3	65 ± 3

Por otro lado, los caudales óptimos tanto de solución ácida como de solución reductora fueron establecidos en relación con la eficiencia formación de los hidruros de los analitos en el sistema de flujo de volumen reducido. Los resultados de los experimentos se presentan en la Figura 3.5.7. Como se puede observar, 3,0 mL min⁻¹ resultó ser el caudal ideal para la solución de HCl, mientras que 4,0 mL min⁻¹ resultó ser ideal para la solución de NaBH₄, siendo estos valores coincidentes para la determinación de los dos analitos en las concentraciones definidas como ideales en la etapa inmediatamente previa. Caudales más elevados para ambas soluciones resultaron en el desborde del separador gas-líquido, con la subsecuente pérdida de analitos y sensibilidad. Para la generación de hidrógeno en el espectrómetro AFS se utilizaron las condiciones óptimas previamente determinadas en la Sección 3.3.7, es decir, 10 mL min⁻¹ para ambas soluciones, a una concentración de 25 % (v/v) para el ácido y de 1,0% (p/v) para el reductor.

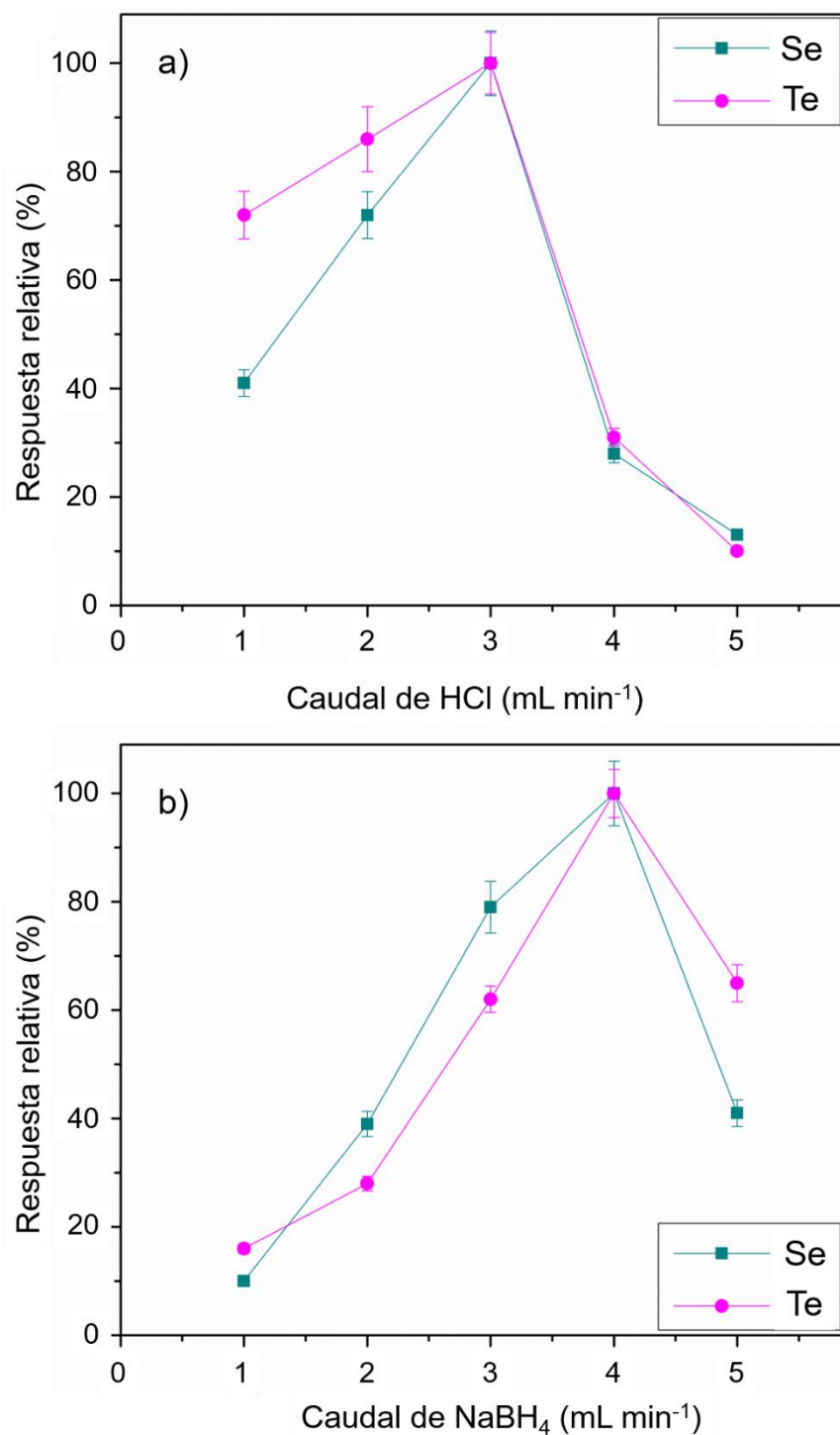


Fig. 3.5.7. Efecto de los caudales de (a) HCl 6,0 mol L⁻¹ y (b) NaBH₄ 0,8% (p/v) sobre las señales analíticas de Se y Te obtenidas por FI-HG-AFS a partir de 210 μ L de inyección. Las barras de error indican el desvío estándar con $n = 3$.

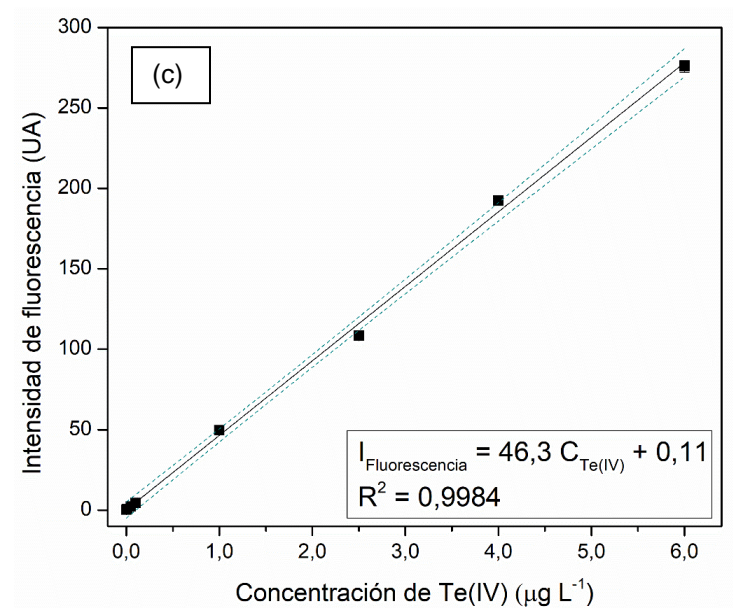
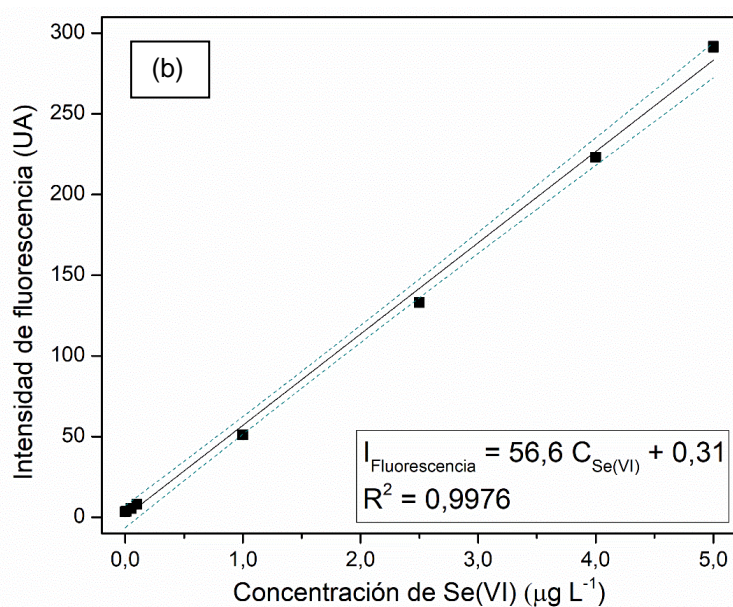
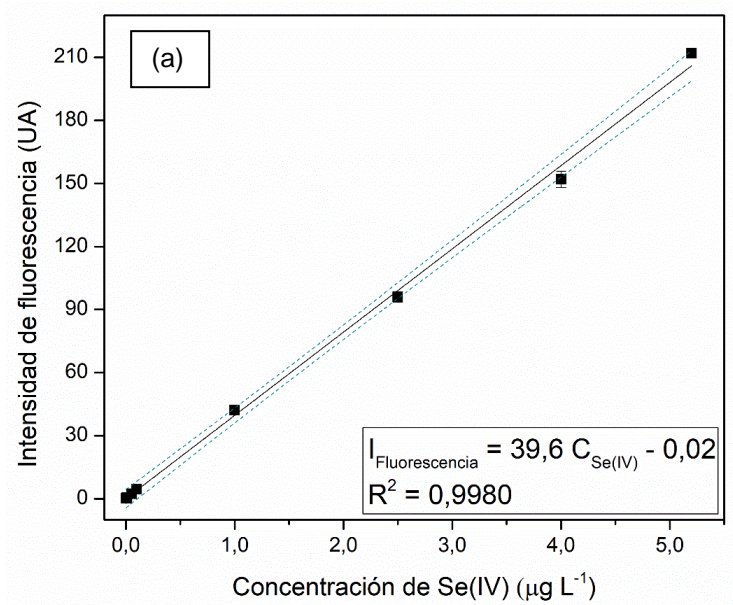
3.5.7. Estudio de potenciales interferencias

El efecto de especies potencialmente interferentes sobre la determinación cuantitativa de Se(IV) y Te(IV) por el método IL-ISFME- HG-AFS en línea desarrollado

también fue evaluado. Para esto, una vez que las variables determinantes del método fueron optimizadas, se analizaron soluciones de Se(IV) y Te(IV) con una concentración de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada elemento, a las que se adicionaron iones comúnmente encontrados en muestras de origen ambiental analizadas. El criterio para considerar una especie como interferencia fue, nuevamente, aquellas concentraciones que ocasionaban un desvío de $\pm 5\%$ respecto a la señal original sobre cualquiera de los dos analitos. Así, se observó que Cl^- y Br^- en concentraciones de hasta 10 g L^{-1} y nitratos y sulfatos hasta los $5,0 \text{ g L}^{-1}$ fueron tolerados sin cambios significativos en la recuperación de los analitos. Por el lado de los cationes, Na^+ y K^+ fueron los más tolerados, hasta concentraciones de 10 g L^{-1} , Ca^{2+} hasta $5,0 \text{ g L}^{-1}$ y Mg^{2+} y Zn^{2+} hasta $1,0 \text{ g L}^{-1}$. Ninguna de estas especies, y hasta las concentraciones aquí mencionadas, afectó significativamente a los blancos de las mediciones.

3.5.8. Rendimiento analítico

Como parte de la evaluación del rendimiento analítico del método desarrollado en esta parte de la Tesis Doctoral, se trazaron curvas de calibración externas para ambas especies de Se y Te mediante el análisis de una serie de soluciones estándar. Los rangos lineales de las mismas abarcaron desde los correspondientes LOQs hasta $5,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para Se(IV), $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Se(VI) y $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ tanto para Te(IV) como para Te(VI), con coeficientes de correlación de 0,9980, 0,9976, 0,9984 y 0,9991, respectivamente. Las curvas se presentan en las Figuras 3.5.8.a-d con sus correspondientes ajustes lineales y las ecuaciones de calibración resultantes. Además, estos valores junto con algunos de los parámetros analíticos más relevantes resultantes de la aplicación del método se presentan en la Tabla 3.5.8. Los límites de detección fueron de $2,6 \text{ ng L}^{-1}$ y $3,2 \text{ ng L}^{-1}$ para Se(IV) y Se(VI), respectivamente, y de $1,8 \text{ ng L}^{-1}$ para ambas especies de Te. Estos valores se determinaron al igual que en el resto de la presente Tesis, en base a tres veces la concentración correspondiente al desvío estándar de cinco mediciones de los correspondientes blancos [18]. Los límites de cuantificación se calcularon de manera similar, considerando este valor como diez veces el mismo desvío estándar, resultando en valores de $8,7 \text{ ng L}^{-1}$ y 11 ng L^{-1} para Se(IV) y Se(VI), mientras que para ambas especies de Te tuvo un valor de $6,0 \text{ ng L}^{-1}$.



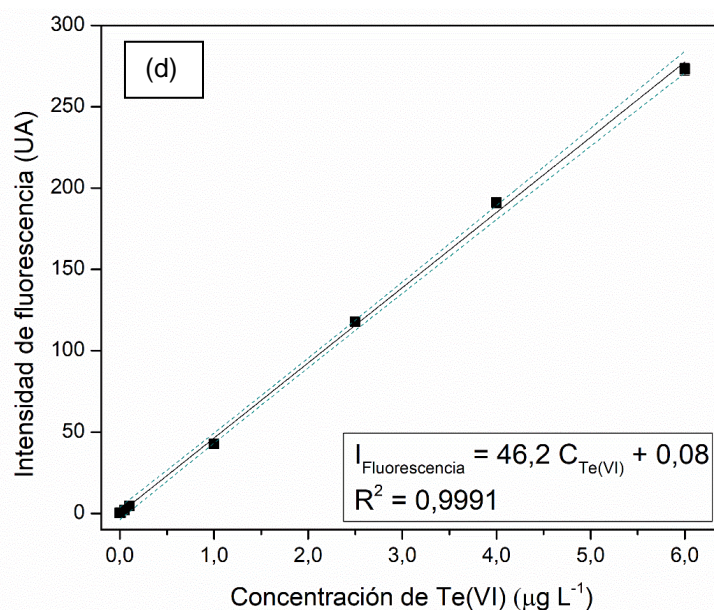


Fig. 3.5.8. Curvas de calibración obtenidas para (a) Se(IV), (b) Se(VI), (c) Te(IV), (d) Te(VI) tras la aplicación del método IL-ISFME optimizado con detección por FI-HG-AFS. Las líneas punteadas representan los límites de los intervalos de confianza al 95% del ajuste lineal.

Tabla 3.5.8. Parámetros surgidos del ajuste lineal de las curvas de calibración y cifras de mérito analítico para el método IL-ISFME-HG-AFS desarrollado.

	Se(IV)	Se(VI)	Te(IV)	Te(VI)
Curva de calibración				
Pendiente	$39,6 \pm 0,7$	$56,6 \pm 0,9$	$46,3 \pm 0,7$	$46,2 \pm 0,6$
Ordenada	$-0,02 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,09$	$0,11 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,03$
R^2	0,9980	0,9976	0,9984	0,9991
Cifras de mérito analítico				
EF	49	40	71	70
LOD (ng L^{-1})	2,6	3,2	1,8	1,8
RSD (%)	4,5	5,7	4,7	5,5

Los factores de refuerzo de la sensibilidad fueron calculados como los cocientes entre las pendientes de las curvas de calibración obtenidas con y sin preconcentración, bajo las mismas condiciones instrumentales. Estos resultaron ser de 49 para Se(IV), 40 para Se(VI), 71 para Te(IV) y 70 para Te(VI). La superioridad de este factor para las especies de Te por sobre las de Se está relacionada con las mejoras en la sensibilidad obtenidas por el uso de la combinación de HNO_3 y metanol como eluyentes para este elemento, discutidas en la Sección 3.3.5. Por otro lado, los factores de preconcentración o enriquecimiento tienen un único valor para todas las especies, ya que la extracción

fue del 100% en todos los casos y este factor relaciona el volumen inicial de muestra y el volumen final tras la preconcentración, lo que representa un valor de 60. La precisión del método, por otro lado, se evaluó a través de determinaciones en un mismo día a concentraciones de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (5 repeticiones) y también con determinaciones en 5 días distintos. Siguiendo el orden Se(IV), Se(VI), Te(IV) y Te(VI), los valores para la precisión intra-día fueron 4,5%, 5,7%, 4,7% y 5,5% y para la precisión inter-días: 4,8%, 7,0%, 5,4% y 6,8%.

La frecuencia analítica, por su parte, fue determinada considerando que el proceso de preconcentración y determinación experimental puede desarrollarse en su totalidad en unos 8 minutos: a) 3,5 min para la preparación de la muestra (adición de buffer, APDC e IL), formación en línea y retención de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ y retención de los analitos, b) 1,5 min para la elución, c) 1 min para la determinación por FI-HG-AFS y 2) 2 min para la limpieza del sistema de flujo previo al siguiente análisis. De esta manera, la frecuencia analítica del método completo fue de 8 muestras por hora, lo cual es un excelente valor considerando que se pueden tratar 15 mL de muestra por cada análisis.

Adicionalmente, el método desarrollado se comparó con reportes bibliográficos recientes relacionados con la determinación simultánea de Se y Te en muestras de relevancia ambiental, cuyas cifras de mérito analítico y características más relevantes se encuentran resumidas en la Tabla 3.5.9. Como puede observarse, la aplicación del método IL-ISFME propuesto resultó en LODs excelentes, mejores que en la mayoría de los casos previos. Además, más allá de alguna posible omisión involuntaria, este desarrollo representó el primer método de flujo para la preconcentración y análisis de especiación simultáneos de especies inorgánicas de Se y Te. Un método en flujo de preconcentración únicamente de Se había sido desarrollado por Martinis y colaboradores, aunque en este caso las únicas etapas que se realizaron en flujo fueron las de separación y elución, mientras que, por otro lado, el método propuesto en esta etapa de la Tesis fue realizado completamente en flujo [19]. Adicionalmente, la aplicación para el análisis de especiación de los elementos involucrados en sedimentos no se había contemplado en trabajos anterior listados en la Tabla 3.5.9, por lo que puede ser considerada una novedad adicional aportada como consecuencia del desarrollo aquí presentado.

Tabla 3.5.9. Métodos analíticos reportados recientemente de preconcentración y análisis de especiación simultáneos de Se y Te en muestras ambientales.

Método	Muestras	Análisis de especiación	LOD Se (ng L ⁻¹)	LOD Te (ng L ⁻¹)	EF	RSD (%)	Volumen muestra (mL)	Ref.
MSPE-ICP-MS	Agua de río, lago y mar	Sí	5,3 (Se ^{IV}) N.R. (Se ^{VI})	1,2 (Te ^{IV}) N.R. (Se ^{VI})	N.R.	3,8 (Se ^{IV}) 8,0 (Te ^{IV})	50	[10]
DLLME-ETV-ICP-MS	Agua de canilla, lago y subterránea	No	8,6 (Se ^{IV})	0,56 (Te ^{IV})	107 (Se ^{IV}) 95 (Te ^{IV})	9,2 (Se ^{IV}) 8,5 (Te ^{IV})	50	[20]
Electrodeposición – XRF	Agua de río y lago	No	0,44 (Se ^{IV})	0,57 (Se ^{IV})	N.R.	2,4 (Se ^{IV}) 1,9 (Te ^{IV})	400	[21]
HF-LPME-ETAAS	Agua de canilla, río, mar y desecho y suelos	Sí	5 (Se ^{IV}) 6 (Se ^{VI})	4 (Te ^{IV}) 6 (Te ^{VI})	N.R.	9,2 (Se ^{IV}) 8,5 (Te ^{IV})	10	[9]
SPE-ICP-MS	Agua de canilla, mineral, subterránea y mar	No	40 (Se ^{IV})	20 (Te ^{IV})	N.R.	< 5	50	[22]
IL-ISFME-FI-HG-AFS en línea	Agua de canilla, subterránea, mar y río, suelo y sedimento	Sí	2,6 (Se ^{IV}) 3,2 (Se ^{VI})	1,8 (Te ^{IV}) 1,8 (Te ^{VI})	49 (Se ^{IV}) 40 (Se ^{VI}) 71 (Te ^{IV}) 70 (Te ^{VI})	4,5 (Se ^{IV}) 5,7 (Se ^{VI}) 4,7 (Te ^{IV}) 5,5 (Te ^{VI})	15	Presente trabajo

N.R.: No reportado. ETV: vaporización electrotérmica; XRF: Fluorescencia de rayos X.

3.5.9. Estudios de exactitud de la metodología analítica y aplicación para el análisis de especiación de selenio y telurio en muestras ambientales

Estudios de calibración realizados mediante el método del agregado patrón de las especies en estudio permitieron asegurar la ausencia de efectos de matriz durante las determinaciones por HG-AFS cuando la metodología IL-ISFME propuesta se aplicó sobre muestras ambientales reales. De esta manera, la cuantificación de las especies de Se y Te se pudo llevar a cabo directamente utilizando las curvas de calibración externas obtenidas tras el análisis de soluciones estándar de Se(IV), Se(VI), Te(IV) y Te(VI) (Figura 3.5.8 y Tabla 3.5.8). Por otro lado, dada la ausencia comercial de un material de referencia certificado para especies de Se y Te, la exactitud del método fue evaluada a través de la realización de ensayos de recuperación con todas las muestras adicionadas con concentraciones conocidas de las especies.

En esta parte del trabajo de Tesis se analizaron muestras de relevancia ambiental que presentaban diversas matrices, incluyendo aguas de canilla, río, mar y subterránea, así como lixiviados de suelo y sedimento. Las concentraciones de Se y Te halladas en las muestras se encontraron en concordancia con aquellas determinadas en etapas previas de la Tesis y en otros reportes bibliográficos [4, 9]. Los resultados de estos análisis, junto con los de los ensayos de recuperación, se pueden observar en las Tablas 3.5.10 y 3.5.11. Recuperaciones en los rangos de 94,8% - 104% y 95,0% - 108% fueron obtenidas para las especies de Se y Te, respectivamente, lo cual demuestra que el método IL-ISFME en línea aquí presentado puede ser considerado una herramienta confiable para el análisis de especiación simultáneo de Se y Te, incluso en matrices complejas.

Tabla 3.5.10. Resultados del análisis de especiación de Se en diversas muestras y estudios de recuperación (n = 3). Todas las concentraciones están expresadas en $\mu\text{g L}^{-1}$ para las muestras líquidas y en $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) para las muestras de suelos y sedimentos.

Muestra	Se adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Se(IV) encontrado	Recup. (%) ^a	Se(VI) encontrado	Recup. (%) ^a
	Se(IV)	Se(VI)				
Agua de canilla	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	$0,518 \pm 0,010$	104	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,505 \pm 0,021$	101
Agua de mar	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	$0,474 \pm 0,013$	94,8	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,490 \pm 0,019$	98,0
Agua subterránea	-	-	$0,009 \pm 0,003$	-	$0,013 \pm 0,004$	-
	0,500	-	$0,529 \pm 0,012$	104	$0,010 \pm 0,002$	-
	-	0,500	$0,011 \pm 0,003$	-	$0,531 \pm 0,022$	104
Agua de río	-	-	< LOD	-	$0,013 \pm 0,004$	-
	0,500	-	$0,490 \pm 0,009$	98,0	$0,014 \pm 0,003$	-
	-	0,500	< LOD	-	$0,483 \pm 0,019$	94,0
Suelo	-	-	$0,048 \pm 0,004$	-	$0,024 \pm 0,004$	-
	0,500	-	$0,528 \pm 0,010$	96,0	$0,022 \pm 0,003$	-
	-	0,500	$0,022 \pm 0,003$	-	$0,533 \pm 0,018$	102
Sedimento	-	-	$0,131 \pm 0,008$	-	$0,090 \pm 0,005$	-
	0,500	-	$0,614 \pm 0,010$	96,6	$0,086 \pm 0,007$	-
	-	0,500	$0,137 \pm 0,009$	-	$0,590 \pm 0,024$	100

^a $100 \times [(\text{encontrado} - \text{inicial}) / \text{adicionado}]$

Tabla 3.5.11. Resultados del análisis de especiación de Te en diversas muestras y estudios de recuperación (n = 3). Todas las concentraciones están expresadas en $\mu\text{g L}^{-1}$ para las muestras líquidas y en $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) para las muestras de suelos y sedimentos.

Muestra	Te adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Te(IV) encontrado	Recup. (%) ^a	Te(VI) encontrado	Recup. (%) ^a
	Te(IV)	Te(VI)				
Agua de canilla	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	0,513 \pm 0,011	103	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	0,480 \pm 0,009	96,0
Agua de mar	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	0,565 \pm 0,013	113	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	0,514 \pm 0,012	103
Agua subterránea	-	-	< LOD	-	0,009 \pm 0,002	-
	0,500	-	0,518 \pm 0,010	104	0,010 \pm 0,002	-
	-	0,500	< LOD	-	0,496 \pm 0,007	97,4
Agua de río	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	0,541 \pm 0,012	108	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	0,485 \pm 0,008	97,0
Suelo	-	-	< LOD	-	< LOD	-
	0,500	-	0,542 \pm 0,010	108	< LOD	-
	-	0,500	< LOD	-	0,513 \pm 0,010	103
Sedimento	-	-	0,023 \pm 0,003	-	0,031 \pm 0,004	-
	0,500	-	0,498 \pm 0,010	95,0	0,028 \pm 0,003	-
	-	0,500	0,025 \pm 0,003	-	0,508 \pm 0,011	95,4

^a100×[(encontrado – inicial)/adicionado]

3.5.10. Conclusiones

En esta parte del trabajo de Tesis Doctoral se ha presentado el desarrollo y optimización de un nuevo método IL-ISFME en línea eficiente para la preconcentración y análisis de especiación simultáneos de Se y Te. Se demostró que el IL $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ y la sal KPF_6 pueden ser combinados exitosamente en un sistema de flujos para formar de manera efectiva el IL insoluble $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ que, junto con APDC como agente quelante, permitió alcanzar una excelente extracción de las especies Se(IV) y Te(IV). La adaptación de la técnica IL-ISFME a un sistema en línea y su acoplamiento a la detección por FI-HG-AFS permitieron una simplificación significativa del proceso y una

reducción sustancial del tiempo de análisis, principalmente debido a la eliminación del paso de centrifugado para la separación de fases, que es el más lento en la técnica IL-ISFME tradicional. Esto es también importante teniendo en cuenta que la aplicación en flujo puede dar lugar a una potencial automatización del proceso, lo cual significaría una ventaja significativa en comparación con otros desarrollos previos.

Además, el método desarrollado fue aplicado para la determinación de Se(IV), Se(VI), Te(IV) y Te(VI) en muestras diversas, tales como aguas de río y mar y lixiviados de suelo y sedimento. Por otro lado, es importante mencionar que la flexibilidad del IL, que permitió modificar su solubilidad a partir de la reacción de intercambio iónico con KPF_6 , eliminó la necesidad de utilizar un solvente orgánico como dispersante, una de las características menos contempladas en muchas técnicas DLLME. Esto significa un paso importante en términos de la reducción del impacto ecológico de la técnica. En síntesis, el método desarrollado puede considerarse como una alternativa amigable con el medio ambiente para la preconcentración y análisis de especiación de Se y Te en estudios ambientales.

3.5.11. Bibliografía

[1] J. Alexander, Chapter 52 - Selenium, en: B.A. Fowler, M. Nordberg (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals (4^a edición), Academic Press, San Diego, EEUU, 2015, pp. 1175-1208.

[2] B. Zare, M. Nami, A.R. Shahverdi, Tracing Tellurium and Its Nanostructures in Biology, Biological Trace Element Research 180(2) (2017) 171-181.

[3] R.G. Wuilloud, P. Berton, Selenium Speciation in the Environment, en: S. Bakirdere (Ed.), Speciation Studies in Soil, Sediment and Environmental Samples, CRC Press, Boca Raton, EEUU, 2014.

[4] N. Belzile, Y.-W. Chen, Tellurium in the environment: A critical review focused on natural waters, soils, sediments and airborne particles, Applied Geochemistry 63 (2015) 83-92.

[5] N. Zhang, N. Fu, Z. Fang, Y. Feng, L. Ke, Simultaneous multi-channel hydride generation atomic fluorescence spectrometry determination of arsenic, bismuth, tellurium and selenium in tea leaves, Food Chemistry 124(3) (2011) 1185-1188.

[6] H. Khajehsharifi, M.F. Mousavi, J. Ghasemi, M. Shamsipur, Kinetic spectrophotometric method for simultaneous determination of selenium and tellurium using partial least squares calibration, Analytica Chimica Acta 512(2) (2004) 369-373.

[7] C.Y. Kuo, S.J. Jiang, Determination of selenium and tellurium compounds in biological samples by ion chromatography dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry, Journal of Chromatography A 1181(1) (2008) 60-66.

[8] A. Elik, A. Demirbas, N. Altunay, Developing a new and simple natural deep eutectic solvent based ultrasonic-assisted microextraction procedure for determination and preconcentration of As and Se from rice samples, Analytical Methods 11(27) (2019) 3429-3438.

[9] 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(1) (2010) 491-496.

[10] M. He, S. Su, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic selenium and tellurium in environmental water samples by polyaniline functionalized magnetic solid phase extraction coupled with ICP-MS detection, Talanta 207 (2020) 120314.

[11] C. Yu, Q. Cai, Z. Guo, Z. Yang, S. Koo, Simultaneous speciation of inorganic selenium and tellurium by inductively coupled plasma mass spectrometry following selective solid-phase extraction separation, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19 (2004) 410-413.

[12] Y. Zheng, X. Huang, Y. Ling, W. Huang, J. Wang, Z. Zheng, X. Wang, H. Wang, Ultrasonic-enhanced preconcentration of trace Pb(II) using hydrophobic, lighter-than-water ionic liquid microextraction combined with solidification of the aqueous solution prior to detection by graphite furnace atomic absorption spectrometry in human fluids, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 157 (2019) 27-36.

[13] X. Wang, T. Du, J. Wang, H. Kou, X. Du, Determination of polybrominated biphenyls in environmental water samples by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography, *Microchemical Journal* 148 (2019) 85-91.

[14] E. Stanis, J. Werner, A. Zgoła-Grześkowiak, Liquid-phase microextraction techniques based on ionic liquids for preconcentration and determination of metals, *TrAC-Trends in Analytical Chemistry* 61 (2014) 54-66.

[15] M. Zeeb, B. Mirza, R. Zare-Dorabei, H. Farahani, Ionic Liquid-based Ultrasound-Assisted In Situ Solvent Formation Microextraction Combined with Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry as a Practical Method for Preconcentration and Trace Determination of Vanadium in Water and Food Samples, *Food Analytical Methods* 7(9) (2014) 1783-1790.

[16] N. Abidi, Chemical Properties of Cotton Fiber and Chemical Modification, en: D.D. Fang (Ed.), *Cotton Fiber: Physics, Chemistry and Biology*, Springer International Publishing, Cham, Suiza, 2018, pp. 95-115.

[17] S. Zhang, N. Sun, X. He, X. Lu, X. Zhang, Physical Properties of Ionic Liquids: Database and Evaluation, *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 35(4) (2006) 1475-1517.

[18] IUPAC, *Compendium of Chemical Terminology*, 2ª ed. (el "Gold Book"). Compilado por A. D. McNaught y A. Wilkinson., Oxford, Reino Unido, 1997. Versión online (2019-) creada por S. J. Chalk.

[19] E.M. Martinis, L.B. Escudero, P. Berton, R.P. Monasterio, M.F. Filippini, R.G. Wuilloud, Determination of inorganic selenium species in water and garlic samples with on-line ionic liquid dispersive microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta* 85(4) (2011) 2182-2188.

[20] Y. Liu, M. He, B. Chen, B. Hu, Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta* 142 (2015) 213-220.

[21] Q. Li, H. Zheng, Z. Zhu, Z. Tang, Electrodeposition as a Preconcentration and Sample Preparation Technique for Trace Selenium and Tellurium Determination by X-Ray Fluorescence Spectrometry, *Analytical Letters* 47(5) (2014) 843-854.

[22] K. Urbánková, M. Moos, J. Machát, L. Sommer, Simultaneous determination of inorganic arsenic, antimony, selenium and tellurium by ICP-MS in environmental waters using SPE preconcentration on modified silica, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 91(11) (2011) 1077-1087.

Capítulo 4

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

En el presente trabajo de Tesis Doctoral se desarrollaron metodologías analíticas novedosas cuyo diseño y aplicación se basó en la utilización de diversos solventes y materiales de última generación, incluyendo ILs, nanomateriales y nanomateriales híbridos resultantes de su exitosa combinación. Se demostró así la enorme capacidad de los ILs para actuar como fases extractantes en metodologías destinadas a la preconcentración y el análisis de especiación de Se y Te, para la determinación ultrasensible y precisa de estos elementos en matrices complejas de relevancia ambiental. La combinación de estos solventes modernos con nanomateriales dio lugar a materiales sorbentes altamente eficientes para su aplicación en extracciones en fase sólida. En estos casos, se evidenció la sinergia existente entre los materiales nanoestructurados soporte y los ILs, dando lugar a una combinación mejorada de sus propiedades y abriendo la puerta a la aplicación de ILs solubles en agua en muestras acuosas. Si bien las propiedades intrínsecas de estos solventes no resultan ser tan favorables en términos de su baja toxicidad e impacto ambiental como se difundió a la par de sus primeras aplicaciones reportadas en la comunidad científica, sus propiedades únicas dieron lugar a la minimización de su uso durante este trabajo, evidenciado por el hecho de que ninguna de las aplicaciones requirió más de 1 mg de IL por cada determinación. Esto demostró que la fortaleza de estos compuestos únicos no se encuentra tanto en su inocuidad, sino en su capacidad de lograr rendimientos analíticos excelentes con cantidades mucho menores que las usualmente requeridas de solventes orgánicos para los mismos fines. Sumado a esto, la innumerable cantidad de combinaciones de aniones y cationes para formar diversos ILs que plantean propiedades muy destacables en cuanto a su particular solubilidad, baja reactividad química, viscosidad, dispersabilidad, etc., hacen de estos solventes candidatos bien establecidos para liderar futuros desarrollos analíticos que se fundamenten en procesos de extracción y preconcentración de una gran diversidad de analitos y matrices.

Durante la Tesis, la investigación de las propiedades de sistemas bifásicos líquido-líquido con ILs insolubles en fase acuosa dio lugar al desarrollo de dos métodos de preconcentración y análisis de especiación por extracción líquido-líquido:

- Un método de extracción en punto de nube asistido por un IL, en el cual el IL $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ fue utilizado como aditivo del tensoactivo Triton X-114 para la determinación de especies inorgánicas de Te por ETAAS.
- Un método de microextracción por formación de un IL *in situ* en línea, en el cual se formó el IL $[\text{C}_8\text{mim}]\text{PF}_6$ y se llevó a cabo la extracción, retención, elución y determinación instrumental de las especies inorgánicas de Se y Te por HG-AFS de forma integral dentro de un sistema en flujo.

En el primero de estos se corroboró la capacidad del IL para mejorar las propiedades extractantes del Triton X-114 mediante la técnica de extracción en punto de nube, logrando una retención rápida y eficiente de $\text{Te}(\text{IV})$ tras la optimización de todos los factores involucrados en el proceso. A la comparación de los parámetros analíticos en presencia y en ausencia del IL se le adicionó un análisis a nivel molecular del proceso a través de experimentos de fluorescencia utilizando una sonda de polaridad. De esta manera se pudo proponer un modelo que explicaba el modo de acción del IL en el proceso de extracción, modificando la polaridad del microentorno micelar en la fase extractante. Esto sirvió como evidencia de la enorme capacidad que poseen los ILs para modificar las condiciones de extracción en este tipo de metodologías, habiéndose obtenido una mejora sustancial de la eficiencia del sistema utilizando solamente $1,25 \mu\text{L}$ de $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$. Este desarrollo representó la primera aplicación de la técnica CPE para la preconcentración y análisis de especiación de Te en muestras ambientales.

La aplicación IL-ISFME, por su parte, demostró cómo se puede sacar ventaja de la flexibilidad de las propiedades de los ILs en función de su composición. De esta manera, se aprovechó el hecho de que una reacción tan simple como un intercambio aniónico pudo cambiar por completo la solubilidad del $[\text{C}_8\text{mim}]\text{Cl}$ para desarrollar un método para preconcentración y análisis de especiación simultáneo de los dos elementos de interés de la presente Tesis Doctoral. Esta parte del trabajo representó la primera aplicación reportada de un método IL-ISFME para los análisis de especies de Se y Te, siendo especialmente innovador por el hecho de que estos se llevaron a cabo simultáneamente y en un sistema en flujo, lo cual además de contribuir a una mayor frecuencia analítica promueve la automatización de este tipo técnica de microextracción, aspecto que, por otro lado, aún resulta poco explorado en la mayoría de la literatura científica actual.

Sumado a eso, se utilizaron ILs para el desarrollo de fases sólidas extractantes a partir del anclaje de estos sobre la superficie de nanomateriales soporte. En este sentido, se incluyen en la presente Tesis desarrollos basados en materiales obtenidos a partir de las dos estrategias de funcionalización:

- Un híbrido de nanosílica y [C₁₂mim]Br obtenido por sorción física de este último, aplicado para la microextracción dispersiva en fase sólida de especies inorgánicas de Se y para la determinación de las mismas por ETAAS. Paralelamente, se desarrolló un método similar utilizando nanosílica sin funcionalizar, que permitió demostrar las mejoras sustanciales obtenidas en las propiedades extractantes del material sorbente por la adición del IL.
- Un nanomaterial magnético compuesto Fe₃O₄@SiO₂@PIL obtenido por funcionalización química, aplicado para la microextracción magnética dispersiva de especies de Te. El uso de este material evidenció la sinergia resultante de la combinación de un nanomaterial magnético y un IL polimérico para la separación de especies, previo a la determinación por FI-HG-AFS.

El primero de estos fue útil no solo como prueba del potencial mejoramiento obtenido cuando los ILs se combinan con materiales sorbentes nanoestructurados de alta área superficial y capacidad de retención de los analitos, sino que también representó la primera aplicación reportada del uso de un IL soluble en agua para la preconcentración y análisis de especiación de Se. Las ventajas derivadas de la funcionalización fueron notorias no solamente en términos de las condiciones de extracción (por ej., la capacidad de extracción desde volúmenes de muestra mayores o los menores tiempos necesarios para lograr la retención del analito), sino también en términos de las cifras de mérito analítico obtenidas.

En tanto, el método basado en la técnica M-D- μ -SPE que se presentó haciendo uso del nanomaterial magnético compuesto se fundamentó en el aprovechamiento de las propiedades combinadas del nanomaterial y el IL polimérico originales, que dieron lugar a un material con las propiedades magnéticas del primero y las extractantes del segundo. A partir de este, se desarrolló un método altamente eficiente en términos de la retención del analito y que permitió su aplicación simplificada gracias a la posibilidad de separar rápidamente el sorbente utilizando un imán externo. Este método, por su parte, representó la primera aplicación de un IL polimérico para la preconcentración y análisis de especiación de Te.

Adicionalmente, todos los métodos desarrollados fueron adecuadamente adaptados a técnicas de detección por espectrometrías atómicas. En este sentido, es destacable el hecho de que el uso de ILs en los métodos de extracción en fase líquida no impidió el análisis directo de las fases extractantes tanto por ETAAS como por HG-AFS. Si bien en ambos casos se debieron ajustar cuidadosamente las condiciones instrumentales de las mediciones, los eluatos resultantes de los métodos aplicados se pudieron analizar de forma directa, sin la necesidad de un paso de retroextracción de los analitos. Esto representa una ventaja no menor del uso de ILs para extracciones líquido-líquido, ya que significa una ganancia importante en términos de tiempo y de consumo de reactivos al momento de llevar a cabo la detección elemental.

El caso particular de la detección por HG-AFS representó uno de los obstáculos importantes que se encontraron durante el desarrollo experimental de esta Tesis, debido a las propiedades del sistema de generación de hidruros del instrumento utilizado. El gran volumen muerto del mismo y los altos caudales de reactivos que requería para su funcionamiento imponían una dilución significativa de los hidruros de los analitos, lo cual afectaba los factores de refuerzo de la sensibilidad obtenidos luego de la aplicación de los métodos de tratamiento de muestras. Este inconveniente se salvó gracias a la adaptación de un sistema de generación de hidruros miniaturizado acoplado en forma externa al instrumento estándar comercial, que permitió operar con flujos reducidos de reactivos, llevando a mejoras sustanciales en la sensibilidad de las determinaciones que involucraron a esta técnica.

En términos de cifras de mérito analítico, los valores logrados en todos los desarrollos fueron muy satisfactorios y un resumen de los mismos se puede encontrar en la Tabla 4.1. Esta aseveración no se sustenta sobre los valores absolutos obtenidos, sino que estas cifras de mérito fueron comparadas caso por caso con trabajos reportados recientemente que involucran técnicas y muestras similares a las aquí presentadas, habiendo quedado demostrado que los métodos desarrollados en la presente Tesis se encuentran a la altura o incluso por encima de métodos publicados en revistas de alto impacto internacional.

Tabla 4.1. Métodos analíticos desarrollados durante la presente Tesis Doctoral para la preconcentración y análisis de especiación de Se y Te.

Método	Muestras	Elemento/s	Extractante	LOD (ng L ⁻¹)	EF	RSD (%)	Volumen muestra (mL)	Índice de consumo (CI)	Sección
D- μ -SPE-ETAAS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de mar	Se	Nanosílica	1,4 (Se ^{IV})	90 (Se ^{IV})	4,9 (Se ^{IV})	10	0,11 (Se ^{IV})	3.1
				2,0 (Se ^{VI})	88 (Se ^{VI})	5,4 (Se ^{VI})		0,11 (Se ^{VI})	
D- μ -SPE-ETAAS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de mar	Se	Nanosílica- [C ₁₂ mim]Br	1,1 (Se ^{IV})	110 (Se ^{IV})	5,7 (Se ^{IV})	15	0,14 (Se ^{IV})	3.2
				1,7 (Se ^{VI})	104 (Se ^{VI})	5,2 (Se ^{VI})		0,14 (Se ^{VI})	
M-D- μ -SPE-FI- HG-AFS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de río, suelos, sedimentos y alimentos	Te	Nanomaterial compuesto Fe ₃ O ₄ -SiO ₂ - PIL	1,9 (Te ^{IV})	67 (Te ^{IV})	2,6 (Te ^{IV})	50	0,75 (Te ^{IV})	3.3
				3,7 (Te ^{VI})	62 (Te ^{VI})	3,1 (Te ^{VI})		0,81 (Te ^{VI})	
IL-CPE-ETAAS	Agua de canilla, lluvia, subterránea y de río, suelos y sedimentos	Te	Triton X-114 + [C ₈ mim]Cl	1,1 (Te ^{IV})	87 (Te ^{IV})	3,9 (Te ^{IV})	10	0,11 (Te ^{IV})	3.4
				1,7 (Te ^{VI})	55 (Te ^{VI})	5,0 (Te ^{VI})		0,18 (Te ^{VI})	
IL-ISFME-FI-HG- AFS en línea	Agua de canilla, subterránea, mar y río, suelo y sedimento	Se y Te	[C ₈ mim]PF ₆	2,6 (Se ^{IV})	49 (Se ^{IV})	4,5 (Se ^{IV})	15	0,31 (Se ^{IV})	3.5
				3,2 (Se ^{VI})	40 (Se ^{VI})	5,7 (Se ^{VI})		0,37 (Se ^{VI})	
				1,8 (Te ^{IV})	71 (Te ^{IV})	4,7 (Te ^{IV})		0,21 (Te ^{IV})	
				1,8 (Te ^{VI})	70 (Te ^{VI})	5,5 (Te ^{VI})		0,21 (Te ^{VI})	

Como última etapa en cada uno de los desarrollos aquí presentados, se emplearon los métodos optimizados para la determinación de especies inorgánicas de Se y Te en muestras ambientales diversas: aguas subterráneas, de río, de mar, de lluvia y de canilla, sedimentos y suelos. Algunas de estas presentaron matrices de alta complejidad, por lo que la aplicación exitosa de cada uno de los métodos fue representativa de la precisión y robustez de los mismos. Adicionalmente, el método basado en la técnica M-D- μ -SPE permitió también el análisis de especies de Te en ajo, puerro y brócoli, demostrando que la aplicación de los desarrollos presentados en este trabajo no se encuentra circunscripta a las muestras ambientales, sino que tiene también el potencial de aplicarse en otras matrices que puedan ser de interés.

En síntesis, el trabajo de Tesis Doctoral presentado propone una serie de nuevas metodologías analíticas cuya innovación principal es la implementación de solventes de última generación, como aún son los ILs, y materiales resultantes de su anclaje sobre la superficie de nanomateriales. Quedaron demostradas a lo largo de todos los desarrollos las ventajas de la utilización de estos, no solo en términos del rendimiento analítico de cada metodología desarrollada, sino también de su reducido impacto ambiental derivado de la mínima generación de desechos dañinos. De esta manera, se puede afirmar que los métodos desarrollados representan propuestas novedosas para el análisis rutinario de Se y Te en muestras de origen ambiental, puesto que presentan excelentes rendimientos analíticos con una comprobada aplicación a este tipo de matrices complejas y permiten la determinación selectiva de sus especies inorgánicas a concentraciones del orden de las ultra trazas.

Como perspectiva a futuro, se consideran tres áreas de trabajo relacionadas a esta Tesis Doctoral que presentan potencial de mejora. La primera de ellas tiene que ver con la investigación y desarrollo de ILs cuyo impacto ambiental sea mínimo no solo en términos de su uso en técnicas miniaturizadas, sino también por su inocuidad. Esto abriría las puertas para el desarrollo de aplicaciones a gran escala y al crecimiento en desarrollos analíticos (bajo los preceptos de la Química Verde) e industriales, que se encuentran beneficiados por las excelentes propiedades de estos solventes, pero restringidos en cierta medida por las dudas sobre su impacto ambiental. En segundo lugar, un campo ya en pleno desarrollo pero con mucho potencial aún, es el relacionado con la selectividad de los ILs. En este sentido, el diseño y síntesis de ILs específicos para una tarea o para un analito resultará importante para dar lugar a sistemas capaces de retener especies de forma altamente selectiva y que al mismo tiempo resulten acoplables con métodos de detección poco específicos, pero de bajo costo y alta

disponibilidad, tal como la espectroscopía UV-Vis. Finalmente, una tercera línea potencial que ha sido abordada en la parte final de este trabajo, es la de las aplicaciones en flujo y la automatización de los procesos de preconcentración y separación de especies químicas. En este sentido, los inconvenientes resultantes de la aplicación de sorbentes sólidos -especialmente aquellos con estructuras nanométricas- representan actualmente una fuente de desafíos de investigación que puede dar lugar al desarrollo de metodologías altamente sensibles y selectivas que no requieran intervención humana. Avances en términos de materiales, equipamiento, sistemas de retención e incluso de software son necesarios con este objetivo, haciendo de este no solo un desafío interesante, sino también interdisciplinario.