

Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Inorgánica y Analítica
Laboratorio de Química Ambiental

EXTRACCIÓN DE NONILFENOL ETOXILATO Y NONILFENOL
DESDE MATRICES ACUOSAS UTILIZANDO UN SISTEMA DE
DISCO ROTATORIO CON UNA FASE MIXTA DE NANOTUBOS DE
CARBONO Y POLIDIMETILSILOXANO

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO

XIMENA ANDREA CASTRO ROJAS

PROFESOR PATROCINANTE
PABLO RICHTER DUK

DIRECTOR DE MEMORIA
PABLO RICHTER DUK

Santiago-Chile

2010

*A Carmen y Luis,
Mis padres*

Agradecimientos

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo de mi familia, es por esto que quiero agradecerles toda la comprensión y soporte que siempre me han brindado. A mis padres, Carmen y Luis, por la paciencia y enseñanzas; a mis hermanos, Ruth y Alberto, por el cariño y por sus consejos.

A todos mis amigos, que para mi fortuna son muchos y muy buenos, por darme un espacio en sus vidas, por la simpatía y la alegría que siempre han demostrado. Sería muy extenso nombrarlos a todos, pero cada uno de ellos sabe que tiene un lugar en mi corazón.

Al laboratorio de Química Ambiental de la facultad, a las profesoras Inés y Loreto, a Cristina y a todos mis compañeros, con muchos de los cuales tengo una relación de amistad; por la acogida, la ayuda y por hacer del laboratorio un lugar grato donde trabajar. En especial debo agradecer a Cristian, por la experiencia compartida en la realización de nuestras tesis.

Al profesor Pablo por la oportunidad de realizar esta tesis, por la confianza, sus consejos, la paciencia, por recalcar que en ciencia no todo resulta como uno espera y que esto no tiene relación con las capacidades de la persona.

A la gente del CEPEDEQ, en especial a Betsabet, por su tiempo, por todos los conocimientos entregados y por su buena voluntad.

Finalmente quiero agradecer a los proyectos FONDECYT N° 1070616 y 1100085, por el financiamiento de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción y usos de nonilfenol y nonilfenol etoxilato	1
1.2. Degradación de APEs	3
1.3. Efectos de NP en organismos	4
1.4. Nanotubos de Carbono	5
1.5. Historia y fundamento teórico de la extracción por sorción en disco rotatorio (RDSE)	6
1.6. Hipótesis de trabajo	10
2. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo General	11
2.2. Objetivos Específicos	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. Materiales	12
3.2. Reactivos	12
3.3. Equipos	13
3.4. Preparación de fases para RDSE	13
3.4.1. Fase MWNTs	13
3.4.2. Fase PDMS con Kit comercial	13
3.4.3. Fase PDMS sol-gel	14
3.4.4. Reacciones químicas en la síntesis de PDMS sol-gel	14
3.4.5. Fase Mixta: PDMS y MWNTs	16
3.5. Métodos	17
3.5.1 Sistema general de extracción/desorción de muestra	17
3.5.2. Método utilizado en GC-MS	18
3.5.3. Determinación del límite de detección instrumental	19
3.6. Estudios realizados	20
3.6.1. Estudio preliminar con MWNTs	20
3.6.2. Estudio con fase mixta MWNTs – PDMS comercial	20
-Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs	20
3.6.3. Estudios con fase mixta MWNTs – PDMS sol-gel	20

-Variación tiempo de extracción	20
-Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs	20
-Comparación fases mixtas: PDMS-comercial y PDMS sol-gel	21
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1. Límites de detección instrumental	22
4.2. Estudio preliminar con MWNTs	22
4.3.1. Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs.....	25
4.4. Estudios con fase mixta MWNTs – PDMS sol-gel	27
4.4.1. Variación tiempo de extracción	27
4.4.2. Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs.....	28
4.5. Comparación fases mixtas: PDMS-comercial y PDMS sol-gel	29
4.6. Estudio de probables fallas en el programa cromatográfico	30
5. CONCLUSIONES	34
6. BIBLIOGRAFÍA.....	36
7. ANEXOS	39
ANEXO A	39
ANEXO B	46
ANEXO C	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructuras químicas NP y NP-Et.....	2
Figura 2 Rutas de la biodegradación de APEs.....	4
Figura 3 Esquemas de SPME y SBSE.....	7
Figura 4 Diseño disco rotatorio	10
Figura 5 Esquema molde de teflón.....	14
Figura 6 Reactivos PDMS sol-gel	15
Figura 7 Principales reacciones en la síntesis de PDMS.....	16
Figura 8 Fase Mixta y fase PDMS sol-gel	17
Figura 9 Esquema extracción- desorción	18
Figura 10 Estudio con fase MWNTs en disco chico para NP y NP-Et	23
Figura 11 Estudio con fase MWNTs en disco grande para NP y NP-Et.....	24
Figura 12 Comparación en fase MWNTs-PDMS comercial: espesor de fase (1 y 2 mm) y masa MWNTs en disco chico.....	26
Figura 13 Comparación en fase MWNTs-PDMS comercial: espesor de fase (1 y 2 mm) y masa MWNTs en disco grande	26
Figura 14 Efecto tiempo de extracción con fase PDMS sol-gel y fase mixta: MWNTs – PDMS sol-gel.....	28
Figura 15 Comparación en fase MWNTs-PDMS sol-gel: espesor de fase (1 y 2 mm) y masa MWNTs en disco chico.....	29
Figura 16 Comparación entre fases con PDMS sol-gel (fase A) y PDMS comercial (Fase B).....	30
Figura 17 Cromatograma para estándar de 2,5 mgL ⁻¹ de NP y NP-Et.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Propiedades de NP y NP-Et.....	2
Tabla 2 Masas características de: NP, NP-Et y estándar interno	19
Tabla 3 Parámetros analíticos para NP y NP-Et	22
Tabla 4 Inyecciones en distintos días para estándar de 0,5 mgL ⁻¹	31
Tabla 5 Replicabilidad del método cromatográfico.....	33

Tablas en anexos

A

A 1 Curva de calibración.....	39
A 2 Parámetros de regresión lineal	39
A 3 Disco chico MWNTs	39
A 4 Disco grande MWNTs	40
A 5 Estadística disco chico y disco grande MWNTs.....	40
A 6 Disco Grande espesor de fase 1 mm (Mixta PDMS comercial).....	41
A 7 Disco Grande espesor de fase 2 mm(Mixta PDMS comercial).....	41
A 8 Disco Chico espesor de fase 1 mm(Mixta PDMS comercial)	42
A 9 Disco Chico espesor de fase 2 mm(Mixta PDMS comercial)	42
A 10 Estadística(Mixta PDMS comercial).....	42
A 11 Disco chico PDMS sol-gel	43
A 12 Disco chico fase Mixta-PDMS sol-gel	43
A 13 Disco Chico espesor 1 mm (Mixta PDMS sol-gel).....	44
A 14 Disco Chico espesor 2 mm Mixta PDMS sol-gel).....	44
A 15 Disco chico espesor 1 mm (Mixta PDMS comercial).....	45
A 16 Estadística disco chico (Mixta: PDMS comercial- PDMS sol-gel).....	45
A 17 Replicabilidad método cromatográfico	45

C

C 1 Porcentaje de extracción de oligómeros de PDMS.....	50
C 2 Hinchamiento de fase.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

APs	Alquilfenoles
APEs	Alquilfenol etoxilatos
CNTs	Nanotubos de carbono
CV	Coficiente de variación
EI	Estándar interno
GC	Cromatografía gaseosa
GC-MS	Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
LD	Límite de detección
MTMOS	Metiltrimetoxisilano
MWNTs	Nanotubos de carbono de pared múltiple
NP	Nonilfenol
NP-Et	Nonilfenol etoxilato
PMHS	Polimetilhidrosiloxano
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS-OH	Polidimetilsiloxano hidroxí terminado
RDSE	Extracción por sorción en disco rotatorio
SBSE	Extracción por sorción en barra de agitación
SD	Desviación estándar
SPE	Extracción en fase sólida
SPME	Micro-extracción en fase sólida
SWNT	Nanotubos de carbono de pared simple
TFA	Ácido trifluoroacético

RESUMEN

Extracción de nonilfenol etoxilato y nonilfenol desde matrices acuosas utilizando un sistema de disco rotatorio con una fase mixta de nanotubos de carbono y polidimetilsiloxano

El nonilfenol etoxilato y el nonilfenol son compuestos utilizados como surfactantes no iónicos. El nonilfenol ha generado gran preocupación debido a su acción como disruptor endocrino, efecto que ha podido ser apreciado especialmente en las comunidades acuáticas. Por lo que su control y detección son muy importantes.

Actualmente se controlan muchas muestras en las que estos compuestos se encuentran a nivel de trazas, por lo que es necesario llevar a cabo una etapa previa de extracción/preconcentración antes de poder cuantificarlos por algún método analítico.

En este contexto, se propone la utilización de una nueva técnica de extracción por sorción en disco rotatorio (RDSE), en donde se utiliza una fase estacionaria adherida sobre un disco de teflón. La fase que ha sido tradicionalmente utilizada para la extracción de compuestos orgánicos de baja polaridad es polidimetilsiloxano (PDMS). En este trabajo se propone la utilización de una fase mixta compuesta de nanotubos de carbono multipared (MWNTs) y PDMS, esta fase es comparada con una fase de PDMS pura. Se ha elegido esta fase mixta ya que se ha probado que los nanotubos de carbono poseen excelentes propiedades como adsorbentes, sin embargo, su inmovilización como fase única de extracción en el sistema de disco rotatorio no fue factible.

El procedimiento experimental contempla tres etapas principales: (1) extracción de los analitos desde la matriz acuosa, (2) la desorción con metanol como solvente de elución y (3) la detección y cuantificación por medio de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

Los resultados obtenidos son cualitativos e indican que la fase mixta se comporta en forma similar a una fase compuesta exclusivamente de PDMS, esto al realizar estudios

de comparación de espesor de fase. Pero la mayoría de los estudios no son significativos estadísticamente, por lo que es difícil establecer una conclusión sobre los estudios realizados. En cuanto a la cuantificación, ésta no fue posible ya que se presentaron problemas en la cromatografía, sin embargo, se puede establecer las tendencias en los estudios realizados, cuando éstos muestran significancia estadística, ya que el programa cromatográfico desarrollado permite la detección adecuada de los analitos.

SUMMARY

Nonylphenol ethoxylate and nonylphenol extraction from aqueous matrices using a rotating disk system with a dual phase containing carbon nanotubes and polydimethylsiloxane

Nonylphenol ethoxylate and nonylphenol are compounds used as non ionic surfactants. Nonylphenol has caused great concern due to its effect as endocrine disruptor. This effect has been specially appreciated in aquatic media, so it is highly important their detection and control.

Nowadays several samples, in which these compounds are found at trace level, are controlled so it is necessary to carry out an extraction/preconcentration step before quantification.

In this context, it is proposed a new extraction technique: rotating disk sorptive extraction which employs a stationary phase immobilized over a Teflon disk. Traditionally in this technique a polydimethylsiloxane (PDMS) phase has been used for extraction of low polarity organic compounds. In this study a dual extraction phase is proposed which contain multiwall carbon nanotubes (MWNTs) and PDMS. This dual phase was assessed and the results were compared with those obtained using a pure PDMS phase. The dual phase has been chosen because it has been previously probed that carbon nanotubes have excellent adsorbent properties, however its immobilization on the rotating disk, as single phase, was not feasible.

The experimental procedure involves three main steps: (1) analyte extraction from the aqueous matrix (2) liquid desorption with methanol as elution solvent and (3) detection and quantification of the analytes through GC-MS.

The results provide us only qualitative information and show that the dual phase behavior is similar to the observed in a phase made of PDMS pure, when the phase thickness was compared. Unfortunately mostly of the comparisons have no statistical significance, so it is hard to reach a conclusion about the developed study.

Quantification was not possible due to some problems observed with chromatography; nevertheless, it is possible to establish some tendencies, when results show statistical significance, because the developed chromatographic method allows adequate analyte detection.

1. INTRODUCCIÓN

La motivación para realizar este trabajo se debe a la necesidad de ampliar los estudios realizados con una novedosa técnica de extracción- preconcentración de analitos desde matrices acuosas.

A continuación se describe brevemente a los analitos elegidos y se mencionan los antecedentes relevantes que llevan a la formulación de la hipótesis de este trabajo.

1.1. Descripción y usos de nonilfenol y nonilfenol etoxilato

El nonilfenol etoxilato (NP-Et) es un compuesto que pertenece a la familia de los alquilfenol etoxilatos (APEs) los cuales han sido empleados como surfactantes no iónicos en diferentes productos industriales, domésticos y agrícolas (Vincent, 2009). Tanto en plantas de tratamiento de aguas como en el ambiente los APEs se degradan generando APEs de cadenas más cortas y alquilfenoles (APs), tales como el nonilfenol (NP), todos estos compuestos son considerados más persistentes y tóxicos que los APEs de los que provienen (Ying, 2002). Además de ser materia prima y producto de degradación de los APEs, el nonilfenol se ha encontrado como producto liberado desde los tubos de poliestireno utilizados en procedimientos de rutina en laboratorios (Vincent, 2009). En la figura 1 se muestra la estructura química de NP y NP-Et.

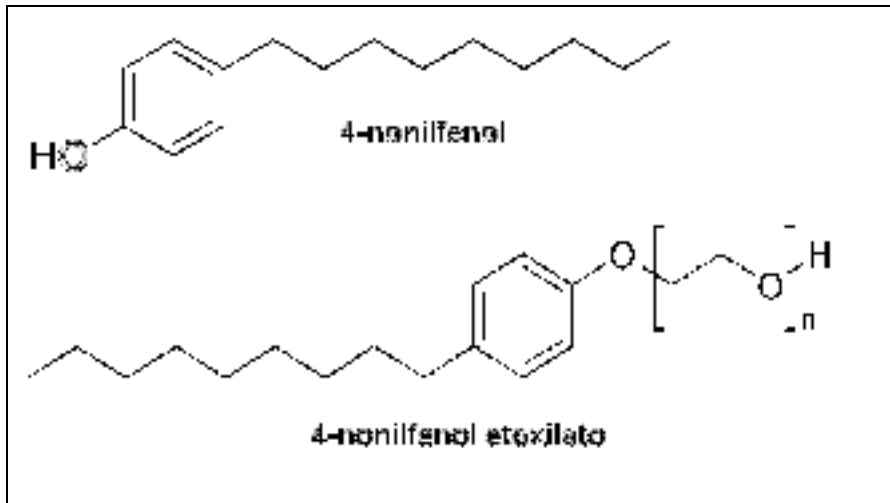


Figura 1 Estructuras químicas NP y NP-Et

Para comprender el comportamiento de estos compuestos en las diferentes fases del ambiente (aire, agua, suelo) es importante conocer algunas de sus propiedades fisicoquímicas. En la tabla 1 se detallan algunas propiedades para NP y NP-Et (Ying, 2002), para este último se listan los datos para el mono, di y tri etoxilato, que están presentes en la mezcla técnica que se utiliza en esta tesis.

Tabla 1 Propiedades de NP y NP-Et

Nombre compuesto	Peso molecular (g/mol)	Solubilidad en agua (mg/l a 20.5°C)	Log K _{OW}
Nonilfenol	220	5,43	4,48
Nonilfenol monoetoxilato	264	3,02	4,17
Nonilfenol dietoxilato	308	3,38	4,21
Nonilfenol trietoxilato	352	5,88	4,20

Debido a su baja solubilidad en agua y a los valores del logaritmo del coeficiente de partición octanol-agua ($\text{Log } K_{OW}$) se espera que exista una mayor concentración de estos compuestos en sedimentos que en el agua que les rodea, de hecho se ha encontrado que en los sedimentos las concentraciones son mayores en 1-3 órdenes de magnitud respecto a lo encontrado en agua (Thiele, 1997).

1.2. Degradación de APEs

Estos compuestos llegan al ambiente principalmente por la vía industrial y por los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas y han sido detectados en aire, agua, sedimentos, suelos y biota (Ying, 2002). También se han realizado estudios que indican la presencia de NP en alimentos (Guenther, 2002)

La degradación de los APEs ocurre por acción microbiana, en la figura 2 se muestra un esquema general de los caminos que puede tomar la biodegradación de los APEs en una planta de tratamiento de aguas (Thiele, 1997).

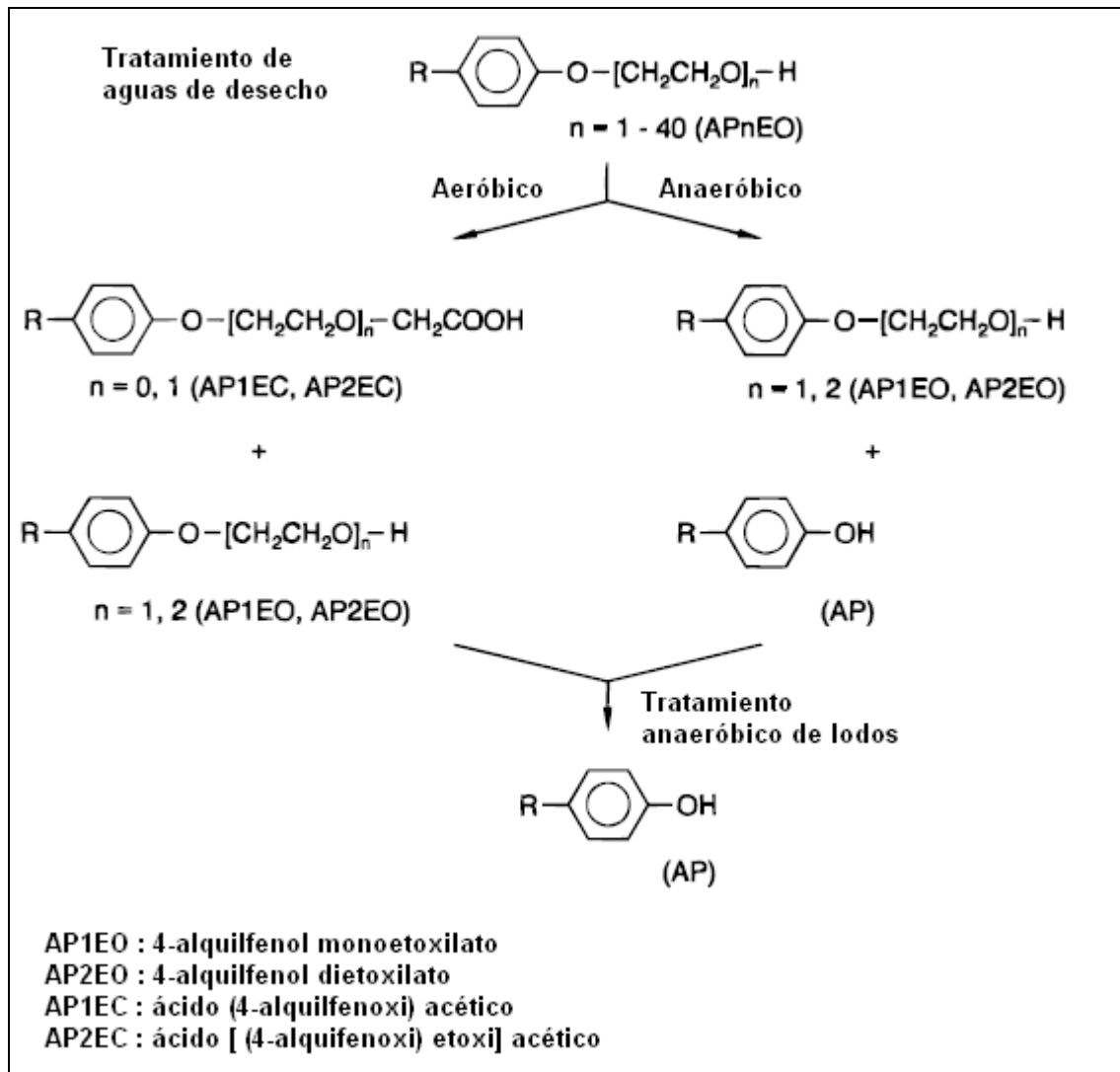


Figura 2 Rutas de la biodegradación de APes

1.3. Efectos de NP en organismos

El nonilfenol es considerado disruptor endocrino, principalmente por que es capaz de imitar al estrógeno, que es la hormona ligada a las características sexuales secundarias.

Los organismos acuáticos son los principales afectados por exposición a NP, diversos estudios han mostrado el fenómeno de la “femenización” de peces. Por ejemplo, se ha

demostrado que en presencia de NP aumentan las concentraciones de vitellogenina, un tipo de proteína que normalmente es encontrada sólo en peces hembra (Vitali, 2004).

También se han estudiado los efectos del nonilfenol en otros organismos, se ha visto que la exposición a este compuesto en varias generaciones de ratas, produce alteraciones en los riñones tanto en hembras como en machos, además en las hembras se acelera la apertura de la vagina, lo cual es un signo de madurez en las ratas (Vincent, 2009).

1.4. Nanotubos de Carbono

En el año 1991 Sumio Iijima presentó un trabajo sobre la preparación de un nuevo tipo de estructuras de carbono, las cuales fueron descritas como tubos de carbono grafito, en una escala molecular, que pueden ser consideradas como láminas de grafeno en forma de cilindro; estas estructuras recibieron el nombre genérico de nanotubos de carbono (CNTs) y pueden ser clasificados en dos grandes grupos: nanotubos de carbono de pared simple (SWNT) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWNTs). Estos compuestos poseen una serie de características que los han convertido en objeto de estudio en diversos ámbitos de la ciencia, entre algunas de sus propiedades se pueden nombrar: alta conductividad térmica, resistencia sin deformación a altas presiones, propiedades eléctricas de conductores o semiconductores, dependiendo del arreglo de las capas de grafeno, entre otras. En el campo de la química analítica, estos compuestos han sido investigados y utilizados para mejorar detectores en electroquímica, como fase estacionaria en cromatografía y como sorbentes en la extracción en fase sólida (SPE) y micro-extracción en fase sólida (SPME) (Ravelo-Pérez, 2010).

Respecto de sus atributos como material sorbente se ha propuesto que las interacciones de tipo no covalente que pueden existir entre CNTs y analitos incluirían las de tipo iónico, enlace de hidrógeno, del tipo π - π y el efecto hidrofóbico. (Valcárcel, 2008). Sobre este último efecto, diversos estudios han mostrado que los CNTs son

buenos adsorbentes para compuestos orgánicos hidrofóbicos, esto se puede comprender al considerar que los CNTs tienen gran área superficial y son altamente hidrófobos (Chen, 2007). Sin embargo, como ya fue mencionado existen otras interacciones entre CNTs y distintos compuestos, convirtiéndose en adsorbentes útiles tanto para compuestos de tipo apolar, cuando se trabaja con nanotubos no funcionalizados, y compuestos polares, para los cuales se utiliza los CNTs funcionalizados (Ravelo-Pérez, 2010). Los estudios realizados en torno a la funcionalización de los CNTs son múltiples, en este tema se reconocen principalmente dos formas de funcionalización: (1) la covalente, en que se han agregado desde pequeños grupos funcionales hasta polímeros, tanto en lo que se conoce como extremos de los nanotubos así como a lo largo de toda la estructura tubular, y (2) la no-covalente, donde destaca el uso de surfactantes. (Harris, 2009)

En el año 2003, fue publicada una investigación en la que se utilizó MWNTs no funcionalizados como adsorbentes en SPE para determinar bisfenol-A, 4-n-nonilfenol y 4-tert-octilfenol en matrices acuosas (Cai, 2003), los resultados indican que existe una eficiencia de extracción que en el caso de los compuestos más apolares es igual a lo que se obtiene con una fase convencional como C_{18} y en el caso del bisfenol-A la extracción es mayor con MWNTs.

1.5. Historia y fundamento teórico de la extracción por sorción en disco rotatorio (RDSE)

La determinación de compuestos orgánicos en diferentes matrices acuosas requiere de un paso de pre-concentración o enriquecimiento para que los analitos puedan ser separados y detectados, por ejemplo, por cromatografía gaseosa (GC) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En las últimas décadas se han desarrollado técnicas de enriquecimiento de muestras que tienden a minimizar el consumo de solventes orgánicos (Prieto, 2010), lo que las hace menos “contaminantes” que otras técnicas más antiguas tal como la extracción líquido-líquido, que a pesar de ser una buena técnica en cuanto a eficiencia presenta la desventaja de la gran cantidad de solvente que es utilizado.

Entre las técnicas desarrolladas con el enfoque de menor consumo en solvente, se encuentra la microextracción en fase sólida (SPME) en la que una capa de polidimetil siloxano (PDMS), o de alguna otra fase, cubre una fibra de sílica fundida de un aparato similar a una jeringa. La ventaja es que este sistema puede ser introducido directamente en la muestra y luego en algún instrumento que permita la desorción térmica de los analitos y su posterior determinación. A pesar de ser una técnica de extracción rápida y simple, se ve limitada por la pequeña cantidad de fase que se utiliza para recubrir, lo que resulta en una baja eficiencia de extracción. Es así como se introdujo una nueva técnica llamada extracción por sorción en barra de agitación (SBSE) (Baltussen,1999 a). En SBSE la cantidad de PDMS es mayor lo que permite alcanzar una mayor eficiencia. En la figura 3 se muestra un esquema de SPME y SBSE.



Figura 3 Esquemas de SPME y SBSE

Las técnicas de SBSE y SPME tienen en común que son extracciones por sorción, lo que significa que los analitos son extraídos desde la matriz a una fase líquida no-miscible. La fase más utilizada es PDMS, entre sus características se encuentra que los analitos no son retenidos en una superficie activa, sino que son particionados (o sorbidos) en el interior (Baltussen, 1999 b), además el PDMS es termoestable, por lo que puede ser utilizado en un amplio rango de temperaturas (llegando hasta 320°C).

La teoría involucrada en estas técnicas se basa en que los coeficientes de partición entre PDMS y agua ($K_{PDMS/W}$) son proporcionales a los coeficientes de partición octanol-agua (K_{OW}) (Baltussen, 1999 a). Teniendo en cuenta esta aproximación, se puede establecer la siguiente relación:

$$K_{OW} \approx K_{PDMS/W} = \frac{C_{PDMS}}{C_W} = \frac{m_{PDMS}}{m_W} \times \frac{V_W}{V_{PDMS}} \quad [1]$$

Donde C_{PDMS} y C_W son las concentraciones en las fases PDMS y agua, respectivamente; m_{PDMS} y m_W representan la masa del analito en las fases PDMS y agua; y V_{PDMS} y V_W corresponden al volumen de PDMS y agua, respectivamente.

Si se denomina a la razón de fase como β , la cual es igual a V_W / V_{PDMS} , la ecuación [1] puede ser reescrita como:

$$\frac{K_{OW}}{\beta} = \frac{m_{PDMS}}{m_W} = \frac{m_{PDMS}}{m_0 - m_{PDMS}} \quad [2]$$

Donde m_0 corresponde a la cantidad total de analito presente inicialmente en la muestra acuosa. Por lo que a partir de la ecuación [2] se establece la eficiencia de extracción o recuperación, R , según la ecuación [3]:

$$R = \frac{\frac{K_{OW}}{\beta}}{1 + \frac{K_{OW}}{\beta}} \quad [3]$$

De esta última ecuación se observa que la recuperación teórica depende de la razón entre el coeficiente de partición y el factor beta, es decir, la razón entre los volúmenes de agua y PDMS.

Además de la influencia de las variables mencionadas anteriormente, se ha establecido que el tiempo de equilibrio (t_e) del analito entre la fase acuosa y el PDMS depende del espesor de la capa estacionaria (δ), del coeficiente de difusión de la solución (D), del coeficiente de distribución de la solución (K_d) y del espesor de la fase de PDMS (P_t) según la ecuación [4] (Bruheim,2003):

$$t_e = \frac{3\delta K_d P_t}{D} \quad [4]$$

Otro parámetro importante tiene relación con la razón de cambio de la cantidad de analito extraída en el tiempo (dn/dt) la cual depende del área superficial de la fase (A), del espesor de la capa estacionaria (δ), del coeficiente de difusión de la solución (D) y de la concentración inicial del analito en la matriz (C), en la ecuación [5] se observa la relación con cada variable (Bruheim,2003):

$$\frac{dn}{dt} = \frac{DA}{\delta} C \quad [5]$$

Con estos antecedentes se prevé la necesidad de una técnica en la que la fase de PDMS no se encuentre limitada a pequeños volúmenes, ni áreas, en este sentido la SBSE fue un avance respecto de SPME, pero aún presenta parte de estas limitaciones. Una nueva técnica basada en los principios ya expuestos ha sido desarrollada y se ha denominado extracción por sorción en disco rotatorio (RDSE) (Richter, 2009).

La RDSE consiste de un disco de teflón que puede girar ya que en su interior posee un magneto, sobre este disco se adhiere una fase de PDMS que puede variar en espesor y en diámetro, esto último dependiendo del tamaño del disco. Al girar el disco se favorece la migración de los analitos desde la matriz líquida hacia la fase de PDMS que posee el disco, donde se retienen los analitos y posteriormente por elución con un solvente apropiado éstos son desorbidos. La figura 4 muestra un esquema del disco rotatorio:

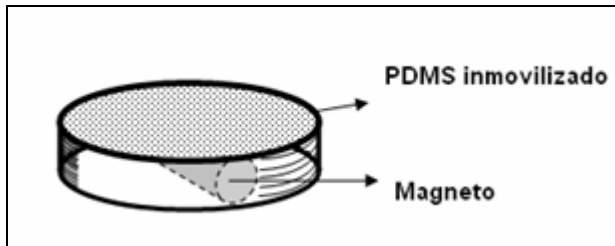


Figura 4 Diseño disco rotatorio

Entre las ventajas que RDSE presenta sobre SBSE se encuentra que al utilizar un disco es posible inmobilizar una fase de PDMS con un área superficial mayor a la que se puede utilizar en SBSE, además en RDSE la fase no se encuentra en contacto directo con la superficie sobre la que el disco gira lo que permite su utilización a mayores velocidades de agitación sin que se dañe la fase, todo esto facilita la transferencia de masa del analito hacia la superficie de PDMS.

El desarrollo de esta técnica es muy nuevo por lo que se puede seguir explorando tanto en el ámbito de los analitos y matrices en los que se puede aplicar como en los tipos de fases que podrían utilizarse como alternativa a PDMS.

1.6. Hipótesis de trabajo

En consideración de los antecedentes presentados y con la intención de realizar el estudio con una fase distinta en RDSE, se propone que la utilización de una fase mixta compuesta de polidimetilsiloxano y nanotubos de carbono multipared mejorará en comparación con una fase compuesta exclusivamente de PDMS la extracción-preconcentración para nonilfenol y nonilfenol etoxilato desde matrices acuosas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Implementar un método analítico de extracción-preconcentración de nonilfenol y nonilfenol etoxilato desde matrices acuosas mediante RDSE utilizando una fase mixta compuesta por PDMS y MWNTs.

2.2. Objetivos Específicos

- Implementar un método cromatográfico adecuado para la identificación y cuantificación de NP y NP-Et.
- Estudiar las variables que influyen en el proceso de extracción-preconcentración.
- Comparar fase mixta (PDMS+MWNTs) con fases de MWNTs y fases de PDMS.
- Aplicar el método de extracción-preconcentración en análisis de muestras reales.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

- Matraces aforados de 2, 5, 10, 20 ml
- Vasos de precipitado 10, 50, 100 ml
- Tubos de ensayo
- Jeringas Hamilton® de 10, 100, 1000 µl
- Viales de vidrio de 60 ml con tapa, Genesys
- Viales de vidrio ámbar de 12 ml con tapa, Genesys
- Viales de vidrio de 2 ml con septa, Merck
- Vidrios de reloj
- Vasos de teflón de 100 ml
- Micropipetas Boeco® 50-200 µl y 200-1000 µl
- Puntas para micropipeta
- Discos de teflón de 1,5 y 3 cm de diámetro con magneto
- Termómetros

3.2. Reactivos

- Metanol grado HPLC, Merck
- Agua Mili-Q
- 4-n-Nonilfenol, estándar analítico Sigma-Aldrich
- 4-Nonilfenol etoxilato (técnico), Dr Ehrenstorfer
- Fenantreno d10, estándar interno Accustandard
- Polidimetilsiloxano hidroxilado terminado (PDMS-OH), Aldrich
- Polimetilhidrosiloxano (PMHS), Aldrich
- Metiltrimetoxisilano 98 % (MTMOS), Aldrich.
- Ácido trifluoroacético (TFA), Uvasol®, Merck
- PDMS comercial, Sylgard® 184 silicone elastomer Kit
- Nanotubos de carbono multipared (MWNTs) largo, diámetro externo 10-30 nm, SES research
- Acetona para cromatografía fase líquida, Merck
- Nitrógeno gas extrapuro 99,995 % AGA
- Helio gas extra puro 99,995% AGA

3.3. Equipos

- Balanza analítica Precisa 125 A Quality 0,0001 g
- Vortex Mixer KMC-1300, Vision Scientific
- Agitador magnético Heidolph MR 3002 0-1250 rpm
- Concentrador para Nitrógeno
- Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas con trampa iónica Varian 431-GC Varian 220-MS

3.4. Preparación de fases para RDSE

3.4.1. Fase MWNTs

Con el objeto de comprobar la adsorción/desorción de los analitos sobre los CNTs inicialmente se utiliza una fase compuesta exclusivamente de MWNTs de diámetro externo 10-30 nm, para esto una cantidad determinada de CNTs son inmovilizados directamente sobre el disco utilizando cinta adhesiva de doble contacto ,10 mg de MWNTs para disco grande y 5 mg para disco chico .

3.4.2. Fase PDMS con Kit comercial

Se utiliza el kit disponible en el comercio Sylgard® 184 silicone elastomer, el cual consta de un agente curante y una base los que se mezclan en una proporción en masa de 1:10, respectivamente. La mezcla se realiza en un tubo de ensayo, una vez que se han agregado los dos reactivos se agita por unos 30 segundos en vórtex, luego la mezcla se deposita en un molde de teflón, el cual posee cavidades cilíndricas que tienen tres profundidades distintas: 1, 2 y 3 mm y cuyo diámetro es 1,5 cm, ver figura 5, en el caso de las fases para discos grandes se utilizaron dos moldes de acrílico con forma cilíndrica de 3 cm de diámetro y profundidad de 1 mm y 2 mm.

La mezcla vertida en el molde se deja reposar por 1 día para que gelifique adecuadamente, transcurrido este tiempo se retiran las fases y se adhieren con silicona fría al disco de teflón.

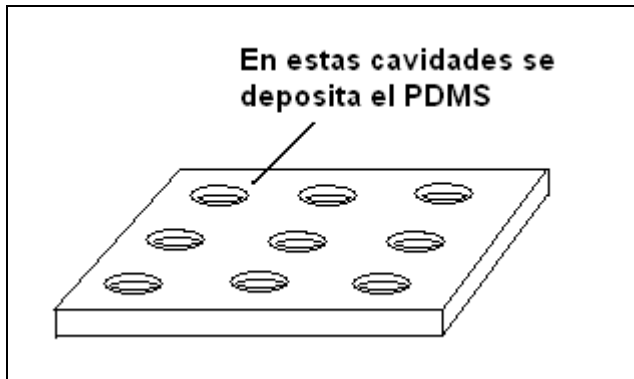


Figura 5 Esquema molde de teflón

3.4.3. Fase PDMS sol-gel (Liu, 2005)

Para preparar 500 μl de fase se procede de la siguiente manera: en un tubo de ensayo se vierte 300 μl de diclorometano, luego se agregan 200 μl de PDMS-OH, 50 μl de PMHS y 50 μl de MTMOS; esta mezcla es agitada por unos 10 segundos en vórtex. Luego, se agrega con precaución 50 μl de TFA (que contenga un 5% de agua) se agita en vórtex y la mezcla es vertida en el molde de teflón ya descrito. Luego de 45 minutos las fases son retiradas de los moldes y son colocadas en un desecador al vacío por un período de 8 horas, transcurrido este tiempo las fases son acondicionadas con una corriente de nitrógeno a una temperatura de 150°C por una hora. Una vez finalizado el acondicionamiento las fases pueden ser adheridas en el disco de teflón por medio de silicona fría.

3.4.4. Reacciones químicas en la síntesis de PDMS sol-gel

La síntesis de PDMS sol-gel puede ser explicada a través de unas pocas reacciones químicas que dan cuenta de los pasos principales en la polimerización (Chong, 1997). En la figura 6 se indican los reactivos, su estructura y función en la síntesis de PDMS.

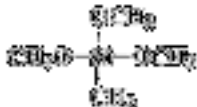
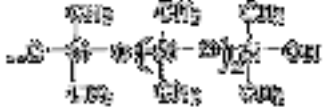
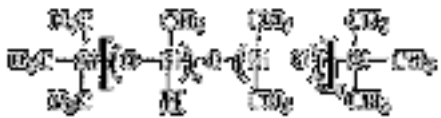
Componente	Función	Estructura química
Metiltrimetoxisilano (MTMOS)	Precursores Sol-gel	
Polidimetilsiloxano hidroxil terminal (PDMS-OH)	Agente de reticulante y agudura de polimerización	
Poli metilhidroxisiloxano (PMHS)	Agente de reticulante	
Ácido trifluoroacético (TFA)	Catalizador ácido	CF_3COOH

Figura 6 Reactivos PDMS sol-gel

En la figura 7 se muestran las principales reacciones que ocurren durante la síntesis de PDMS, las cuales pueden ser descritas por: (1) la hidrólisis del agente precursor, que es catalizada por el ácido (TFA) y (2) Policondensación de los productos hidrolizados.

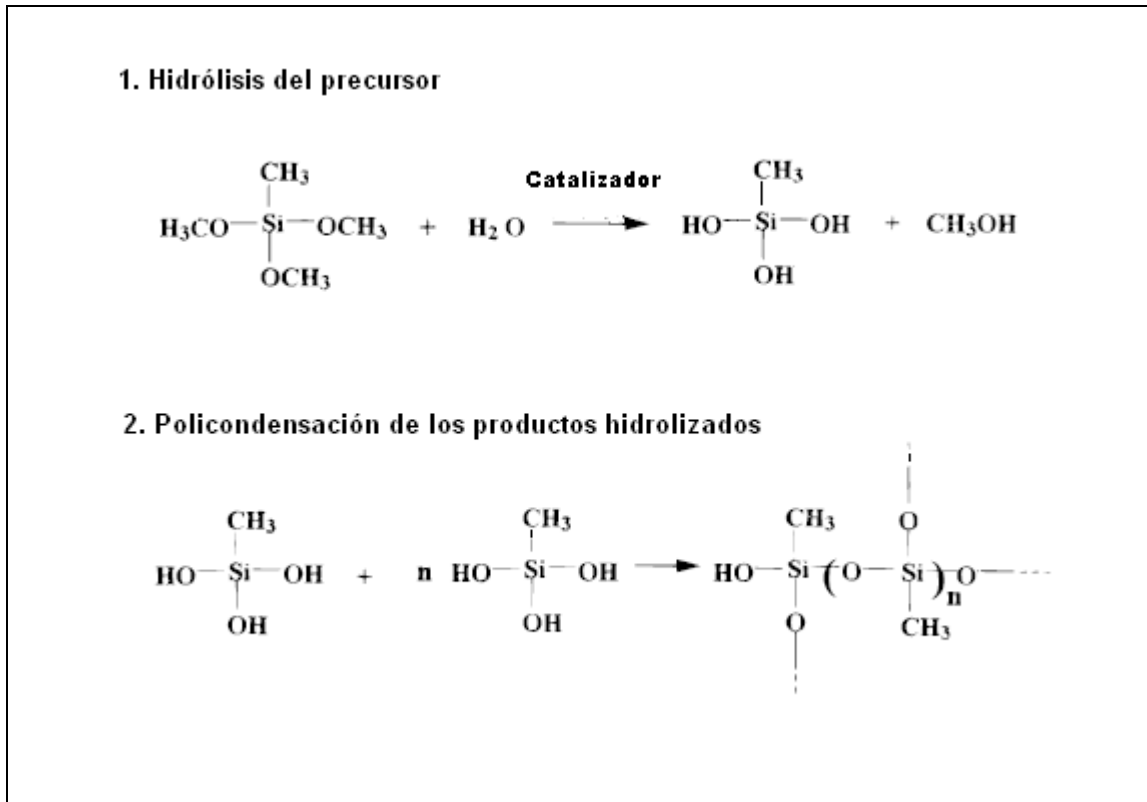


Figura 7 Principales reacciones en la síntesis de PDMS

3.4.5. Fase Mixta: PDMS y MWNTs

Al molde de teflón o acrílico, según sea el tamaño de la fase, se le agrega una cantidad determinada de MWNTs. Las masas utilizadas son: 2,5; 5; 7,5; 10 y 20 mg de MWNTs, para fases de 1 y 2 mm de profundidad. Luego se vierte el PDMS recién preparado sobre el molde, éste puede ser el PDMS comercial o el sol-gel dependiendo del estudio a realizar. Los volúmenes de PDMS agregados son 500 µl para la fase de 1mm de espesor y 750 µl para la fase de 2 mm de espesor. Una vez que se ha depositado el PDMS en el molde se deja reposar el tiempo necesario siguiendo los mismos pasos ya descritos según tipo de PDMS. En la figura 8 se muestra una fotografía que de izquierda a derecha muestra una fase mixta y una fase de PDMS sol-gel.



Figura 8 Fase Mixta y fase PDMS sol-gel

3.5. Métodos

3.5.1 Sistema general de extracción/desorción de muestra

Preparación de la muestra: en un vaso de teflón se vierte 100 ml de agua Milli-Q luego se agrega una alícuota de 100 μl de multiestándar de NP y NP-Et, preparado en metanol, de 10 mgL^{-1} , lo que deja en el sistema una concentración final de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ para los analitos.

Etapa de extracción (sorción): El disco con la fase elegida se sumerge en la muestra y se agita a 1250 rpm por el tiempo determinado según el ensayo a realizar.

Etapa de desorción: Una vez finalizado el tiempo de extracción se retira el disco y la solución remanente es descartada. Luego el disco se sumerge en metanol, el solvente de elución, se agita a 1250 rpm durante 15 minutos y a 40°C . Para disco chico el volumen de elución es de 10 ml y para disco grande es de 90 ml.

Etapa de concentración: El extracto de la desorción se concentra por evaporación con una corriente de N_2 hasta que alcanza un volumen de 1 ml. Luego se agrega una alícuota de 30 μl de estándar interno de concentración 30 mgL^{-1} , la solución es agitada y se trasvasija a los viales adecuados para su medición por GC-MS.

En la figura 9 se muestra un esquema general de las etapas de extracción y desorción, en la etapa de desorción se utiliza un baño con agua para mantener la temperatura a 40°C.



Figura 9 Esquema extracción- desorción

3.5.2. Método utilizado en GC-MS

La determinación de los analitos en las muestras se realiza mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas con trampa iónica en equipo Varian 431-GC Varian 220-MS, las condiciones de operación se detallan a continuación:

- Volumen de inyección: 2 μ l
- Modo: Splitless
- Gas de flujo columna: He (1ml/min)
- Temperatura inyector: 150°C
- Temperatura de inicio del horno: 120°C
- Rampa: 5 °C/min
- Temperatura final del horno: 230 °C
- Temperatura Fuente (trampa) :200°C

- Modo del detector: SIR
- Tiempo total : 22 minutos

Las masas características monitoreadas para analitos y estándar interno se muestran en la tabla 2, se utiliza la masa secundaria sólo en casos de duda y para verificar, pero en el cálculo de áreas se utiliza la masa principal.

Tabla 2 Masas características de: NP, NP-Et y estándar interno

Compuesto	Masa principal	Masa secundaria	Tiempo de retención (minutos)
4-n-Nonilfenol	107	220	16,4
4-Nonilfenol etoxilato	179	193	17,9-18,8
Fenantreno d-10 (estándar interno)	188	---	14,6

3.5.3. Determinación del límite de detección instrumental

Para la determinación de los límites de detección instrumentales se trabaja con una curva de calibración con tres niveles de concentración: 0,5;1,5 y 2,5 mgL⁻¹ (Ver Anexo A, tablas A1-A2), se ajusta al modelo lineal y se calcula la ecuación [5] :

$$R = a + bC \quad [5]$$

Donde R corresponde a la señal instrumental, C a la concentración, "a" es el intercepto y "b" es la pendiente.

Se calculan los parámetros analíticos de: sensibilidad analítica (S) y límite de detección (LD), según las siguientes ecuaciones (Baez, 1999)

$$S = \frac{S_{SIR}}{b} \quad [6]$$

$$LD = 3 \frac{S_{SIR}}{b} \frac{\sqrt{n-2}}{\sqrt{n-1}} \quad [7]$$

En donde $S_{S/R}$ es la desviación estándar de la regresión lineal y n se refiere al número de datos utilizados para el cálculo de la regresión lineal.

3.6. Estudios realizados

3.6.1. Estudio preliminar con MWNTs

Se utiliza una fase compuesta exclusivamente por MWNTs en disco chico y disco grande. El tiempo de extracción fue de 60 minutos. Se realizan 4 experiencias por cada disco, las que son agrupadas en set de experiencias 1 y 2, en el set 1 se agrupa la experiencia 1 y 2 que fueron realizadas en el mismo día, en el set 2 se agrupa las experiencias 3 y 4 que fueron realizadas el día siguiente. En cada set la segunda experiencia es el duplicado de la primera.

3.6.2. Estudio con fase mixta MWNTs – PDMS comercial

-Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs

Se utilizan fases compuestas por MWNTs en distintas cantidades y PDMS comercial. Las cantidades de MWNTs usadas fueron: 0, 2,5; 5 y 7,5 mg. Se emplearon discos chicos y grandes. El tiempo de extracción fue de 90 minutos.

3.6.3. Estudios con fase mixta MWNTs – PDMS sol-gel

-Variación tiempo de extracción

Se utiliza sólo disco chico en este estudio. La fase mixta tenía una cantidad de MWNTs de 20 mg. El tiempo de extracción varió entre: 15, 30, 120,360 y 960 minutos.

-Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs

Se utiliza sólo disco chico y una fase mixta con cantidades de MWNTs de: 0, 7,5 y 10 mg. El tiempo de extracción fue de 90 minutos.

-Comparación fases mixtas: PDMS-comercial y PDMS sol-gel

Se realiza la comparación con las fases de 0 y 7,5 mg de MWNTs utilizadas en el estudio con fase mixta MWNTs-PDMS sol-gel y además se utilizan fases sintetizadas con PDMS comercial con 0 y 7,5 mg de MWNTs. El tiempo de extracción fue de 90 minutos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Límites de detección instrumental

Los límites de detección (LD) para NP y NP-Et se muestran en la tabla 3, también se incluye la sensibilidad analítica para cada analito.

Tabla 3 Parámetros analíticos para NP y NP-Et

Parámetro analítico	NP	NP-Et
Sensibilidad (mgL ⁻¹)	0,012	0,011
LD (mgL ⁻¹)	0,44	0,41

Se observa que los límites de detección para ambos analitos son similares y adecuados para el nivel de concentración con la que se trabaja en los estudios de las variables del método de extracción.

4.2. Estudio preliminar con MWNTs

En las figuras 10 y 11 se observa que existe interacción entre los analitos y la fase MWNTs, lo que concuerda con un estudio realizado con esta fase sorbente, pero con la técnica de SPE (Cai, 2003). En este mismo estudio se propone que la interacción tendría relación con los arreglos hexagonales que adoptan los átomos de carbono en la estructura de los MWNTs, los que serían capaces de interactuar con el anillo bencénico del 4-nonilfenol, y por extensión se puede decir lo mismo para 4-nonilfenol etoxilato. De hecho, a nivel general, se ha confirmado que la sorción entre compuestos aromáticos y CNTs se debe principalmente a estas interacciones de tipo π - π (Lin, 2008).

De estas figuras también se aprecia que existe una mayor extracción en disco grande respecto a disco chico, esto se puede entender si se considera que el disco grande posee un área superficial mayor, lo que permite que existan más sitios activos para la adsorción de los analitos. Se ha representado sólo una primera desorción, ya que una

segunda desorción consecutiva tanto para disco grande como para disco chico representa un 10% de lo que es capaz de desorber en total el metanol desde la fase de MWNTs para el NP, en el caso del NP-Et la segunda desorción representa un 30 % del total (Anexo A, tabla A.5).

Si bien el trabajo involucra a los dos analitos se prefiere privilegiar a NP como compuesto guía, por lo que se trabajará con una desorción de 15 minutos a 40°C, que fue el tiempo para cada desorción en este estudio con MWNTs, estas condiciones se eligieron considerando trabajos previos con estos analitos y RDSE, pero con fase PDMS (Richter, 2009). Para evitar errores por exceso debido a posibles remanentes en la fase entre cada experiencia se lava el disco 2 veces con el mismo volumen de elución de metanol y por un tiempo de 15 minutos.

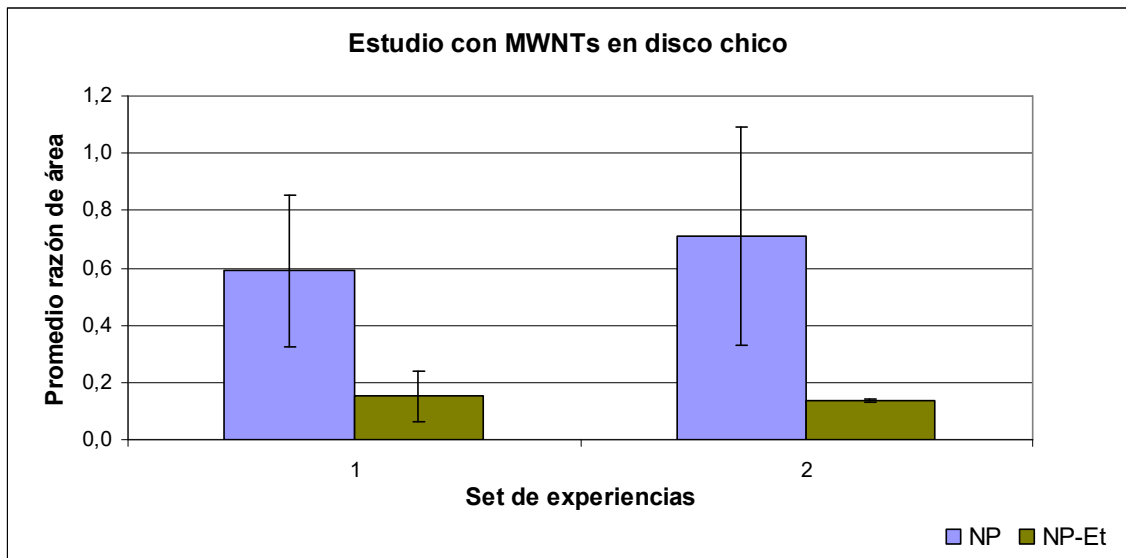


Figura 10 Estudio con fase MWNTs en disco chico para NP y NP-Et

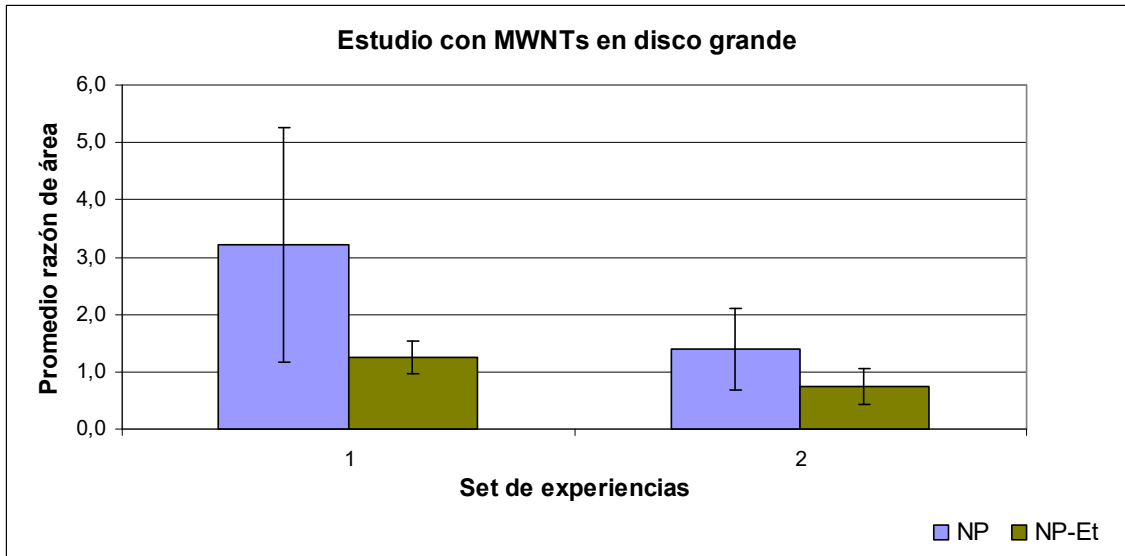


Figura 11 Estudio con fase MWNTs en disco grande para NP y NP-Et

Otro aspecto que destaca de estos gráficos es que existe una gran variabilidad para los set de experiencias, cada set está compuesto de 2 experimentos que fueron realizados el mismo día. Las barras de error que corresponden a la desviación estándar indican que especialmente para el NP existe gran variación. Comparando los coeficientes de variación (Anexo, tabla A.5), se ve que para ambos compuestos éstos son elevados, llegando incluso a un 64% en el caso de NP para disco grande en el set de experiencia 1. Esto puede explicarse porque la inmovilización de la fase de nanotubos de carbono no fue la apropiada y entre cada experiencia ocurrió el desprendimiento de pequeñas cantidades, no mensurables, de fase. Sin embargo, durante la realización de este trabajo no se encontró un adhesivo mejor que la cinta adhesiva de doble contacto, ya que ésta no presenta interacción con el sistema, factor que fue medido al probar una posible adsorción de los analitos sobre el adhesivo, lo cual fue verificado siguiendo el procedimiento de desorción y luego por determinación en GC-MS en donde no se observó ninguna señal perteneciente a los analitos. Todo esto contribuye a la falta de repetibilidad y replicabilidad de este sistema.

Ya que no se encontró un adhesivo adecuado para los CNTs, se propone el trabajo en una fase dual en la que los CNTs quedan dentro de la fase polimérica de PDMS. Aunque esto no ha sido realizado con MWNTs y no existen publicaciones a la fecha al respecto, se toma como base de esta iniciativa el trabajo con fases duales para SBSE con PDMS y carbón activado (Bicchi, 2005).

4.3. Estudio con fase mixta MWNTs – PDMS comercial

4.3.1. Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs

En las figuras 12 y 13 se muestra la comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs para disco chico y grande, se observa que para ambos discos y para ambos analitos la fase de espesor 1 mm es mejor respecto a la de 2 mm, cuando la masa de MWNTs es de 5 y 7,5 mg en disco chico y con 2,5 y 5 mg en disco grande. En la fase mixta esto resulta beneficioso ya que al ser una fase dual el mecanismo de extracción por sorción se vuelve más complejo e involucra tres pasos principales: (1) la sorción del analito en la fase PDMS desde la fase acuosa, (2) la difusión de éste a través de la capa de PDMS y (3) la adsorción sobre la fase interna, en este caso MWNTs (Bicchi, 2005). Por lo que si la capa de PDMS es más delgada se espera que la interacción con la fase interna efectivamente se produzca.

Al comparar las fases mixtas con la fase compuesta exclusivamente de PDMS, que en los gráficos se encuentra representada como 0 mg de MWNTs, se observa que la fase mixta presenta una mejora respecto de la fase PDMS especialmente con la fase mixta que posee 5 mg de MWNTs en disco chico.

En el caso de las fases compuestas exclusivamente de PDMS, se espera que un espesor de fase mayor, que implica un mayor volumen, mejore la recuperación esto al considerar la ecuación de recuperación teórica (Baltussen, 1999 a), lo cual se cumple para el NP en disco chico y para el NP-Et en disco grande. Llama la atención que justamente con la fase de PDMS exista una gran variabilidad en los resultados

obtenidos, si se considera que esta fase ya ha sido probada con estos compuestos en otros estudios y con buena repetibilidad (Richter, 2009).

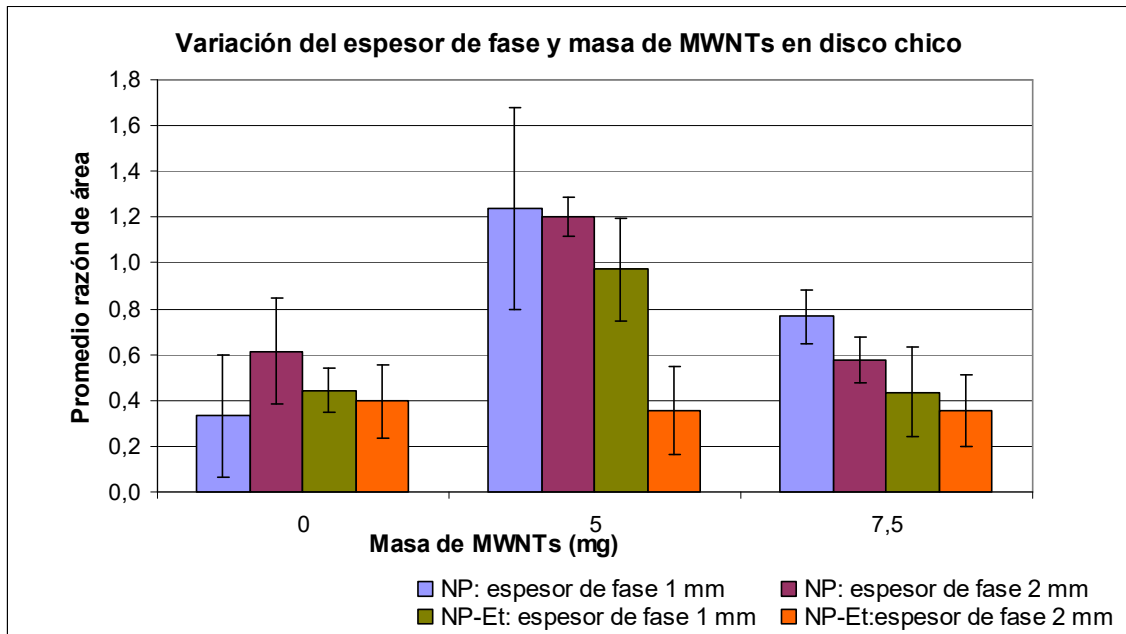


Figura 12 Comparación en fase MWNTs-PDMS comercial: espesor de fase (1 y 2 mm) y masa MWNTs en disco chico

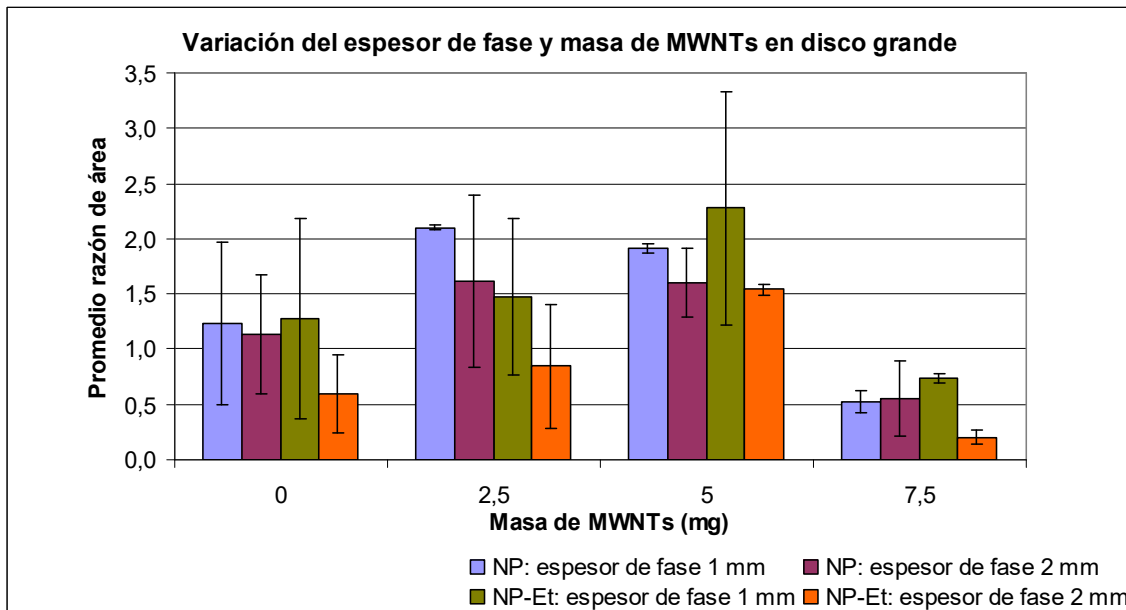


Figura 13 Comparación en fase MWNTs-PDMS comercial: espesor de fase (1 y 2 mm) y masa MWNTs en disco grande

Lamentablemente, la gran variabilidad no sólo afectó a la fase de PDMS, sino que también la fase mixta presentó estos problemas, esto se ve claramente en ambos gráficos al observar la desviación estándar, por lo que las diferencias encontradas en su mayoría no son estadísticamente significativas (Anexo B). Al observar los coeficientes de variación (Anexo A, tabla A.10) para NP-Et éstos en promedio bordean el 40%. Si bien para NP en algunos casos se obtuvieron buenos coeficientes de variación 0,89%-2%, también se presentaron otros muy elevados.

4.4. Estudios con fase mixta MWNTs – PDMS sol-gel

4.4.1. Variación tiempo de extracción

En la figura 14 se observa que la fase mixta sigue una tendencia similar a la fase compuesta exclusivamente de PDMS. El tiempo de equilibrio se alcanza a partir de los 360 minutos tanto para la fase compuesta exclusivamente de PDMS como para la fase mixta, aunque se puede pensar que para PDMS este valor se desvía y que esta fase alcanza el equilibrio un poco antes. Lamentablemente en este estudio no fue posible realizar la medición de los replicados por lo que no se maneja el nivel de precisión en los resultados obtenidos y por ende no se podría descartar ningún punto de la curva con certeza.

embargo, al tener en cuenta el estudio de tiempo de extracción puede que este resultado se deba a que aún no se ha llegado al tiempo de equilibrio.

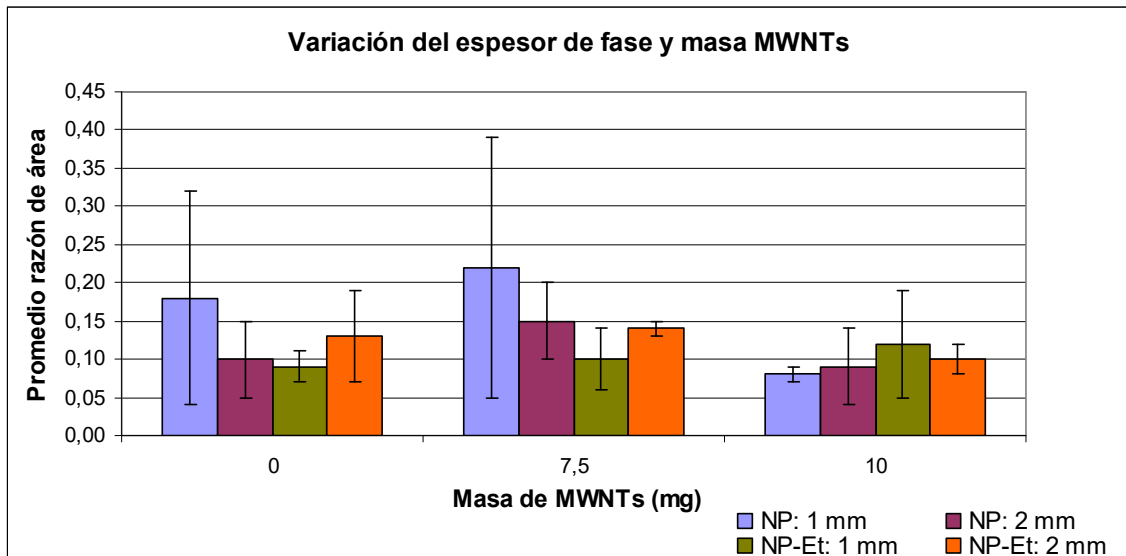


Figura 15 Comparación en fase MWNTs-PDMS sol-gel: espesor de fase (1 y 2 mm) y masa MWNTs en disco chico

Este estudio también se vio afectado por la baja precisión, lo que se ve claramente desde el gráfico, en el cual se observa que las diferencias no son estadísticamente significativas. Para el NP se obtuvieron valores del coeficiente de variación que llegaron casi al 80 % para la fase de 1 mm, siendo el más bajo el de la fase de 10 mg de MWNTs con un coeficiente de variación (CV) de 18% (Anexo A, tabla A.16). Para la fase de 2 mm se obtuvieron CV que en promedio bordean el 45%.

4.5. Comparación fases mixtas: PDMS-comercial y PDMS sol-gel

En la figura 16 se observa que la fase sol-gel presenta mayores razones de área que la fase PDMS comercial, tanto para NP como para NP-Et, siendo más significativa la diferencia para NP. En un trabajo anterior se estableció que la fase comercial presenta una superficie extremadamente lisa y compacta lo que dificultaría la difusión de los

analitos hacia el interior de ésta, no ocurriría lo mismo con el PDMS sol-gel que presenta una estructura más porosa e irregular en la superficie (Pérez, 2010).

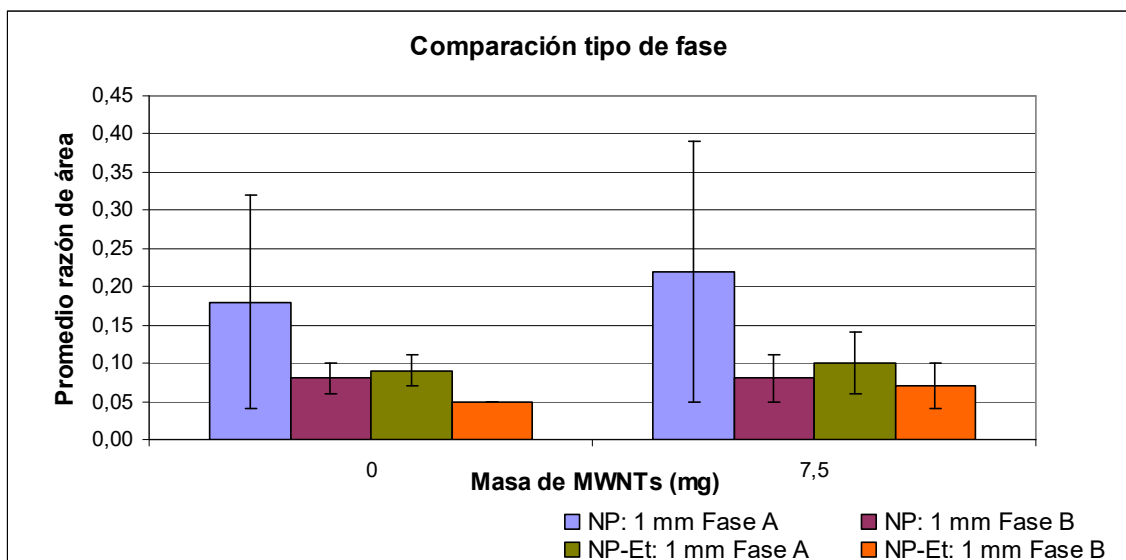


Figura 16 Comparación entre fases con PDMS sol-gel (fase A) y PDMS comercial (Fase B)

Este estudio se realizó en paralelo con el estudio de comparación de espesor de fase con PDMS sol-gel. Por lo tanto, para la fase con PDMS sol-gel los coeficientes de variación corresponden a los ya mencionados y para la fase comercial se obtuvieron coeficientes de variación de un 18% para la fase compuesta sólo de PDMS y un CV de 37,6% para la fase mixta.

4.6. Estudio de probables fallas en el programa cromatográfico

En vista de los resultados mostrados hasta el momento, en los que sin excepción se presenta una gran dispersión, se comenzaron a estudiar las posibles fuentes de error, se realizaron una serie de ensayos para mejorar el problema de la precisión, pero éstos no fueron exitosos (Anexo C), se buscaba el error en procedimientos y en otros factores reportados en literatura, finalmente se pensó que el problema radicaba en la cromatografía, factor que no se había considerado ya que se había implementado de tal forma que los picos observados eran nítidos y agudos.

Como antecedente se toma en cuenta lo obtenido en la inyección de estándares. En la tabla 4 se muestra como para un estándar de $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ se obtienen áreas totalmente distintas al comparar tres inyecciones en distintos días.

Tabla 4 Inyecciones en distintos días para estándar de $0,5 \text{ mgL}^{-1}$

Estándar $0,5 \text{ mgL}^{-1}$	Áreas			Razón de área	
	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
Fecha inyección					
04-05-2010	20850	4320	10943	1,91	0,39
05-05-2010	10341	3064	29704	0,35	0,10
10-05-2010	3640	1092	6097	0,60	0,18

EI: Fenantreno, estándar interno.

Se observa que en dos días consecutivos, el 4 y 5 de mayo, las áreas determinadas son totalmente distintas y no siguen un patrón para todos los compuestos, como por ejemplo que una fuese el doble de la otra. Si bien es poco probable obtener exactamente las mismas áreas en distintas inyecciones y distintos días, se espera que al normalizar con el estándar interno las razones de área sean similares, lo que tampoco ocurre.

En la figura 17, se muestra una imagen de un cromatograma para un estándar de $2,5 \text{ mgL}^{-1}$ de NP y NP-Et preparado en metanol, en éste se observan señales bien definidas para cada compuesto por lo que el problema no es por superposición de señales ni por que éstas no se vean claramente.

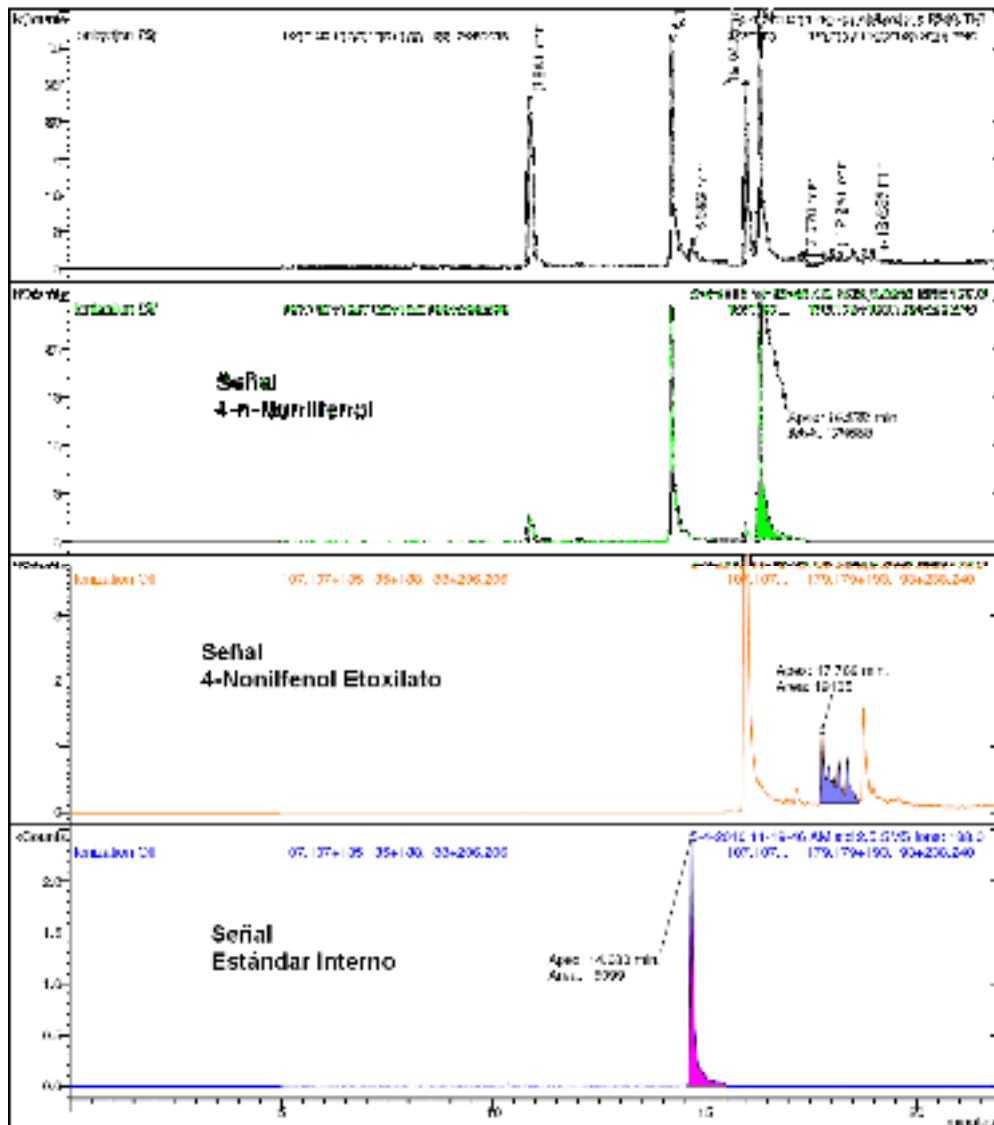


Figura 17 Cromatograma para estándar de $2,5 \text{ mgL}^{-1}$ de NP y NP-Et

Se probó la replicabilidad del método cromatográfico, para esto se realizaron 10 inyecciones consecutivas de un estándar de 10 mgL^{-1} (Anexo A, tabla A.17), los resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 5 Replicabilidad del método cromatográfico

	Áreas			Razón de área	
	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
Promedio	4601,60	1085,30	3852,60	1,19	0,28
SD	1997,84	412,73	866,74	0,42	0,08
CV	43,42	38,03	22,50	35,19	29,81

Se observa de la tabla 5, que el estándar interno presenta un coeficiente de variación relativamente alto, considerando que éste se agrega después de todo el proceso de extracción- concentración de las muestras por lo que su efecto como normalizador de errores se ve afectado, por esta razón se decide trabajar con las razones de área y no con la cuantificación que involucra el uso de estándares para una curva de calibración. En vista de los resultados y del cromatograma, lamentablemente no se puede concluir que la falla sea del programa en sí, puede estar relacionada más bien con el desgaste del equipo o con algún problema del estándar interno, ya que se prepararon soluciones nuevas de estándar y el problema se originaba de igual forma.

5. CONCLUSIONES

Esta sección se estructura dando a conocer las conclusiones en la siguiente forma: primero por alcance de los objetivos planteados y finalmente comentarios sobre nuevas investigaciones en trabajos futuros.

De los Objetivos

- Se ha implementado un método de extracción- preconcentración para nonilfenol y nonilfenol etoxilato mediante la utilización de una fase mixta compuesta por PDMS y MWNTs. El método consta de una etapa de extracción desde la matriz acuosa y una etapa de desorción con metanol, se ha demostrado que la extracción y desorción con esta fase ocurre para los analitos elegidos ya que fueron detectados por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.
- Se estudió la variable correspondiente al espesor de las fases, que tiene relación con el volumen de PDMS utilizado, aparentemente para la fase mixta es mejor una fase de 1 mm de espesor que una de 2 mm de espesor, lamentablemente en la mayoría de los casos la diferencia no es significativa estadísticamente.
- La variable tiempo también fue estudiada, observándose que la fase mixta sigue una tendencia similar a la de una fase de PDMS, alcanzando el tiempo de equilibrio a los 360 minutos.
- Se comparó en todos los estudios la fase mixta con la fase PDMS y no se observa un mejoramiento importante en la extracción- preconcentración de los analitos, por lo que no se verificaría la hipótesis planteada en este trabajo.

- No se pudo comparar entre la fase mixta y fase MWNTs, ya que no fue posible inmovilizar de manera adecuada en el disco rotatorio a los nanotubos de carbono. Sin embargo, se demostró que existe interacción entre los analitos y MWNTs.
- Se desarrolló un método cromatográfico que sirve para la detección de los analitos mediante espectrometría de masas. Las señales de los analitos aparecen resueltas y aisladas. Sin embargo, el método desarrollado no se encuentra optimizado y debido a la gran variabilidad que presenta, no se observaron con claridad las tendencias de las variables estudiadas en el método de extracción.

Nuevas áreas de investigación

- Se recomienda la optimización del programa cromatográfico de modo que sea posible la cuantificación de los analitos.
- Se propone la búsqueda de una inmovilización adecuada de MWNTs sobre el disco, sin que sea necesario el soporte polimérico del PDMS, para así evaluar únicamente el comportamiento de los nanotubos de carbono como fase de sorción en el sistema RDSE.
- Se propone un estudio sobre una fase mixta con PDMS y MWNTs que esté conformada por enlaces formales entre este polímero y los nanotubos de carbono, claramente este estudio requiere mucho más tiempo ya que primero se debe establecer un mecanismo de unión química entre ambos compuestos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Baez M., Zincker J., Parámetros de calidad analítica de un método de determinación de multiresiduos de plaguicidas por HPLC-DAD, Boletín Sociedad Chilena de Química, 44(3): 357-366, 1999.
- Baltussen E., Sandra P., David F., Cramers C., Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles, J. Microcolumn Separations, 11(10): 737-747, 1999 a.
- Baltussen E., Sandra P., David F., Janssen H., Cramers C., Study into the Equilibrium Mechanism between Water and Poly(dimethylsiloxane) for Very Apolar Solutes: Adsorption or Sorption? , Anal. Chem. 71: 5213-5216, 1999 b.
- Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Rubiolo P., Sgorbini B., David F., Sandra P., Dual-phase twistors: A new approach to headspace sorptive extraction and stir bar sorptive extraction, J. Chromatogr A, 1094:9-16, 2005.
- Bruheim I., Liu X., Pawliszyn J., Thin-Film Microextraction, Anal. Chem., 75:1002-1010, 2003.
- Cai Y., Jiang G. , Liu J., Zhou Q., Multiwalled Carbon Nanotubes as a Solid-Phase Extraction Adsorbent for the Determination of Bisphenol A, 4-n-Nonylphenol, and 4-tert-Octylphenol, Anal. Chem., 75: 2517-2521, 2003.
- Chen W., Duan L., Zhu D., Adsorption of polar and nonpolar organic chemicals to carbon nanotubes, Environ. Sci. Technol, 41(24):8295-8300, 2007.
- Chong S., Wang D., Hayes J., Wilhite B., Malik A., Sol-Gel Coating Technology for the Preparation of Solid-Phase Microextraction Fibers of Enhanced Thermal Stability, Anal. Chem., 69: 3889-3898, 1997.

- Guenther K., Heinke V., Thiele B., Kleist E., Prast H., Raecker T., Endocrine Disrupting Nonylphenols Are Ubiquitous in Food, *Environ. Sci. Technol.*, 36:1676-1680, 2002.
- Harris P., Chemistry and biology of nanotubes, *En su : Carbon Nanotube Science, Synthesis, properties and applications*, USA, Cambridge University Press, pp 204-220, 2009.
- Lin D. and Xing B. Adsorption of phenolic compounds by carbon nanotubes: role of aromaticity and substitution of hydroxyl Groups, *Environ. Sci. Technol.*, 42: 7254-7259, 2008.
- Liu W., Hu Y., Zhao J., Xu Y., Guan Y., Determination of organophosphorus pesticides in cucumber and potato by stir bar sorptive extraction, *J. Chromatogr A*, 1095 : 1-7 , 2005.
- Pérez Farías Catalina, Extracción de bifenilos policlorados (PCBs) en matrices líquidas a través de un nuevo sistema de disco rotatorio con superficie de poldimetilsiloxano, Seminario de título para optar a: químico ambiental, Santiago, Chile, U. de Chile, Facultad de Ciencias, 63 p, 2010.
- Prieto A., Basauri O., Rodil R., Usobiaga A., Fernández L., Etxebarria N., Zuloaga O., Review: Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions, *J. Chromatogr A*, 1217:2642-2666, 2010.
- Ravelo-Pérez L., Herrera-Herrera A., Hernández-Borges J., Rodríguez-Delgado M., Review: Carbon nanotubes: Solid-phase extraction, *J. Chromatogr A*, 1217: 2618-2641, 2010.

- Richter P., Leiva C., Choque C., Giordano A., Sepúlveda B., Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples, *J. Chromatogr A*, 1216:8598-8602, 2009.
- Thiele B., Günther K., Schwuger M., Alkylphenol Ethoxylates: Trace Analysis and Environmental Behavior, *Chem. Rev.*, 97: 3247-3272, 1997.
- Valcárcel M., Cárdenas S., Simonet B., Moliner-Martínez Y., Lucena R., Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes, *Trends in Analytical Chemistry*, 27:34-43, 2008.
- Vincent M., Sneddon J., Nonylphenol: An overview and its determination in oysters and wastewaters and preliminary degradation results from laboratory experiments, *Microchemical Journal*, 92: 112-118, 2009.
- Vitali M., Ensabella F., Stella D., Guidotti M., Nonylphenols in freshwaters of the hydrologic system of an Italian district: association with human activities and evaluation of human exposure, *Chemosphere*, 57: 1637–1647, 2004.
- Ying G., Williams B., Kookana R., Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates- a review, *Environment International*, 28:215-226, 2002.

7. ANEXOS

ANEXO A

Datos y análisis

A.1 Determinación límites de detección instrumental

A 1 Curva de calibración

Concentración (mgL ⁻¹)	Áreas			Razón de área	
	NP	NP-Et	E.I	NP	NP-Et
0,5	10341	3064	29704	0,35	0,10
1,5	67352	10690	11996	5,61	0,89
2,5	166970	25723	15121	11,04	1,70

A 2 Parámetros de regresión lineal

Parámetro regresión lineal	NP	NP-Et
a	-2,35	-0,30
b	5,35	0,80
r	0,99995	0,99997
S _{R/C}	0,07	0,01

A.2 Estudio preliminar con nanotubos de carbono

A 3 Disco chico MWNTs

Experiencia N°	Desorción	Áreas			Razón de área	
		NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
1	1	2693	737	3465	0,78	0,21
1	2	499	179	4316	0,12	0,04
2	1	2979	667	7421	0,40	0,09
2	2	685	552	6562	0,10	0,08
3	1	5638	806	5739	0,98	0,14
3	2	411	ND	8057	0,05	----
4	1	2421	729	5489	0,44	0,13
4	2	310	ND	3585	0,09	---

ND : no detectado

A 4 Disco grande MWNTs

Experiencia N°	Desorción	Áreas			Razón de área	
		NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
1	1	23464	7316	5027	4,67	1,46
1	2	402	944	1543	0,26	0,61
2	1	1882	1132	1072	1,76	1,06
2	2	588	426	957	0,61	0,45
3	1	3429	1749	1814	1,89	0,96
3	2	201	ND	1205	0,17	---
4	1	1429	824	1616	0,88	0,51
4	2	119	382	1636	0,07	0,23

A 5 Estadística disco chico y disco grande MWNTs

Set experiencias	Set experiencias 2	Disco chico		Disco Grande	
		1° desorción	2° desorción	1° desorción	2° desorción
1	NP				
	Promedio	0,59	0,11	3,21	0,44
	SD	0,27	0,01	2,06	0,25
	CV	45,09	7,22	64,11	57,20
2	Promedio	0,71	0,07	1,39	0,12
	SD	0,38	0,03	0,71	0,07
	CV	53,78	36,48	51,28	55,53
1	NP-Et				
	Promedio	0,15	0,06	1,26	0,53
	SD	0,09	0,03	0,28	0,12
	CV	57,40	48,02	22,49	22,30
2	Promedio	0,14	----	0,74	----
	SD	0,01	----	0,32	----
	CV	3,95	----	43,58	----

Nota: Set de experiencias 1 agrupa a experiencia 1 y 2; set de experiencias 2 agrupa a experiencia 3 y 4.

A.3. Estudio con fase mixta PDMS comercial y MWNTs

A.3.1. Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs en la fase

A 6 Disco Grande espesor de fase 1 mm (Mixta PDMS comercial)

		Áreas			Razón de áreas	
Masa MWNTs (mg)	N° Experimento	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	17019	22164	9178	1,85	2,41
	2	9132	7725	4888	1,87	1,58
	3	341	456	825	0,41	0,55
	4	3126	2096	3946	0,79	0,53
2,5	1	4764	4497	2281	2,09	1,97
	2	4228	1949	1999	2,12	0,97
5	1	5394	8398	2781	1,94	3,02
	2	5417	4404	2878	1,88	1,53
7,5	1	629	960	1369	0,46	0,70
	2	4963	6370	8307	0,60	0,77

A 7 Disco Grande espesor de fase 2 mm (Mixta PDMS comercial)

		Áreas			Razón de áreas	
Masa MWNTs (mg)	N° Experimento	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	6233	2375	3315	1,88	0,72
	2	3153	2896	2862	1,10	1,01
	3	661	200	1092	0,61	0,18
	4	7501	3817	7941	0,94	0,48
2,5	1	3783	786	1745	2,17	0,45
	2	2083	2433	1961	1,06	1,24
5	1	5205	4290	2855	1,82	1,50
	2	10821	12379	7851	1,38	1,58
7,5	1	1588	318	2010	0,79	0,16
	2	500	399	1585	0,32	0,25

A 8 Disco Chico espesor de fase 1 mm(Mixta PDMS comercial)

		Áreas			Razón de áreas	
Masa MWNTs (mg)	N° Experimento	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	334	1950	3398	0,10	0,57
	2	351	611	1821	0,19	0,34
	3	1066	1454	3299	0,32	0,44
	4	1561	943	2201	0,71	0,43
5	1	5174	3438	2721	1,90	1,26
	2	6964	6660	6575	1,06	1,01
	3	3300	2425	3287	1,00	0,74
	4	3064	2720	3086	0,99	0,88
7,5	1	1357	594	1984	0,68	0,30
	2	4208	2846	4952	0,85	0,57

A 9 Disco Chico espesor de fase 2 mm(Mixta PDMS comercial)

		Áreas			Razón de áreas	
Masa MWNTs (mg)	N° Experimento	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	6960	4711	7463	0,93	0,63
	2	2336	1034	3628	0,64	0,29
	3	687	430	1488	0,46	0,29
	4	584	525	1390	0,42	0,38
5	1	7159	1144	6467	1,11	0,18
	2	2383	625	1883	1,27	0,33
	3	2636	1183	2122	1,24	0,56
7,5	1	1146	828	1774	0,65	0,47
	2	723	349	1435	0,50	0,24

A 10 Estadística(Mixta PDMS comercial)

Disco	Masa MWNTs (mg)	n	Promedio NP	SD NP	CV NP	Promedio NP-Et	SD NP-Et	CV NP-Et
Grande Espesor 1 mm	0	4	1,23	0,74	60,30	1,27	0,91	71,42
	2,5	2	2,10	0,02	0,89	1,47	0,70	47,83
	5	2	1,91	0,04	2,12	2,28	1,05	46,30
	7,5	2	0,53	0,10	18,46	0,73	0,05	6,32
Grande Espesor 2 mm	0	4	1,13	0,54	47,62	0,60	0,35	58,82
	2,5	2	1,62	0,78	48,41	0,85	0,56	66,09
	5	2	1,60	0,31	19,65	1,54	0,05	3,40
	7,5	2	0,55	0,34	60,71	0,20	0,07	32,26
Chico Espesor 1 mm	0	4	0,33	0,27	81,17	0,44	0,10	22,07
	5	4	1,24	0,44	35,69	0,97	0,22	22,94
	7,5	2	0,77	0,12	15,29	0,44	0,19	44,54

Disco	Masa MWNTs (mg)	n	Promedio NP	SD NP	CV NP	Promedio NP-Et	SD NP-Et	CV NP-Et
Chico Espesor 2 mm	0	4	0,61	0,23	37,95	0,40	0,16	41,12
	5	3	1,20	0,09	7,10	0,36	0,19	53,84
	7,5	2	0,57	0,10	17,49	0,35	0,16	44,53

A.4. Estudios con fase Mixta PDMS sol-gel y MWNTs

A.4.1. Variación tiempo de extracción

A 11 Disco chico PDMS sol-gel

Tiempo (minutos)	Áreas			Razón de área
	NP	NP-Et	EI	NP
15	ND	ND	2620	---
30	229	ND	4424	0,05
120	356	ND	3376	0,11
360	403	ND	579	0,19
960	296	ND	627	0,14

A 12 Disco chico fase Mixta-PDMS sol-gel

Tiempo (minutos)	Áreas			Razón de área
	NP	NP-Et	EI	NP
15	412	ND	5563	0,07
30	241	ND	3153	0,08
120	141	ND	1251	0,11
360	230	ND	1579	0,15
960	334	ND	2109	0,16

A.4.2. Comparación entre espesor de fase y masa de MWNTs en la fase

A 13 Disco Chico espesor 1 mm (Mixta PDMS sol-gel)

Masa MWNTs (mg)	N° experimento	Áreas			Razón de área	
		NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	5149	1685	12009	0,43	0,14
	2	9396	1778	28665	0,33	0,06
	3	1037	1178	13587	0,08	0,09
	4	1470	1217	14523	0,10	0,08
	5	2405	2276	22987	0,10	0,10
	6	3855	3711	37289	0,10	0,10
	7	3208	2762	30848	0,10	0,09
7,5	1	9909	3147	22284	0,44	0,14
	2	1709	ND	4648	0,37	--
	3	1216	ND	10210	0,12	--
	4	1844	1271	21293	0,09	0,06
	5	1324	1313	14151	0,09	0,09
10	1	1963	1640	24482	0,08	0,07
	2	1136	1732	16911	0,07	0,10
	3	638	1343	6575	0,10	0,20

A 14 Disco Chico espesor 2 mm Mixta PDMS sol-gel)

Masa MWNTs (mg)	N° experimento	Áreas			Razón de área	
		NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	974	3412	18536	0,05	0,18
	2	6521	7761	35534	0,18	0,22
	3	4889	4733	41630	0,12	0,11
	4	1342	1746	16854	0,08	0,10
	5	1131	969	14923	0,08	0,06
	6	2106	2000	26095	0,08	0,08
7,5	1	1736	ND	17991	0,10	--
	2	4639	4072	28473	0,16	0,14
	3	4847	3056	23819	0,20	0,13
10	1	950	ND	6958	0,14	--
	2	735	1206	15126	0,05	0,08
	3	1112	1825	15910	0,07	0,11

A 15 Disco chico espesor 1 mm (Mixta PDMS comercial)

Masa MWNTs (mg)	N° experimento	Áreas			Razón de área	
		NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
0	1	952	ND	9759	0,10	--
	2	179	ND	2650	0,07	--
	3	2651	1463	30156	0,09	0,05
7,5	1	656	959	10478	0,06	0,09
	2	1547	1287	23177	0,07	0,06
	3	391	ND	3301	0,12	--

A 16 Estadística disco chico (Mixta: PDMS comercial- PDMS sol-gel)

Disco	Masa MWNTs (mg)	n	Promedio NP	SD NP	CV NP	n	Promedio NP-Et	SD NP-Et	CV NP-Et
Espesor 1 mm	0	7	0,18	0,14	78,77	7	0,09	0,02	25,21
	7,5	5	0,22	0,17	76,77	3	0,1	0,04	41,01
	10	3	0,08	0,01	18,38	3	0,12	0,07	57,21
Espesor 2 mm	0	6	0,1	0,05	47,48	6	0,13	0,06	48,23
	7,5	3	0,15	0,05	35,01	2	0,14	0,01	7,67
	10	3	0,09	0,05	53,97	2	0,1	0,02	25,44
Espesor 1 mm PDMS comercial	0	3	0,08	0,02	18,16	1	----	----	----
	7,5	3	0,08	0,03	37,67	2	0,07	0,03	34,62

A.5. Estudio probables fallas en el programa cromatográfico

A 17 Replicabilidad método cromatográfico

Inyección	Áreas			Razón de área	
	NP	NP-Et	EI	NP	NP-Et
1	3248	758	4639	0,70	0,16
2	3384	1404	4294	0,79	0,33
3	3808	1353	4900	0,78	0,28
4	3163	428	3077	1,03	0,14
5	2146	545	2006	1,07	0,27
6	3143	1049	3299	0,95	0,32
7	7598	1634	4175	1,82	0,39
8	5798	941	3752	1,55	0,25
9	7607	1224	4499	1,69	0,27
10	6121	1517	3885	1,58	0,39
Promedio	4601,60	1085,30	3852,60	1,19	0,28
SD	1997,84	412,73	866,74	0,42	0,08
CV	43,42	38,03	22,50	35,19	29,81

ANEXO B

Test de significancia

Para obtener la significancia de los estudios realizados se utilizó el programa Statgraphics plus 5.1, y con este software se realizó un test de significancia para la comparación de muestras múltiples. Se utilizó el test LSD (Least Significant Differences). Sólo fue posible aplicar el test al estudio de fase mixta PDMS comercial-MWNTs, en los estudios realizados con la otra fase todas las comparaciones son no significativas estadísticamente. A continuación se muestran los resultados del test.

(*) : indica una diferencia significativa

Disco grande 1 mm NP

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
g 7,5	2	0,53	X
g 0	4	1,23	XX
g 5	2	1,91	X
g 2,5	2	2,105	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
g 0 - g 2,5	-0,875	1,11866
g 0 - g 5	-0,68	1,11866
g 0 - g 7,5	0,7	1,11866
g 2,5 - g 5	0,195	1,29172
g 2,5 - g 7,5	*1,575	1,29172
g 5 - g 7,5	*1,38	1,29172

Disco grande 1 mm NP-Et

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
g 7,5	2	0,735	X
g 0	4	1,2675	X
g 2,5	2	1,47	X
g 5	2	2,275	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
g 0 - g 2,5	-0,2025	1,7462
g 0 - g 5	-1,0075	1,7462
g 0 - g 7,5	0,5325	1,7462
g 2,5 - g 5	-0,805	2,01634
g 2,5 - g 7,5	0,735	2,01634
g 5 - g 7,5	1,54	2,01634

Disco grande 2 mm NP

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-------	-------	-------	-------------------

g2 7,5	2	0,555	X
g2 0	4	1,1325	X
g2 5	2	1,6	X
g2 2,5	2	1,615	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
g2 0 - g2 2,5	-0,4825	1,12571
g2 0 - g2 5	-0,4675	1,12571
g2 0 - g2 7,5	0,5775	1,12571
g2 2,5 - g2 5	0,015	1,29985
g2 2,5 - g2 7,5	1,06	1,29985
g2 5 - g2 7,5	1,045	1,29985

Disco grande 2 mm NP-Et

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-------	-------	-------	-------------------

g2 7,5	2	0,205	X
g2 0	4	0,5975	X
g2 2,5	2	0,845	XX
g2 5	2	1,54	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
g2 0 - g2 2,5	-0,2475	0,719959
g2 0 - g2 5	*-0,9425	0,719959
g2 0 - g2 7,5	0,3925	0,719959
g2 2,5 - g2 5	-0,695	0,831337
g2 2,5 - g2 7,5	0,64	0,831337
g2 5 - g2 7,5	*1,335	0,831337

Disco chico 1 mm NP

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-------	-------	-------	-------------------

ch1 0	4	0,33	X
ch1 7,5	2	0,765	XX
ch1 5	4	1,2375	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
-----------	-------------	-------------

ch1 0 - ch1 5	*-0,9075	0,572111
ch1 0 - ch1 7,5	-0,435	0,70069
ch1 5 - ch1 7,5	0,4725	0,70069

Disco chico 1 mm NP-Et

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-------	-------	-------	-------------------

ch1 7,5	2	0,435	X
ch1 0	4	0,445	X
ch1 5	4	0,9725	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
-----------	-------------	-------------

ch1 0 - ch1 5	*-0,5275	0,289624
ch1 0 - ch1 7,5	0,01	0,354716
ch1 5 - ch1 7,5	*0,5375	0,354716

Disco chico 2 mm NP

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
-------	-------	-------	-------------------

ch2 7,5	2	0,575	X
ch2 0	4	0,6125	X
ch2 5	3	1,20667	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
-----------	-------------	-------------

ch2 0 - ch2 5	*-0,594167	0,330452
ch2 0 - ch2 7,5	0,0375	0,374698
ch2 5 - ch2 7,5	*0,631667	0,394966

Disco chico 2 mm NP-Et

Método: 95,0 porcentaje LSD

Col_1	Frec.	Media	Grupos homogéneos
ch2 7,5	2	0,355	X
ch2 5	3	0,356667	X
ch2 0	4	0,3975	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
ch2 0 - ch2 5	0,0408333	0,321162
ch2 0 - ch2 7,5	0,0425	0,364163
ch2 5 - ch2 7,5	0,00166667	0,383862

ANEXO C

Otros estudios

En la realización de esta tesis la problemática de la precisión en los resultados siempre estuvo presente y fue la causa de muchas pruebas en la búsqueda de resultados satisfactorios respecto a este parámetro, sin embargo, éstos no fueron incluidos en el texto central por la pobre información que entregan, pero se ha considerado importante incluirlos para que en el futuro no sean estudiadas estas variables, o por lo menos no de la misma forma, para la búsqueda de soluciones.

-Extracción de oligómeros desde PDMS comercial

Entre los intentos para obtener resultados replicables y repetibles se realizó una extracción de oligómeros de PDMS, esto ya que se han publicado trabajos sobre la fase comercial de PDMS en los cuales se aborda la problemática de los oligómeros que quedan en el interior de la fase, éstos pueden hacer que la fase cambie su comportamiento en la adsorción de analitos en el tiempo⁽¹⁾.

Metodología:

Las fases de PDMS son colocadas en 200 ml de acetato de etilo a 25°C por 2 horas, reemplazando con solvente fresco después de una hora. Luego se descarta el acetato de etilo y se repite el paso anterior esta vez con acetona como solvente. Finalmente las fases se dejan secar completamente a 65°C por 6 horas.

Como ya se mencionó la presencia de oligómeros en el PDMS comercial puede producir problemas en la adsorción de los analitos.

Resultados y comentarios:

El porcentaje de PDMS extraído (w/w) se calcula al determinar la diferencia en masa entre la fase de PDMS original (m1) y la masa de esa misma fase una vez realizada la extracción (m2), dividiendo esta diferencia por la masa de PDMS original. Los datos y resultados se muestran en la tabla C1

C 1 Porcentaje de extracción de oligómeros de PDMS

Fase	M1 (g)	M2 (g)	(m1-m2)/m1	%(w/w)
PDMS	0,2638	0,2513	0,047	4,7
PDMS + nanotubos de carbono	0,2456	0,2290	0,068	6,8

Se observa que la masa de la fase disminuye, lo cual indicaría que existe una remoción de los oligómeros desde el interior. Para establecer si es que ésta acción era la solución a los problemas de repetibilidad se llevó a cabo el proceso de sorción y desorción, sin embargo, al inyectar en GC-MS se observó que las señales de los analitos se perdieron ya que apareció una señal de gran altura y muy ancha justo en la

zona de cuantificación de los iones de interés, esto ocurrió dos veces, por lo que se desistió de la idea de extraer oligómeros.

-Prueba para determinar los analitos mediante GC-FID

En un intento por buscar otro método alternativo de detección, ya que el equipo de GC-MS es ocupado constantemente para otros fines, se pensó en utilizar GC-FID, esto a pesar de la escasa literatura encontrada sobre la detección de estos analitos por FID, ya que el GC-MS es el más utilizado. Se inyectaron las muestras sintéticas con el mismo programa cromatográfico utilizado en GC-MS, sin embargo, no se apreciaban los picos con claridad, se subió la concentración a 10 ppm y tampoco se obtuvieron buenos picos. Finalmente se descartó la posibilidad de utilizar este equipo por los problemas ya descritos y por que éste también es utilizado en la determinación de otros analitos, dificultando el acceso al equipo.

-Prueba hinchamiento de la fase

El hinchamiento del polidimetilsiloxano sol-gel ha sido estudiado previamente junto con otros parámetros tales como solubilidad, para observar el comportamiento de este polímero frente a distintos solventes orgánicos. ⁽²⁾

Esta prueba se realiza con la idea de buscar un solvente alternativo al metanol, pero que no presente el problema de hinchamiento de la fase, ya que esto incide en su desempeño como fase de sorción porque no existe un control sobre el hinchamiento, es decir, no es posible asegurar que en todas las ocasiones la fase se hinchará de la misma forma. En la tabla C2 se muestran los datos que corresponden a la masa y al diámetro de la fase antes de ser sumergida en el solvente correspondiente, nombradas como 1, y luego de ser sumergida por 2 horas, señaladas como 2.

C 2 Hinchamiento de fase

Solvente	Masa 1 (g)	diámetro 1 (cm)	Masa 2 (g)	Diámetro 2 (cm)	Observaciones
Hexano	0,1324	1,4	0,2662	2	La fase se enrosca y se rompe fácilmente al sacarla
Diclorometano	0,1429	1,5	0,2785	1,8	Se torna más frágil cuando se retira de la solución
Acetato de etilo	0,1370	1,5	0,2266	1,8	Toma un aspecto amarillento en general y muy amarillo en los bordes, además se rompe con facilidad
Acetato de etilo: Metanol (1:1 v/v)	0,1416	1,5	0,1712	1,5	Toma un aspecto ligeramente amarillo

Se observa que entre los solventes estudiados todos generan algún problema con la fase, ya sea porque el hinchamiento es demasiado y aumentan el tamaño de la fase o por que la hacen más frágil, por lo que se prefiere continuar utilizando metanol que no presenta estos problemas.

Referencias anexo C

1. Vickers J., Caulum M., and Henry C., Generation of Hydrophilic Poly(dimethylsiloxane) for High-Performance Microchip Electrophoresis, *Anal. Chem.*, 78: 7446-7452, 2006.
2. Lee J., Park C., and Whitesides G., Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices, *Anal. Chem.*, 75: 6544-6554, 2003.