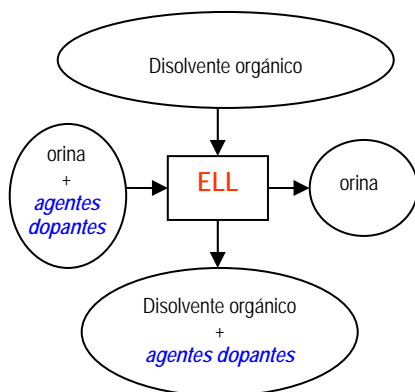


## METODOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN.

En términos generales, los objetivos de la preparación de muestra son por un lado la eliminación de los componentes de la matriz que no interesan para el análisis (interferencias) y por otro concentrar los analitos de interés para permitir su detección. El tipo de preparación dependerá de la matriz y del instrumento de análisis. Dentro de las metodologías de extracción tenemos dos tipos fundamentales: extracción en fase líquida y extracción en fase sólida.

La **extracción líquido-líquido (ELL)** es una de las operaciones básicas más importantes en la separación de mezclas homogéneas líquidas y se define como el proceso de separación en el cual un soluto se reparte o distribuye entre dos fases diferentes puestas en contacto. En control de dopaje se aplica para aislar los compuestos de interés o analitos de la matriz urinaria.



La extracción líquido-líquido se basa en la diferente solubilidad de uno o más componentes en dos fases líquidas no miscibles o parcialmente miscibles que se ponen en contacto. Generalmente, se aplica para aislar componentes de disoluciones acuosas en un disolvente orgánico. Al poner las dos fases en contacto se establece un equilibrio o reparto de los solutos entre las dos fases en función de la solubilidad

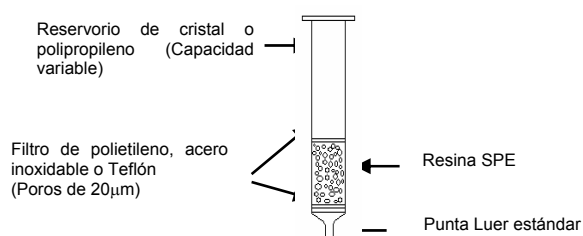
relativa de dichos solutos en las fases acuosa y orgánica. En el equilibrio, el potencial químico del soluto es el mismo en ambas fases y la relación de actividades en cada fase nos da la constante de equilibrio o constante de distribución ( $K$ ). En la práctica, la constante de distribución se aproxima a una relación de concentraciones del soluto entre las fases acuosa y orgánica que es independiente de la cantidad total de soluto y que viene dada por la expresión:

$$K(T) = \frac{a_{\text{org}}}{a_{\text{aq}}} \approx \frac{[S]_{\text{org}}}{[S]_{\text{aq}}}$$

Si el soluto no participa en ningún otro equilibrio secundario (como por ejemplo un equilibrio ácido-base) el rendimiento del proceso de extracción puede obtenerse a partir de la constante de distribución ( $K$ ).

En la extracción líquido-líquido la preparación de la muestra es simple y rápida y permite procesar un número elevado de muestras de forma simultánea por el operador, si bien también admite la automatización del proceso.

La **extracción en fase sólida (EFS)** se basa en la participación selectiva de uno o más componentes en dos fases, una de las cuales es un sólido adsorbente. La segunda fase es generalmente un líquido. El sólido adsorbente suele estar contenido en tubos desechables con forma de jeringa que están disponibles comercialmente en muchos tamaños distintos llamados cartuchos. No obstante, en el mercado existen otros formatos, (como por ejemplo, el de pocillos).



En este tipo de extracción es fundamental la selección de la fase sólida, en función de la fase sólida podemos clasificar la extracción EFS en diferentes tipos:

**Fase reversa:** la extracción EFS en fase reversa se caracteriza porque la fase líquida es polar y la fase sólida es apolar, de modo que los analitos no-polares o de polaridad media son retenidos en la fase sólida. La fase sólida es una base sílica: c18, c8, c4, Fenil, CN o base carbono o polímeros (estireno-divinilbenceno) como alternativa a la sílica. El tipo de interacciones que se dan entre los analitos y la fase sólida son de tipo hidrofóbicas: apolar-apolar, Wan der Vals o de dispersión de fuerzas y tipo puente de hidrógeno (SiOH) e intercambio catiónico (SiO<sup>-</sup> a pH>4) como interacciones secundarias en la base sílica. La interacción hidrofóbica es rota por un disolvente (generalmente acetonitrilo o metanol) produciéndose la elución de los analitos. Las interacciones secundarias de sílica se rompen con la adición de metanol o bien mediante el ajuste del pH del eluyente para las interacciones de tipo puente de hidrógeno e intercambio catiónico respectivamente.

**Fase normal:** la extracción EFS en fase normal se caracteriza porque la fase líquida es apolar o de polaridad media (acetona, hexano, disolventes clorados) y la fase sólida es polar, de modo que son los analitos polares lo que quedan retenidos en la fase sólida. El tipo de interacciones que se dan entre los analitos y la fase sólida son de tipo hidrofílicas: polar-polar, puente de hidrógeno, interacciones p-p, dipolo-dipolo y dipolo-dipolo inducido. La interacción hidrofílica es rota por un

disolvente, donde el volumen de fase móvil necesario para la elución del analito es inversamente proporcional a la polaridad del disolvente.

*Intercambio iónico:* la extracción EFS de tipo intercambio iónico se caracteriza porque la fase sólida contiene grupos cargados. La fase líquida generalmente es acuosa, si bien puede ser también orgánica. En función de la naturaleza de la fase sólida se distingue entre intercambio aniónico: SAX, MAX (aminas cuaternarias), WAX (NH<sub>2</sub>), e intercambio catiónico: SCX, MCX (ácidos sulfónicos), WCX (COOH). El tipo de interacciones que se dan entre los analitos y la fase sólida son interacciones de tipo electrostático. Los grupos cargados del analito se anclan a grupos con carga opuesta en la fase sólida. El analito debe estar cargado en la disolución, por lo que el pH de la muestra debe ser ajustado antes de hacerla pasar por la resina. El intercambio aniónico permite aislar compuestos ácidos, mientras que el intercambio catiónico se aplica para compuestos básicos. La elución de los analitos tiene lugar cuando se interrumpe la interacción electrostática, bien por modificación del pH del eluyente o bien incrementando la concentración de sal (>0.1M).

En la extracción en fase sólida la preparación de muestra es simple, fácilmente automatizable, requiere poco volumen de disolventes, es reproducible y presenta mayor especificidad y selectividad que la extracción líquido-líquido ya que permite utilizar diferentes mecanismos de anclaje a la fase sólida. Además permite la extracción simultánea de compuestos con pKas muy diferente entre sí lo cual la convierte en una metodología más universal que la extracción líquido-líquido.