

**DESENVOLUPAMENT DE METODOLOGIES ANALÍTIQUES PER
A LA DETERMINACIÓ DE COMPOSTOS ORGÀNICS EN
MATRIUS COMPLEXES.
APLICACIÓ A L'ESTUARI DEL RIU EBRE**

Eric Jover

Barcelona, Juny 2006

Programa de Doctorat
“Química Analítica del Medi Ambient i de la Pol·lució”

Bienni: 2000-2002

Memòria presentada per optar al grau de Doctor per la Universitat de Barcelona

Eric Jover

Director

Ponent

Dr. Josep Maria Bayona i Termens

Dra. M^a Teresa Galcerán

Professor d'Investigació
Analítica
del Departament de Química Ambiental
del IIQAB-CSIC
Barcelona

Catedràtica de Química
de la Facultat de Química
de la Universitat de

Barcelona, Juny 2006

RESUM

S'han desenvolupat tècniques monodimensionals i multidimensionals per a la caracterització de lípids i contaminants orgànics en mostres complexes. Pel que fa la caracterització de lípids s'ha utilitzat com a matriu de referència la lanolina (cera complexa excretada per les glàndules sebàcies de l'ovella). Pel que fa els contaminants orgànics, s'han considerat majoritàriament plaguicides polars i compostos emergents de diferents famílies químiques.

Els lípids estan constituïts per barreges de diferents famílies químiques amb diferents propietats fisicoquímiques. Per aquest motiu, ha estat necessari desenvolupar metodologies específiques en funció de les famílies de compostos d'interès. S'han posat a punt tècniques analítiques monodimensionals per a determinar a) àcids grassos volàtils amb micro-extracció en fase sòlida b) èsters alifàtics d'elevada massa molecular amb cromatografia de gasos d'alta temperatura c) èsters esteroidals amb la cromatografia de gasos a pressió sub-ambient degut a que són compostos termolàbils. Per a la detecció d'aquests compostos s'ha utilitzat la espectrometria de masses tant amb ionització per impacte electrònic com per ionització química.

Com a tècnica multidimensional s'ha optimitzat la cromatografia bidimensional integrada acoblada a un espectròmetre de masses de temps de vol. La metodologia desenvolupada, que posa un especial èmfasi en la importància de l'etapa de derivatització prèvia a la determinació, permet caracteritzar diferents famílies lipídiques excloent-ne tan sols els èsters que, degut a la seva elevada massa molecular, presenten un mal comportament cromatogràfic en aquesta tècnica.

Per a la determinació de contaminants orgànics, s'ha desenvolupat una metodologia analítica basada en la cromatografia de detecció dual emprant detectors de captura d'electrons i un específic de nitrogen i fòsfor. A més de determinar contaminants de diferents famílies químiques també s'ha desenvolupat el concepte del quocient de resposta entre els dos detectors que permet confirmar la identificació dels compostos d'interès sense necessitar d'un altre sistema cromatogràfic.

Finalment, s'ha aplicat les metodologies desenvolupades per a estudiar l'estuari del riu Ebre. Una de les principals característiques d'aquest estuari és el fenomen de la falca salina que provoca que, depenent del cabal del riu, es formin perfils verticals molt estratificats amb una capa d'aigua superficial dolça i una capa inferior d'aigua salada.

S'han caracteritzat els lípids de les dues masses d'aigües podent-ne determinar l'origen de la matèria orgànica, caracteritzant-ne els diferents comunitats plànctoniques i realitzant un seguiment dels processos biogeoquímics i dels traçadors moleculars indicadors de contaminació per aigua residual urbana. De la mateixa manera, també s'ha estudiat la distribució geogràfica i temporal de diferents marcadors lipídics en el delta de l'Ebre, observant una forta estacionalitat en els resultats.

Pel que fa els contaminants orgànics, s'ha avaluat el seu comportament en un medi estratificat gràcies a un experiment en un microcosmos correlacionant el seu transport vertical amb la difusió. També, estudiant les vies d'eliminació, s'ha identificat l'evaporació com sent un dels principals processos d'eliminació dels contaminants en el transcurs d'aquest experiment correlacionant-se amb la constant de Henry dels diferents compostos. En el cas del riu Ebre s'ha estudiat la influència de la presència de la falca salina en els perfils verticals obtinguts pels diferents contaminants orgànics observant-se un enriquiment de la capa superficial. De la mateixa manera, s'ha estudiat la distribució temporal i geogràfica dels compostos d'interès observant-se una forta estacionalitat que s'ha atribuït a la pròpia estacionalitat en l'ús d'aquestes substàncies. Finalment, integrant aquesta variació temporal gràcies a un mostratge gairebé anyal (9 campanyes de mostratge) s'ha avaluat la contribució contaminant del riu Ebre al mar Mediterrani.

ABSTRACT

Monodimensional and multidimensional chromatographic techniques have been developed for the lipid and organic contaminant characterisation in complex mixtures. For the lipid analysis, lanolin (wax formed by the sheep sebaceous glands) has been selected as a reference mixture. Polar pesticides and emerging contaminants from several chemical classes have been the target analytes for the organic contaminant determination.

Lipids are constituted by a complex mixture of different chemical classes with different physicochemical properties. In this way, specific analytical methods were developed depending on analyte properties. Fatty acids, fatty alcohols, diols, hydroxyacids, aliphatic esters and steryl esters have been characterised. Monodimensional techniques have been applied to the characterisation of a) volatile fatty acids by headspace solid-phase microextraction, b) aliphatic esters by high-temperature gas chromatography, and c) steryl esters by subambient pressure gas chromatography as these compounds are thermolabile. Mass spectrometry coupled to GC in different ionisation modes has been used as detection technique.

As a multidimensional technique, comprehensive two-dimensional gas chromatography has been optimised for lipid characterisation highlighting the influence of the derivatisation step prior to compound determination. Esters have not been analysed using this technique as they showed a poor chromatographic behaviour due to their high boiling point.

Organic contaminant determination was based on dual detection chromatography using electron capture and a specific nitrogen-phosphorus detectors. Moreover, the dual response ratio approach for analyte confirmation has been developed for specific contaminants and applied to real samples.

Finally, the developed analytical techniques have been applied to the study of the Ebro River estuary. One of the main characteristics of this estuary is the salt wedge phenomenon, depending on the river flow, occurring highly stratified vertical profiles with a surface freshwater layer and a bottom layer formed by marine salt water.

The lipid characterisation has permitted to identify the organic matter origin from the two water bodies, to characterize different planktonic communities and to track both the biogeochemical processes occurring in the aquatic environment and the sewage

inputs in the estuary. Temporal and geographical distributions of the molecular markers have been evaluated showing a high seasonal variability.

Moreover, the behaviour of organic contaminants in stratified water bodies has been studied in a microcosmos experiment where the vertical mixing has been evaluated in a time series measurements and correlated with contaminant diffusion. Moreover, elimination pathways have been studied finding evaporation, which is related to the Henry constant of the target analytes, as being the main elimination process. Finally, the temporal and geographic distributions of the target analytes have been evaluated in the Ebro River estuary finding a high temporal variability, which is related to their patterns of use. Finally, based on a nearly annual sampling (9 sampling campaigns), the emission rates of the target contaminants into the western Mediterranean Sea have been assessed.

Agraïments

En primer lloc voldria agrair el Prof. Josep Maria Bayona per haver-me dirigit aquesta tesi doctoral i per tot el suport donat durant aquests anys i a la Prof. Maria Teresa Galcerán per la tasca feixuga de corregir-me!

Vull agrair els consells i la col·laboració del Prof. Joan Albaigès en el marc del projecte de l'Ebre.

També s'escau de posar en relleu la tasca de la Anna Gómez per haver suportat i superat amb mi totes les avingudes del projecte Ebre i a la Dra. Carmen Domínguez per a compartir amb mi mil i una experiències animals...

En el decurs d'aquesta tesi he tingut l'ocasió de realitzar una estada al Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy Department de la Vrije Universiteit d'Amsterdam. Agraïxo la rebuda i la col·laboració de Mohamed Adahchour, del Dr. René Vreuls i del Prof. Udo Brinkman.

Als tècnics que mai surten a la foto però sense qui la feina no hagués estat possible Dori Fanjul i Dra. Roser Chaler i a la Rosa Mas que hauria de posar en tots els apartats dels agraïments inclòs el de la família!

Al llarg dels anys al Departament he anat compartint experiències amb gent que m'ha enriquit amb les seves converses i comentaris, m'agradaria destacar el Dr. Jordi Dachs, la Dra. Sílvia Lacorte, el Prof. Joan Grimalt i el Prof. Romà Tauler.

Als companys amb els qui he rigut i que han aguantat estoicament les meves bromes de gust a voltes dubtós. Els dels primers dies Xavi Prieto (l'alemany), Núria Garcia (uropigio), Pilar Bou (l'avia) i Manoli Ábalos (la petita); als recents "super" Alex Pola (que dir de la teva immensa personalitat), Joan Moran (borroka !!*!!), el Daniel (la veu en off), Ingrid Puche (la de la sang blava), Victor Matamoros (l'ocellet d'ulls blaus), Patricia Alabart (tinc una pregunta), la Núria Jiménez (la ràpida) i a la Laura Ortiz (burka mix).

Finalment, aquells que m'han fet costat sempre i incondicionalment Pare, Mare, Marc, Josep i Mònica.

CADA DIA

*No conquerim cap mot debades
Tot s'inscriu en l'ordre clar d'aquell projecte
que va creixent a poc a poc dins nostre
si sabem tenaçment perfer-lo sempre.*

*Així el gran risc de viure se'ns proposa
com un repte constant, com una fita
que allunyem amb el gest i la mirada
tan bon punt l'assolim, no per refús
del que hem aconseguit, sinó pel goig
de posar-nos a prova cada dia.*

*Miquel Martí i Pol
(Els bells camins)*

Tiocfaidh ár lá!

Acrònims

1D-GC Cromatografia de gasos d'una dimensió
μECD Microdetector de captura d'electrons
CE Electroforèsis capil·lar
CIMS Espectrometria de masses amb ionització química
ECD Detector de captura d'electrons
EIMS Espectrometria de masses amb ionització per impacte electrònic
FA Àcids grassos
FAL Alcohols grassos
FFA Àcids grassos lliures
FID Detector de ionització de flama
FPD Detector fotomètric de flama
GC Cromatografia de gasos
GC×GC Cromatografia de gasos bidimensional completa
GLC Cromatografia gas/líquid
GPC Cromatografia d'exclusió estèrica
HRMS Espectròmetre de masses d'alta resolució
HS Espai de cap
HTGC Cromatografia de gasos d'elevada temperatura
LC Cromatografia de líquids
LOD Límit de detecció
LOQ Límit de quantificació
MCGC Cromatografia de gasos multi-capil·lar
MDGC Cromatografia de gasos multidimensional
MS Espectròmetre de masses
NCIMS Espectrometria de masses amb ionització química negativa
NPD Detector de nitrogen i fòsfor
PCIMS Espectrometria de masses amb ionització química positiva
POPs Compostos persistents orgànics
PTV Injector de vaporització a temperatura programada
PUFA Àcids grassos poliinsaturats
R_t Temps de retenció

SFC Cromatografia de fluids supercrítics

SPME Micro-extracció en fase sòlida

SSM Material particulat en suspensió

TLC Cromatografia de capa fina

ToF-MS Espectrometre de masses de temps de vol

TSD Detector termoiònic

VFA Àcids grassos volàtils

DESENVOLUPAMENT DE METODOLOGIES ANALÍTIQUES PER A LA
DETERMINACIÓ DE COMPOSTOS ORGÀNICS EN MATRIUS COMPLEXES.
APLICACIÓ A L'ESTUARI DEL RIU EBRE

1. Introducció	p 1
1.1 Tècniques separatives d'alta resolució	p 4
1.1.1 Monodimensionals	p 4
1.1.2 Multidimensionals	p 9
1.2 Caracterització de barreges complexes	p 12
1.2.1 Lípids	p 13
1.2.2 Contaminants orgànics	p 16
2. Objectius de la Tesi Doctoral	p 19
3. Tècniques monodimensionals	p 20
3.1 Caracterització de lípids	p 20
3.1.1 Àcids grassos i altres compostos polars	p 21
3.1.2 Èsters alifàtics i esteroidals	p 49
3.2 Caracterització de contaminants orgànics	p 72
3.2.1 Aplicació de la cromatografia dual a la determinació de plaguicides en lanolina	p 72
3.2.2 Utilització de la cromatografia dual per a la identificació de contaminants orgànics	p 82
3.3 Discussió de resultats	p 96
3.4 Conclusions	p 102
4. Tècniques multidimensionals	p 104
4.1 Aplicació de la GC×GC-ToF MS a la caracterització de lípids	p 105
4.2 <i>Twin</i> comprehensive GC×GC	p 116

4.3 Discussió de resultats	p 124
4.4 Conclusions	p 128
5. Estudi de cas: Estuari del riu Ebre	p 130
5.1 Caracterització de traçadors moleculars lipídics en partícules en suspensió de l'estuari del riu Ebre	p 133
5.1.1 Caracterització de lípids emprant GC×GC-ToF MS	p 133
5.1.2 Treball experimental addicional	p 159
5.2 Estudi del comportament de contaminants orgànics en un estuari de falca salina.	p 168
5.2.1 Modelització del comportament dels contaminants orgànics en sistemes estratificats	p 168
5.2.2 Variació temporal de la concentració dels contaminants orgànics i càlcul de les seves emissions al mar Mediterrani	p 188
5.2.3 Treball experimental addicional	p 202
5.3 Discussió de resultats	p 208
5.4 Conclusions	p 210
6. Conclusions generals	p 212
7. Bibliografia	p 215
8. Annex	p 227