

Encara que els resultats de la part experimental d'aquesta Tesi ja han estat discutits individualment en els treballs dels apartats anteriors, en aquest apartat es fa una discussió global dels resultats més rellevants obtinguts.

Dels diferents resultats obtinguts i a mode de resum, en la Taula 1 es mostren els volums de ruptura del fenol trobats a partir de les corresponents corbes de ruptura amb els tres sorbents modificats químicament amb grups hidrofílics (acetil, benzoil i *o*-carboxibenzoil) i la reïna de partida (Amberchrom GC-161m), els quals han estat empaquetats en precolumnes de 10x3 mm de diàmetre intern.

Taula 1

Volums de ruptura del fenol trobats a partir de les corbes de ruptura

Sorbent	Grau de Modificació (%)	Volum de Ruptura (ml)
Amberchrom GC-161m	0	8
Amb.+ grup Acetil	30	14
Amb.+ grup Benzoil	60	13
Amb.+ grup <i>o</i> -carboxibenzoil	11	14

Cal esmentar que els volums de ruptura pel fenol trobats mitjançant les corbes de ruptura, i mostrats en la taula anterior, no són totalment comparables amb els trobats a partir de les recuperacions en preconcentrar diferents volums de mostra a diferents nivells de concentració. Aquest fet és degut a que per a realitzar les corbes de ruptura s'ha passat una mostra de 10 mg l⁻¹ a través de la precolumna per tal d'obtenir suficient senyal en el detector UV, per tant aquesta elevada concentració pot haver causat que la capacitat del sorbent de la precolumna es vegi superada. Tanmateix, com que totes les corbes han estat

enregistrades sota les mateixes condicions han permès comparar els diferents sorbents.

D'aquests resultats mostrats a la Taula 1 es dedueix que la introducció d'aquests grups polars a la reïna de PS-DVB comercial (Amberchrom GC-161m) permet una major retenció pel fenol, el qual és un dels analits més polars dels emprats en tota l'experimentació d'aquesta Tesi Doctoral i que habitualment presenta volums de ruptura molt baixos amb els sorbents convencionals. Aquest augment de la capacitat de retenció de les reïnes modificades és degut a l'aparició d'interaccions hidrofíliques (ponts d'hidrogen) entre els grups funcionals introduïts i el fenol, no presents en la reïna de partença.

Com es pot observar en la Taula 1, els tres sorbents modificats proporcionen uns volums de ruptura similars tot i que tenen diferent grau de modificació. Tenint en compte l'estructura química dels tres grups funcionals introduïts i del grau de modificació dels polímers resultants, es pot concloure que si es pogués obtenir un mateix grau de modificació la funcionalització amb el grup *o*-carboxibenzoil seria la que proporcionaria una major retenció pel fenol. Aquests resultats poden explicar-se perquè el grup *o*-carboxibenzoil ofereix un major nombre d'interaccions polars que els altres dos grups funcionals i a més interaccions π - π que el grup acetil no permet. Comparant el grup acetil i el benzoil sembla que, tot i tenir aquest últim un grau de modificació molt més elevat, el gran volum del grup benzoil dificulta la formació de les interaccions polars amb el seu grup carbonil, aleshores les interaccions de tipus π - π que aporta no són suficients per a superar el major nombre d'interaccions polars amb el grup acetil.

Aquests resultats obtinguts pel fenol es fan extensius a la resta d'analits polars emprats durant l'experimentació, és a dir aquests analits queden més retinguts

en els sorbents funcionalitzats. Les taules de recuperacions que s'inclouen en els tres primers treballs demostren aquests resultats.

Per altra banda, en la Taula 2 es mostren els volums de ruptura del fenol amb diversos sorbents comercials calculats a partir de les corbes de ruptura d'aquest analit amb aquests sorbents. Els sorbents comercials escollits es divideixen amb sorbents de carbó, de PS-DVB, de PS-DVB altament entrecreuat (HC-PS-DVB) i de PS-DVB funcionalitzat (F-PS-DVB).

Taula 2

Volums de ruptura del fenol trobats a partir de les corbes de ruptura amb sorbents comercials

Sorbent	Tipus de Sorbent	Volum de Ruptura (ml)
Envi-Carb	carbó	2
Carbopack B	carbó	2
PLRP-S	PS-DVB	5
Envi-Chrom P	PS-DVB	7
HYSphere-1	HC-PS-DVB	22
LiChrolut EN	HC-PS-DVB	30
Bond Elut PPL	F-PS-DVB	14

A partir de la comparació d'aquests volums amb els de la Taula 1, i dels valors de recuperacions, inclosos en els diferents treballs, amb aquests sorbents per a la resta d'analits polars estudiats, es dedueix que els tres sorbents funcionalitzats són més efectius en l'extracció d'aquests analits que molts dels sorbents comercials. Tanmateix, aquests proporcionen recuperacions inferiors que els polímers altament entrecreuat HYSphere-1 i LiChrolut EN. Els sorbents funcionalitzats amb grups hidrofílics permeten interaccions polars amb els analits, no possibles amb els sorbents comercials hidrofòbics, i això fa que presentin una major eficàcia en la seva extracció. Pel que fa als sorbents

HYSphere-1 i LiChrolut EN, aquests sorbents comercials presenten gran porositat i àrea superficial que els permet un elevat nombre d'interaccions π - π més important que les interaccions polars aportades pels sorbents funcionalitzats, per tant tenen més capacitat de retenció que els sorbents modificats i la resta de sorbents comercials emprats.

La nostra experiència amb els sorbents de carbó per a la SPE d'analits polars, durant la realització d'aquesta Tesi i en altres treballs duts a terme pel nostre grup de recerca, no ha estat satisfactòria, tot i que en la bibliografia poden trobar-se bones recuperacions amb aquests sorbents. L'explicació als baixos volums de ruptura obtinguts amb els sorbents de carbó no és molt clara, però podria ser una retenció excessiva dels analits estudiats en aquests sorbents.

Els resultats obtinguts amb el sorbent comercial de PS-DVB funcionalitzat Bond Elut PPL són similars als obtinguts amb el sintetitzat en el nostre laboratori amb el grup *o*-carboxibenzoil, tot i que amb el comercial s'ha obtingut una banda inicial corresponent a les substàncies húmiques més ampla. L'explicació a aquests resultats no es coneix ja que el grup funcional del sorbent comercial no ens ha estat facilitat.

Per tal d'obtenir un sorbent químicament modificat amb el grup *o*-carboxibenzoil que proporcioni una major retenció pels analits polars s'ha intentat augmentar el grau de modificació d'aquest polímer. Així doncs, inicialment s'ha provat de realitzar la modificació a dues temperatures de reacció diferents: a temperatura ambient i a 40°C. L'anàlisi elemental dels dos polímers resultants ha confirmat que la temperatura no afecta al grau de modificació. Un segon intent per aconseguir una major modificació del polímer ha consistit en funcionalitzar, seguint el mateix procediment, altres sorbents de PS-DVB amb diferents propietats físiques que l'Amberchrom GC-161m. Així doncs, s'ha avaluat l'efecte de les diferents propietats físiques (àrea superficial, diàmetre de porus i

diàmetre de partícula) de la reïna de partida sobre el seu grau de modificació amb el grup *o*-carboxibenzoil. Aquestes propietats es troben descrites en la Taula 3. Tot i així, el grau de modificació ha estat similar en els tres sorbents, tal i com s'indica en la següent taula.

Taula 3

Propietats físiques dels polímers de partença i graus de modificació obtinguts

Polímer de Partença	Àrea Superficial (m ² g ⁻¹)	Diàmetre de Porus (nm)	Diàmetre de Partícula (µm)	Grau de Modificació (%)
Amberchrom GC-161m	900	15	50-100	11
PLRP-S 10	500	10	10-15	5
PLRP-S 30	375	30	10-15	10

Aquests baixos graus de modificació, comparats amb el 30% i 60% en les modificacions amb els grups acetil i benzoil respectivament, es podrien assignar a la difícil accessibilitat a la superfície del polímer i també a la inferior reactivitat de l'anhidrid ftàlic emprat en aquesta modificació amb altres reactius usats en les altres modificacions (p.ex. clorur de benzoil).

També s'ha realitzat una comparació d'aquests tres sorbents comercials, no modificats, en la preconcentració d'analits polars. De tots els sorbents, el que han proporcionat majors recuperacions ha estat l'Amberchrom, que és la reïna ja emprada en les modificacions descrites en els treballs anteriors. Aquests resultats es poden assignar a la major àrea superficial d'aquesta reïna que permet un major contacte amb la mostra aquosa i consegüentment unes recuperacions més elevades.

Comparant els sorbents químicament modificats i els respectius anàlegs sense modificar, de nou es demostra que la introducció d'aquest grup funcional permet

un major nombre d'interaccions amb els analits (interaccions polars i π - π). Observant les recuperacions obtingudes amb els sorbents modificats també es pot concloure que el sorbent que presenta una major àrea superficial és el que proporciona uns resultats més satisfactoris.

Davant la impossibilitat d'augmentar el grau de modificació amb aquest grup funcional, s'ha intentat incrementar la retenció dels analits més polar amb la introducció de dos nous grups funcionals a l'estructura de l'Amberchrom GC-161m, el sorbent amb major àrea superficial dels emprats en l'estudi anterior. Aquest estudi correspon al presentat en l'apartat III.8 i els grups introduïts contenen un grup nitro o bé un grup carboxílic addicional a l'estructura del grup prèviament introduït, l'*o*-carboxibenzoil.

L'anàlisi elemental d'aquests dos nous polímers indica que el grau de modificació ha estat en ambdós casos molt baix, semblant entre ells i similar a l'obtingut amb el grup funcional previ. Aquest graus han estat de 6 i 7%.

En l'aplicació d'aquests dos nous polímers a la SPE d'un grup de compostos fenòlics i plaguicides bastant polars s'observa la major capacitat de retenció del polímer que conté el grup addicional nitro, sobretot pel que fa al fenol. L'elevada polaritat d'aquest grup funcional respecte a la del grup carboxílic permet que els analits interaccionin més fortament amb la reïna amb el grup nitro. Una comparació realitzada amb el sorbent que conté el grup *o*-carboxibenzoil demostra que l'increment d'interaccions polars degut a l'existència del grup addicional nitro o carboxílic afavoreixen l'extracció dels analits més polars.

Un altre aspecte important a destacar de l'experimentació realitzada és que en diversos treballs s'ha observat i estudiat l'efecte de l'addició de Na_2SO_3 a la mostra. Aquesta sal ha permès la disminució de la banda que apareix a l'inici dels cromatogrames obtinguts per detecció ultraviolada i que correspon a les

substàncies húmiques presents en les mostres que s'han analitzat, aigua de l'aixeta de Tarragona i aigua del riu Ebre. És possible que en mostres de diferent procedència que continguin altres tipus de substàncies húmiques dissoltes i diferent concentració calgui optimitzar el volum necessari de sulfit sòdic a addicionar.

Tal i com ja s'ha comentat en el capítol introductori d'aquesta Tesi Doctoral, aquesta banda de les substàncies húmiques dificulta l'anàlisi dels analits amb temps de retenció inferior, és a dir, dels compostos més polars. Gràcies a l'addició del sulfit sòdic hem aconseguit reduir-la i conseqüentment determinar els analits més polars sense dificultat. L'explicació més probable d'aquest efecte és que l'addició de Na_2SO_3 a la mostra, que es troba a pH àcid (pH 2.5), provoca una addició bisulfítica als grups cetona i aldehyd de les substàncies húmiques que augmenta la polaritat d'aquestes substàncies i per tant no queden suficientment retingudes en el sorbent de la precolumna donant uns cromatogrames molt més nets.

S'ha trobat que el volum òptim d'una solució 10% (*p/v*) de sulfit sòdic per a decreixer suficientment aquesta banda interferent és de 250 μl per 50 ml d'aigua de l'aixeta i de 500 μl per 50 ml d'aigua del riu Ebre. Mentre que per 50 ml d'una mostra real simulada que conté 5 mg l^{-1} d'àcids húmics (mescla d'àcids húmics de pes molecular ~600-1000 i ~5000-10000) calen 150 μl d'aquesta solució de sulfit sòdic, i si conté 10 mg l^{-1} d'àcids húmics s'han d'afegir 250 μl . Cal esmentar que en aquestes mostres simulades el sulfit no ha disminuït la interferència dels àcids húmics que apareix en el mig dels cromatogrames. Aquest fet podria explicar-se per una possible menor presència de grups carbonil en aquests àcids que en els que apareixen a l'inici. Sortosament, aquesta interferència al mig del cromatograma no ens ha aparegut en mostres reals, en canvi la banda inicial apareix sempre que s'analitzen aquestes mostres amb detecció ultraviolada.

Abans de passar a comentar els resultats obtinguts per un tipus diferent de sorbent, cal esmentar que s'ha desenvolupat un mètode per a la determinació dels onze compostos fenòlics regulats per la US EPA, en mostres reals, per sota les màximes concentracions permises ($<0.1 \mu\text{g l}^{-1}$), mitjançant la preconcentració d'aquests analits amb un sorbent químicament modificat, amb el grup *o*-carboxibenzoil, i la cromatografia de líquids amb un detector UV i un detector electroquímic connectats en sèrie.

En la recerca de sorbents més selectius l'experimentació es va encaminar cap als sorbents polimèrics amb empremta molecular els quals han estat aplicats a diversos camps però l'aplicació a la SPE és encara reduïda. Així doncs, en aquesta Tesi s'ha obtingut un nou tipus de sorbent selectiu que consisteix en un polímer amb empremta molecular (MIP) pel 4-nitrofenol. També s'ha demostrat la possibilitat d'acoblar aquest sorbent *on-line* a la cromatografia de líquids per tal de realitzar la SPE d'aquest compost present en mostres d'aigua.

En la valoració inicial d'aquest nou polímer com a columna analítica ja s'ha demostrat l'existència d'aquesta empremta molecular pel 4-nitrofenol comparant la separació cromatogràfica de tres compostos fenòlics obtinguda amb la proporcionada pel polímer de control. En la seva avaluació com a sorbent per a la SPE selectiva del 4-nitrofenol, ha calgut realitzar una optimització del procés d'extracció per tal de demostrar aquesta especificitat. Aquesta optimització s'ha iniciat amb l'avaluació de tres solvents orgànics (acetonitril, acetat d'etil i diclorometà) per a realitzar un procés de *clean-up* del sorbent que permeti eluir tots els analits excepte el 4-nitrofenol. Dels tres solvents, l'únic que ha permès demostrar la selectivitat del MIP ha estat el diclorometà. Aleshores, el següent pas ha consistit en l'optimització del volum adequat d'aquest solvent per a eliminar els senyals dels altres compostos i obtenir la màxima recuperació pel 4-nitrofenol. D'aquesta manera s'ha trobat que el volum òptim correspon a 0.4 ml de diclorometà. Aquest volum de diclorometà també s'ha emprat per a realitzar

el *clean-up* del polímer de control amb què s'han eluït tots els analits, fins i tot el 4-nitrofenol. Així s'ha demostrat de nou l'existència de l'empremta molecular en el MIP. Cal esmentar que el procés de *clean-up* amb diclorometà permet eliminar les interaccions no específiques entre el MIP i els analits, fet que explica la disminució de la recuperació del 4-nitrofenol quan s'aplica aquesta neteja.

El diclorometà és un dissolvent de baixa polaritat i apròtic, i per tant durant el procés de *clean-up* del MIP és capaç d'eliminar les interaccions no específiques però no les interaccions específiques amb el *template*.

En aquest treball també s'ha avaluat el pH de la mostra per tal d'augmentar la recuperació del 4-nitrofenol, però comparant els resultats obtinguts per un valor de pH de 9 o bé de 2.5 s'observa que a pH 9 existeixen altres interaccions que no permeten la SPE selectiva d'aquest analit.

A continuació també s'ha volgut demostrar el paper que té l'àcid acètic en l'elució del 4-nitrofenol. Sembla que l'àcid acètic competeix amb el 4-nitrofenol pels grups funcionals dels punts d'unió selectius del MIP i per tant provoca l'elució d'aquest analit. Per tant, cal la presència d'aquest àcid per a obtenir recuperacions superiors de l'analit en qüestió.

Un altre factor important a tenir en compte en la SPE és el volum màxim de mostra a preconcentrar per tal d'obtenir les recuperacions més grans possibles. Per tant s'ha investigat aquest volum i s'ha trobat que és de 10 ml, ja que amb volums superiors la recuperació decreixia, tot i que la recuperació pel 4-nitrofenol que ha proporcionat aquest volum ha estat baixa.

Finalment, aquest MIP s'ha emprat per a la SPE del 4-nitrofenol present en una mostra d'aigua complexa, aigua del riu Ebre, per tal d'avaluar millor la seva selectivitat. Amb aquest sorbent s'ha obtingut una banda inicial corresponent a les substàncies húmiques molt més estreta que l'obtinguda amb el polímer

altament entrecreuat comercial LiChrolut EN, per tant l'ús del MIP facilita la detecció de l'analit. D'aquesta manera s'ha demostrat una altra vegada la selectivitat del polímer sintetitzat. Cal esmentar, però, que la recuperació del 4-nitrofenol en la preconcentració de 10 ml d'aigua del riu Ebre fortificada amb $10 \mu\text{g l}^{-1}$ ha estat de 36% pel MIP i de 75% pel LiChrolut EN. Per tant, és necessari desenvolupar altres sorbents d'aquest tipus que presentin una millora de la capacitat de retenció per poder extreure volums superiors de mostra i obtenir així límits de detecció més baixos.

Tots aquests resultats satisfactoris obtinguts durant la realització d'aquesta Tesi Doctoral encoratgen a la continuació de la síntesi i avaluació de nous sorbents químicament modificats i polímers amb empremta molecular. Un nou camí per tal d'augmentar la recuperació dels analits polars pot ser la funcionalització amb grups hidrofílics de polímers amb un grau d'entrecreuament més elevat, i també introduir altres grups funcionals que siguin més hidrofílics i permetin un nombre d'interaccions polars més gran que el proporcionat pels sorbents funcionalitzats preparats fins ara. També és necessari ampliar l'interval d'analits escollits per a avaluar aquests nous sorbents. Tal i com ja s'ha indicat, encara queda també molt de treball a fer en el camp de la SPE emprant MIPs, i més concretament en la preparació de sorbents que siguin específics per a altres contaminants orgànics o famílies d'aquests, i presentin una capacitat de retenció més gran. Davant aquestes necessitats queda oberta una línia de recerca al grup centrada en el desenvolupament de nous sorbents que proporcionin una retenció més elevada pels compostos polars i també una extracció més selectiva.