



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Síntesis y caracterización de sólidos porosos basados en sílice para la extracción de contaminantes emergentes

Amy Peñalver Pearce

Grau de Química

Any acadèmic 2018-19

Treball tutelat per Montserrat Rodríguez Delgado

Departament de Química

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Sílice mesoporosa, SBA-15, parabenos, extracció en fase sòlida

RESUMEN

En este estudio se ha procedido a preparar una muestra de sílice mesoporosa tipo SBA-15, siguiendo un método bibliográfico, y se ha funcionalizado con un grupo orgánico di-amina, a partir de un método solvotermal, con el fin de determinar su capacidad de retención y elución de parabenos en diferentes medios acuosos, una familia de ésteres sintéticos de ácido p-hidroxibenzoico utilizados ampliamente como conservantes en cosmética y productos de bienestar, entre otros, debido a sus propiedades antimicrobianas. Los materiales sintetizados se han caracterizado mediante técnicas instrumentales de difracción de rayos X, microscopía electrónica, termogravimetría y espectroscopia FT-IR para comprobar la obtención de la estructura característica y la funcionalización de la misma.

El estudio de retención de parabenos de las dos muestras se ha realizado mediante extracción en fase sólida, y los materiales se han comparado con dos muestras comerciales (C18 y STRATA-X-AW Phenomenex®). Se han analizado los resultados a pH 6, pH 8 y con diferentes concentraciones de sales (NaCl 3.5% y agua de mar sintética). Los resultados del estudio han determinado que, para las extracciones realizadas con la muestra SBA-15 y la muestra comercial C18, se consigue, en general, una mayor eficacia extractiva de los parabenos con la sílice SBA-15 a pH 6, además, ésta no se ve influenciada significativamente por la presencia de concentraciones diferentes de sales en la disolución. En cuanto a las extracciones realizadas con la muestra de SBA-15 funcionalizada con un grupo orgánico di-amina y la muestra comercial STRATA-X-AW Phenomenex®, se puede concluir que la eficacia extractiva de la STRATA-X-AW Phenomenex® es mejor debido a que proporciona buenos resultados independientemente del pH de la disolución y de la concentración de sales. Cabe destacar también que la eficacia extractiva de la SBA-15 funcionalizada mejora notablemente para pH 8 respecto a la SBA-15.

ABSTRACT

For this study, a sample of mesoporous silica type SBA-15 has been prepared, following a bibliographic method, and has been functionalized by a solvothermal method with an organic di-amine group in order to determine their retention and elution capacity of parabens in different aqueous solutions. Parabens are a family of synthetic esters of p-hydroxybenzoic acid widely used as preservatives in cosmetics and wellness products, among others, due to their antimicrobial properties. The synthesized materials have been characterized by instrumental techniques such as X-ray diffraction, electron microscopy, thermogravimetry and FT-IR spectroscopy to verify their characteristic structure and functionalization.

The paraben retention study of the different samples has been carried out by solid phase extraction, and has been compared with two commercial samples (C18 and STRATA-X-AW Phenomenex®). The results have been analyzed at pH 6, pH 8 and in different concentrations of salts (3.5% NaCl and synthetic seawater). The results have determined that, for extractions made with the SBA-15 sample and the commercial sample C18, silica SBA-15 has a greater extractive efficiency at pH 6, in addition, it is not significantly influenced by the presence of different concentrations of salts in the solution. Regarding the extractions performed with the SBA-15 functionalized sample with a di-amino organic group and the commercial sample STRATA-X-AW Phenomenex®, the latter shows better extractive efficacy because it provides good results regardless of the pH of the solution and the concentration of salts. It should also be noted that extractive efficiency of the functionalized SBA-15 improves significantly for pH 8 compared to the SBA-15.

Índice

Resumen.....	3
Abstract	3
1. Introducción.....	5
1.1 Materiales mesoporosos.....	5
1.2 Contaminantes emergentes	6
1.2.1 Parabenos.....	7
1.3 Antecedentes	8
1.4 Objetivos	9
2. Técnicas experimentales.....	10
2.1 Difracción de rayos X.....	10
2.2 Termogravimetría.....	10
2.3 Microscopia electrónica	11
2.4 Espectroscopia infrarroja	11
2.5 Extracción en fase sólida y HPLC	12
3. Resultados y discusión	14
3.1 Síntesis y caracterización cristalográfica.....	14
3.1.1 Síntesis de SBA-15	14
3.1.2 Funcionalización de la SBA-15.....	14
3.1.3 Caracterización cristalográfica	15
3.1.4 caracterización termogravimétrica	15
3.1.5 Caracterización espectroscópica	16
3.1.6 Caracterización morfológica.....	17
3.2 Extracción de parabenos	19
4. Conclusiones	24
5. Bibliografía	25

1. INTRODUCCIÓN

1.1 MATERIALES MESOPOROSOS

Los materiales mesoporosos ordenados de sílice presentan una porosidad y disposición ordenada con un tamaño de poro de entre 2 y 20 nm, sin embargo la naturaleza de la sílice que los forma es amorfa. Este tipo de materiales presenta una gran superficie específica, de entre 500 y 1500 m²·g⁻¹. Desde su descubrimiento se ha estudiado su uso en adsorción, en liberación controlada de fármacos, y marcadores celulares (Everm, 1976).

Los grandes canales de diámetro homogéneo de los materiales de sílice mesoporosa pueden presentar una disposición hexagonal, cúbica o lamelar. Los tipos de sílice mesoporosa más comunes son la MCM-41 (*Mobile Crystalline Material 41*) y SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous-15*). La SBA-15 es un tipo de sílice mesoporosa estable desarrollado por investigadores de la Universidad de Santa Bárbara en California. La sílice tipo SBA-15 presenta una disposición de canales correspondiente a una red de poros hexagonales y un diámetro de poro de 5 nm a 15 nm. Pertenece al grupo espacial *p6mm*, tiene una superficie específica de entre 1000 y 1500 m²·g⁻¹ y microporosidad que une los canales principales.

La sílice mesoporosa SBA-15 se sintetiza en condiciones ácidas utilizando el copolímero tribloque Pluronic® P123 (EO₂₀PO₇₀EO₂₀, poli-(etilenglicol)-poli(propilenglicol)-poli(etilenglicol)) como surfactante y el tetraetoxisilano (TEOS) como fuente de sílice. Una vez completada la síntesis, la plantilla orgánica se elimina mediante calcinación. Se puede ver un esquema del proceso en la figura 1 (Nam, 2018).

Las paredes de sílice que separan los poros en estos materiales son amorfas y están repletas de defectos estructurales como resultado de la condensación incompleta de los átomos de silicio tras la hidrólisis, lo que origina la presencia de átomos de silicio unidos a grupos -OH, es decir, grupos silanol (Si-OH) en las paredes. Es por ello que la química simple de policondensación de la sílice posibilita funcionalizar tanto la superficie externa como la superficie interna de estos materiales con gran variedad de grupos orgánicos (Zhao, 1998). La modificación de la superficie de las partículas de sílice con grupos orgánicos proporciona numerosas posibilidades para controlar la adsorción de sustancias, lo que contribuye a que las matrices de sílice mesoporosa sean atractivas como base estructural para la extracción de contaminantes.

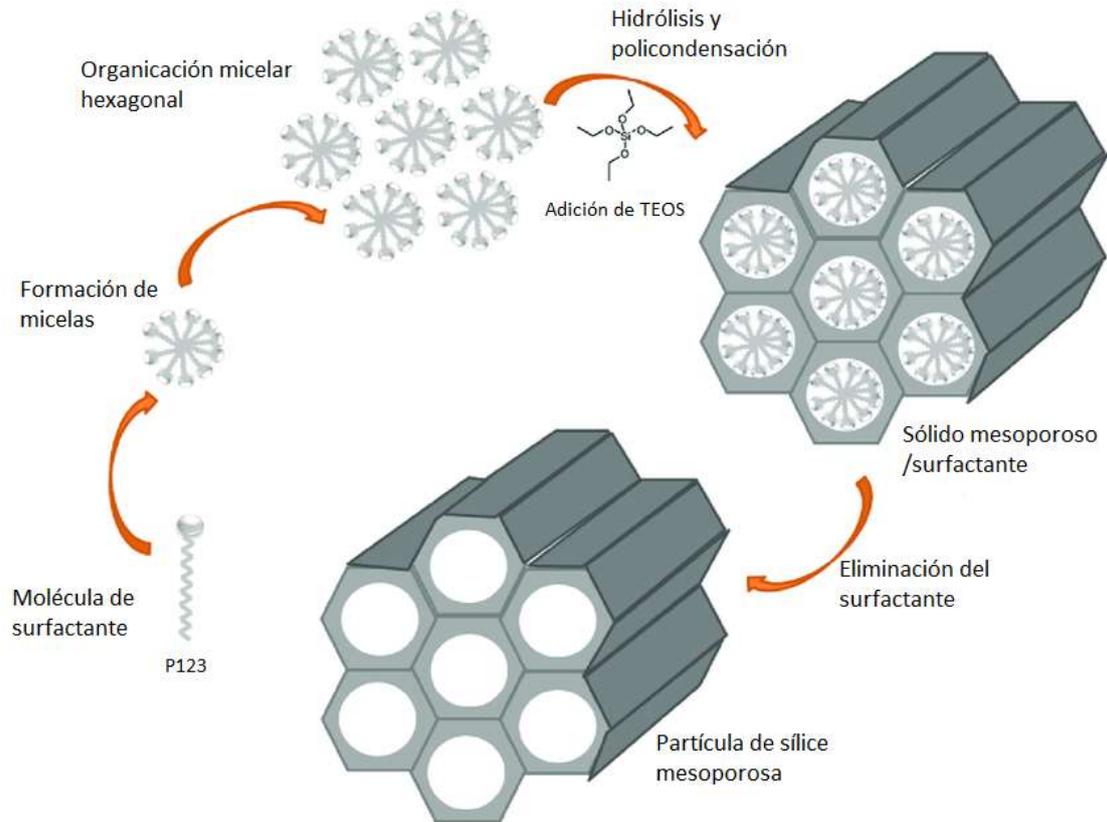


FIGURA 1: RUTA PARA LA SÍNTESIS DE SBA-15 (NAM , 2018).

1.2 CONTAMINANTES EMERGENTES

Los contaminantes emergentes se definen como especies químicas cuya presencia en el medio ambiente no es novedosa pero sí causa preocupación por sus posibles consecuencias adversas sobre la salud humana. Son compuestos de los cuales se conoce relativamente poco acerca de su presencia e impacto en el entorno porque no han sido regulados y por tanto no han sido introducidos en análisis rutinarios de muestras ambientales y aguas residuales (Richardson, 2018), (Ebele, 2017). En ocasiones, el riesgo de estos contaminantes no se debe tanto a su toxicidad aguda sino a su genotoxicidad, la capacidad para causar daño al material genético de organismos debido a la exposición continuada a estos contaminantes (Schnoor, 2014). El estudio e investigación de estos compuestos pertenece a organismos dedicados a la protección de la salud pública y el medioambiente como la Organización Mundial de la Salud o la Comisión Europea (Commission Implementing Decision (EU)2015/495 of 20 March, 2015).

Estos compuestos se producen y se consumen en elevadas cantidades de modo que son introducidos de forma continua en el medio ambiente (Haman, 2015). De hecho, la principal problemática es que algunas familias de compuestos no son degradadas completamente en las estaciones de depuración de aguas residuales, entrando en la cadena trófica tanto a nivel marino como terrestre por el uso de las aguas regeneradas (Reemtsma, 2016).

1.2.1 PARABENOS

Esta memoria se centrará en el estudio de la extracción de un grupo de contaminantes emergentes como son los parabenos. Los parabenos son una familia de ésteres sintéticos del ácido p-hidroxibenzoico que han sido utilizados ampliamente en productos de cosmética y belleza como conservantes para evitar la formación de microorganismos, hongos o bacterias (Ocaña, 2015). Recientemente, se ha regulado la presencia de parabenos en productos comerciales debido al aumento de controversia sobre su seguridad por sus efectos endocrinos y sus potenciales efectos adversos a elevadas concentraciones sobre la salud humana (Al, 2007), (Błędzka, 2014).

Los parabenos más usuales son el metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP), butilparabeno (BP) y fenilparabeno (PheP), siendo el MP y el PP los más utilizados. Sus principales características físico-químicas vienen recogidas en la tabla 1 y en la figura 2 se pueden ver las estructuras de los mismos. Los parabenos son moderadamente solubles en agua, esta solubilidad disminuye al aumentar la cadena alquílica éster lateral, al igual que la resistencia a la hidrólisis en soluciones acuosas, ocurre lo contrario con el coeficiente de partición octanol/agua. Los valores de pKa indican que en medios acuáticos se encuentran en forma de ácido libre. Se tratan de compuestos relativamente poco volátiles (Haman, 2015).

TABLA 1: PRINCIPALES PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LOS PARABENOS

Parabeno	MP	EP	PP	BP	PheP
Fórmula química	C ₈ H ₈ O ₃	C ₉ H ₁₀ O ₃	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	C ₁₃ H ₁₀ O ₃
pKa	8.17	8.22	8.35	8.5	8.50
Punto de ebullición (°C)	275	297	285	300	>300
Solubilidad en agua a 25°C (mg/L)	2500	885	500	207	160

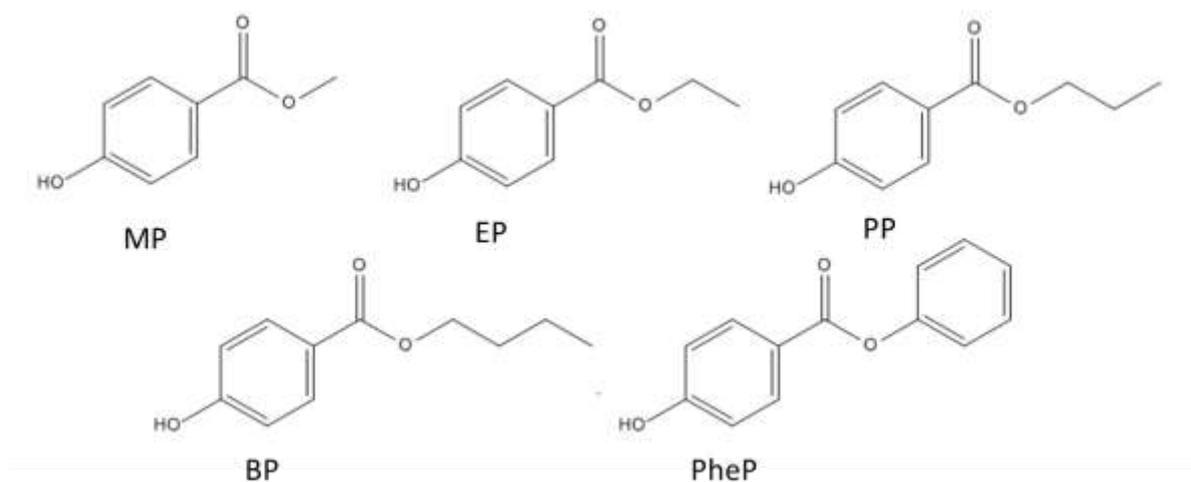


FIGURA 2: ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS METILPARABENO (MP), ETILPARABENO (EP), PROPILPARABENO (PP), BUTIL PARABENO (BP) Y FENILPARABENO (PheP).

El metil p-hidroxibenzoato se suele emplear como fungicida en la industria alimentaria y también en la cosmética como un aditivo conservante denominado E-218; en esta industria debe estar en concentraciones menores al 0.1%. El etil p-hidroxibenzoato es un antimicrobiano de bacterias fundamentalmente gram positivas, levaduras y mohos que se emplea en derivados cárnicos, en conservas vegetales, productos de gran contenido graso, cosmética y repostería. El propil p-hidroxibenzoato es una sustancia natural que se encuentra en algunas plantas; se emplea como conservante alimentario con el código E-216. El butil p-hidroxibenzoato se utiliza como antimicrobiano conservante en alimentos, cosméticos y medicamentos, tales como el ibuprofeno, para prevenir su descomposición. Se ha demostrado que tiene la capacidad de cruzar las membranas del cuerpo y entrar en él a través de los pulmones, el tracto intestinal y el epitelio. El fenil p-hidroxibenzoato se utiliza principalmente como agente antimicrobiano en productos cosméticos, al igual que el resto de parabenos se presenta en forma de polvo blanco.

Según estudios, los parabenos que tienen cadenas laterales alquílicas más largas presentan más toxicidad que otros con cadenas laterales más cortas, debido a los valores de log Kow (constante de partición octanol/agua) superiores. Por esta razón, el fenil, el butil y el propilparabeno podrían causar efectos adversos a los organismos acuáticos, lo cual es preocupante ya que se han detectado parabenos en concentraciones que oscilan entre 15 y 400 ng/L en aguas superficiales (Díaz, 2013).

1.3 ANTECEDENTES

El objetivo de este trabajo es sintetizar y caracterizar sílice mesoporosa, de tipo SBA-15 y SBA-15 funcionalizada con grupos orgánicos amina, para la determinación de la eficacia de retención y elución de contaminantes emergentes tales como los parabenos frente a materiales comerciales. En concreto se ha estudiado la capacidad de extracción de los parabenos a diferentes pH y, en especial, en muestras comparables al agua de mar.

A pesar utilizarse desde hace casi 100 años, en 1996 se publicaron los primeros resultados analíticos de la presencia de parabenos y derivados en el agua. Aunque existen tratamientos que los eliminan relativamente bien de las aguas residuales bajo condiciones aeróbicas, los parabenos siempre están presentes a bajos niveles de concentración en los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas

residuales, normalmente a niveles de $\mu\text{g/L}$ (ppb) o ng (ppt). Se ha demostrado que la presencia de parabenos en el medio ambiente es mayor en las zonas costeras o en los ríos cercanos a las fábricas (Jonkers, 2009), (Kusk, 2011), (Ramírez, 2012), (Teerlink, 2012), (Yu, 2012). Además, al ser compuestos que contienen grupos hidroxilo fenólicos, los parabenos pueden reaccionar fácilmente con cloro libre, produciendo subproductos halogenados. Derivados clorados de los parabenos son más estables y se sabe relativamente poco acerca de su aparición en agua potable y el riesgo potencial para los humanos (Haman, 2015).

Durante los últimos años se han publicado diferentes métodos de extracción, separación y determinación de varios parabenos en diversas muestras de interés ambiental y biológico. En general, esos métodos analíticos se basan en los métodos tradicionales de extracción / preconcentración que utilizan grandes volúmenes de muestra y solventes orgánicos (Díaz, 2013).

Recientemente el desarrollo de materiales adsorbentes como las sílices mesoporosas han sido de interés en la investigación en química analítica como materiales para (micro)extracción en fase sólida debido a sus características y ventajas frente a sorbentes tradicionales o comerciales (Casado, 2017). Entre estas características se encuentran: elevada área de superficie, gran volumen de poro, distribución de tamaño de poro bien definida, composición de pared controlable y propiedades de superficie modificables. Por ello, estos materiales pueden ser una buena alternativa a los sorbentes clásicos, como la sílice amorfa y los materiales poliméricos hidrofóbicos o hidrofílicos, y pueden permitir una extracción eficiente de los compuestos objetivo como pueden ser los parabenos en diferentes tipos de muestras ambientales.

1.4 OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo son los siguientes:

- 1- Síntesis de sílice mesoporosa del tipo SBA-15 con dimensiones y porosidad uniforme.
- 2- Funcionalización de la sílice mesoporosa SBA-15 con grupos orgánicos amina.
- 3- Caracterización de los sólidos porosos sintetizados mediante adecuadas técnicas instrumentales: principalmente difracción de rayos X, microscopía electrónica, espectroscopía IR y análisis termogravimétrico.
- 4- Estudio de la capacidad de extracción de parabenos de los sólidos sintetizados frente a columnas comerciales de sílice C18 y STRATA-X-AW Phenomenex®.

2. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

2.1 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La difracción de rayos X es una técnica experimental utilizada para realizar un análisis cristalográfico de un material. Se basa en la interacción de los rayos X con los electrones de los átomos del material produciéndose una difusión por el entorno ordenado de la red cristalina, de modo que la radiación emergente aportará información acerca de la muestra (Skoog, 2008). Para que se produzca esta difracción es necesario que la separación entre las capas de la red sea la misma que la longitud de onda de la radiación y que los puntos que dispersen la radiación se encuentren de forma regular en el espacio. El fenómeno de difracción sigue la ley de Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin \theta_{hkl}$$

Siendo n un número entero, λ la longitud de onda de la radiación incidente, d el espacio entre dos planos de la red, θ el ángulo incidente de la radiación y hkl los índices de Miller para la línea de difracción considerada. Se calcula la distancia d a partir de la ecuación conociendo la longitud de onda de la fuente y el ángulo de los máximos de difracción. Posteriormente se pueden asignar los índices de Miller para determinar la simetría del sólido. El patrón de rayos X es característico de cada fase cristalina de modo que puede compararse con los difractogramas bibliográficos para identificar correctamente el material analizado.

Las medidas experimentales se han llevado a cabo en el difractómetro de rayos X Bruker D8 Advance equipado con un anticátodo de cobre, filtro de níquel y detector dispersivo de energía unidimensional modelo Lynxeye. Las medidas se han realizado en atmósfera libre y temperatura ambiente.

2.2 TERMOGRAVIMETRÍA

La termogravimetría es una técnica que registra las variaciones de la masa de un sólido, a lo largo de un tiempo determinado, en función de la temperatura. Para la caracterización del sólido mesoporoso se ha empleado la modalidad dinámica que consiste en medir la masa de la muestra con un aumento de temperatura lineal. Mediante este método se obtiene un termograma que aporta información acerca de la estabilidad térmica y sobre la composición inicial y final de la muestra.

Para esta memoria se ha empleado el instrumento TA Instruments- SDT2960 con analizador DSC-TGA. El estudio se ha realizado mediante una rampa de temperatura de 25°C a 1000°C con una velocidad de 2°C/min con una corriente reductora de nitrógeno.

2.3 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

La caracterización morfológica de los sólidos se ha realizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, *Scanning Electron Microscopy*). Es una técnica de microscopía electrónica capaz de producir imágenes de la superficie de las muestras analizadas mediante las interacciones de los electrones con el material. Analizando las imágenes se puede obtener información acerca de la naturaleza física de la superficie.

Para obtener una imagen por microscopía electrónica de barrido, se enfoca un haz de electrones muy fino sobre la superficie de muestra sólida, el haz de electrones se pasa por la muestra en un barrido en el cual: (1) se barre la superficie en línea recta en la dirección x , (2) vuelve a la posición inicial y , y (3) se desplaza hacia abajo en la dirección y un incremento estándar. El proceso se repite hasta que se ha analizado el área deseada (Skoog, 2008). Se producen varios tipos de señales desde la superficie, se utilizan los electrones retrodispersados, secundarios y rayos X para construir la imagen.

El microscopio utilizado es el modelo HITACHI S-3400N. Para evitar acumulación de carga eléctrica las muestras se cubrieron de una capa de 20 nm de oro por vaporización.

2.4 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

El espectro infrarrojo (IR) se origina en las transiciones entre los niveles discretos de energía vibracional y rotacional de las moléculas (Skoog, 2008). Las frecuencias de los diferentes tipos de vibraciones dependen de la constante de fuerza de los enlaces entre los átomos que forman la molécula y de sus masas. Ciertos grupos estructurales de átomos dan lugar a bandas vibracionales en la misma región del espectro (frecuencias de grupos característicos), independientemente de la molécula en la que el grupo esté situado. En estos casos se puede asumir que una vibración particular está localizada en ese grupo estructural, a pesar de que en un modo normal de vibración cada átomo en la molécula sufre un desplazamiento periódico, en fase y con la misma frecuencia. En esta memoria se ha utilizado la espectroscopia infrarroja para identificar los grupos orgánicos presentes en la muestra de sílice mesoporosa funcionalizada.

Los espectros FT-IR presentados en esta memoria se obtuvieron con un espectrofotómetro de transformada de Fourier Bruker Vertex 80v equipado con un criodetector MCT, trabajando a una resolución de 3 cm^{-1} y con 64 adquisiciones para cada espectro. Los espectros se registraron en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} . Las muestras se prepararon en forma de pastillas de KBr con una proporción (en peso) muestra: KBr de 1:100. Previamente a la adquisición de los espectros FT-IR las pastillas de KBr se secaron en la estufa a 100°C .

2.5 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA Y HPLC

Para evaluar el potencial de los materiales como sorbentes existen varias técnicas tales como SPE (*solid-phase extraction*), μ -SPE (*solid-phase micro extraction*) y MSPD (*matrix solid-phase extraction*). En la memoria se ha llevado a cabo el estudio por SPE, siendo este el procedimiento más utilizado para la extracción y preconcentración de compuestos orgánicos de muestras, principalmente debido a su simplicidad. Esta técnica implica una separación líquido-sólido, donde la fase de extracción es un sorbente sólido utilizado para eliminar y/o concentrar compuestos orgánicos de muestras o soluciones líquidas. En comparación con la extracción líquido-líquido, SPE es fácil de usar y reduce el consumo de disolvente y el tiempo de preparación de la muestra. El procedimiento consiste en un primer paso de acondicionamiento pasando solventes orgánicos o agua, en este caso metanol, a través de un “cartucho SPE” (columna preparada llena con el sorbente) para aumentar el área de superficie efectiva y reducir las interferencias. Luego, la solución de muestra se carga en el cartucho y el sorbente retiene los analitos objetivo. En la figura 3 se representa de forma esquemática el procedimiento de carga y elución. Una vez que se ha cargado la muestra, se realiza un paso de lavado para eliminar los componentes no deseados que puedan interferir. Después de secar el sorbente, las interacciones entre los analitos deseados y el sorbente se interrumpen al pasar pequeños volúmenes de disolventes orgánicos, lo que conduce a la desorción de los analitos de la fase sólida que se recogen para su posterior análisis, en el caso de esta memoria se determinará la composición de la muestra por cromatografía líquida de alta resolución.

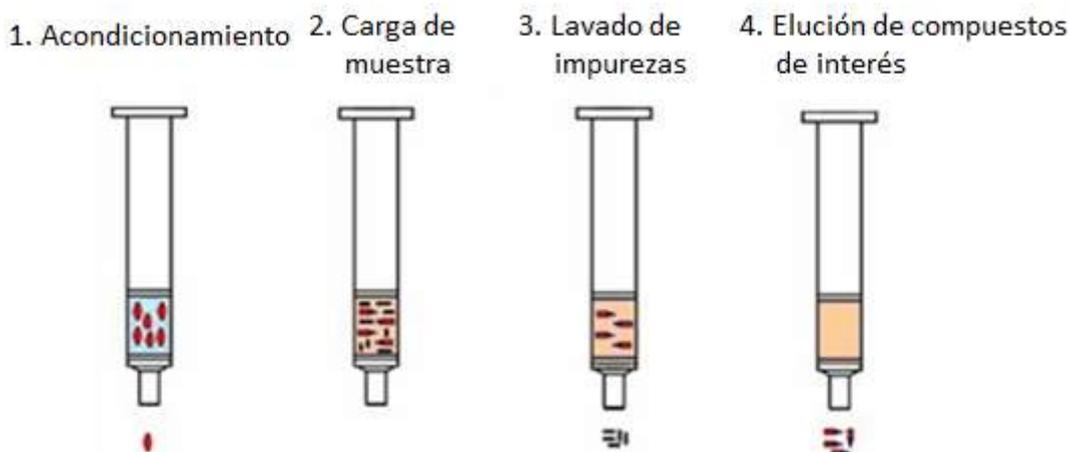


FIGURA 3: FASES DEL PROCESO SPE DE UNA MUESTRA (ALTUN, 2005).

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*) es un tipo de cromatografía en columna utilizada para la separación de componentes de una mezcla en función de las interacciones químicas que presenta la muestra con la columna. Es una técnica que permite adaptarse a una gran cantidad de analitos para su detección tanto cualitativa como cuantitativa. El método consiste en tener la muestra disuelta en un disolvente determinado que será la fase móvil de la cromatografía, se hace pasar esta fase a través de una columna cromatográfica, también llamada fase estacionaria. En función de la composición de la fase estacionaria los analitos de la fase móvil interaccionarán de un modo u otro. La resolución de la separación y el tiempo de retención de los componentes de la mezcla dependerán de las interacciones entre las fases. Al tener

cada componente un tiempo de retención diferente, éstos saldrán de forma separada en el cromatograma en forma de señal.

En el caso de esa memoria se ha utilizado el equipo de HPLC Jasco equipado con bombas PU-4180, autosampler AS-4050, detector UV-Visible (Photo Diode Array Detector) MD-4017 interfase box LC-NET II/ACD y termostato de columna GECKS 2000 y una columna Onyx Monolithic HD-C18 (100x4.6mm) Phenomenex®.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN CRISTALOGRÁFICA

3.1.1 SÍNTESIS DE SBA-15

La síntesis de la sílice SBA-15 se ha realizado siguiendo el método descrito por (Ding, 2013). Para ello se ha preparado una disolución de 61.5 mL de agua destilada y 4.5 mL de ácido clorhídrico al 37% en una manga de teflón a 40°C. Se añadieron 1.8g de Pluronic® P123, empleado como agente director estructural, en agitación. Tras la disolución del surfactante se añadieron 4 mL de tetraetil ortosilicato (TEOS, 98%) como fuente de sílice. La mezcla se dejó en agitación y a temperatura constante de 40°C durante 24 horas. Pasado el tiempo se introdujo la manga en un autoclave y se dejó en la estufa durante 48 horas a 100°C. Después de dos días se filtró el producto obtenido con agua destilada hasta conseguir un pH neutro y después con etanol. El sólido se dejó secar en un desecador.

Para eliminar los restos orgánicos del material se calcinó el sólido durante 5.5 horas en corriente de nitrógeno y 3 horas en corriente de aire a 550°C. Esta muestra de sílice mesoporosa calcinada se llamará en esta memoria SBA-15.

3.1.2 FUNCIONALIZACIÓN DE LA SBA-15

La funcionalización del material mesoporoso sintetizado se realizó según una adaptación del método solvotermal de (Ding, 2017) representado de forma esquemática en la figura 4. Inicialmente se introducen 0.1 g de SBA-15 en una manga de teflón junto con 20 mL de tolueno, y se deja en agitación. Se añade a la manga de teflón 146 µL de (aminoetilaminometil)fenetiltrimetoxisilano y se deja agitando 10 minutos. Pasado ese tiempo se introduce la manga en un autoclave para dejarse en la estufa a 80°C durante 2 horas. Una vez enfriado se filtra el producto obtenido, primero varias veces con tolueno y después varias veces con etanol. El sólido se dejó secar en la estufa a 80°C. En la figura 4 puede observarse el proceso de funcionalización.

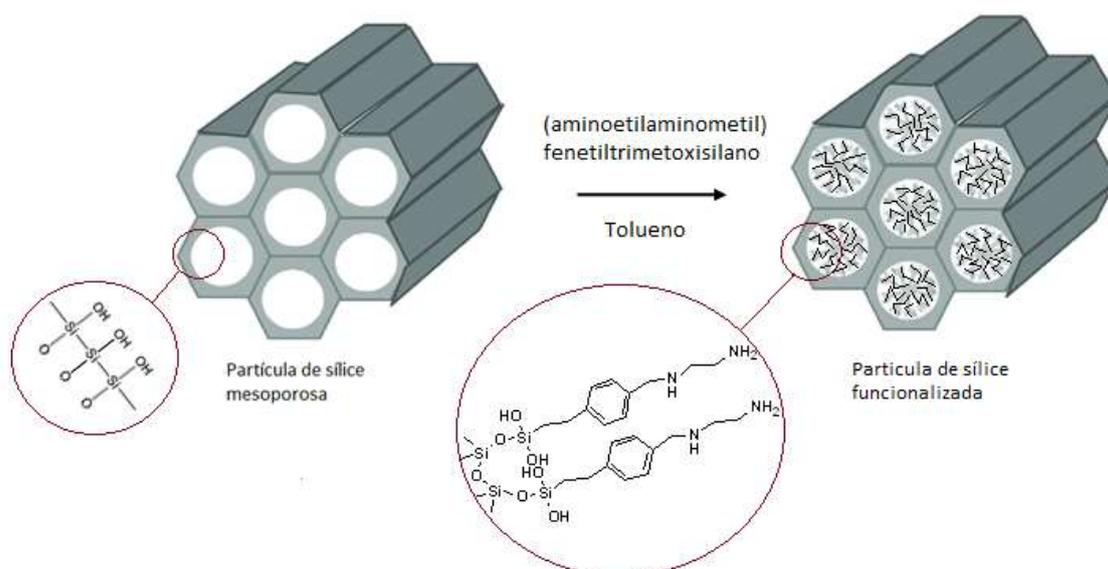


FIGURA 4: ESQUEMA DEL PROCESO DE FUNCIONALIZACIÓN DE LA SBA-15.

3.1.3 CARACTERIZACIÓN CRISTALOGRÁFICA

La caracterización cristalográfica de los materiales se ha llevado a cabo mediante difracción de rayos X, en la modalidad de polvo microcristalino. Las medidas que se llevaron a cabo se hicieron en las siguientes condiciones: intervalo angular 2θ de $0.5-10^\circ$, con un paso de 0.02° , tiempo de residencia por canal de 50 segundos y área iluminada 15 mm.

En la figura 5 se pueden observar los difractogramas correspondientes a la SBA-15 sintetizada y calcinada y la SBA-15 funcionalizada con grupos amino. En ellos se pueden apreciar los picos que pertenecen a las reflexiones (100), (110) y (200) típicas del grupo espacial 2D hexagonal $p6mm$ de una estructura tipo SBA-15 con una distribución de poros tubulares (Kruk, 2000), (Zhao, 1998). Ambos difractogramas presentan las líneas de difracción características pero en el caso de la SBA-15 funcionalizada los picos son de menor intensidad. Este tipo de cambios se han descrito en la bibliografía (Song, 2005) al funcionalizar la sílice con moléculas orgánicas voluminosas y en este caso por la presencia de los grupos amino.

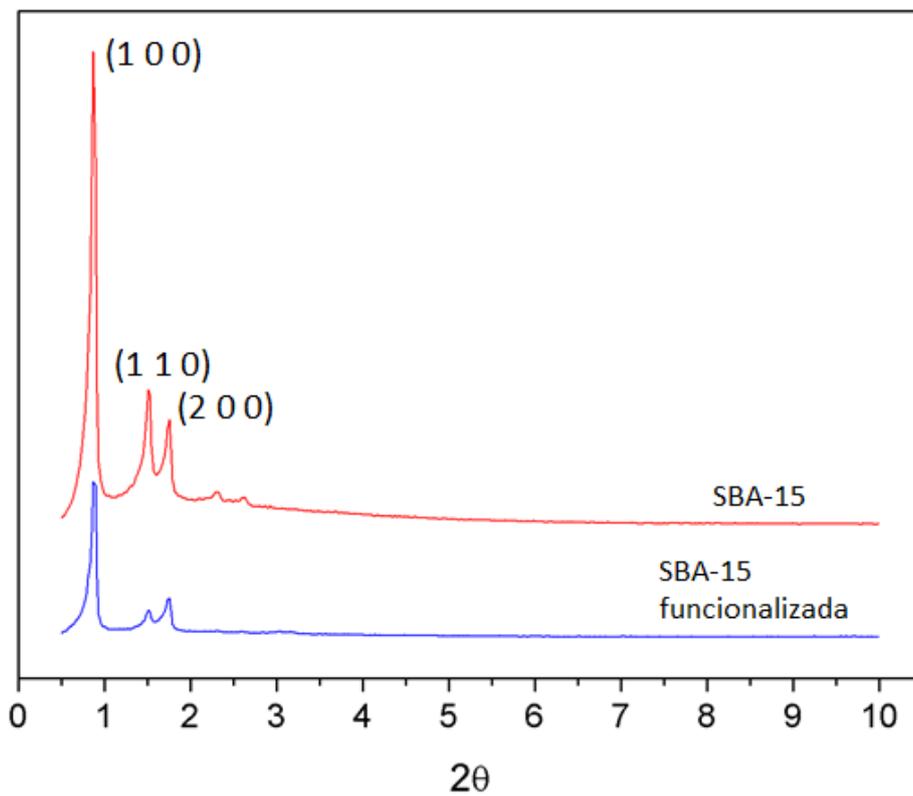


FIGURA 5: DIFRACTOGRAMAS DE RAYOS X DE LA MUESTRA DE SBA-15 Y SBA-15 FUNCIONALIZADA.

3.1.4 CARACTERIZACIÓN TERMOGRAVIMÉTRICA

En la figura 6 se pueden observar los termogramas obtenidos de las muestras de sílice SBA-15 y SBA-15 funcionalizada. En el primer termograma se aprecia una disminución de aproximadamente un 4% del peso antes de alcanzar los 100°C , esta variación se debe a la pérdida de agua adsorbida. Con respecto a la muestra funcionalizada se pueden observar disminuciones del peso de forma

escalonada a medida que se descompone el grupo orgánico de la funcionalización. Esta pérdida se produce en un intervalo amplio de temperatura y de forma gradual. La pérdida total es de aproximadamente un 28% entre los 100°C y 1000°C.

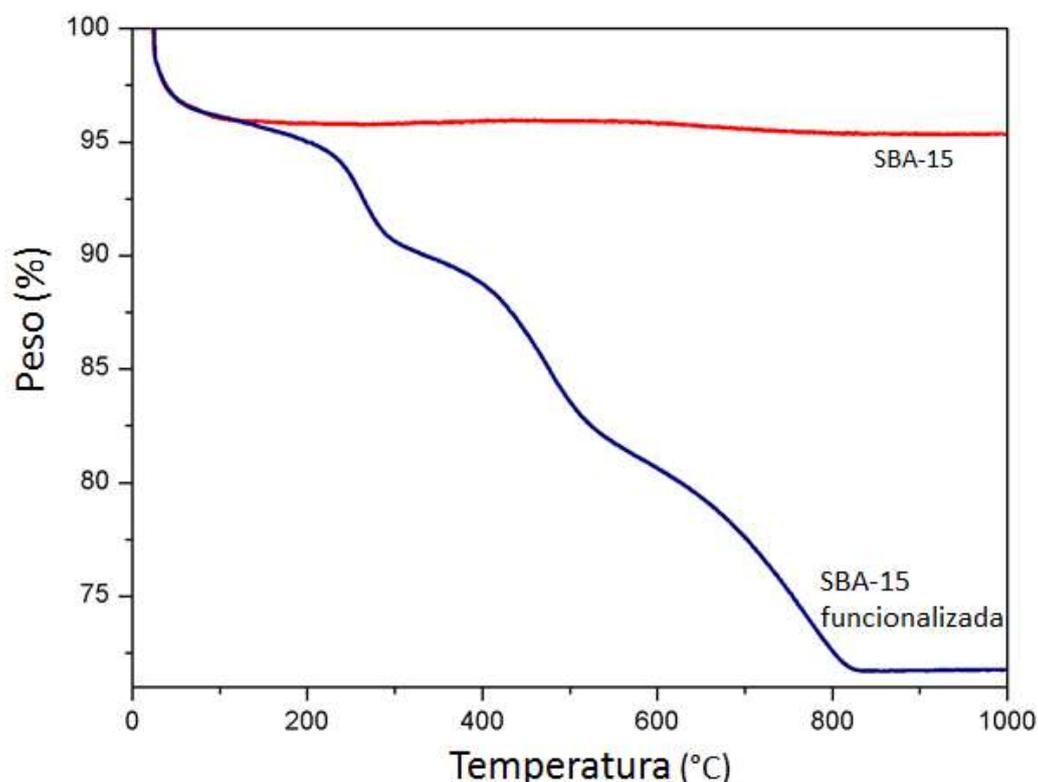


FIGURA 6: TERMOGRAMA DE LA MUESTRA DE SBA-15 Y SBA-15 FUNCIONALIZADA.

3.1.5 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

La espectroscopia FT-IR se utilizó para estudiar las muestras de sílice SBA-15 y SBA-15 funcionalizada con grupos orgánicos. En la figura 7 se presentan los espectros de las dos muestras. En el espectro de la muestra SBA-15 se observa una banda intensa y ancha que cubre la zona de unos 3600 a 3100 cm^{-1} y una banda débil a 900 cm^{-1} que representan las vibraciones de estiramiento y flexión de Si-OH, respectivamente. La banda intensa centrada a 1100 cm^{-1} se asigna al modo de tensión asimétrica Si-O-Si y a 800 cm^{-1} se asigna al modo de tensión simétrica Si-O-Si. También se observa la presencia de un pequeño pico de absorción correspondiente a la flexión C-H a 1300 cm^{-1} del copolímero. La banda a 1600 cm^{-1} se ha atribuido a la vibración de estiramiento del grupo carboxilo (-C=O). Esto sugiere que todavía existe una pequeña cantidad de tensioactivo en la muestra después de la calcinación (Kokunešoski, 2010).

El espectro IR de la muestra de sílice funcionalizada con grupos amino muestra, además de las bandas de absorción IR descritas para el espectro de la muestra SBA-15, una banda de absorción IR a 3000 cm^{-1} y otra a 1600 cm^{-1} que corresponden a los modos de tensión N-H, junto con otras bandas de absorción a alrededor de 2800 cm^{-1} que se asignan a los modos de tensión -CH y -CH- de las cadenas de etilamina. En la zona entre 1500 cm^{-1} y 1400 cm^{-1} se esperaría encontrar la banda característica de tensión de -C=C- del anillo aromático que solapa con el resto de bandas presentes.

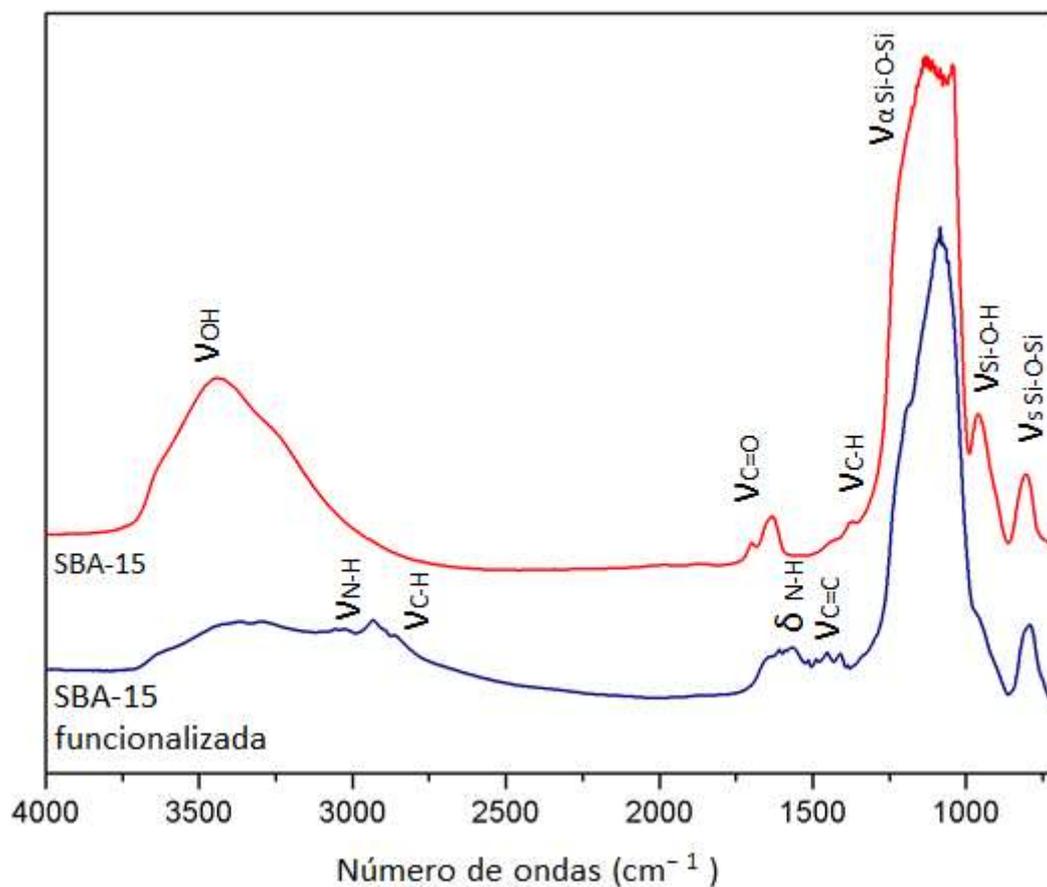


FIGURA 7: ESPECTRO IR DE LA MUESTRA DE SBA-15 Y SBA-15 FUNCIONALIZADA.

3.1.6 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

En la figura 8 se muestran las micrografías electrónicas obtenidas por microscopía electrónica de barrido de las muestras de sílice SBA-15 y SBA-15 funcionalizada. En las imágenes puede observarse la forma tubular de la SBA-15, característica de la fuente de sílice TEOS sobre el templante utilizado P123 (Zhao, 1998). En las micrografías de SBA-15 funcionalizada se puede ver como las partículas son de forma similar aunque de longitud menor.

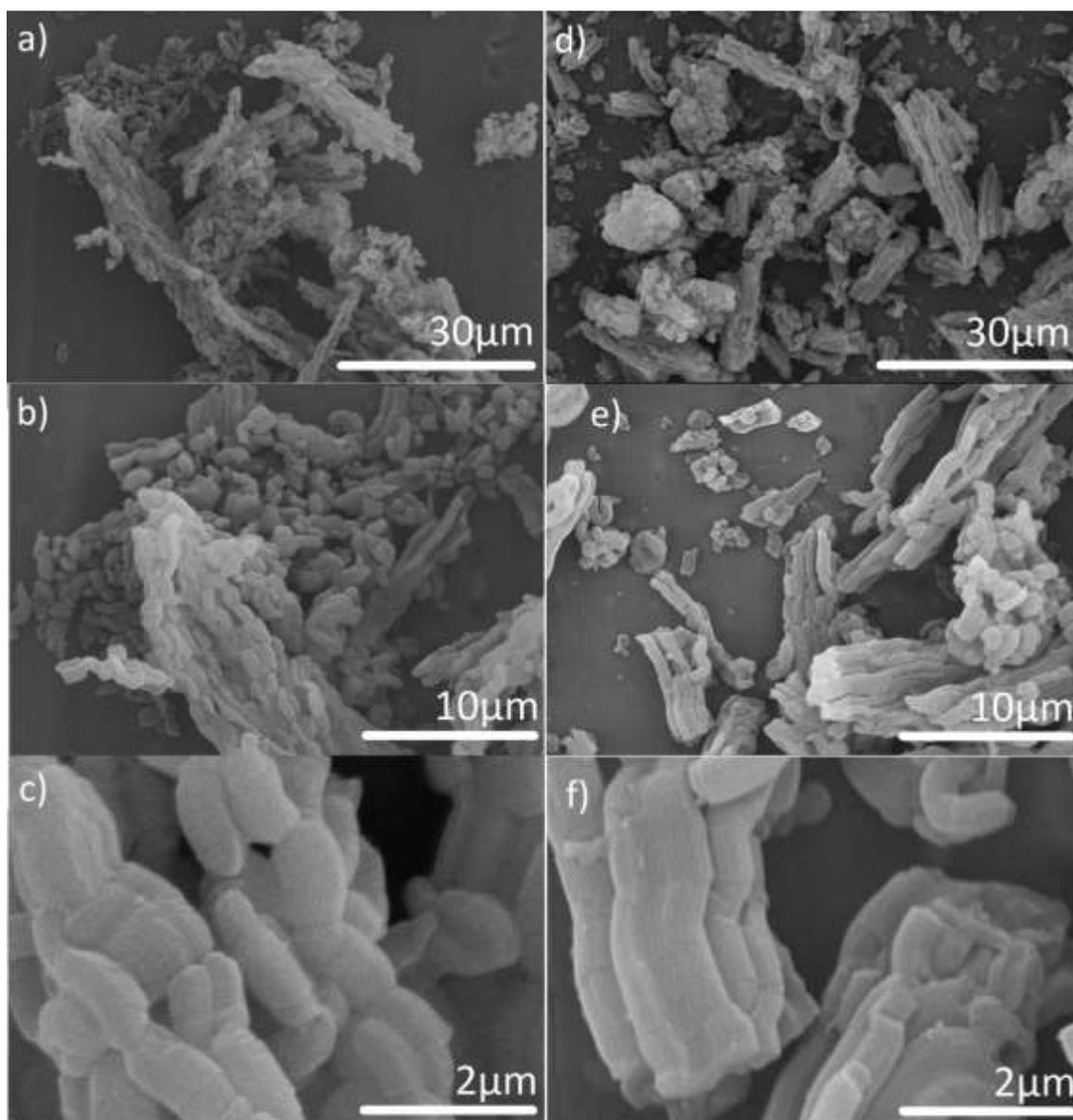


FIGURA 8: A), B) Y C) MICROGRAFÍAS DE LAS MUESTRAS DE SBA-15 FUNCIONALIZADA. D), E) Y F) MICROGRAFÍAS DE LAS MUESTRAS DE SBA-15 CALCINADA.

3.2 EXTRACCIÓN DE PARABENOS

El objetivo de la memoria consiste en validar la capacidad de extracción de una mezcla de parabenos a diferentes pH y en disolución salina tanto de los materiales preparados como de materiales comerciales, en particular, se han utilizado dos tipos de columnas con materiales comerciales: 30µm

- C18 125Å (bulk packing material 55-105µm, *Waters Corporation*): la sílice C18 es el tipo de columna más popular utilizada como fase estacionaria en cromatografía de fase reversa. Se trata de una sílice que posee cadenas lineales de 18 carbonos (figura 9).

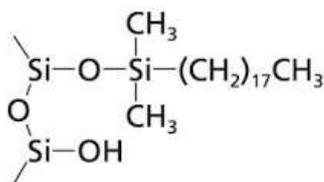


FIGURA 9: ESTRUCTURA QUIMICA DE LA SILICE C18.

- STRATA-X-AW Phenomenex®: es una columna polimérica comercial para intercambio aniónico débil. Consiste en una estructura hidrófoba con un ligando di-amino que contiene una amina primaria y una amina secundaria (figura 10). Puede retener analitos por tres mecanismos diferentes: por intercambio aniónico débil interacciones π-π e interacciones hidrofóbicas.

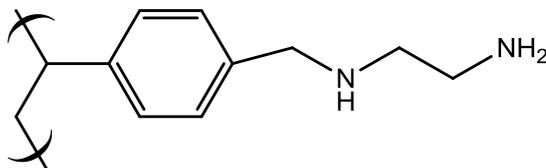


FIGURA 10: ESTRUCTURA QUIMICA DE LA STRATA-X-AW PHENOMENEX®.

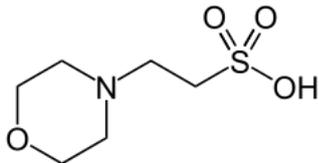
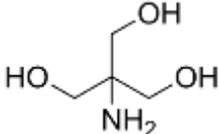
Para los estudios de extracción se ha preparado una disolución acuosa madre de concentración 50 ppm de los siguientes parabenos: metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP), fenilparabeno (PheP) y butilparabeno (BP). Y a partir de dicha disolución madre, los estudios de carga y elución de parabenos con SBA-15, SBA-15 funcionalizada, C18 y Strata-X-AW Phenomenex® se hicieron con una disolución de parabenos (MP, EP, PP, PheP y BP) de concentración de 1 ppm al 2% en MeOH en diferentes medios:

- Disolución a pH 8 (tampón de TRIS (50mM))
- Disolución a pH 6 (tampón de MES (50mM))
- Disolución a pH 6 (tampón de MES (50mM)) y NaCl 3.5%
- Disolución a pH 6 (tampón de MES (50mM)) en agua de mar sintética (siguiendo la receta de (Horstkotte, 2010)).

La composición del agua de mar sintética utilizada consiste en una disolución compuesta de: 3.0 mg·L⁻¹ de NaF, 20 mg·L⁻¹ de SrCl₂·6H₂O, 30 mg·L⁻¹ de H₃BO₃, 100 mg·L⁻¹ de KBr, 700 mg·L⁻¹ de KCl, 1470 mg·L⁻¹ de CaCl₂·2H₂O, 4000 mg·L⁻¹ de Na₂SO₄, 10,780 mg·L⁻¹ de MgCl₂·6H₂O, 23,500 mg·L⁻¹ de NaCl, 20 mg·L⁻¹ de Na₂SiO₃·9H₂O y 200 mg·L⁻¹ de NaHCO₃, disueltos en agua destilada.

Los compuestos utilizados para preparar las disoluciones tampón del estudio son: MES (ácido-2-(N-morfolino)etanosulfónico) y TRIS (tris(hidroximetil)aminometano). Ambos compuestos se utilizan ampliamente en biología molecular, se caracterizan por ser altamente solubles en agua, poco solubles en solventes apolares, mínimo efecto salino y mínimo cambio de pKa en función de la temperatura. Su estructura y su pKa vienen recogidos en la tabla 2.

TABLA 2: CARACTERÍSTICAS DE LOS TAMPONES MES Y TRIS.

	MES	TRIS
Estructura química		
Fórmula química	C ₆ H ₁₃ NO ₄ S	(HOCH ₂) ₃ CNH ₂
pKa	6.15	8.06

Para todos los estudios de carga y elución de parabenos siempre se usó la misma cantidad de sólido de 30 mg. Las etapas de acondicionamiento, carga, lavado y elución fueron las siguientes:

1. Etapa de acondicionamiento de la columna: 0.5 mL de metanol
2. Etapa de acondicionamiento: 0.5 mL de la disolución tampón correspondiente.
3. Carga: 1 mL de la disolución de parabenos de 1 ppm en la disolución tampón correspondiente.
4. Lavado: 0.5 mL de la disolución tampón correspondiente.
5. Elución: 1 mL de MeOH recogida en vial para HPLC.

Una vez recogidas las eluciones éstas fueron inyectadas en el sistema de HPLC. Para el HPLC el método utilizado fue un método con gradiente de disolventes, empieza con un 35% de acetonitrilo y un 65% agua y llega hasta ser 100% acetonitrilo al cabo de 11.5 min; con un flujo de 1 mL/min. El volumen de inyección fue 10 µL y la temperatura de la columna se mantuvo a 31°C. La longitud de onda para la detección de los parabenos fue de 254 nm. En la figura 11 se puede observar un cromatograma del patrón de concentración 1ppm de todos los analitos.

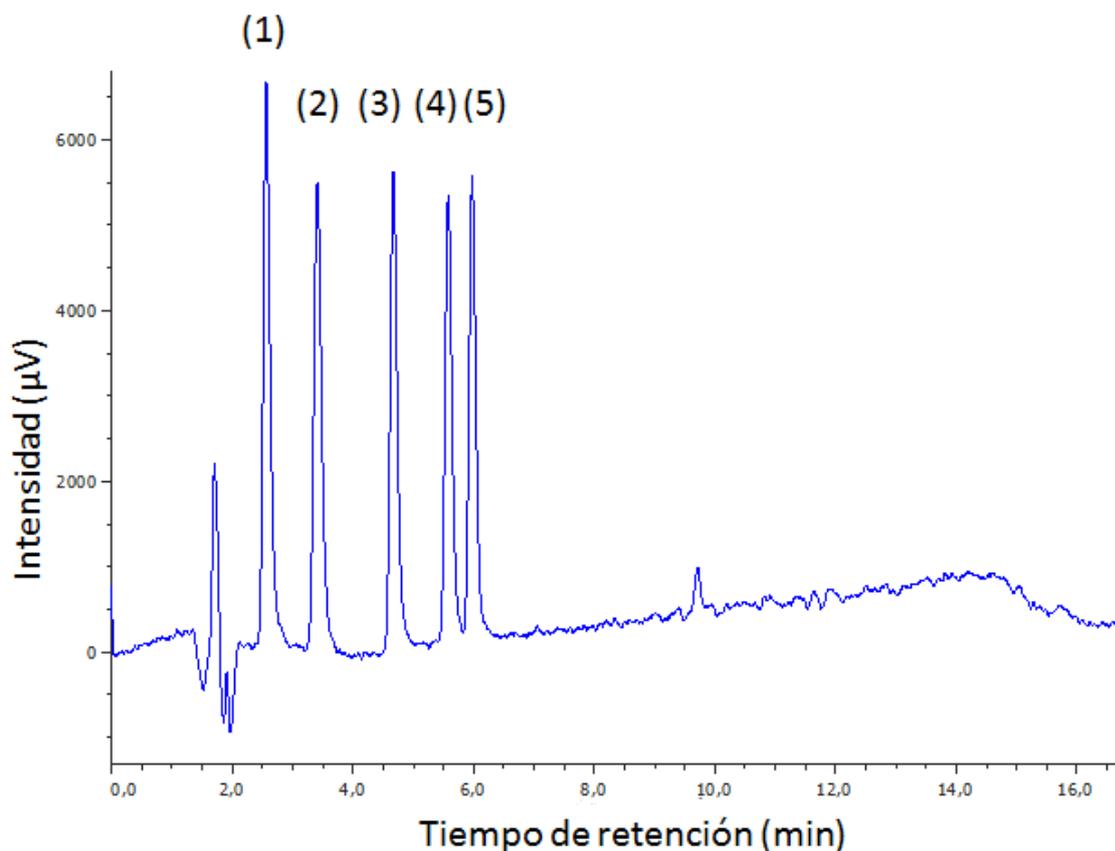


FIGURA 11: CROMATOGRAMA DEL PATRÓN DE 1PPM DE LA MEZCLA UTILIZADA DE PARABENOS SIENDO LOS PICOS: (1) METILPARABENO, (2) ETILPARABENO, (3) PROPILPARABENO, (4) FENILPARABENO Y (5) BUTILPARABENO.

En las figuras 12 y 13 vienen representados los porcentajes de retención de los diferentes parabenos analizados para las muestras utilizadas. En la figura 12 se pueden observar los porcentajes de retención de cada uno de los componentes de la mezcla de parabenos utilizada para el estudio de modo que, de izquierda a derecha, las cuatro primeras barras de la figura para cada tipo de parabeno corresponden a los resultados de la muestra de SBA-15 sintetizada, y las cuatro siguientes a los obtenidos con el material comercial C18. A su vez, cada grupo de cuatro barras representa el porcentaje medio de las réplicas realizadas en tampón de MES a pH=6, tampón de TRIS a pH=8, tampón de MES a pH=6 en NaCl 3.5% y en tampón de MES a pH=6 en agua de mar sintética, respectivamente. A grandes rasgos, se puede observar como para las muestras de C18, columna principalmente apolar, la retención de los parabenos aumenta a la vez que disminuye su polaridad y da mejores resultados a pH 6 que a pH 8. Con la sílice tipo SBA-15, columna polar, la tendencia general es la misma pero con un mayor porcentaje de retención. Ambas columnas actúan de fase reversa, cuanto más apolar es el parabeno mejor se retiene. Por ello, como a pH 8 los analitos se encuentran parcialmente ionizados (ver pKa de la tabla), se extraen menos, es decir, se necesitan analitos en forma neutra para que la columna funcione por fase reversa y por este motivo a pH 6 se consiguen mejores resultados. Este efecto es más significativo para la SBA-15, puesto que extrae mejor que la C18. El efecto de la presencia de sales (al añadir concentraciones de sales diferentes aumenta la fuerza iónica de la disolución) en este caso no provoca un cambio significativo de la eficacia extractiva ya que los iones no compiten por la superficie de la columna, este hecho resulta positivo porque supone que se puede utilizar en agua de mar sin que se vea afectada significativamente la eficacia.

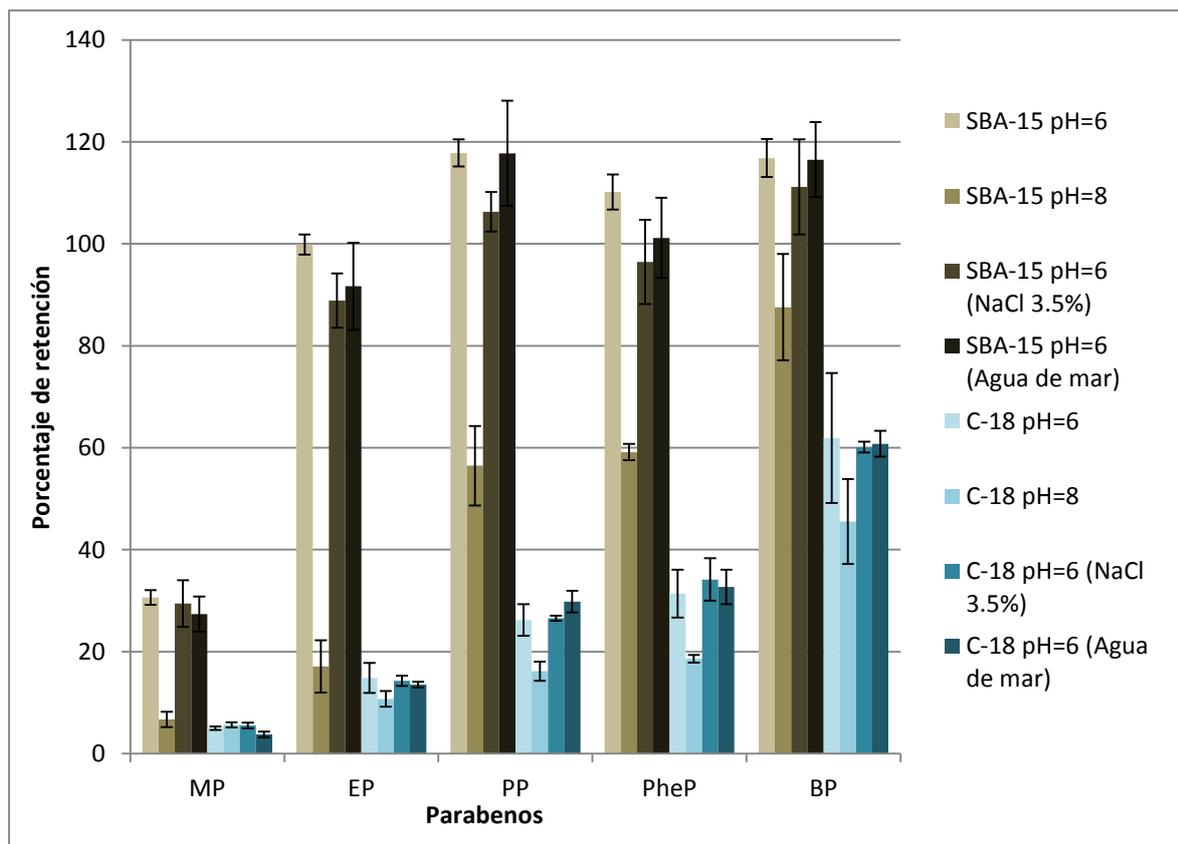


FIGURA 12: PORCENTAJE DE RETENCIÓN DE LOS DIFERENTES PARABENOS: MP, EP, PP, PheP Y BP, DE LA MUESTRA DE SBA-15 SINTETIZADA Y DEL MATERIAL COMERCIAL C18.

En la figura 13 se pueden observar los porcentajes de retención de la mezcla de parabenos, de izquierda a derecha, las cuatro primeras barras de la figura para cada tipo de parabeno corresponden a los resultados de la muestra comercial de Strata-X-AW Phenomenex®, y las cuatro siguientes a los obtenidos con la sílice SBA-15 funcionalizada con grupos amina. Igual que en la figura 12, cada grupo de cuatro barras representa el porcentaje medio las réplicas realizadas en tampón de MES a pH=6, tampón de TRIS a pH=8, tampón de MES a pH=6 en NaCl 3.5% y en tampón de MES a pH=6 en agua de mar sintética. Estos dos materiales se han comparado debido a que ambos presentan el mismo grupo di-amino. Para este conjunto de muestras, se puede observar, para la SBA-15 funcionalizada sigue la misma tendencia que la SBA-15 respecto a la mayor retención cuanto menor es la polaridad del parabeno, con la diferencia de que ha mejorado notablemente su eficacia a pH=8 por la presencia de los grupos amina. Además, en general, se puede ver una disminución de la retención con la presencia de sales en la matriz. Por otro lado, las réplicas obtenidas con el material comercial STRATA-X-AW Phenomenex® con el protocolo de la memoria ha dado resultados de alta retención y, en general, regulares en cuanto a la polaridad de los parabenos, del pH y de la concentración de sales en la matriz.

Ambas fases, además de presentar una zona hidrofóbica, presentan una zona de intercambio aniónico débil y por este motivo se ven menos afectadas por el pH que las columnas que actúan solamente como fases reversas. Para el MP y el EP, a pH 8 hay mayor proporción de analito ionizado que a pH 6 de modo que puede interactuar por la zona de intercambio aniónico de forma más efectiva. Para los analitos más hidrofóbicos lo que ocurre es que el carácter de fase reversa de la

columna es más significativo, además, a pH 6 hay mayor proporción de analito neutro que a pH 8, esto provoca que a pH 6 sea mayor la eficacia extractiva para el PP, BP y PheP. Asimismo, para los analitos más polares, MP, EP y PP, el aumento de fuerza iónica afecta negativamente a la eficacia extractiva ya que existen más aniones en el medio que pueden competir por las zonas de interacción de la columna y disminuye la eficacia de extracción.

En general, el material STRATA-X-AW Phenomenex® presenta buenos resultados, siendo éstos regulares independientemente del pH y de la concentración de sales. En cuanto a la SBA-15 funcionalizada debe considerarse que no se encuentra funcionalizada en la misma proporción que la columna comercial, esto provoca que su capacidad de intercambio iónico posiblemente sea inferior a la columna comercial y actúa mejor de fase reversa que por intercambio aniónico.

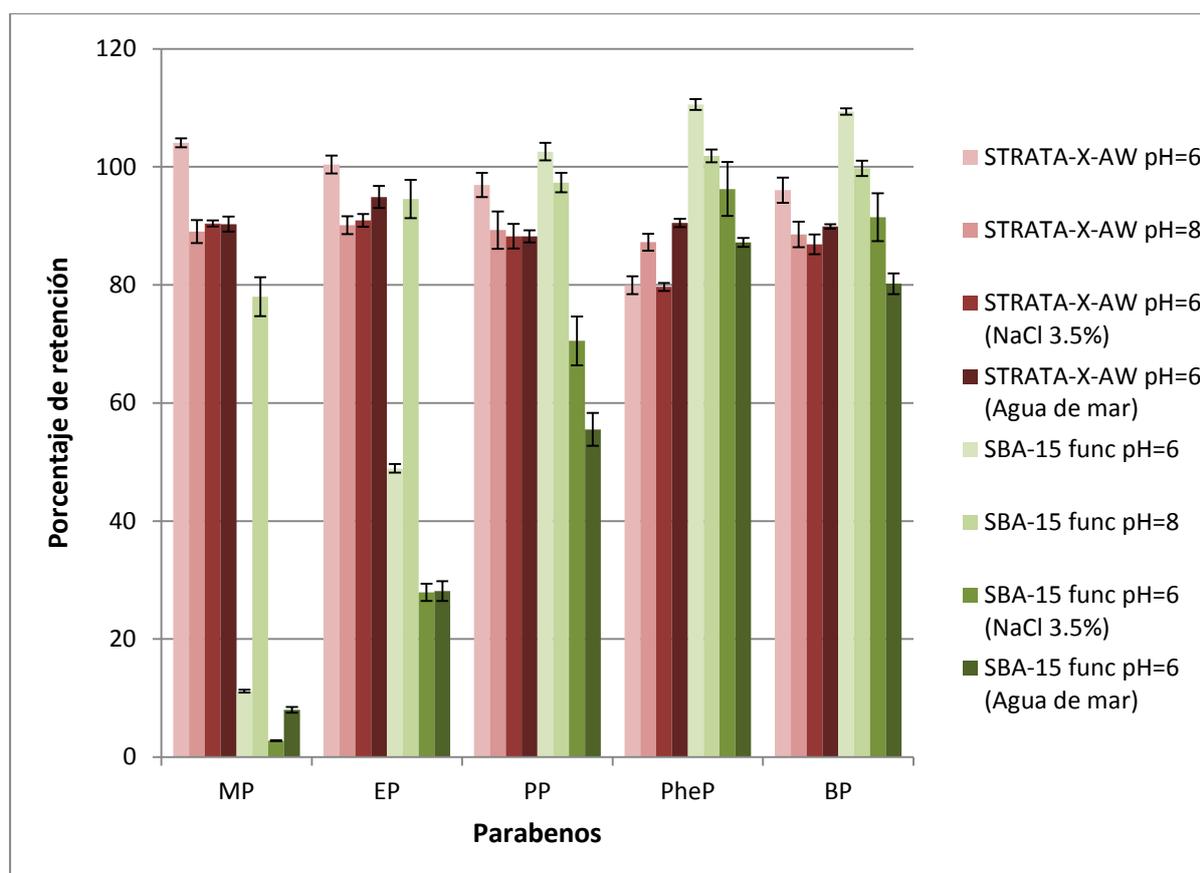


FIGURA 13: PORCENTAJE DE RETENCIÓN DE LOS DIFERENTES PARABENOS: MP, EP, PP, PheP Y BP, DE LA MUESTRA DE SBA-15 FUNCIONALIZADA CON GRUPOS ORGANICOS AMINA Y EL MATERIAL COMERCIAL STRATA-X-AW PHENOMENEX®.

4. CONCLUSIONES

A partir de los resultados experimentales y de su discusión se pueden llegar a las siguientes conclusiones:

- 1- Se ha conseguido sintetizar sílice tipo SBA-15 siguiendo el método descrito en la bibliografía.
- 2- A partir de un método solvotermal descrito en la bibliografía, se ha conseguido la funcionalización de la SBA-15 con un grupo orgánico di-amina.
- 3- La estructura y morfología de los materiales obtenidos se ha caracterizado mediante técnicas instrumentales adecuadas que han demostrado la obtención de la red de poros hexagonales característica del material.
- 4- Mediante extracción en fase sólida se ha estudiado la capacidad de retención de parabenos de las diferentes muestras preparadas además de dos muestras comerciales (C18 y STRATA-X-AW Phenomenex®). Para ello se ha realizado el procedimiento de extracción a pH 6 y 8 y con diferentes concentraciones de sales (NaCl 3.5% y agua de mar sintética). La muestra SBA-15 presenta una mayor eficacia extractiva a pH 6 que el material C18, independientemente de la presencia o no de sales en disolución. La muestra SBA-15 funcionalizada presenta mejores resultados a pH 8 que la sílice SBA-15; no obstante, su capacidad extractiva es inferior a la del material STRATA-X-AW Phenomenex®, debido a que éste proporciona buenos resultados independientemente del pH de la disolución y de la concentración de sales.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Altun, Z. (2005). *New Techniques for Sample Preparation in Analytical Chemistry* (Licentiate dissertation). Institutionen för kemi. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:kau:diva-1374>
- Błedzka, D., Gromadzińska, J., & Wasowicz, W. (2014). Parabens. From environmental studies to human health. *Environment International*, 67, 27-42. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2014.02.007>
- Casado, N., Pérez-Quintanilla, D., Morante-Zarcelero, S., & Sierra, I. (2017). Current development and applications of ordered mesoporous silicas and other sol-gel silica-based materials in food sample preparation for xenobiotics analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 88, 167-184. <http://doi.org/10.1016/j.trac.2017.01.001>
- Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council; Official Journal.* (2015).
- Díaz-Álvarez, M., Turiel, E., & Martín-Esteban, A. (2013). Hollow fibre liquid-phase microextraction of parabens from environmental waters. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 93(7), 727-738. <http://doi.org/10.1080/03067319.2012.708749>
- Ding, Y., Dan, H., Dong, X., Xian, Q., Wang, Y., & Lu, X. (2017). A convenient solvothermal method to synthesize highly ordered mesoporous silica SBA-15 with high loading of amino groups. *Materials Chemistry and Physics*, 192(1), 156-160. <http://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.01.061>
- Ding, Y., Yin, G., Liao, X., Huang, Z., Chen, X., Yao, Y., & Li, J. (2013). A convenient route to synthesize SBA-15 rods with tunable pore length for lysozyme adsorption. *Microporous and Mesoporous Materials*, 170, 45-51. <http://doi.org/10.1016/j.micromeso.2012.11.028>
- Ebele, A. J., Abou-Elwafa Abdallah, M., & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1-16. <http://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>
- Everm, D. H., & Butterworths, L. (1976). *International union of pure and applied chemistry division of physical chemistry manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units appendix ii Chairman, Commission on Colloid and Surface Chemistry.*
- Haman, C., Dauchy, X., Rosin, C., & Munoz, J. F. (2015). Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: A review. *Water Research*, 68(1), 1-11. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.030>
- Horstkotte, B., Alonso, J. C., Miró, M., & Cerdà, V. (2010). A multisyringe flow injection Winkler-based spectrophotometric analyzer for in-line monitoring of dissolved oxygen in seawater. *Talanta*, 80(3), 1341-1346. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.034>
- Jonkers, N., Kohler, H. P. E., Dammshäuser, A., & Giger, W. (2009). Mass flows of endocrine disruptors in the Glatt River during varying weather conditions. *Environmental Pollution*, 157(3), 714-723. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.029>

- Kokunešoski, M., Gulicovski, J., Matović, B., Logar, M., Milonjić, S. K., & Babić, B. (2010). Synthesis and surface characterization of ordered mesoporous silica SBA-15. *Materials Chemistry and Physics*, 124(2-3), 1248–1252. <http://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2010.08.066>
- Kruk, M., Jaroniec, M., Ko, C. H., & Ryoo, R. (2000). Characterization of the porous structure of SBA-15. *Chemistry of Materials*, 12(7), 1961-1968. <http://doi.org/10.1021/cm000164e>
- Kusk, K. O., Krüger, T., Long, M., Taxvig, C., Lykkesfeldt, A. E., Frederiksen, Andersson, A. M., Andersen, H. R., Hansen, K. M. S., Nellemann, C., Bonefeld-Jørgensen, E. C. (2011). Endocrine potency of wastewater: Contents of endocrine disrupting chemicals and effects measured by in vivo and in vitro assays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(2), 413–426. <http://doi.org/10.1002/etc.385>
- Nam, L., Coll, C., Erthal, L. C. S., de la Torre, C., Serrano, D., Martínez-Máñez, Ruiz-Hernández, E. (2018). Drug delivery nanosystems for the localized treatment of glioblastoma multiforme. *Materials*, 11(5), 779. <http://doi.org/10.3390/ma11050779>
- Ocaña-González, J. A., Villar-Navarro, M., Ramos-Payán, M., Fernández-Torres, R., & Bello-López, M. A. (2015). New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. *Analytica Chimica Acta*, 858(9), 1-15. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2014.07.002>
- Ramírez, N., Borrull, F., & Marcé, R. M. (2012). Simultaneous determination of parabens and synthetic musks in water by stir-bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 35(4), 580–8. <http://doi.org/10.1002/jssc.201100887>
- Reemtsma, T., Berger, U., Arp, H. P. H., Gallard, H., Knepper, T. P., Neumann, Voogt, P. De. (2016). Mind the Gap: Persistent and Mobile Organic Compounds - Water Contaminants That Slip Through. *Environmental Science and Technology*, 50(19), 10308–10315. <http://doi.org/10.1021/acs.est.6b03338>
- Richardson, S. D., & Ternes, T. A. (2018). Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*, 90(1), 398-428. <http://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04577>
- S.-W. Song, K. Hidajat, & S. Kawi. (2005). Functionalized SBA-15 Materials as Carriers for Controlled Drug Delivery: Influence of Surface Properties on Matrix–Drug Interactions. *Langmuir*, 21(21), 9568-9575. <http://doi.org/10.1021/LA051167E>
- Schnoor, J. L. (2014). Re-emergence of emerging contaminants. *Environmental Science and Technology*, 48(19), 11019–11020. <http://doi.org/10.1021/es504256j>
- Skoog, D. A., Holler, Fj., & Crouch, S. R. (2008). *Principios de análisis instrumental*. (C. Learning, Ed.) (6th ed.).
- Teerlink, J., Hering, A. S., Higgins, C. P., & Drewes, J. E. (2012). Variability of trace organic chemical concentrations in raw wastewater at three distinct sewershed scales. *Water Research*, 46(10), 3261–3271. <http://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.018>

- Yu, K., Li, B., & Zhang, T. (2012). Direct rapid analysis of multiple PPCPs in municipal wastewater using ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry without SPE pre-concentration. *Analytica Chimica Acta*, 738, 59–68. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.057>
- Zhao, D., Feng, J., Huo, Q., Melosh, N., Fredrickson, G. H., Chmelka, B. F., & Stucky, G. D. (1998). Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. *Science*, 279, 548-552. <http://doi.org/10.1126/science.279.5350.548>
- Zhao, D., Huo, Q., Feng, J., Chmelka, B. F., & Stucky, G. D. (1998). Nonionic triblock and star diblock copolymer and oligomeric surfactant syntheses of highly ordered, hydrothermally stable, mesoporous silica structures. *Journal of the American Chemical Society*, 120(24), 6024–6036. <http://doi.org/10.1021/ja974025i>