

Desenvolupament de sorbents polimèrics per a l'extracció en fase sòlida de contaminants orgànics polars en aigües

Núria Masqué Granja



**FACULTAT DE QUÍMICA
UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI**

NEW POLYMERIC AND OTHER TYPES OF SORBENTS FOR SOLID-PHASE EXTRACTION OF POLAR ORGANIC MICROPOLLUTANTS FROM ENVIRONMENTAL WATER

ABSTRACT

This article describes the different types of sorbents for the solid-phase extraction of polar organic pollutants from environmental water and emphasizes the use of the new synthesized sorbents. The most important new sorbents are the chemically modified polymeric resins with functional groups such as acetyl, hydroxymethyl, benzoyl and *o*-carboxybenzoyl, and the highly crosslinked polymers. These sorbents are compared and their properties described. Recoveries for the most polar compounds are better when these new sorbents are used. Immunosorbents and molecularly imprinted polymers are new types of extraction sorbents which are specific for a group of compounds and they enable chromatograms with no matrix interference to be obtained when analyzing some polar compounds. The advantages and drawbacks of off-line and on-line procedures are also discussed, and solutions to their limitations are proposed.

Keywords: Solid-phase extraction; Polar pollutants; Water analysis; Polymeric sorbents; Immunosorbents; Molecularly imprinted polymers.

INTRODUCTION

Solid-phase extraction (SPE) overcomes many drawbacks of the liquid-liquid extraction (LLE) and also makes it possible to tune the selectivity, affinity and/or capacity via the development of new materials. SPE has been included in some US EPA Methods which analyze pollutants in drinking water (e.g. Methods 549.1 and 525.1 which use C₈ and C₁₈ bonded silica sorbents, respectively, to analyze pesticides).

Solid-phase extraction and high performance liquid chromatography (HPLC) are both based on differential migration processes in which compounds are adsorbed and eluted as they are swept through a porous medium by a mobile-phase flow, which is dependent on the differential affinities between the sorbent material and the mobile phase. Retention is achieved with strong but reversible interactions between the analyte and the surface of the sorbent. Typical interactions are hydrophobic (van der Waals forces), polar (hydrogen bonding and dipole-dipole forces) or ion exchange interactions. Before selecting a sorbent for SPE, it is necessary to take into account some physico-chemical considerations such as the functional groups of the analytes, the nature of the bonded phase, the energetics of the interactions, the secondary interactions between the analytes and the sorbent, the interactions between the sorbent and the components of the sample matrix, and the interactions between the analytes and the sample matrix [1].

Apart from the main goal of extracting traces of the compounds of interest, SPE is also used to remove the interfering components of the matrix, change the solvent (e.g. aqueous to organic) and store and transport the analytes [2].

To date, typical SPE materials are modified silicas with C₈, C₁₈, CN and other groups, carbon blacks and styrene-divinylbenzene copolymers (PS-DVB). The most problematic compounds are the polar ones, whose breakthrough volume is low in most of the sorbents mentioned. Recently, new functionalized polymeric

sorbents and highly crosslinked polymers have appeared as alternatives to the typical SPE sorbents for the trace enrichment of these polar analytes.

In this article, we review the new sorbents for the SPE of polar organic pollutants from environmental waters and compare them with the classical ones. We concentrate on chemically modified polymeric resins and highly crosslinked sorbents because they have a greater capacity than the typical SPE materials for polar compounds. Also, we propose that immunosorbents and molecularly imprinted polymers, which are new tools for the SPE of environmental pollutants from water, be used to selectively retain specific groups of analytes.

SPE PROCEDURES

The most frequently used design in SPE is the cartridge. Many different types and amounts of sorbent are contained between two polyethylene or stainless steel frits in glass or polypropylene cartridges which have different column volumes. Another design which has become available in the last few years is the disk. Two different kinds of disk are now available: particle-loaded membranes (PLMs) and particle-embedded glass fiber disks (PEGFDs). The former is the most common. PLMs consist of a web of polytetrafluoroethylene (PTFE) microfibrils in which sorbent particles with a diameter of about 8 μm are suspended, and the membranes have a homogeneous flexible structure. The PEGFDs contain particles embedded in a glass fiber supporting matrix.

Cartridge design has certain disadvantages for water analysis. For example, the cross-sectional area is small, therefore sample processing rates are slow and the tolerance to blockage by particles and adsorbed matrix components is low, and channelling reduces the capacity to retain analytes. Some of these problems may be solved by using disks [3,4]. But, at present, cartridges are still the most frequently used, mainly because of the limited number of commercially

available sorbents on disks. Normally cartridges use less solvent volume than disks [5], but some authors used more solvent with cartridges [3].

Empore disks containing C₁₈ or PS-DVB are the two main types of disk format in use. One of the drawbacks of using disks instead of cartridges is the decrease in the breakthrough volume, mainly for more polar compounds. For this reason, disks are used when there is a strong interaction between the analyte and the sorbent. These types of disk have been used to determine phenol and chlorophenols in sea water, and in this respect they have been compared with C₁₈ cartridges. The recovery of these analytes was increased by using two disks in the same device [5].

Recently, SPE disks with new sorbents have become available, such as PS-DVB containing functional groups (sulfonic and acetyl groups) with the resin beads permanently encased in a PTFE membrane [4]. Membranes impregnated with acetyl-PS-DVB have been applied to phenols and higher recoveries were obtained compared with PS-DVB disks [6]. Membranes embedded with sulfonated PS-DVB have been used to extract polar analytes, such as phenolic compounds, and non-polar analytes, such as halogenated alkanes, which were all efficiently recovered in the preconcentration of 15 ml of sample, with recoveries over 90% for all compounds [7]. Extraction disks with a strong anion exchanger (SAX) have recently been developed and applied to determine haloacetic acids using the EPA Method 552.1.

SPE can be carried out in the off-line and on-line modes. On-line procedures mainly use an extraction sorbent in a precolumn but disks can also be used in an special device which allow the use of different numbers and types of disks [8]. The methods which hyphenate SPE with HPLC are the most frequently used for determining polar pollutants in environmental water. Capillary gas chromatography (CGC) requires a derivatization step to enhance the volatility of these analytes and supercritical fluid chromatography (SFC) requires more

expensive equipment and an additional step to dry the sorbent before the desorption.

In the on-line procedures there is no sample manipulation between preconcentration and analysis, so loss and contamination risk are avoided and detection limits and reproducibility values can be better. Likewise, all the species are analyzed, so the volume of sample can be smaller than in off-line procedures, the consumption of organic solvents is lower and the potential for automation is higher [9]. But the off-line SPE approach will remain useful for analyzing complex samples due to its greater flexibility and the fact that it can analyze the same extract using various techniques.

In on-line SPE procedures, sorbents are chosen not only for their efficiency at trapping analytes but also for their compatibility with the sorbent in the analytical column which should have the same (or higher) retention capabilities as the precolumn material. The precolumn should be as small as possible in order to prevent band broadening [1,10]. This effect can be minimized by using a suitable gradient which causes peak compression at the top of the analytical column and a good compromise between breakthrough volume and peak efficiency [11]. The equipment design has also been modified to reduce this problem. In this new design, excessive peak broadening was effectively suppressed by eluting the analytes, in the backflush mode, by the organic solvent of the mobile phase alone and then both solvents of the mobile phase were mixed before reaching the analytical column. In this case the mixer chamber was replaced with a T junction without dead volume [12]. This design was used to quantitatively desorb phenolic compounds and pesticides from polymeric sorbents and graphitized carbon blacks on-line coupled to a C₁₈ analytical column and narrow peaks were obtained [10,12-17]. However, when using this design in the SPE of environmental samples, a slight increase in the matrix effect was observed. This was caused by the greater strength of the solvent used to desorb the analytes from the precolumn [12].

When a powerful sorbent is used in the on-line SPE of real water samples a broad initial band appears due to the presence of humic and fulvic acids. This band can make the analysis of most polar compounds difficult. Methods for reducing this band by chemical treatment with KMnO_4 [18] and Na_2SO_3 [13,16,17] prior to extraction have been applied. Fig. 1 shows the chromatograms of 50 ml of Ebro river water with and without the addition of Na_2SO_3 . They were obtained by on-line SPE with a chemically modified polymeric sorbent with an *o*-carboxybenzoyl moiety. To solve matrix effects in humic-containing surface water samples, some authors have used restricted access which consists of a precolumn material that uses non-adsorptive size exclusion of macromolecules and simultaneous dynamic partitioning of the analytes [19].

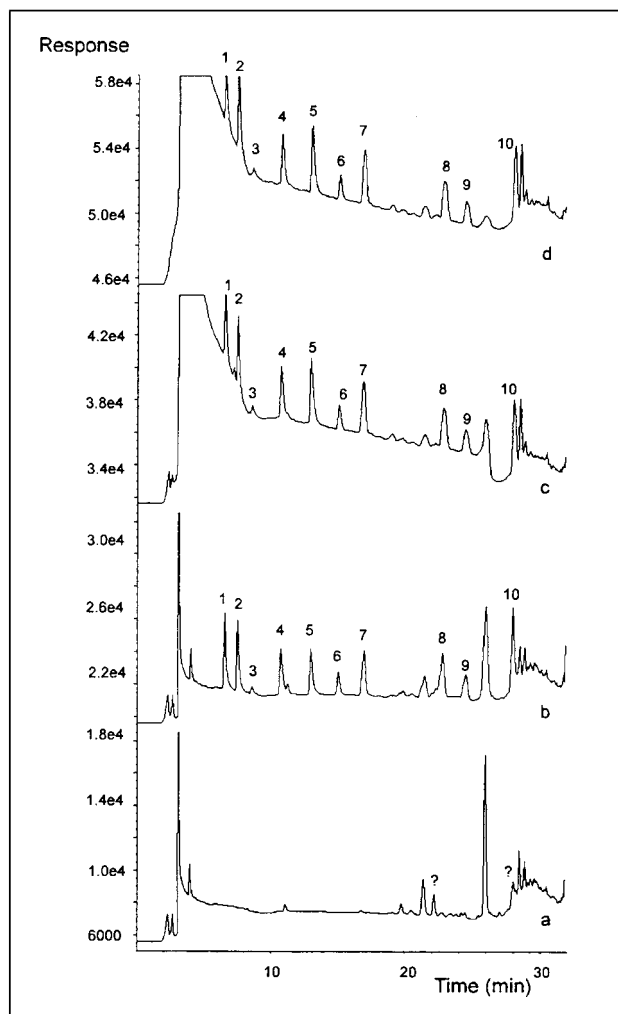


Fig. 1. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment of 50 ml of Ebro river water with and without the addition of different volumes of 10% Na_2SO_3 solution for every 100 ml of sample in a chemically modified polymeric sorbent. (a) Blank with the addition of 1000 μl of sulfite. (b) Spiked with 4 $\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes and 1000 μl of sulfite. (c) Spiked with 4 $\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes and 500 μl of sulfite. (d) Spiked with 4 $\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes without sulfite. Peak designation: 1, oxamyl; 2, methomyl; 3, Ph; 4, 4-NP; 5, 2,4-DNP; 6, 2-CP; 7, bentazone; 8, simazine; 9, MCPA; 10, atrazine.

SORBENTS FOR SOLID-PHASE EXTRACTION

The fact that the most commonly used materials for SPE are inadequate for solving the problems involved in isolating polar contaminants from large water volumes has encouraged investigators to evaluate alternative sorbent materials, such as chemically modified polymeric resins, highly crosslinked polymers, immunosorbents and molecularly imprinted polymers. All these new sorbents types will be discussed here.

Modified Silicas

The most widely-used bonded silica sorbents are octyl (C_8) [20-22], octadecyl (C_{18}) [18,21-23], ethyl (C_2) [20], butyl (C_4) [20], phenyl [22], cyclohexyl (CH) [23] and cyanopropyl (CN) [22]. They are reversed-phase sorbents, and so are adequate for aqueous samples. The interactions between the bonded functional group and the analyte carbonated chain are due to van der Waals forces. The most widely used modified silica in the trace enrichment of pollutants in environmental waters is the C_{18} sorbent because its capacity is greater than other bonded silicas [20] in the analysis of polar compounds. It has been shown that C_{18} is more efficient at extracting the most polar phenolic compounds than CH [23]. However, another study [22] has shown that phenyl bonded silica was more efficient than C_{18} , C_8 and cyanopropyl sorbents at preconcentrating phenolic compounds in water, even though the unsubstituted phenol was not completely recovered.

However, apart from the limited breakthrough volumes for polar analytes, these sorbents suffer from chemical limitations, such as residual surface silanol groups, a narrow pH stability range and poor selectivity.

Ion Exchangers

The interactions between the analytes and the ion exchanger are electrostatic attractions. They are formed by a silica or polymeric support with a quaternary, secondary or primary amine (anion exchanger) or with sulfonic or carboxylic acid (cation exchanger) bonded functional groups.

Aminex A-28 (SAX), a quaternary ammonium anion exchanger, was used for the trace enrichment of phenol in tap and river water [24]. SCX, Aminex A-5 and Aminex A-7 have been used as cation exchangers for the preconcentration of polar pollutants in real water and industrial wastewater samples [25,26].

A new carboxylic acid functionalized crosslinked polymer was used for the SPE of fifteen different substituted anilines and lutidines from water which were retained on the resin by a cation exchange mechanism. But a second type of interaction, π - π , between the analytes and the resin was also present due to the unsaturated moieties of the resin. The more polar and less basic anilines were hardly retained on this resin [27].

Graphitized Carbon Black

Graphitized carbon blacks (GCBs) are obtained from heating carbon blacks at 2700-3000 °C in an inert atmosphere. They are essentially non-specific and non-porous sorbents with a surface area of about 100 m² g⁻¹ [28]. Because of the presence of positively charged chemical heterogeneities on their surface, they can be considered to be both reversed-phase sorbents and anion exchangers [29]. It has been shown that organic compounds are adsorbed on a GCB surface

more strongly than on a C₁₈ surface when analyzing many acidic organic compounds in water [29].

Some commercial GCBs, such as Carboxypack, Carboxygraph 1 and Envi-Carb, have been used in the analysis of several micropollutants such as phenolic compounds [11,13,28,29], pesticides [10,13,28,30] and surfactants [28] in drinking and river water. Two new GCB sorbents, Carboxygraph 4 and Carboxygraph 5, with surface areas greater than 100 m² g⁻¹ were used to determine these analytes in water and they yielded better recoveries for the most polar compounds than Carboxygraph 1 [28].

Some drawbacks of the GCB sorbents are that they have excessive retention (some analytes can even be irreversibly adsorbed) but this can be overcome by performing the elution in the backflush mode [28]. Their mechanical stability is also poor. Porous immobilized graphitic carbon (PGC) is a new carbon-based sorbent in which the graphite is immobilized on a silica structure, and this is why PGC is more stable than GCB. The use of PGC was investigated for the trace enrichment of polar phenolic compounds and compared with polymeric sorbents; except for 4-chloro-2-aminophenol, the breakthrough volumes and detection limits were worse with the PGC than those obtained using the polymeric sorbents [11].

Polymeric sorbents

The most widely used polymeric sorbents are the styrene-divinylbenzene copolymers (PS-DVB) which have a hydrophobic surface. PS-DVB resins overcome many of the limitations of bonded silicas. The broader range of pH stability of these resins increases the flexibility of the method, and they have no silanol groups [31]. In addition, PS-DVB resins have greater analyte retention, mainly for polar compounds, than bonded silicas because their hydrophobic

surface contains a relatively large number of active aromatic sites which allow π - π interactions with unsaturated analytes.

XAD resins have long been used to extract a variety of organic pollutants from water. XAD-1, XAD-2 and XAD-4 are PS-DVB with a highly hydrophobic character. XAD-7 and XAD-8 are acrylic ester resins with a higher affinity for polar solutes [32]. XADs based on PS-DVB have some drawbacks including lack of selectivity, low breakthrough volumes for very polar compounds, low sampling rate, and they require extensive cleaning before use. XAD-2 has given better results than C_{18} and an activated carbon in the preconcentration of *N*-methylcarbamates and their degradation products in aqueous samples [33].

Another widely used PS-DVB copolymer is the PLRP-S resin. It has been used in the extraction of organic pollutants such as phenolic compounds [23] and pesticides [9] from natural waters. It has been shown to be more efficient than C_{18} bonded silica for the preconcentration of these analytes [9,23]. PLRP-S has the same drawbacks as XADs: lack of selectivity and low breakthrough volumes for very polar compounds.

In recent years, chemically modified resins have been developed and used in the SPE of polar compounds from environmental waters. Different polar functional groups such as acetyl [6,14,34,35], hydroxymethyl [34,35], benzoyl [15] and *o*-carboxybenzoyl [16,17] have been introduced into polymeric resins. These modified resins have excellent hydrophilicity, and they also give higher recoveries than their unmodified analogues [6,14,34,35]. This has been attributed to an increase in surface polarity which enables the aqueous sample to make better contact with the resin surface. The chemical structures of these sorbents are shown in Fig. 2.

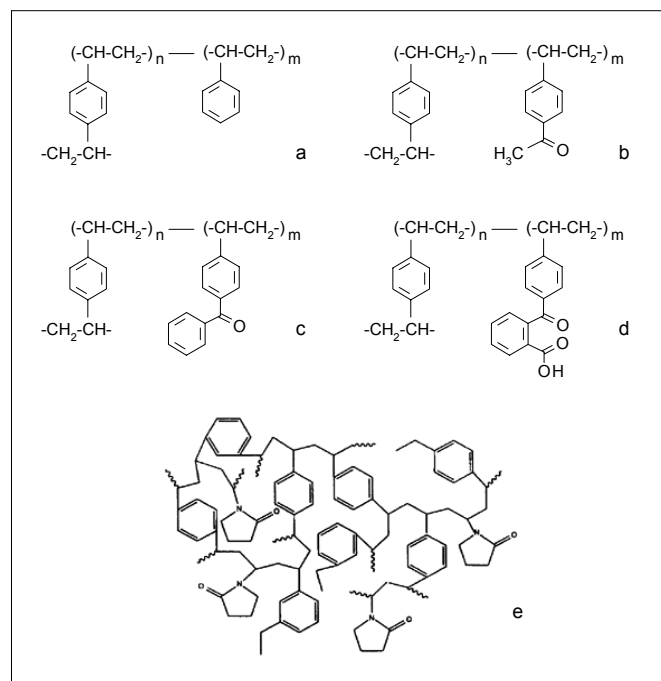


Fig. 2. Structures of different solid-phase extraction sorbents. Assignment: (a) styrene-divinylbenzene copolymer (PS-DVB), (b) functionalized PS-DVB with an acetyl moiety, (c) functionalized PS-DVB with a benzoyl moiety, (d) functionalized PS-DVB with an *o*-carboxybenzoyl moiety, (e) Oasis HLB.

They have also been compared with other SPE materials such as PLRP-S and GCB (Envi-Carb and Carboxen B) in the preconcentration of pesticides and phenolic compounds, and they yielded higher breakthrough volumes for the most polar compounds than the latter sorbents [14,15,17]. Table 1 compares the recoveries of several analytes on modified and unmodified resins and C_{18} bonded silica. The recoveries for many of the organic analytes tested were significantly higher with the modified sorbent [35]. Another functionalized PS-DVB with different functional groups were tested and compared with XAD-4 for the preconcentration of nitrobenzenes and their reduction products from water [36]. When XAD-4 was used, the recoveries of phenylenediamines were the poorest.

Bond Elut PPL is a commercially available functionalized PS-DVB which has been developed to extract highly polar species such as phenol from large water volumes. Its extreme hydrophilicity ensures high recoveries. It has been used and compared with GCBs in the SPE of phenolic compounds and pesticides from natural waters, and recoveries were higher with the functionalized polymeric sorbent than with the GCBs, mainly for the most polar compounds [13,17]. Table 2 shows the recovery values obtained in the on-line SPE of different sample volumes of a mixture of pesticides and phenolic compounds with a GCB and Bond Elut PPL.

Slightly sulphonated resins have also been used [7,35]. They have excellent hydrophilicity and extract polar organic compounds more efficiently than underivatized resins. If a polymeric resin is sulfonated, it changes into a cation exchanger. A hydrogen bonding between the amine groups of some analytes and the sulfonic acid group on the resin is also possible. Some authors [37] have studied SPE for organic pollutants in water with a binary cartridge, made up of a chemically modified resin (acetyl-derivatized) and an anion exchanger phase, for use in a broadly-based screening method as an alternative to LLE.

Table 1

Recovery of phenolic and aromatic compounds with different sorbents in the preconcentration of 20 ml solution containing 5 mg l⁻¹ of each analyte.

Compound	Recovery (%)			
	C ₁₈	PS-DVB ^a	PS-DVB-CH ₂ OH	PS-DVB-COCH ₃
Phenol	6	91	94	100
<i>p</i> -Cresol	16	91	98	101
<i>p</i> -Ethylphenol	66	96	99	101
2-NP	45	93	95	96

3-NP	<5	81	85	93
4-NP	<5	87	86	87
2,4-DMP	71	95	97	100
4- <i>tert</i> -Buthylphenol	83	88	96	100
Anisol	78	91	94	98
Aniline	9	94	96	100
Benzylalcohol	10	92	98	99
Nitrobenzene	54	92	96	100
2,4-Dinitrofluorobenzene	44	83	96	98
<i>o</i> -Hydroxyacetophenone	88	85	95	96
Isopentyl benzoate	84	72	89	95
Diethyl phthalate	90	87	96	100

^aThe PS-DVB is Amberchrom CG-161.

Table 2

Recovery (%R) values obtained on-line preconcentrating different sample volumes with different sorbents ($n=6$).

Compound	Carbopack B		Bond Elut PPL			HYSphere-1		
	50 ml	100 ml	50 ml	100 ml	200ml	50 ml	100 ml	200 ml
Oxamyl	68	35	82	82	81	82	82	82
Methomyl	80	68	79	77	74	78	78	80
Ph	7	3	68	43	23	77	73	50
4-NP	57	38	86	86	86	84	83	83
2,4-DNP	24	27	85	87	89	84	86	86
Bentazone	64	54	82	82	83	86	82	83
Simazine	86	88	85	88	89	86	87	89
MCPA	82	102	83	86	86	79	87	86
Atrazine	82	83	81	82	82	83	83	84

In the last few years, several new highly crosslinked polymers, such as Envi-Chrom P [14,15,21,28,38], LiChrolut EN [11,21,28,30,39], Styrosorb [40], Isolute ENV [11,39] and HYSphere-1 [13], have become available. These sorbents have a higher degree of crosslinking, and so have an open structure (high-porosity material), which increases their specific surface area and allows greater π - π interactions between analytes and sorbent [41]. The breakthrough volumes will therefore be higher than those obtained when less crosslinked sorbents are used. This has been demonstrated by comparing these sorbents with sorbents such as GCB [13], Bond Elut PPL [13], PS-DVB (PLRP-S and Amberchrom) [11,14,15] and cyclohexyl bonded silica [38]. The recoveries obtained in the on-line SPE of different sample volumes of a mixture of pesticides and phenolic compounds with HYSphere-1 are included in Table 2, where they are compared with those obtained with a GCB (Carbopack B) and a functionalized PS-DVB (Bond Elut PPL). We can see that recoveries for phenol were higher with the

highly crosslinked sorbent. LiChrolut EN has also been compared with chemically modified polymeric resins with acetyl [14] and benzoyl [15] groups in the SPE of pesticides and phenolic compounds in tap and river water. Slightly higher recoveries were obtained when LiChrolut EN was used, mainly for the most polar analytes such as oxamyl, methomyl and phenol whereas for the rest of compounds the recoveries were similar. Some authors obtained better recoveries with Carbograph 4 and Carbograph 5 than with LiChrolut EN and Envi-Chrom P in the analysis of phenolic compounds and pesticides [28].

Using LiChrolut EN and Isolute ENV recoveries were better than with other sorbents, although these sorbents, in on-line SPE procedures, have a broader front because of their large specific surface which affords a high sorption power over a wide range of hydrophilic substances (humic and fulvic acids) present in real water samples and makes analyte elution difficult [11,30]. This band can make it difficult to determine the most polar compounds, but some methods to decrease it have been mentioned in SPE procedures section. When elution is carried out with the whole mobile phase, the band broadening is greater with LiChrolut EN than with PLRP-S, because of its higher sorptive power.

Other recently developed porous polymeric sorbents are Porapak RDX and Oasis HLB which are divinylbenzene-vinylpyrrolidone copolymers. Porapak RDX was used in the SPE of nitroaromatic and nitramine explosives and their degradation products in water, and recoveries were greater than 89% in the preconcentration of 500 ml of water spiked with 1 and 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ of each analyte [42]. This sorbent has also been used for the analysis of herbicides and their metabolites, pesticides, fungicides, phenolic compounds and carbonyl compounds, and recoveries were high even for the most polar compounds [43]. Porapak RDX was compared with LiChrolut EN and Isolute ENV for the preconcentration of a variety of phenolic compounds from water samples and breakthrough volumes were lower when Porapak RDX was used [39].

Oasis HLB is a macroporous poly(divinylbenzene-co-*N*-vinylpyrrolidone) copolymer which is water wettable because the hydrophilic *N*-vinylpyrrolidone and the lipophilic divinylbenzene provide the reversed-phase retention necessary to retain analytes. Therefore, it is more flexible at processing samples since it can dry out during the extraction procedure without diminishing its ability to retain analytes. This is an important advantage that the previously mentioned sorbents do not have. Moreover, its pH stability and retention are greater than C₁₈ bonded silica sorbents [31]. The structure of Oasis HLB is shown in Fig. 2.

The efficiency of the polymeric sorbents depends on various physico-chemical parameters such as particle size, surface area, pore diameter, pore volume, degree of crosslinking and particle size distribution [11]. Table 3 shows the physical characteristics of some polymeric sorbents. The highly porous materials have a higher real active surface available which allows higher π - π interactions and so higher adsorption capacity. The band broadening with highly porous sorbents is only slightly greater than with other sorbents because porosity minimizes band dispersion. Band broadening is also minimized when working with sorbents with a narrower particle size distribution [11]. Several papers have shown that the capacity of LiChrolut EN is higher than that of Envi-Chrom P in the analysis of polar compounds [14,15,28]. This is due to the fact that LiChrolut EN has a higher specific surface and a lower particle size (1200 m² g⁻¹, 40-120 μ m) than Envi-Chrom

Table 3
Physical characteristics of some commercial polymeric sorbents

Sorbent	Supplier	Base material	Particle size (μm)	Surface area (m^2/g)	Pore size ($\text{\AA}$)	Pore volume (mL/g)
Amberlite XAD-2	Supelco	PS-DVB	20-60	300	90	0.65
PLRP-S 100A	Polymer Labs.	PS-DVB	20	500	100	a
Amberchrom GC-161m	TosoHaas	PS-DVB	50-100	900	150	a
Bond Elut PPL	Varian	F-PS-DVB	125	700	150	1.0
Envi-Chrom P	Supelco	HC-PS-DVB	80-160	800-950	110-175	a
LiChrolut EN	Merck	HC-PS-DVB	40-120	1200	a	0.75
Isolute ENV+	BT	HC-PS-DVB	40-140	1000-1100	900	1.0
HYSphere-1	Spark Holland	HC-PS-DVB	5	> 1000	a	a
Styrosorb MN-150	Purolite Int.	HC-PS-DVB	300-800	1070	a	0.74
Styrosorb 2m	Purolite Int.	HC-PS-DVB	70-80	910	10	0.2-0.3
Oasis HLB	Waters	DVB-VP	31.4	831	82	1.4
Porapak RDX	Waters	DVB-VP	125-150	a	a	a

PS-DVB: polystyrene-divinylbenzene; F-PS-DVB: functionalized polystyrene-divinylbenzene; HC-PS-DVB: highly crosslinked polystyrene-divinylbenzene; DVB-VP: divinylbenzene-vinylpyrrolidone.
^a Value not available.

P (800-950 m² g⁻¹, 80-160 µm) which allows better contact between the analytes and the sorbent. This in turn increases analyte retention.

Immunosorbents

The main problem encountered with SPE is the lack of selective sorbents when analyzing surface water. In this sense, the matrix of these samples is difficult to eliminate and it produces a noisy baseline and a large peak at the beginning of the chromatogram, thus making the determination of the most polar analytes laborious.

Recently, new extraction sorbents involving reversible and selective antigen-antibody interactions, called immunosorbents (ISs), have been synthesized in order to trap structurally related pollutants. They give extracts which are free of interfering substances. Using ISs, extraction, trace enrichment and cleanup are accomplished in one step when surface waters are analyzed. This selective preconcentration should not require an additional cleanup step [44,45].

Immunosorbents are obtained by covalently binding antibodies onto appropriate sorbents. The ideal support for an immunoaffinity sorbent is rigid and porous so that the flow rates of environmental samples can be high. Likewise, it should provide functional groups to enable appropriate coupling with a sufficient number of antibodies and be hydrophilic to prevent nonspecific interactions with the analytes and the sample matrix [46,47]. At present, diol or aldehyde activated silica supports are the best sorbents, meeting all these requirements. In both cases, the antibody is coupled via amino groups using Schiff base methods. Ion attraction, hydrogen bonds, hydrophobic attraction and van der Waals forces are involved in the antigen-antibody interactions. In addition, when the shapes of the antibody receptors and the antigen are complementary, forces of steric repulsion contribute to the overall strength of the interaction. So, the formation of the

antibody-antigen complex can be affected by the chemical composition of the sample [47]. The capacity of immunosorbents can be increased by a better selection of the silica used for the bonding procedure [46], and also depends on the orientation and the purity of the immobilized antibodies [44].

Nevertheless, the problem of the crossreactivity of the antibody is still a difficult one when quantitative results are needed. Taking advantage of the crossreactivity of a specific antibody it is possible to extract many compounds of the same family [44,48].

These sorbents have been applied in the analysis of triazines and phenylurea herbicides in different waters [44-50], using a single antibody (anti-isoproturon, anti-chlortoluron, anti-atrazine and anti-simazine) or a multi-antibody (mixed antibodies). They have been compared with C₁₈ [49], PRP-1 [50] and PLRP-S [46] in the SPE of these analytes from environmental samples. The high selectivity of the immunosorbents gave chromatograms that were cleaner than those obtained with the other sorbents.

Immunosorbents have been applied to the determination of several pesticides in the off-line [44,48,49] and on-line [45,46,50] SPE. Ferrer et al. [45] demonstrated that the coupling of ISs with LC-APCI-MS detection is a powerful technique for the determination and quantitation of polar pesticides in environmental matrices at the low ppt level without the need of additional cleanup steps. By using a small sample volume, very low detection limits can be reached due to the enhanced selectivity and high sensitivity.

Few immunosorbents are commercially available thus far, so the number of analytes which can be analyzed are limited. Moreover, it is well known that polyclonal antibodies can be produced and prepared in SPE cartridges and this takes approximately one year in research laboratories. The costs at this stage are high as compared to conventional systems. Only when industry is involved will the cost be reduced due to the production of larger amounts. Also, the half-

life of the columns depends on many parameters and can vary from 3-6 months to up to 2 years. On the other hand, industry has demonstrated interest in such columns and most probably they will be available at reasonable prices in the near future [45].

Molecularly Imprinted Polymers

An emerging technology, called molecular imprinting, leads to highly stable synthetic polymers that possess selective molecular recognition properties. Recognition sites within the polymer matrix are complementary to the analyte in the shape and positioning of functional groups. Molecularly imprinted polymers (MIPs) are made by synthesizing highly crosslinked polymers in the presence of a template molecule. After removal of this molecule, the polymer can be used as a selective binding medium for the template (analyte) or structurally related compounds. The mechanisms by which these polymers specifically bind the template and related ligands are attributed to the formation of functional groups in a specific arrangement within the polymer that corresponds to the template and to the presence of shape-selective cavities.

Some of these polymers have high selectivities and affinity constants, comparable with naturally occurring recognition systems such as monoclonal antibodies, which make them especially suitable as constituents in chemical (biomimetic) sensors for analytical chemistry or simply for enhancing the selectivity in SPE.

The imprinted materials compare favourably to immunsorbents mainly with respect to their ease of preparation, cost and time of preparation, reproducibility of preparation, sample load capacity, material durability and material composition. However, for their more general use in separations, the range of

imprintable compounds needs to be extended and the problems related to site heterogeneity and mass transfer solved.

There are already a few applications of these polymers. Sellergren [51] has reviewed some of these applications and the properties of these sorbents.

CONCLUSIONS

In the last few years, SPE has replaced LLE because of the drawbacks of the latter. Sorbents in disks overcome some of the drawbacks of cartridges, but the limited number of commercially available sorbents in this format means that there are fewer applications than with cartridges. Nowadays, on-line trace enrichment is increasingly being used, but it has some drawbacks such as band broadening which can be avoided by eluting the analytes trapped in the precolumn only with the organic solvent of the mobile phase.

The classical bonded silicas are being displaced by polymeric sorbents because they cannot effectively trap the most polar compounds. Currently, chemically modified polymeric resins with different functional groups (e.g. acetyl, hydroxymethyl, benzoyl and *o*-carboxybenzoyl) and highly crosslinked polymeric sorbents are being developed. They have a higher sorption capacity for the most polar compounds. These sorbents are the most suitable materials for the SPE of polar analytes from environmental waters. The development of other functionalized polymers and highly crosslinked sorbents would appear to be the next objective in the synthesis of new materials for SPE procedures. New immunosorbents and molecularly imprinted polymers need to be developed in order to monitor a wider range of micropollutants in water samples by the selective SPE of specific groups of analytes.

REFERENCES

- [1] M.W.F. Nielen, *Selective On-line Precolumn Sample Handling and Trace Enrichment in Liquid Chromatography*, Ph.D. Thesis, Free University of Amsterdam, 1987.
- [2] I. Ferrer, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 778 (1997) 161.
- [3] D.D. Blevins, S.K. Schultheis, *LC·GC Int.*, 7 (1994) 70.
- [4] D. Barceló, S. Chiron, S. Lacorte, E. Martinez, J.S. Salau, M.C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 13 (1994) 352.
- [5] M.T. Galceran, O. Jáuregui, *Anal. Chim. Acta*, 304 (1995) 75.
- [6] L.W. Schmidt, J.J. Sun, J.S. Fritz, D.F. Hagen, C.G. Markell, E.E. Wisted, *J. Chromatogr.*, 641 (1993) 57.
- [7] P.J. Dumont, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 123.
- [8] E.R. Brouwer, D.J. van Iperen, I. Liska, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 47 (1992) 257.
- [9] V. Pichon, M.C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.
- [10] J. Slobodník, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 750 (1996) 227.
- [11] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
- [12] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [13] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 793 (1998) 257.
- [14] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
- [15] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
- [16] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 803 (1998) 147.
- [17] N. Masqué, E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 47 (1998) 176.
- [18] P. Bonifazi, E. Pierini, F. Bruner, *Chromatographia*, 44 (1997) 595.
- [19] P. Önnérffjord, D. Barceló, J. Emnéus, L. Gorton, G. Marko-Varga, *J. Chromatogr. A*, 737 (1996) 35.

- [20] E. Chladek, R.S. Marano, *J. Chromatogr. Sci.*, 22 (1984) 313.
- [21] O. Fiehn, M. Jekel, *Anal. Chem.*, 68 (1996) 3083.
- [22] A. Chudziak, M. Trojanowicz, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 40 (1995) 39.
- [23] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 38 (1994) 579.
- [24] N.W.F. Nielen, J. de Jong, R.W. Frei, U.A.Th. Brinkman, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 25 (1986) 37.
- [25] N.W.F. Nielen, R.W. Frei, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr.*, 317 (1984) 557.
- [26] N.W.F. Nielen, U.A.Th. Brinkman, R.W. Frei, *Anal. Chem.*, 57 (1985) 806.
- [27] M.R. Buchmeiser, N. Atz, G.K. Bonn, *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (1997) 9166.
- [28] C. Crescenzi, A. Di Corcia, G. Passariello, R. Samperi, M.I. Turnes Carou, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 41.
- [29] A. Di Corcia, S. Marchese, R. Samperi, *J. Chromatogr.*, 642 (1993) 163.
- [30] A. Laganà, G. D'Ascenzo, G. Fago, A. Marino, *Chromatographia*, 46 (1997) 256.
- [31] E.S.P. Bouvier, D.M. Martin, P.C. Iraneta, M. Capparella, Y-F. Cheng, D.J. Phillips, *LC-GC*, 15 (1997) 152.
- [32] M. Åkerblom, *Chemistry of Plant Protection: Analysis of Pesticides in Ground and Surface Water*, 11, Springer-Verlag, Berlín, 1995.
- [33] E. Ballesteros, M. Gallego, M. Valcarcel, *Environ. Sci. Technol.*, 30 (1996) 2071.
- [34] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
- [35] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schimdt, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 133.
- [36] B. Gawdzik, T. Matynia, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 491.
- [37] M.W. Powell, *J. Chromatogr. A*, 697 (1995) 101.
- [38] Application Note 32, Supelco, 1996.
- [39] M. Castillo, D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 778 (1997) 301.
- [40] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.

- [41] M. Galià, F. Svec, J.M.J. Frechet, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, 32 (1994) 2169.
- [42] E.S.P. Bouvier, S.A. Oehrle, *LC-GC*, 13 (1995) 120.
- [43] M. Young, Waters Corporation, PITTCON 96 presentation, 1996.
- [44] V. Pichon, L. Chen, M.C. Hennion, R. Daniel, A. Martel, F. Le Goffic, J. Abian, D. Barceló, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 2451.
- [45] I. Ferrer, M.C. Hennion, D. Barceló, *Anal. Chem.*, 69 (1997) 4508.
- [46] V. Pichon, H. Rogniaux, N. Fischer Durand, S. Ben Rejeb, F. Le Goffic, M.C. Hennion, *Chromatographia*, 45 (1997) 289.
- [47] A. Martín Esteban, P. Fernández, C. Cámara, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 357 (1997) 927.
- [48] I. Ferrer, V. Pichon, M.C. Hennion, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 777 (1997) 91.
- [49] A. Martín Esteban, P. Kwasowski, D. Stevenson, *Chromatographia*, 45 (1997) 364.
- [50] A. Martín Esteban, P. Fernández, D. Stevenson, C. Cámara, *Analyst*, 122 (1997) 1113.
- [51] B. Sellergren, *Trends Anal. Chem.*, 16 (1997) 310.

Tenint en compte les consideracions fetes en els capítols anteriors, s'observa la limitació dels sorbents comercials existents per a l'extracció dels analits més polars. Per tant existeix una necessitat de desenvolupar nous sorbents que permetin obtenir millors recuperacions per aquests analits i també d'altres sorbents més selectius que ofereixin uns extractes més nets. És per aquest motiu que en la present Tesi Doctoral s'han desenvolupat nous sorbents polimèrics per a l'extracció en fase sòlida de contaminants orgànics polars presents en mostres d'aigua.

En tots els estudis realitzats s'han emprat aquests nous sorbents en la SPE acoblada *on-line* a un cromatògraf de líquids utilitzant com a sistema de detecció un detector UV, tot i que en alguns treballs s'ha utilitzat un detector de fluorescència o bé un electroquímic per tal de millorar la selectivitat i la sensibilitat. Els analits que s'han seleccionat són diversos plaguicides i compostos fenòlics d'elevada polaritat, ja que aquests formen part dels contaminants freqüentment trobats en mostres d'aigua i perquè s'extreuen amb baixes recuperacions emprant els sorbents convencionals. En l'Annex I es presenten les estructures de tots els analits estudiats.

En els estudis descrits en els tres primers apartats d'aquest capítol s'han sintetitzat tres sorbents polimèrics químicament modificats diferents que presenten una capacitat de retenció superior pels analits de característiques més polars. Les modificacions químiques han consistit en la introducció de diferents grups funcionals sobre la superfície d'una reïna de poliestirè-divinilbenzè (PS-DVB), l'Amberchrom GC-161m. Aquests nous polímers han estat avaluats i comparats amb altres sorbents polimèrics comercials per a l'extracció dels analits ja esmentats.

En el quart apartat s'avaluen diferents mètodes per tal d'eliminar la banda inicial interferent corresponent a les substàncies húmiques, presents en les mostres d'aigua real, que pot dificultar la determinació dels analits més polars. Aquesta

banda, que és més gran com més capacitat de retenció tingui el sorbent emprat en el procés d'extracció, s'ha reduït mitjançant l'aplicació de tractaments químics a la mostra. En aquest estudi s'utilitza el sorbent polimèric químicament modificat que ha donat més bons resultats en la SPE dels preparats en els treballs anteriors. Aquest mateix sorbent funcionalitzat és el que s'empra en el cinquè apartat i es compara amb un sorbent de carbó i amb una reïna polimèrica funcionalitzada comercial per a l'extracció dels onze compostos fenòlics prioritari segons la US EPA. En aquest mateix estudi també es demostra la possibilitat de determinar aquests analits a una concentració per sota els nivells màxims permesos extraient-los amb la nova reïna modificada i emprant com a detectors un UV i un electroquímic connectats en sèrie, millorant així la sensibilitat del mètode.

En l'apartat sisè es presenten els resultats corresponents a un estudi comparatiu entre tres sorbents comercials diferents, un carbó negre grafititzat, una reïna polimèrica funcionalitzada i un polímer altament entrecreuat en l'extracció d'un grup de compostos fenòlics i plaguicides presents en mostres d'aigua de consum i de riu. L'objectiu d'aquest estudi ha estat trobar quin sorbent presenta volums de ruptura més elevats pels compostos més polars i per tant permet concentrar majors volums de mostra i determinar nivells de concentració més baixos.

En el setè apartat s'estudia la influència de les propietats físiques (àrea superficial, diàmetre de porus i diàmetre de partícula) de les reïnes de PS-DVB en el grau de funcionalització quan se'ls introdueix un grup funcional polar i en les recuperacions dels analits en l'extracció en fase sòlida. Així s'identifica quina és la reïna de partida més adequada per tal de modificar-la químicament i obtenir millors recuperacions pels analits polars.

Per tal d'augmentar la capacitat de retenció dels sorbents pels analits més polars respecte a la dels primers sorbents modificats sintetitzats en els primers

estudis, en l'apartat següent es presenta la introducció de dos nous grups funcionals polars en l'estructura d'una reïna de PS-DVB. Aquests nous polímers funcionalitzats s'han comparat amb el seu anàleg no modificat i també amb el millor dels polímer modificats presentats en els apartats anteriors.

En el novè apartat d'aquesta capítol es presenta la síntesi i avaluació d'un nou tipus de polímer específic. Aquest sorbent consisteix en un polímer amb empremta molecular pel 4-nitrofenol i ha permès l'extracció selectiva d'aquest compost fenòlic.

Finalment, en l'últim apartat d'aquest capítol, es comenten i discuteixen els resultats obtinguts en tots aquests estudis.

Degut a la gran aplicació de la SPE, en els darrers anys han anat sorgint diversos tipus de sorbents pels diferents analits. Mentre que els analits apolars poden ser extrets fàcilment amb les sílices enllaçades, es recomana l'ús de sorbents polimèrics, i en alguns casos de sorbents de carbó, per a l'extracció dels compostos més polars tot i que els volums de ruptura en aquests sorbents són bastant baixos [1,2]. Per tal de solventar aquesta limitació recentment s'han desenvolupat diferents tipus de reïnes polimèriques, com ara els polímers altament entrecruats i els químicament modificats [3-5].

Davant el reduït nombre de sorbents químicament modificats existents, l'objectiu principal d'aquest treball ha estat el desenvolupament d'un nou sorbent químicament funcionalitzat amb un grup acetil. La síntesi d'aquest sorbent s'ha basat en la prèviament descrita per *Sun et al.* [5] i ha consistit en la introducció d'un grup acetil en l'estructura d'una reïna de P-DVB, l'Amberchrom GC-161m, mitjançant una reacció de Friedel-Crafts. L'estructura d'aquest nou sorbent modificat pot observar-se en la Figura 1.

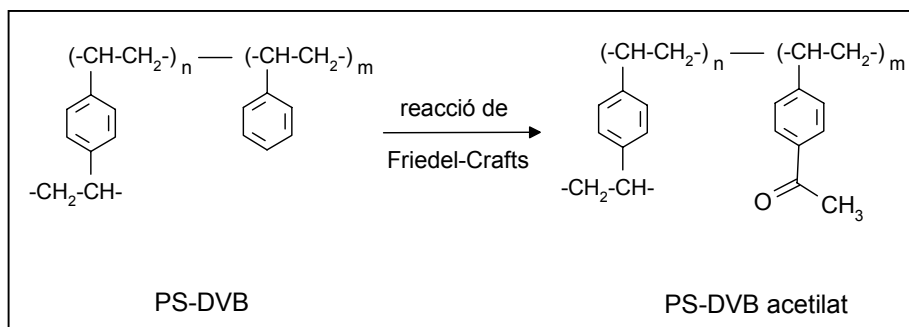


Fig. 1. Modificació química de la reïna de PS-DVB Amberchrom GC-161m amb un grup acetil
Aquest nou polímer ha estat caracteritzat mitjançant l'espectroscòpia RMN de ^1H , l'espectroscòpia infraroja i l'anàlisi elemental amb la qual s'ha pogut establir el grau de modificació que ha estat d'un 30%.

En aquest estudi s'ha empaquetat el sorbent modificat en una precolumna (10 x 3 mm D.I.) i s'ha utilitzat per a la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb una columna analítica de C₁₈ i detecció ultraviolada. Inicialment s'ha emprat en l'extracció d'un grup de vuit compostos fenòlics d'elevada polaritat i posteriorment en la dels onze fenols regulats per la US EPA. A més, aquest sorbent s'ha comparat amb altres sorbents polimèrics comercials d'estirè-divinilbenzè de diferents propietats físiques en l'extracció dels analits esmentats. Aquests sorbents han estat el PLRP-S (100 Å, 20 µm) i els polímers altament entrecreuat Amberchrom GC-161m (la reina que hem escollit per a modificar químicament), l'Envi-Chrom P i el LiChrolut EN.

Per tal d'evitar l'eixamplament dels pics cromatogràfics, com a conseqüència de l'acoblament *on-line* de la precolumna que conté un sorbent amb elevada capacitat de retenció pels analits i la columna analítica de C₁₈, l'elució dels analits s'ha dut a terme mitjançant el disseny desenvolupat per *Pocurull et al* [6]. És a dir, els analits han estat eluïts en contracorrent utilitzant únicament el solvent orgànic que compon la fase mòbil.

Per al desenvolupament d'aquest treball s'ha optimitzat inicialment la separació cromatogràfica dels vuit compostos de major polaritat inclosos en l'estudi. A continuació, per tal de dur a terme la comparació entre tots els sorbents, s'han enregistrat les corbes de ruptura del fenol pels diferents sorbents.

El següent pas ha estat l'avaluació del nou sorbent modificat en l'extracció d'aquests analits polars i la comparació d'aquests resultats amb els obtinguts emprant els altres sorbents comercials. Com a conseqüència dels resultats satisfactoris obtinguts amb el sorbent acetilat en aquest estudi comparatiu s'ha decidit aplicar-lo, també comparativament amb els altres sorbents, en l'extracció dels onze compostos fenòlics regulats per la US EPA.

Amb la finalitat d'avaluar l'eficàcia del sorbent modificat en l'anàlisi de mostres reals, en el següent pas s'ha procedit a analitzar diferents volums d'aigua dels rius Francolí fortificada amb $4 \mu\text{g l}^{-1}$ dels onze compostos fenòlics. Un cop optimitzat el volum de mostra, 25 ml, s'ha avaluat la capacitat del nou sorbent preconcentrant aquest volum fortificat a diferents concentracions dels analits, i s'han determinat la linealitat i els límits de detecció del mètode per aquests compostos en aquesta matriu.

Per tal de disminuir el límit de detecció del fenol, a continuació s'ha connectat un detector de fluorescència en sèrie al detector UV. Aquest detector aporta l'avantatge que permet obtenir cromatogrames més nets en què no apareix la banda inicial corresponent a les substàncies húmiques presents en aquestes mostres.

Finalment, amb l'objectiu de comparar la selectivitat del nou sorbent funcionalitzat amb els altres sorbents emprats en aquest estudi s'ha dut a terme l'anàlisi de mostres d'aigua del riu Ebre que contenen addicions estàndard dels compostos fenòlics regulats per la US EPA.

Els estudis que s'han realitzat en aquest treball han estat publicats a la revista *Journal of Chromatography A*, 771 (1997) 55-61, una còpia dels quals es mostra a continuació.

Bibliografia

- 1 J. Schüleín, D. Martens, P. Spitzauer, A. Kettrup, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 565.
- 2 P. Mussmann, K. Levsen, W. Radeck, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 348 (1994) 654.
- 3 S. Guenu, M-C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 737 (1996) 15.

- 4 M. Galià, F. Svec, J.M.J. Fréchet, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, 32 (1994) 2169.
- 5 J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 509 (1992) 197.
- 6 E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.

CHEMICALLY MODIFIED POLYMERIC RESIN USED AS SORBENT IN A SOLID-PHASE EXTRACTION PROCESS TO DETERMINE PHENOLIC COMPOUNDS IN WATER

ABSTRACT

A chemically modified polymeric resin with an acetyl group is developed for use in a solid-phase extraction process. The breakthrough volumes and selectivity of several phenolic compounds were studied and compared with the ones obtained for several commercial sorbents such as PLRP-S, Amberchrom, Envi-Chrom P and LiChrolut EN. The study was carried out by coupling an on-line solid-phase extraction system to a modified liquid chromatograph where compounds were eluted only by the organic solvent of the mobile phase. The sorbent studied was used to establish a method for determining eleven Environmental Protection Agency priority phenolic compounds in water at low levels.

Keywords: Sorbents; Extraction methods; Water analysis; Phenolic compounds.

INTRODUCTION

In the last few years, solid-phase extraction (SPE) has become a very important technique for preparing samples in different fields, and particularly in the environmental field. The advantages of this technique over the widely used liquid-liquid extraction technique are very well known [1]. Various types of sorbents have been developed, C₁₈ and C₈ bonded to silica, carbon black and polymeric resins being the most commonly used [2]. Whereas apolar compounds can be easily preconcentrated with a C₁₈ or C₈ sorbent, the most polar compounds, for which polymeric or carbon sorbent are recommended, can be a problem because of their low breakthrough volumes [3,4]. Different attempts have been made to develop new materials for polar compounds mainly using highly crosslinking copolymers or by using chemically modified polymeric resins [5,6].

Of the polar compounds which are of environmental interest, phenolic compounds are a very significant group. While most of the eleven phenolic compounds controlled by Environmental Protection Agency (EPA) have high breakthrough volumes for commonly used polymeric sorbents and even for C₁₈ sorbents, phenol and some nitrophenols have low breakthrough volumes for both kinds of sorbents [7]. Some highly cross-linked styrene-divinylbenzene, Envi-Chrom P and LiChrolut EN, have higher breakthrough volumes for these compounds [8,9].

The phenolic compounds are usually determined by RPLC and UV or electrochemical detection [9-11]. Some phenolic compounds can also be detected by fluorescence [12]. However, even electrochemical detection, which is more sensitive for phenolic compounds, does not reach the levels required by legislation. This is why SPE is applied. Both methods, the on-line and the off-line SPE, have been applied to determine pollutants in environmental waters [9,11,13,14]. The advantages of on-line solid-phase extraction are the higher sensitivity, absence of

organic solvents, and less manipulation of the samples, which leads to greater precision, and makes it easier for it to be automated.

However, the use of sorbents with very different characteristics from the stationary phase of the column separation, such as a highly cross-linked sorbent in the precolumn and a C₁₈ analytical column, can lead to a significant broadening of peaks. Fortunately, this can be solved by modifying the instrument, so that the compounds retained in the precolumn are eluted only with the organic solvent of the mobile phase [15], and satisfactory results were obtained when a highly cross-linked styrene-divinylbenzene was coupled with a C₁₈ precolumn for the determination of phenolic compounds.

In the present paper, a chemically modified polymeric sorbent with an acetyl group was synthesized and tested for the on-line SPE of phenolic compounds. Results from the polymeric resin unmodified and the modified polymer are compared for a group of polar phenolic compounds. As far as breakthrough volumes, capacity and selectivity are concerned, the results of the new sorbent for the on-line SPE of the eleven EPA phenolic compounds are also compared with the results obtained with various commercial polymeric sorbents.

EXPERIMENTAL

Equipment

Chromatographic experiments were performed using two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps with a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. To determine phenol at low detection limits and without matrix interference, an HP 1046A (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) programmable fluorescence detector was connected in series with the other one. The temperature of the column was controlled by a Shimadzu CTO-10A oven and the chromatographic data were collected and recorded using an HP-3365 Series II Chemstation which was controlled by Windows 3.1 (Microsoft). The separation was performed using a 250x4 mm I.D. Spherisorb ODS-2 column steel cartridge with a particle size of 5 μm purchased from Teknokroma (Barcelona, Spain).

To check the response of the instrument, standard solutions were injected through a Rheodyne valve with a 20- μl loop, but an automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, Netherlands) was used for the on-line SPE. The trace enrichment experiments were performed using steel columns of 10x3 mm I.D. laboratory-packed with the different sorbents studied. A Waters (Milford, MA, USA) M45 pump was used to deliver the sample.

Reagents and Standards

The phenolic compounds studied were: hydroquinone (Hy), resorcinol (Re), catechol (Ca), orcinol (Or), guaiacol (Gu), phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP), 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP), 2-chlorophenol (2-CP), 2-nitrophenol (2-NP), 2,4-dimethylphenol (2,4-DMP), 2-methyl-4,6-dinitrophenol (2-M,4,6-DNP), 4-chloro,3-methylphenol (4-C-3-MP), 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP), 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP) and pentachlorophenol (PCP). They are all supplied by Aldrich (Steinheim, Germany) except PCP, which was obtained from Janssen (Geel, Belgium). Standard solutions of 2000 mg l^{-1} of each compound were prepared in

methanol. A mixture of the phenolic compounds used in the different studies was prepared weekly by diluting the standard solutions with Milli-Q water (Millipore, Bedford, MA, USA), and more diluted working solutions were prepared daily by diluting this solution with purified Milli-Q or river water.

HPLC-grade methanol (Scharlau, Barcelona, Spain) and Milli-Q quality water were used in the preparation of the eluent and in the SPE system. The pH of the eluent was adjusted with sulphuric acid (Panreac, Barcelona, Spain).

Acetyl chloride, nitrobenzene, aluminium chloride, hydrochloric acid and acetone, supplied by Scharlau, were used in the synthetic procedure.

Synthetic Procedures

The chemically modified resin was obtained from porous cross-linked poly(styrene-divinylbenzene) (PS-DVB) beads. Amberchrom GC-161 (Tosohaas, Montgomeryville, PA, USA) is a spherical resin with an average particle size of 50-100 μm and an average pore size of 110-175 Å.

The acetyl derivative was prepared using the following procedure: 3.4 g of aluminium chloride were added slowly and under mechanical stirring to 2 g of resin and 50 ml of nitrobenzene. The reaction mixture was cooled to 0°C and 2.2 g of acetyl chloride was added dropwise. The reaction was stirred for 3 h and then syringed into methanol with 1% hydrochloric acid. The filtered polymer was washed twice with methanol and acetone and dried under vacuum at 60°C. The polymer was characterized by IR and ^1H NMR spectroscopy. The extent of the modification (30%) was established from elemental analyses.

Chromatographic Conditions

Two chromatographic methods were used in this study, one of them for the analysis of more polar phenolic compounds (Hy, Re, Ca, Or, Ph, 4-NP, Gu and 2,4-DNP) and the other one for the eleven EPA priority phenolic compounds. In both cases, water adjusted to pH 2.5 with acetic acid was used as solvent A and methanol as solvent B. The gradient used in the first method was 10 min in isocratic elution at 10% of solvent B, a gradient elution from 10% B to 20% in 15 min and then an isocratic elution at 20% of B for 5 min. The other gradient used in the second method to determine eleven EPA priority phenolic compounds was a linear gradient elution from 25% of B to 60% in 25 min, a linear gradient up to 100% of B in 5 min and an isocratic elution to 100% for 2 min. Flow-rate was set at 1 ml min⁻¹.

Detection was at 280 nm for all compounds except for PCP which was detected at 302 nm. When a fluorimetric detector was used to determine phenol, 275 nm and 305 nm were chosen as excitation and emission wavelengths, respectively.

On-line Trace Enrichment

In this study, several polymeric sorbents were compared with the new synthesized sorbent. The sorbents chosen were PLRP-S of 100 Å and 20 µm (Polymer Labs., Amherst, MA, USA), Amberchrom [poly(styrene-divinylbenzene)] of 50-100 µm (TosoHaas), Envi-Chrom P (highly cross-linked styrene-divinylbenzene) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) and LiChrolut EN (highly cross-linked ethylbenzene-divinylbenzene) of 40-120 µm (Merck, Darmstadt, Germany) and they have all been applied to determine phenolic compounds.

Prior to the preconcentration step, the pH of the sample was adjusted to pH 2.5 with

sulphuric acid. To desorb the phenolic compounds from the sorbents, a modification of the common elution design was used [15]. A Must column-switching device with two switching valves was used to clean up the tubes, activate the precolumn and measure the sample volume in the preconcentration step more accurately. First, the preconcentration system was washed with methanol for 5 min at 2 ml min^{-1} to remove all the solvents between the delivery system and the pump delivering the sample. Then, the cartridge was cleaned up and conditioned with methanol for 1 min. The next step, to prepare cartridge previous sample preconcentration and to remove methanol, was cleaning up the tubes and the cartridge with water at pH 2.5 (sulphuric acid) for 5 and 1 min, respectively, and then the preconcentration step started after cleaning up the tubes for 5 min with the sample. The length of this step can be changed depending on the sample. In the next step, the analytes trapped on the precolumn were desorbed in the backflush mode and transferred on-line to the analytical column. Real samples were filtered through a $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ filter before preconcentration.

RESULTS AND DISCUSSION

The derivatization of polymeric resins with some functional groups is known to enable the retention capacity of polar compounds to be increased. Some authors [16] have used these sorbents in the chromatographic separation of several polar compounds, and, the retention time was shown to increase compared to PS-DVB. In particular, the acetyl group was shown to increase the retention time of the phenolic compounds studied. So, in the present study a sorbent based on the modification of polymeric resin by an acetyl group, is checked for the solid-phase extraction of phenolic compounds.

The PS-DVB beads were chemically modified by aromatic electrophilic substitution with acetyl chloride. The polymer was characterized by IR spectroscopy and the

presence of the modified unity was proved by the appearance of a band assignable to the carbonyl group (1690 cm^{-1}) and ^1H NMR spectroscopy showed signals at δ_{H} (ppm, 300 Mhz, C_6D_6): 1.2-1.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}$), 1.8-2.1 ($\text{CH}_3\text{-CO}$), 7.0-7.8 (C_6H_5 and C_6H_4) with the signal (1.8-2.1 ppm) attributable to the CH_3 protons of the acetyl moiety. Several reaction times (3, 5, 7 and 24 h) were tested in order to study the progress of the Friedel-Crafts reaction, and from the results it can be concluded that the reaction time does not influence the modification degree. The low degree of substitution obtained (30%) can be attributed to the restricted accessibility of reactive sites. The reaction was carried out at 0°C , since higher reaction temperatures lead to untractable products.

After the derivatization and characterization of the sorbent, it was tested for the on-line solid-phase extraction of phenol which is a polar compound with a low breakthrough volume for most of the sorbents.

To carry out this study a standard solution of 10 mg l^{-1} of phenol dissolved in Milli-Q water pH 2.5 (with sulphuric acid) was introduced directly into the detector bypassing the Rheodyne with the precolumn; when a stable response was obtained in the recorder, by moving the Rheodyne valve the sample was passed through the precolumn at 1 ml min^{-1} . The signal was measured with a UV detector at 280 nm. Fig. 1 shows the curves obtained when PLRP-S, Amberchrom, Envi-Chrom P, LiChrolut EN and the new acetyl sorbent were used.

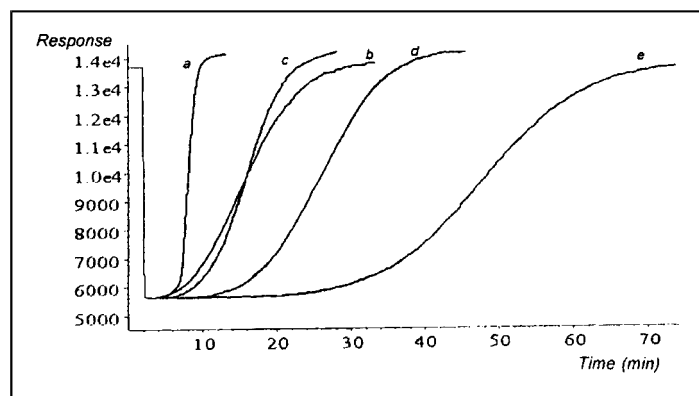


Fig. 1. Breakthrough curves of phenol with PLRP-S (a), Envi-Chrom P (b), Amberchrom (c), the new sorbent (d) and LiChrolut EN (e).

Fig. 1 shows a higher breakthrough volume of phenol in the new sorbent compared with Amberchrom, the polymer which was chemically modified. Among the other sorbents compared, the breakthrough volume of phenol in the acetyl sorbent was higher than in PLRP-S, a styrene-divinylbenzene polymer, and in Envi-Chrom P, although a higher breakthrough volume was obtained with LiChrolut. If the breakthrough volume is considered as the volume at which the detector signal reaches 10% of the total signal, breakthrough volumes of 4.5, 6.8, 7.5 and 14 and 30 ml were obtained for the PLRP-S, Envi-Chrom P, Amberchrom, the acetyl sorbent and LiChrolut, respectively.

From the results obtained for phenol, the study of the suitability of this sorbent for polar compounds was extended to a group of polar compounds and the recoveries of these compounds in the new sorbent were determined and compared with the recoveries of the unmodified polymeric resins.

Since the analytical column was a C_{18} and there would probably be peak broadening due to the different nature of the sorbents in the precolumn and in the analytical column, a modification of the common design was used [15] consisting of the elution of the retained compounds by only the organic solvent of the mobile phase instead of the mobile phase at initial conditions, as in the most common design. This enables sorbents with high retention for the compounds to be used.

The recoveries of eight high polar compounds were determined by analyzing 100 ml of a standard solution of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of hydroquinone, resorcinol, catechol, orcinol, phenol, 4-nitrophenol, guaiacol and 2,4-dinitrophenol. Previously, the linearity range

for direct injection was established between 0.5 and 20 mg l⁻¹. Table 1 shows the recovery values of these compounds. Hydroquinone was not retained for any of the sorbents studied and for less polar compounds, such as 2,4-dinitrophenol or guaiacol, similar results were obtained for all sorbents. However, for the rest of compounds there was a significant increase in recovery when the new sorbent was applied, compared with PLRP-S, Amberchrom and the other two commercial sorbents (Envi-Chrom P and LiChrolut EN) recommended for determining phenolic compounds in water. If the recovery of the new sorbent is compared with the values obtained for the polymer previously to the derivatization (Amberchrom) the higher recovery

Table 1
Recovery values (R %) and relative standard deviation (R.S.D. %) ($n = 3$) of polar phenolic compounds after preconcentration of 100 mL of a standard solution of 2 µg l⁻¹ with a cartridge of 10 x 3 mm ID, using different sorbents

Compound	PLRP-S		Amberchrom		EnviChrom P		New		LiChrolut EN	
	R	R.S.D.	R	R.S.D.	R	R.S.D.	R	R.S.D.	R	R.S.D.
Hydroquinone	< 0.1	--	< 0.1	--	< 0.1	--	< 0.1	--	< 0.1	--
Resorcinol	< 0.1	-- ¹²⁶	0.7	20	1	21	4	15	16	13
Catechol	< 0.1	--	3.5	15	3	16	4	18	17	15
Orcinol	< 0.1	--	11	15	8	18	30	10	60	9
Phenol	5	18	18	14	16	15	50	11	60	11
4-NP	41	12	83	10	70	9	73	9	81	8
Guaiacol	75	7	103	5	90	9	86	8	108	7
2,4-DNP	75	8	84	7	77	8	76	10	78	9

obtained for the acetyl may be explained by the increase of polarity of the sorbent which increases the retention with polar compounds. The higher results for LiChrolut EN compared with other sorbents are due to its high specific area because it is a higher crosslinked and porous copolymer [9].

From the results obtained, the new sorbent seems to be suitable for determining phenolic compounds. So it was tested for the eleven EPA priority phenolic compounds. Good recovery was obtained for all phenolic compounds when 100 ml of a standard solution of the eleven phenols at $2 \mu\text{g l}^{-1}$ levels was analyzed with the new sorbent. Only phenol had a recovery value near 60%, and the rest of the compounds had values higher than 75% with a R.S.D. lower than 10% for 5 replicated analyses. These values are better than those obtained using commercial sorbents such as PLRP-S or Envi-Chrom P, and minor than when LiChrolut EN was used. Table 2 shows recovery values obtained in the analysis of 100 ml of standard solution of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of eleven EPA priority phenolic compounds using the new sorbent.

To check the selectivity of the sorbent, water from the Francolí, a river near to Tarragona with an important industrial zone, was analyzed using the on-line solid-phase extraction method with the new sorbent and compared with the other commercially available ones. First, a volume of sample was chosen; 100, 50 and 25 ml of river water spiked with the eleven compounds studied were preconcentrated and analyzed according to the specified method using the new sorbent. Fig. 2 shows the chromatogram obtained by concentrating 25 and 100 ml of Francolí river water spiked with a standard solution of $4 \mu\text{g l}^{-1}$. Obviously, the higher the volume, the wider the peak at the beginning of the chromatogram, and from the results, a volume of 25 ml was selected for further studies. A decrease in the recovery value of phenol was observed when 100 ml of river water was analyzed, and so the volume of sample was

Table 2
Recovery values (R, %) and relative standard deviation (R.S.D., %) ($n = 3$) of eleven EPA priority phenolic compounds

Compound	Envirochrom P ^a		New sorbent ^a		LiChroLit EN ^a		New sorbent ^b	
	R	R.S.D.	R	R.S.D.	R	R.S.D.	R	R.S.D.
Ph	50	4	66	9	80	5	58	3
4-NP	79	8	84	6	81	5	79	4
2,4-DNP	76	4	88	3	92	4	80	3
2-CP	76	3	88	2	84	5	84	4
2-NP	74	5	87	4	85	2	99	3
2,4-DMP	84	2	90	2	92	3	82	4
2-M-4,6-DNP	83	4	88	3	87	5	78	4
4-C-3-MP	78	3	84	4	95	3	88	4
2,4-DCP	76	5	88	3	95	4	78	3
2,4,6-TCP	75	8	85	7	89	6	79	3
PCP	40	6	44	4	42	6	96	5

^a Analysis of 25 mL of Ebro river water spiked with 4 µg L⁻¹ of phenolic compounds.

^b Analysis of 100 mL of standard solution of 2 µg L⁻¹ of phenolic compounds.

established at 25 ml, for which good recoveries were obtained for all phenolic compounds (see Table 2).

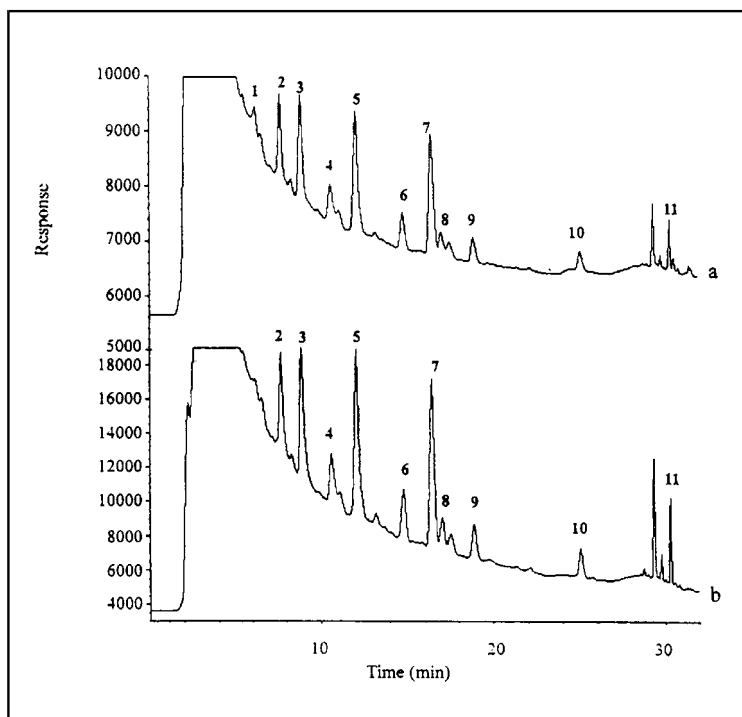


Fig. 2. Analysis of (a) 25 ml and (b) 100 ml of Francolí river water spiked with a standard solution of $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of phenolic compounds. (1) Phenol, (2) 4-NP, (3) 2,4-DNP, (4) 2-CP, (5) 2-NP, (6) 2,4-DMP, (7) 2-M-4,6-DNP, (8) 4-C-3-MP, (9) 2,4-DCP, (10) 2,4,6-TCP and (11) PCP.

In order to study the capacity of the sorbent, the recoveries of each compound with river water spiked at levels of $1 \mu\text{g l}^{-1}$ and $100 \mu\text{g l}^{-1}$ were determined and no significant differences were obtained, which showed that its capacity is enough for it to be applied to real samples at the levels usually present in the samples.

When the sample volume was established, linearity and detection limits of the method were determined with real samples. The linearity of the method was studied

between 1.5 and $100 \mu\text{g l}^{-1}$, and good correlation coefficients were obtained, with values between 0.9985 for PCP and 0.9999 for 2,4-DNP. The limits of detection of the method were established according to the signal-to-noise relation rule equal to 3 and were between $0.6 \mu\text{g l}^{-1}$ for phenol to $0.2 \mu\text{g l}^{-1}$ for 2-M-4,6-DNP and 2-NP. These values, however, are not enough to reach the levels required for tap water, but they are suitable for surface water.

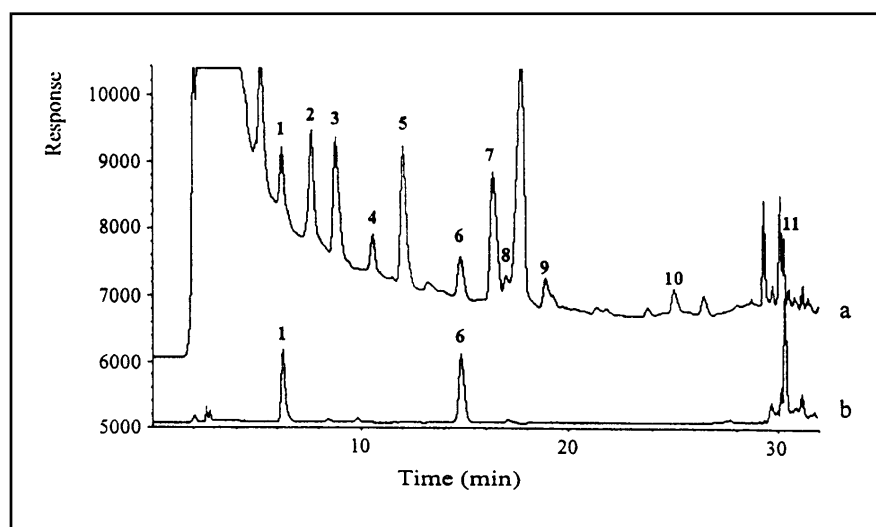


Fig. 3. Chromatogram of 25 ml of Ebro river water spiked with a standard solution of $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of phenolic compounds with (a) UV detection and (b) fluorescence detection. For peak designation, see Fig. 2.

In order to decrease the detection limit of phenol, a fluorescence detector was connected in series with a UV detector. The use of a fluorescence detector also involved the disappearance of the peak at the beginning of the chromatogram which enabled phenol to be quantified more accurately. Fig. 3 shows the chromatogram obtained for river water spiked with a standard solution of $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of phenolic compounds with both detectors. It can be seen that phenol can be better

determined with a fluorescence detector because it involves a better integration.

In order to compare the selectivity of the new sorbent with that of other commercially available sorbents which are highly recommended for the determination of phenols, an Ebro river water sample spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of each phenolic compound was analyzed with the different sorbents: Envi-Chrom P, Lichrolut EN and the new sorbent. No very significant differences were observed among the three sorbents. In Lichrolut EN, an additional peak appeared in the chromatogram (at about 13 min) and the interfering peak at 18 min was bigger in this sorbent.

The new sorbent was used to determine phenolic compounds in Ebro river water. Fig. 4 shows the chromatogram of an Ebro river water sample and the same sample spiked with a standard solution of $4 \mu\text{g l}^{-1}$. A peak with the same retention time as phenol appears in the chromatogram but no positive identification could be made because the relation between the fluorescence signals and the UV detector was not correct. Three other peaks with the same retention time as 4-NP, 2,4-DNP and 2-NP also appear in chromatogram, but no positive identification could be carried out .

CONCLUSIONS

The new sorbent is more suitable for the determination of phenolic compounds in water than other commercially available sorbents such as PLRP-S, Amberchrom or Envi-Chrom P, but obtains lower results than those of the LiChrolut EN sorbent. More polar compounds such as phenols are retained more strongly by the resins with a hydrophilic group such as acetyl. In the analysis of eleven EPA priority phenolic compounds the new sorbent gives better results for phenol and similar

ones for the less polar compounds. The matrix effect was similar to the one obtained when Envi-chrom P or Lichrolut EN was used in the analysis. Moreover, using both the UV and the fluorescence detectors in series provides more information for the phenols to be identified in water.

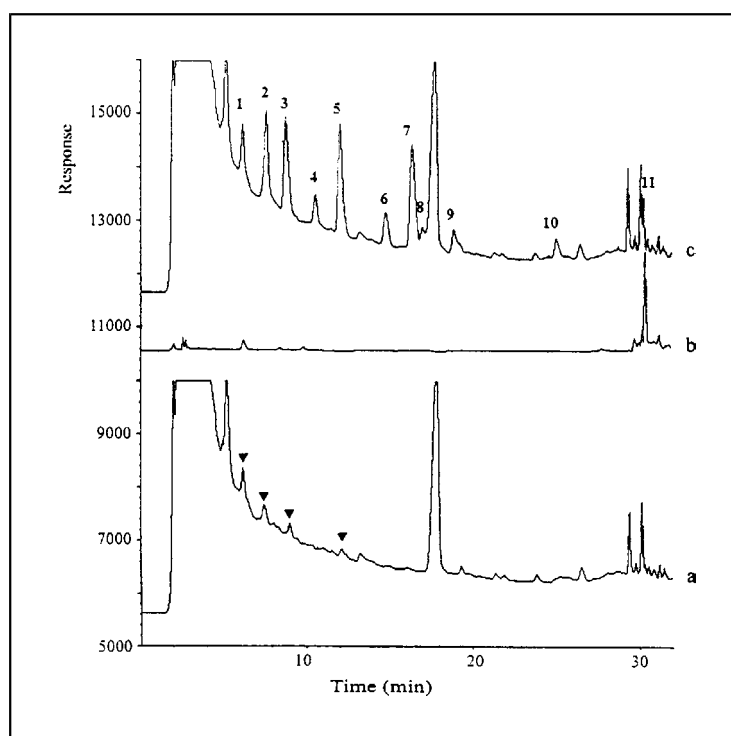


Fig. 4. Chromatogram of an analysis of 25 ml of Ebro river water using the new sorbent. (a) Ebro river water with UV detection; (b) with fluorescence detection and (c) sample spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of phenolic compounds with UV detection. For peak designation, see Fig. 2.

REFERENCES

- [1] M.C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 10 (1991) 317.
- [2] I. Liska, A. Kuthan, J. Krupik, *J. Chromatogr.*, 509 (1990) 123.

-
- [3] J. Schüle, D. Martens, P. Spitzauer, A. Kettrup, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 565.
 - [4] P. Mussmann, K. Levsen, W. Radeck, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 348 (1994) 654.
 - [5] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
 - [6] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.
 - [7] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 38 (1994) 579.
 - [8] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 719 (1996) 105.
 - [9] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
 - [10] M.T. Galcerán, O. Jáuregui, *Anal. Chim. Acta*, 304 (1995) 75.
 - [11] E. Pocurull, G. Sánchez, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 31.
 - [12] G. Lamprecht, J.F.K. Huber, *J. Chromatogr. A*, 667 (1994) 47.
 - [13] U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 217.
 - [14] C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 754 (1996) 77.
 - [15] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
 - [16] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 522 (1990) 95.

Tal i com s'ha demostrat en el treball anterior, la introducció d'un grup polar en l'estructura del PS-DVB ha permès obtenir unes millors recuperacions pels analits més hidrofílics que en el cas de la reïna polimèrica sense modificar. Per aquest motiu, el propòsit d'aquest segon treball ha estat el desenvolupament d'un altre sorbent polimèric químicament modificat que encara permeti millorar més la recuperació dels analits més polars.

Aquesta funcionalització ha consistit en la introducció d'un grup benzoil, i s'ha basat en una reacció de Friedel-Crafts tal i com en el primer treball i en els estudis realitzats per *Fritz et al.* [1-2] per a obtenir un polímer acetilat. En la bibliografia no s'ha trobat cap exemple de SPE emprant un sorbent químicament modificat amb aquest grup funcional. Per l'estructura d'aquest grup benzoil, que pot observar-se en la Figura 2, és d'esperar que la seva introducció en la reïna de PS-DVB provoqui l'aparició d'interaccions polars amb els analits, tal i com ja passava amb la introducció del grup acetil en el treball anterior, però també un augment del nombre d'interaccions del tipus π - π respecte de la reïna polimèrica de partida que ha estat l'Amberchrom GC-161m, la mateixa que en el treball previ.

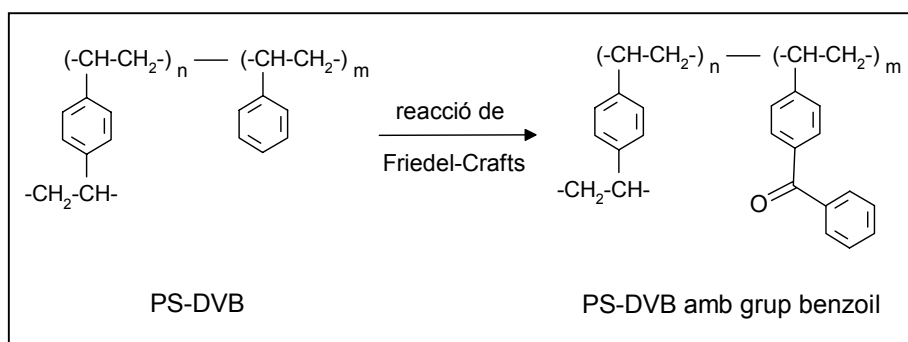


Fig. 2. Modificació química de la reïna de PS-DVB Amberchrom GC-161m amb un grup benzoil

S'ha provat de realitzar la modificació durant 3, 5, 7 i 24 hores per tal d'avaluar el temps de reacció. Un cop sintetitzat aquest nou polímer s'ha procedit a caracteritzar-lo per anàlisi elemental que ha demostrat que el temps de reacció no influeix en el grau de modificació que ha estat d'un 60%, aproximadament, en tots els casos. També ha estat caracteritzat per espectroscòpia infraroja indicant la presència del grup carbonil en aquest sorbent.

En aquest estudi el sorbent modificat també s'ha empaquetat en una precolumna (10 x 3 mm D.I.) i s'ha utilitzat per a la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb una columna analítica de C₁₈ i detecció ultraviolada. Per tal d'evitar l'eixamplament dels pics cromatogràfics degut a aquest acoblament també s'ha emprat el sistema presentat per *Pocurull et al.* [3,4], és a dir els analits s'han eluït en contracorrent emprant únicament el solvent orgànic de la fase mòbil, metanol en aquesta ocasió. Els analits escollits per avaluar aquest sorbent han estat un grup de 4 compostos fenòlics i una sèrie de 6 plaguicides de diversa polaritat entre els quals es troben triazines, carbamats, el MCPA i la bentazona, tots ells regulats per la US EPA.

Igual que en el treball anterior, aquest nou sorbent polimèric funcionalitzat ha estat comparat amb altres reïnes de PS-DVB comercials en la SPE d'aquests analits. Aquests polímers comercials han estat, en ordre creixent de grau d'entrecreuament, el PLRP-S (100 Å, 20 µm), l'Envi-Chrom P i el LiChrolut EN i que són recomanats per l'anàlisi dels compostos elegits per a realitzar aquest estudi.

El nou sorbent s'ha comparat amb els altres sorbents inclosos en aquest estudi en la determinació de la corba de ruptura del fenol. El fenol és el compost fenòlic més polar dels estudiats en aquest treball i presenta un volum de ruptura molt baix per a la majoria de sorbents comercials convencionals [3-6].

A continuació, s'ha determinat el volum de ruptura de tots els analits amb el nou sorbent sintetitzat mitjançant les recuperacions obtingudes en la SPE de diferents volums de dissolucions estàndard que contenen aquests compostos. Un cop trobat el volum màxim de mostra a preconcentrar sense que hi hagi pèrdues quantitatives de cap dels analits, s'ha procedit a fer un estudi comparatiu amb els altres sorbents polimèrics en l'extracció d'aquest volum de mostra. També s'ha fet un estudi addicional en què el sorbent funcionalitzat s'ha comparat amb el PLRP-S, el sorbent amb inferior grau d'entrecreuament de tots els estudiats i àmpliament emprat en l'anàlisi de contaminants orgànics en aigua, en l'extracció d'un gran volum de mostra.

El mètode d'anàlisi desenvolupat amb el nou sorbent funcionalitzat s'ha aplicat a l'anàlisi d'aigua del riu Ebre. Així, s'han determinat la linealitat i els límits de detecció d'aquests analits en aquesta matriu. Seguidament, amb la finalitat de comparar la selectivitat i les recuperacions proporcionades per tots els sorbents polimèrics esmentats en l'anàlisi de mostres reals, s'han analitzat mostres d'aigua del riu Ebre fortificades i extretes amb les diferents reïnes.

Finalment, s'han preconcentrat mostres procedents del riu Ebre i de l'aixeta amb el sorbent amb grup benzoi i en els cromatogrames corresponents a l'aigua de riu han aparegut diferents pics en el mateix temps de retenció que alguns dels compostos inclosos en aquest treball.

Els resultats obtinguts en aquests estudis poden trobar-se a continuació, ja que s'adjunta una còpia del treball publicat a la revista *The Analyst*, 122 (1997) 425-428.

Bibliografia

- 1 J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schimdt, J. Chromatogr. A, 691 (1995) 133.

- 2 J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
- 3 E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- 4 E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 738 (1996) 1.
- 5 D. Puig, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 63.
- 6 A. Chudziak, M. Trojanowicz, *Chem. Anal. (Warsaw)*, 40 (1995) 39.
- 7 N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Trends Anal. Chem.*, 17 (1998) 384.

SOLID-PHASE EXTRACTION OF PHENOLS AND PESTICIDES IN WATER WITH A MODIFIED POLYMERIC RESIN

ABSTRACT

A comparative study of a chemically modified polymeric resin which has a benzoyl group and several commercial sorbents such as PLRP-S, Envi-Chrom P and LiChrolut EN, for the solid-phase extraction of various phenolic compounds and pesticides was carried out. Selectivity and breakthrough volumes for these compounds with different sorbents were studied by coupling an on-line solid phase extraction system with a modified liquid chromatograph equipped with a UV detector. After determining the chromatographic conditions, linear range and detection limits, the method was applied to the determination of these compounds in drinking and surface water. For 25 ml of sample, the recovery was >70% for all compounds, except for 4-nitrophenol (62%), and detection limits were between 0.2 and 0.8 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Keywords: Modified polymeric resin; Solid-phase extraction; Phenols; Pesticides; Water.

INTRODUCTION

Phenolic compounds and pesticides are two very important groups of compounds which are of interest for the environment and their determination is receiving increasing attention because of their toxicity. Phenolic compounds are usually determined by reversed-phase liquid chromatography (RPLC) using different detection systems such as UV (diode-array detection) [1-4], electrochemical [5,6] or fluorescence [7,8]. On the other hand, pesticides are usually determined by GC or RPLC, with a variety of detection systems [9-13].

Unfortunately, the use of these detectors usually does not enable the detection limits required by legislation to be reached and hence it is necessary for the sample to be enriched prior to the chromatographic analysis. In recent years, solid-phase extraction (SPE) has become a very important technique for sample preparation in the environmental field, because of its advantages over liquid-liquid extraction [14,15]. Two methods, the on-line and the off-line SPE, have been applied to determine phenolic compounds and pesticides in environmental waters [12,16]. The advantages of on-line trace enrichment procedures are better sensitivity, lower consumption of organic solvents, higher automation potential and simplicity of the analysis compared with off-line procedures [17,18].

Several types of sorbents have been developed, such as C₁₈ and C₈ bonded to silica for apolar compounds, and carbon black and polymeric resins for more polar compounds [19]. While most of the 11 phenolic compounds controlled by the EPA and some pesticides have high breakthrough volumes for commonly used sorbents, phenol, some nitrophenols, oxamyl and methomyl have low breakthrough volumes [9,20], except for some highly crosslinked styrene-divinylbenzenes (Envi-Chrom P and LiChrolut EN) [21,22] or carbon material [23].

Different sorbents, mainly based on the use of highly cross-linked copolymers or chemically modified polymeric resins, have been developed [7,24,25]. However,

using sorbents in the precolumn which have very different characteristics from the stationary phase in the analytical column (such as a highly cross-linked sorbent and a C₁₈ column, respectively) may lead to significant peak broadening. This can be solved by eluting the compounds retained in the precolumn with only the organic solvent of the mobile phase [18,23].

In this paper, a chemically modified polymeric sorbent with a benzoyl group was synthesized and tested for the on-line SPE of some pesticides and phenolic compounds in order to obtain better breakthrough volumes for the determination of polar compounds in environmental waters. The results obtained with the synthesized sorbent, viz., breakthrough volumes, capacity and selectivity, were compared with those obtained for different commercial polymeric sorbents.

EXPERIMENTAL

Equipment

The chromatographic experiments were performed with two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps, with a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. The temperature of the column was controlled by a Shimadzu CTO-10A oven and the chromatographic data were collected and recorded using a Hewlett-Packard (Avondale, PA, USA) HP-3365 Series II Chemstation which was controlled by Windows 3.1 (Microsoft). The analytical column was a 250x4 mm id stainless-steel column packed with Spherisorb ODS 2, 5 µm (Teknokroma, Barcelona, Spain).

To check the response of the instrument, standard solutions were injected through a Rheodyne (Cotati, CA, USA) valve with a 20 µl loop, and an automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands) was used with

on-line SPE. The on-line trace enrichment process was carried out using steel precolumns of 10x3 mm I.D. laboratory-packed with the different sorbents studied. A Waters (Milford, MA, USA) M45 pump was used to deliver the sample.

Reagents and Standards

Various phenolic compounds and pesticides were studied. The phenolic compounds were: phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP), 2,4- dinitrophenol (2,4-DNP) and 2-chlorophenol (2-CP); they were obtained from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany). The pesticides studied included triazines (simazine and atrazine), carbamates (methomyl and oxamyl), (4-chloro-2-methyl-phenoxy) acetic acid (MCPA) and bentazone. Except for bentazone, which was obtained from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany), the remainder of the compounds were from Riedel-de Haën (Seelze, Germany).

Standard solutions of 2000 mg l⁻¹ of each compound were prepared in methanol. A mixture of all compounds used was prepared weekly by diluting the standard solutions with Milli-Q water (Millipore, Bedford, MA, USA), and more diluted working solutions were prepared daily by diluting with Milli-Q or river water. All solutions were stored at 4°C in a refrigerator.

HPLC-gradient-grade methanol (Scharlau, Barcelona, Spain) and Milli-Q water were used to prepare the mobile phase. Hydrochloric acid (Probus, Badalona, Spain) was used to adjust the pH of the mobile phase and the sample before SPE to 3 and 2.5, respectively.

Synthetic Procedure

The chemically modified resin was obtained from porous cross-linked polystyrene-divinylbenzene (PS-DVB beads. Amberchrom GC-161 (Tosohaas, Montgomeryville, PA, USA) is a spherical resin with an average particle size of 50-100 μm and an average pore size of 110-175 $\text{\AA}$. The benzoyl derivative was prepared as follows: a portion (2.5 g) of Amberchrom GC-161 was stirred in 15 ml of nitrobenzene at room temperature for 12 h. Aluminium chloride (4.3 g) was added slowly and under mechanical stirring and the reaction mixture was cooled to 0°C. Then 4.9 g of benzoyl chloride were added dropwise and the reaction mixture was stirred for 3 h. The reaction mixture was quenched by adding acetone with 1% hydrochloric acid, and excess liquid was decanted. The polymer was washed twice with methanol and dried under vacuum at 60°C. The recovery of the beads was essentially quantitative. The polymer was characterized by IR spectrometry and the extent of the modification (60%) was established from the elemental analyses.

Chromatographic Conditions

The eluents for the chromatographic separation were Milli-Q water adjusted to pH 3 with sulphuric acid (solvent A) and methanol (solvent B). The flow-rate was 1 ml min^{-1} and the temperature of the column oven was set at 65°C. The gradient profile was 20% B initially, 50% solvent B after 25 min, and 100% solvent B after 28 min (held for 2 min), after which the mobile phase returned to the initial conditions in 2 min.

The detection was carried out at different wavelengths (at 240 nm for oxamyl, methomyl, bentazone, simazine and atrazine; at 280 nm for Ph, 4-NP, 2,4-DNP and 2-CP; and at 230 nm for MCPA) with a programme of wavelengths: first at 240

nm, at 280 nm after 7 min, at 240 nm again at 13.5 min, then at 230 nm after 21.2 min and finally at 240 nm at 23 min.

On-line Trace Enrichment

On-line trace enrichment was carried out with several polymeric sorbents so as to compare them with the sorbent synthesized here. The sorbents chosen were PLRP-S of 100 Å and 20 µm (Polymer Laboratories, Amherst, MA, USA), Envi-Chrom P (Supelco, Bellefonte, PA, USA) and LiChrolut EN of 40-120 µm (Merck, Darmstadt, Germany).

Prior to the preconcentration step, the pH of the samples was adjusted to pH 2.5 with hydrochloric acid. A modification of the common elution design was used to desorb the analytes from the sorbents [18]. A Must column-switching device with two switching valves was used to clean the tubes, activate the precolumn and control the sample volume to be preconcentrated. Before use, all precolumns were conditioned by flushing with methanol for 1 min at 2 ml min⁻¹ and activated with 2 ml of Milli-Q water adjusted to pH 2.5 with hydrochloric acid. Then, different sample volumes were preconcentrated at 4 ml min⁻¹. In the next step, the analytes trapped on the pre-column were desorbed in the backflush mode only by the organic solvent (methanol) of the mobile phase so as to prevent broadening of peaks due to the different nature of the sorbent on the precolum and the analytical column. This enables sorbents with high retention for the compounds to be used.

Real samples were filtered through 0.45 µm nylon membranes (Supelco) before preconcentration.

RESULTS AND DISCUSSION

This study discusses a sorbent obtained by chemically modifying a PS-DVB resin, which can be used in the SPE of some phenolic compounds and pesticides.

The electrophilic substitution of the PS-DVB resin with benzoyl chloride was carried out by the Friedel-Crafts reaction. Nitrobenzene was used as solvent in the presence of aluminium chloride as catalyst at low temperatures. In order to prevent the beads from degrading, suitable stirring conditions were established. The polymer was characterized by IR spectrometry and the presence of the modified material was proved by the appearance of a band assignable to the carbonyl group (1670 cm^{-1}). Several reaction times (3, 5, 7 and 24 h) were tested in order to study the length of the reaction, and similar degrees of substitution (60%) were obtained. Hence, it was concluded that the reaction time does not affect the degree of modification.

After the sorbent had been synthesized and characterized, it was initially tested for the on-line SPE of Ph, which is a polar compound with a low breakthrough volume for most of the commercial sorbents [6,9,12].

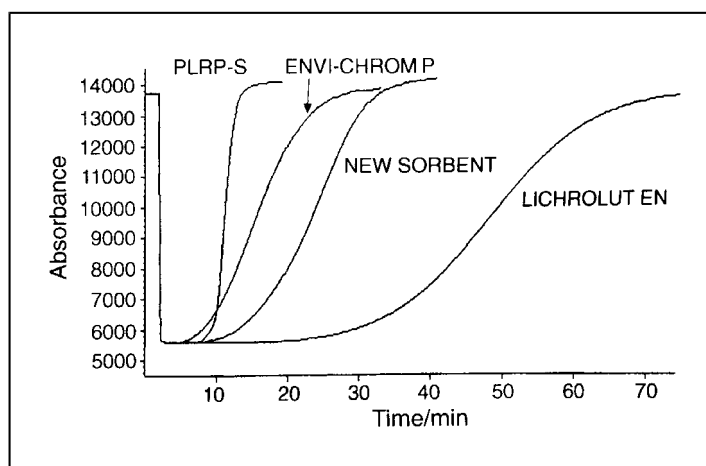


Fig. 1. Breakthrough curves for a standard solution of 10 mg l^{-1} of Ph, adjusted to pH 2.5, obtained for the different sorbents used.

The different breakthrough curves for Ph obtained for the synthesized sorbent and the commercial sorbents (PLRP-S, Envi-Chrom P and LiChrolut EN) are shown in Fig. 1. To obtain these curves, a standard solution of 10 mg l^{-1} of Ph dissolved in Milli-Q water at pH 2.5 (with hydrochloric acid) was directly introduced into the detector, by-passing the Rheodyne valve with the precolumn; when a stable response was obtained, the Rheodyne valve was moved so that the sample was passed through the precolumn at 1 ml min^{-1} . The signal was measured with a UV detector at 280 nm. If the breakthrough volume is considered as the volume at which the detector signal reaches 10% of the total signal, the breakthrough volumes obtained for PLRP-S, Envi-Chrom P, the synthesized sorbent and LiChrolut EN were 4, 7, 13 and 30 ml, respectively. Fig. 1 confirms that the synthesized sorbent is better than the PLRP-S and Envi-Chrom P but no better than LiChrolut EN for Ph recovery.

A gradient separation was optimized to separate the ten compounds studied. The chromatogram obtained under optimum conditions is shown in Fig. 2. A programme of wavelengths in the UV spectrophotometric detector enabled each compound to be detected at its maximum absorbance.

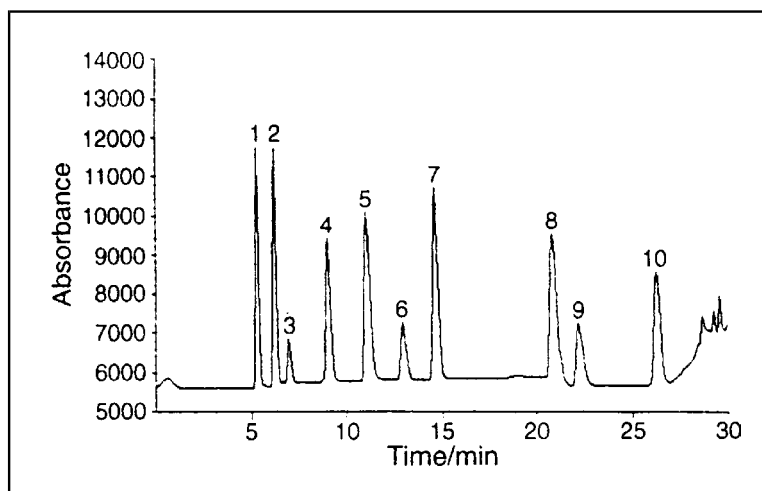


Fig. 2. Chromatogram corresponding to a standard solution of 10 mg l^{-1} of each compound studied under optimum conditions. 1, Oxamyl; 2, methomyl; 3, Ph; 4, 4-NP; 5, 2,4-DNP; 6, 2-CP; 7, bentazone; 8, simazine; 9, MCPA; and 10, atrazine.

Good linearity of response by direct injection of between $0.25\text{--}0.1$ and 40 mg l^{-1} was obtained for all compounds with good regression coefficients (r^2) ranging from 0.9993 for atrazine to 0.9999 for simazine. Detection limits [26] attained ranged from $10 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for oxamyl, methomyl, 2,4-DNP and simazine to $50 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for Ph, 2-CP and MCPA.

Table 1

Recoveries obtained with the synthesized sorbent using different volumes of $20 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ standard solution. Values are the means of three determinations and are expressed as a percentage. For conditions, see text.

Compound	Recovery (%) [*]			
	10 ml	25 ml	50 ml	100 ml
Oxamyl	84	80	77	77
Methomyl	82	76	73	70
Ph	91	70	58	40
4-NP	81	78	78	78
2,4-DNP	81	81	80	85
2-CP	80	72	75	79
Bentazone	85	85	82	88
Simazine	80	80	79	83
MCPA	80	73	73	78
Atrazine	86	76	75	79

^{*}% RSDs are lower than 9% in all instances

In order to calculate the recoveries for each compound, different sample volumes (10, 25, 50 and 100 ml) of the analyte mixtures studied were preconcentrated on the synthesized sorbent. In Table 1 the recoveries of these compounds are shown. Good recoveries were obtained for all compounds when 100 ml of a standard solution at the $20 \mu\text{g l}^{-1}$ level were analysed with the synthesized sorbent. Only Ph has a recovery value near 40%; the remainder of the compounds have values higher than 70% with RSDs lower than 3% for three replicate analyses. In this study, to obtain a good recovery of Ph, 25 ml of sample were selected for further studies.

Table 2

Recoveries obtained with PLRP-S, Envi-chrom P, the synthesized sorbent and LiChrolut EN using 25 ml of standard solution spiked at the $8 \mu\text{g l}^{-1}$ level. Values are the mean of three determinations and are expressed as a percentage. For all conditions, see text.

Compound	Recovery (%) [*]			
	PLRP-S	Envi-Chrom P	Synthesized sorbent	LiChrolut EN
Oxamyl	75	65	74	70
Methomyl	68	64	72	74
Ph	33	47	71	78
4-NP	73	71	62	81
2,4-DNP	77	73	72	77
2-CP	75	71	80	83
Bentazone	86	78	79	83
Simazine	73	77	76	84
MCPA	81	79	74	83
Atrazine	77	75	77	83

^{*}%RSDs are lower than 10% in all instances.

A comparative study of the different sorbents, preconcentrating 25 ml of a standard solution spiked at $8 \mu\text{g l}^{-1}$ adjusted to pH 2.5 with HCl, was carried out. Table 2 shows the recoveries found. The values obtained for Ph with the synthesized sorbent are better than those obtained using commercial sorbents such as PLRP-S or Envi-Chrom P, and similar to those obtained with LiChrolut EN. For the other compounds similar results were obtained for all sorbents when this volume of sample was analysed.

Table 3

Mean recoveries and RSDs ($n=3$) of the SPE with the synthesized sorbent and PLRP-S for 100 ml of standard solution spiked with $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of each compound in Milli-Q and Ebro river water. All values in %.

Compound	Synthetized sorbent (Milli-Q water)		PLRP-S (Milli-Q water)		PLRP-S (River water)	
	Recovery	RSD	Recovery	RSD	Recovery	RSD
Oxamyl	77	2	23	3	21	5
Methomyl	69	2	15	1	16	2
Ph	40	3	---	---	---	---
4-NP	78	2	32	4	40	8
2,4-DNP	85	2	79	4	81	3
2-CP	79	3	71	1	69	1
Bentazone	88	1	86	6	80	1
Simazine	83	3	65	4	57	8
MCPA	78	1	75	1	89	2
Atrazine	78	3	75	3	80	1

When 100 ml of sample spiked at the $2 \mu\text{g l}^{-1}$ level were preconcentrated on PLRP-S, the recoveries of oxamyl and methomyl were lower (23% and 15%, respectively)

and Ph was eluted; however, when the same volume was preconcentrated on the synthesized sorbent, the recoveries of oxamyl and methomyl were 77% and 70%, respectively, and Ph had a recovery of nearly 40%. Table 3 shows that the synthesized sorbent is suitable for determining these compounds. When Ebro river water was analysed, similar recoveries were obtained. The results obtained for oxamyl and methomyl are higher than those obtained for carbon sorbents which are recommended for polar compounds [23].

Linearity of the response for the total analytical system, including the preconcentration step, was checked for a sample volume of 25 ml of Ebro river water spiked at different concentrations. Good linearity was obtained from 0.8–4 to 50 $\mu\text{g l}^{-1}$. R^2 values were between 0.9996 and 0.9999 and the detection limits [26] were between 0.2 and 0.8 $\mu\text{g l}^{-1}$. The results obtained are shown in Table 4.

Table 4
Study of the linear range and detection limits of the method

Compound	Linear range ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Detection limit ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Oxamyl	0.8–50	0.2
Methomyl	1–50	0.4
Ph	4–50	0.8
4-NP	1–50	0.4
2,4-DNP	0.8–50	0.2
2-CP	4–50	0.8
Bentazone	0.8–50	0.2
Simazine	0.8–50	0.2
MCPA	1–50	0.4
Atrazine	0.8–50	0.2

In order to compare the selectivity of the synthesized sorbent with that of the other commercially available sorbents which are highly recommended for the determination of selected compounds, 25 ml of Ebro river water spiked with $8 \mu\text{g l}^{-1}$ of each compound were analysed with the different sorbents chosen. With LiChrolut EN, additional peaks appeared and the peak at 14 min was larger with this sorbent than with the synthesized sorbent.

Fig. 3 shows the chromatograms of 25 ml of sample and the same sample spiked with a standard solution of $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of each compound in tap and Ebro river water (3c and 3d, and 3a and 3b, respectively). In the river water chromatograms, four peaks with the same retention time as oxamyl, methomyl, Ph and bentazone appear; however, for the first three compounds, the signal was near the detection limits, whereas for bentazone, a concentration of $1.5 \mu\text{g l}^{-1}$ was found. This pesticide has already been found in samples of the same origin in our laboratory using MS as the detection technique in the chromatographic system.

CONCLUSIONS

It has been shown that the synthesized sorbent has higher recoveries for the determination of some phenolic compounds and pesticides in surface and tap water than other commercially available sorbents such as PLRP-S or Envi-Chrom P. Compared with these commercial sorbents, the synthesized sorbent gives better results for oxamyl, methomyl and Ph, and similar results for the less polar compounds. The matrix effect was similar to that obtained when Envi-Chrom P or LiChrolut EN was used.

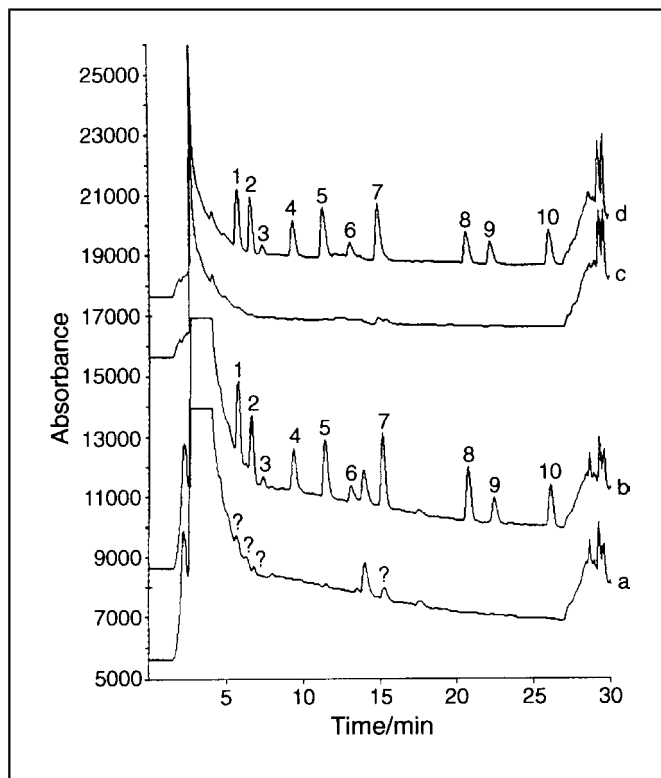


Fig. 3. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment with the synthesized sorbent of a 25 ml sample. (a) Ebro river water, (b) Ebro river water spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of each compound, (c) tap water and (d) tap water spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of each compound. For peak designation, see Fig. 2.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Direcció General de Recerca de la Generalitat de Catalunya for supporting this study.

REFERENCES

-
- [1] C. Elvira-Cozal, P. Cano-Faura, L.V. Pérez-Arribas, M.E. León-González, L.M. Polo-Diez, *Chromatographia*, 40 (1995) 91.
- [2] J. Ruana, I. Urbe, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 655 (1993) 217.
- [3] D. Puig, D. Barceló, *Chromatographia*, 40 (1995) 435.
- [4] J. Frébortová, V. Tatarkovicová, *Analyst*, 119 (1994) 1519.
- [5] M.T. Galceran, O. Jáuregui, *Anal. Chim. Acta*, 304 (1995) 75.
- [6] E. Pocurull, G. Sánchez, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 31.
- [7] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
- [8] G. Lamprecht, J.F.K. Huber, *J. Chromatogr. A*, 667 (1994) 47.
- [9] R.M. Marcé, H. Prosen, C. Crespo, M. Calull, F. Borrull, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 63.
- [10] H. Bagheri, J. Slobodnik, R.M. Marcé, R.T. Ghijssen, U.A.Th. Brinkman, *Chromatographia*, 37 (1993) 159.
- [11] C. Molina, M. Honning, D. Barceló, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 4444.
- [12] C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 754 (1996) 77.
- [13] I. Liska, E.R. Brouwer, A.G.L. Ostheimer, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 47 (1992) 267.
- [14] M.C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 10 (1991) 317.
- [15] G. Font, J. Mañes, J.C. Moltó, Y. Picó, *J. Chromatogr.*, 642 (1993) 135.
- [16] U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 217.
- [17] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [18] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 738 (1996) 1.
- [19] I. Liska, A. Kuthan, J. Krupik, *J. Chromatogr.*, 509 (1990) 123.
- [20] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 38 (1994) 579.
- [21] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 719 (1996) 105.
- [22] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.

- [23] J. Slobodnik, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr.*, 750 (1996) 227.
- [24] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
- [25] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.
- [26] R. Boqué, F.X. Rius, *J. Chem. Educ.*, 70 (1993) 230.

Com a conseqüència dels resultats obtinguts en els estudis previs, en què s'ha observat un augment de la retenció dels analits polars quan s'introdueix un grup hidrofílic a la reïna, en aquest treball s'ha introduït a l'Amberchrom GC-161m un nou grup funcional més polar que els introduïts prèviament. L'objectiu d'introduir aquest nou grup funcional més hidrofílic ha estat obtenir un sorbent que permeti extreure els analits més polars de mostres d'aigua amb millors recuperacions a les obtingudes fins ara amb un sorbent químicament modificat.

Per aconseguir augmentar la polaritat del grup benzoil, introduït en el treball anterior, el grup amb què es funcionalitza la reïna en aquest treball és el grup *o*-carboxibenzoil que conté un grup carboxílic addicional. L'estructura d'aquest nou polímer químicament modificat es mostra en la Figura 3. L'existència d'aquest grup carboxílic fa possible més interaccions polars amb els analits que en el cas del polímer modificat del treball anterior. També presenta l'avantatge de més interaccions del tipus π - π respecte al sorbent acetilat del primer treball, avantatge que comparteix amb el sorbent funcionalitzat amb el grup benzoil. Conseqüentment, és objectiu d'aquest treball comprovar el possible augment d'efectivitat d'aquest nou sorbent en l'extracció de compostos orgànics polars.

Els compostos model escollits per a avaluar-lo han estat els mateixos que s'han utilitzat en el treball anterior. Aquest grup d'analits està format per 4 compostos fenòlics i 6 plaguicides de polaritat variada i freqüentment trobats en mostres reals.

Aquest sorbent ha estat modificat químicament gràcies a una substitució electrofílica amb anhidrid ftàlic, és a dir, mitjançant també una reacció de Friedel-Crafts. Aquesta modificació química i posterior aplicació del sorbent resultant a l'extracció de contaminants en aigües no ha estat prèviament descrita en la bibliografia. La caracterització del polímer s'ha dut a terme per mitjà de l'espectroscòpia infraroja i anàlisi mediambiental.

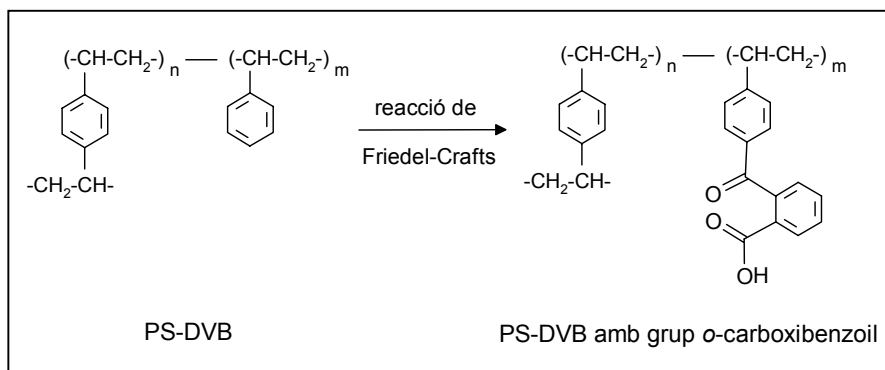


Fig. 3. Modificació química de la reïna de PS-DVB Amberchrom GC-161m amb un grup *o*-carboxibenzoil

S'han investigat dues temperatures de reacció, temperatura ambient i 40°C, però l'anàlisi elemental ha mostrat que aquesta no influeix en el grau de funcionalització ja que en ambdós casos ha estat del 11%.

En aquest treball, igual que en els dos treballs anteriors, el sorbent és emprat en la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids i detecció ultraviolada i els analits són desorbts mitjançant l'elució en contracorrent emprant metanol, el component orgànic de la fase mòbil [1].

Un cop sintetitzat i caracteritzat el sorbent s'ha procedit a determinar la corba de ruptura pel fenol amb aquest sorbent. Aquesta s'ha establert igual que en els treballs anteriors, seguint el procés descrit per *Hennion et al.* [2]. D'aquesta manera es pot comparar aquest nou sorbent amb els comercials i els químicament modificats emprats prèviament. Un cop feta aquesta determinació s'ha passat a l'avaluació del nou sorbent amb el grup *o*-carboxibenzoil com a sorbent en la SPE dels analits escollits.

Inicialment s'han preconcentrat diferents volums de solucions estàndard i s'han calculat les corresponents recuperacions per cada analit. Com que els analits

emprats en aquest treball són els mateixos que els del treball anterior, aquestes recuperacions també s'han pogut comparar amb les obtingudes amb els sorbents polimèrics comercials usats en el apartat previ.

Seguidament, el polímer ha estat avaluat en l'extracció dels ja esmentats analits en mostres d'aigua de l'aixeta i del riu Ebre. Un cop elegit el volum màxim de mostra a preconcentrar, s'ha procedit a extraure mostres d'aigua de l'aixeta fortificades. Malauradament, alguns dels pics dels analits no han aparegut en els cromatogrames degut a la possible reacció dels analits amb el clor residual d'aquesta matriu, per exemple els fenols es transformen en clorofenols [3]. Aleshores, s'ha addicionat un determinat volum d'una solució de Na_2SO_3 per tal d'evitar aquesta reacció. Com a conseqüència d'aquesta addició la banda inicial corresponent a les substàncies húmiques presents en aquesta matriu, que habitualment dificulta la determinació dels analits més polars emprant la detecció ultraviolada, ha disminuït considerablement afavorint la determinació de l'oxamil, el metomil i el fenol que són els analits que presenten temps de retenció més baixos. Davant aquests resultats satisfactoris també s'ha addicionat sulfit sòdic a les mostres d'aigua del riu Ebre i s'ha obtingut el mateix efecte. Aleshores, el següent pas en aquest treball ha estat l'optimització del volum de dissolució de sulfit per tal de reduir al màxim la banda inicial dels àcids húmics i fúlvics en les dues matrius i la determinació de les recuperacions per tots els analits en l'extracció amb el nou sorbent funcionalitzat. Tampoc s'ha trobat en la bibliografia cap estudi que demostrï aquest efecte del sulfit sòdic sobre les substàncies húmiques. El pròxim apartat d'aquest capítol profunditza sobre aquest important efecte.

Finalment, un cop optimitzada l'addició de sulfit sòdic per a l'anàlisi d'aquestes mostres reals, s'ha establert el mètode per a determinar aquests analits en aigua del riu Ebre. S'ha observat la possible presència d'alguns analits en aquesta mostra i s'ha confirmat que conté simazina per espectrometria de masses mitjançant el mètode desenvolupat per *Aguilar et al.* [4].

Els diferents resultats d'aquest treball han estat publicats a la revista Journal of Chromatography A, 803 (1998) 147-155 i se n'adjunta la corresponent còpia a continuació.

Bibliografia

- 1 E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 41 (1995) 521.
- 2 M-C. Hennion, P. Scribe in D. Barceló (ed.), *Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality Assurance*. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Vol. 13, Elsevier, Amsterdam, 1993.
- 3 J. Ruana, I. Urbe, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 655 (1993) 217.
- 4 C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, J. Chromatogr. A, 771 (1997) 221.

NEW CHEMICALLY MODIFIED POLYMERIC RESIN FOR SOLID-PHASE EXTRACTION OF PESTICIDES AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM WATER

ABSTRACT

A new chemically modified polymeric resin, with an *o*-carboxybenzoyl moiety, is developed to be used in the on-line solid-phase extraction (SPE) of some pesticides and phenolic compounds from aqueous samples, in order to obtain better breakthrough volumes than other commercial sorbents. The chemical introduction of this moiety improves the efficiency of SPE by providing better surface contact with aqueous samples. This synthesized sorbent enables higher volumes of sample to be concentrated for determining polar compounds. When analyzing real samples, tap and river waters, different quantities of sulphite were added to decrease the initial band due to fulvic and humic acids. The matrix peaks decreased and there were no losses in the studied compounds observed when 500 μl and 1000 μl of 10% Na_2SO_3 solution for every 100 ml of sample were added to tap and river water, respectively.

Keywords: Solid-phase extraction; Chemically modified polymeric resin; Water analysis; Pesticides; Phenols.

INTRODUCTION

Pesticides and phenolic compounds are organic pollutants of great environmental interest. Their determination has been increasing in recent years because of their toxicity, even at low concentrations. A preconcentration step is usually necessary to detect these low levels. Solid-phase extraction (SPE) is the most important technique for sample enrichment, because it overcomes many of the disadvantages of liquid-liquid extraction (LLE) [1,2].

The SPE of these analytes is most commonly used with chemically bonded silica, usually with a C₁₈ or C₈ organic group [3-6], or with some styrene-divinylbenzene copolymers such as PLRP-S [5-12] and Envi-Chrom P [11-14]. Recoveries for the polar compounds are higher when styrene-divinylbenzene copolymers are used [6,11,12], because in chemically bonded silica, while silica itself is hydrophilic, the hydrocarbon chains make the surface hydrophobic and so there is little poor surface contact with aqueous solutions; on the other hand, although the styrene-divinylbenzene copolymers also have a hydrophobic surface they contain a relatively large number of active aromatic sites which allow $\pi-\pi$ interactions with these aromatic analytes. Other authors have used graphitized carbon blacks (GCBs) to preconcentrate these organic pollutants [15-18] and have shown that GCB is more efficient than a C₁₈ for extracting very polar pesticides from aqueous samples [15]. However, different results are shown in literature when GCB is compared with polymeric sorbents [16-18] depending on the kind of GCB used. It should also be pointed out that higher recoveries are obtained with GCB when the adsorbates are recovered by back-flushing elution because of the higher retention capacity of the carbon [17,18].

When solid-phase extraction is on-line coupled to liquid chromatography, peak broadening appears if the sorbent in the precolumn retains the analytes stronger than the sorbent in the analytical columns and this fact limits the use of sorbents in the precolumn with high capacity. Since the solvent of the mobile phase is not strong enough to elute the compounds trapped in the precolumn, peak broadening

appears, although this may be solved by eluting the compounds retained in the precolumn using only the organic solvent of the mobile phase [11,19].

In recent years, new highly cross-linked packing materials have been developed as highly crosslinked porous ethylvinylbenzene-divinylbenzene copolymers such as LiChrolut EN and hypercrosslinked polystyrene-type sorbents such as Styrosorb and Macronet Hypersol.

LiChrolut EN has been used to determine several pollutants in water [14,20,21]. For instance, Puig and Barceló [20] explain that the breakthrough volumes of phenolic compounds increase when this sorbent is used instead of PLRP-S, because of its open structure which increases the specific surface area available and allows more $\pi-\pi$ interactions. This sorbent is also used by Junker-Buchheit and Witzenbacher [21] to preconcentrate pesticides in the low ppb range and they can be efficiently concentrated from large water samples.

Styrosorb and Macronet Hypersol are used by Tsyurupa et al. [22] in the SPE of phenols from water, and they are shown to be superior to other polymeric sorbents. They have large transport macropores in addition to a highly developed microporous structure and display adsorption and desorption performance allowing rapid treatment of large volumes.

Recently, chemically modified resins have also been used [23-28]. Different functional groups (such as acetyl and hydroxymethyl) have been chemically introduced into polymeric resins [23,24,26]. These modified resins have excellent hydrophilicity, and they also give higher recoveries than their unmodified analogues. This has been attributed to an increase in surface polarity which enables the aqueous sample to make better contact with the resin surface. Lightly sulphonated resins have also been used [24,25]. If a polymeric resin is sulphonated, it changes into a cation exchanger and, a hydrogen bonding between the amine groups of

some analytes and the sulphonic acid group on the resin is also possible. Some authors [28] have studied SPE for organic pollutants in water with a binary cartridge, made up of a chemically modified resin and anion exchange phase as an alternative to the LLE.

In previous papers [26,27] polystyrene-divinylbenzene resin was chemically modified by two chemical groups, acetyl and benzoyl, and retained more polar compounds than the unmodified resin. This paper tests another chemical modification to increase the polarity of the sorbent. A new chemically modified polystyrene-divinylbenzene resin with an *o*-carboxybenzoyl moiety was synthesized and tested in the SPE of some pesticides and phenolic compounds in environmental waters. The aim of this paper is to compare the new sorbent synthesized with other commercial sorbents for the SPE of these pollutants.

EXPERIMENTAL

Equipment

The chromatographic experiments were performed with two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps with a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. The temperature of the column was controlled by a Shimadzu CTO-10A oven and the chromatographic data were collected and recorded using an HP-3365 Series II Chemstation which was controlled by Windows 3.1 (Microsoft). The

analytical column was a 250x4.6 mm I.D. stainless-steel column packed with Spherisorb ODS 2, 5 μm (Teknokroma, Barcelona, Spain).

To check the response of the instrument, standard solutions were injected through a Rheodyne (Cotati, CA, USA) valve with a 20- μl loop, and an automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, Netherlands) was used for the on-line solid-phase extraction. The on-line trace enrichment process was carried out using steel 10x3 mm I.D precolumns, purchased from the Free University (Amsterdam, The Netherlands) which were laboratory-packed with the new sorbent synthesized. A Waters (Milford, MA, USA) M45 pump was used to deliver the sample.

Reagents and Standards

The compounds studied were phenolic compounds, such as phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP), 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP) and 2-chlorophenol (2-CP), and pesticides such as simazine and atrazine (triazines), methomyl and oxamyl (carbamates), MCPA (chlorophenoxy acid) and bentazone (diazine). The phenolic compounds were obtained from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany), and the pesticides, except bentazone which was obtained from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany), were from Riedel-de Haën (Seelze, Germany).

Standard solutions of 2000 mg l^{-1} of each compound were prepared in methanol. An additional step for triazine solution was included prior to the preparation of diluted standards, that consisted in using an ultrasonic bath. A mixture of 100 mg l^{-1} of all the compounds used was prepared weekly by diluting the standard solutions with Milli-Q water (Millipore, Bedford, MA, USA), and more diluted working solutions were prepared daily by diluting this mixture with Milli-Q, tap or river water. All solutions were stored at 4 $^{\circ}\text{C}$ in the refrigerator.

HPLC-gradient-grade methanol (Scharlau, Barcelona, Spain) and Milli-Q quality water were used to prepare the mobile phase. Sulphuric acid (Probus, Badalona, Spain) was used to adjust the pH of the mobile phase to 3. Hydrochloric acid (Probus, Badalona, Spain) and sodium sulphite (Panreac, Barcelona, Spain) were used in the sample preparation.

The reagents used in the synthesis procedure were: nitrobenzene from Probus (Badalona, Spain), and aluminium chloride and phthalic anhydride, both obtained from Fluka (Buchs, Switzerland).

Synthetic Procedure

The chemically modified resin was obtained from porous crosslinked PS-DVB beads. Amberchrom GC-161m (Tosohaas, Montgomeryville, PA, USA) is a spherical resin with an average particle size of 50-100 μm and an average pore size of 110-175 Å.

The *o*-carboxybenzoyl derivative was prepared as follows: 2.5 g of divinylbenzene-crosslinked-polystyrene was stirred in 70 ml of nitrobenzene at room temperature for 8 h. Then, 4.5 g of aluminium chloride was added slowly under mechanical stirring. Subsequently, 5.2 g of phthalic acid anhydride was added. The reaction mixture was stirred for 15 h at room temperature. The reaction was quenched by adding acetone with 1% hydrochloric acid. The filtered polymer was washed twice with methanol and dried under vacuum at 60°C. The polymer was characterized by IR spectroscopy. The extent of the modification (11%) was established from elemental analysis (C 88% and H 8%.)

Chromatographic Conditions

The gradient elution was carried out with Milli-Q water adjusted to pH 3 with sulphuric acid (solvent A) and methanol as organic modifier (solvent B). The flow-rate was 1 ml min^{-1} and the temperature of the column oven was set at 65°C . The solvent program was as follows: initially 20% B, 50%B after 25 min, 100% at 32 min, isocratic for 2 min, and the mobile phase returned to initial conditions in 2 min for a subsequent analysis run.

The detection was performed at 280 nm for phenolic compounds and at 240 nm for pesticides, except for MCPA which was quantified at 230 nm. The wavelength program used, which allows each compound to be detected at its maximum absorbance, was: first at 240 nm, then at 280 nm after 8 min, at 240 nm after 15.7 min, then 230 nm after 24 min and finally 240 nm after 26.5 min.

Sample Pretreatment

Water samples from tap and Ebro river were filtered through $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ nylon membranes (Supelco INC, Bellefonte, PA, USA) before the preconcentration step to eliminate particulate matter. Water samples were acidified with hydrochloric acid at pH 2.5 in order to prevent the analytes from occurring in ionic form.

Five hundred or $1000 \text{ }\mu\text{l}$ of 10% sodium sulphite solution was added for every 100 ml of sample prior to the extraction process in order to reduce the influence of the matrix in river and tap water.

On-line Trace Enrichment

A 10 x 3 mm I.D. stainless steel precolumn, laboratory-packed with the synthesized sorbent, was used to perform the solid-phase extraction process.

During the SPE process the Must automatic column-switching device was used which enabled the program in Table 1 to preconcentrate the sample. The M45 Waters pump was used to deliver the sample and the conditioning solutions.

After the sample had been preconcentrated, analytes were desorbed in the backflush mode only by the organic solvent (methanol) of the mobile phase so as to prevent the peaks from broadening because of the different nature of the sorbent on the precolumn and the analytical column. The set-up used is shown in Fig. 1.

Table 1

Sample preconcentration program in the on-line SPE process

Step	Time (min)	Flow rate (ml min ⁻¹)	Event
1	0	2	Washing tubes with methanol
2	5	2	Conditioning precolumn with methanol
3	6	2	Washing tubes with Milli-Q water at pH 2.5
4	11	2	Activating precolumn with Milli-Q water at pH 2.5
5	12	2	Washing tubes with sample
6	17	4	Sample preconcentration

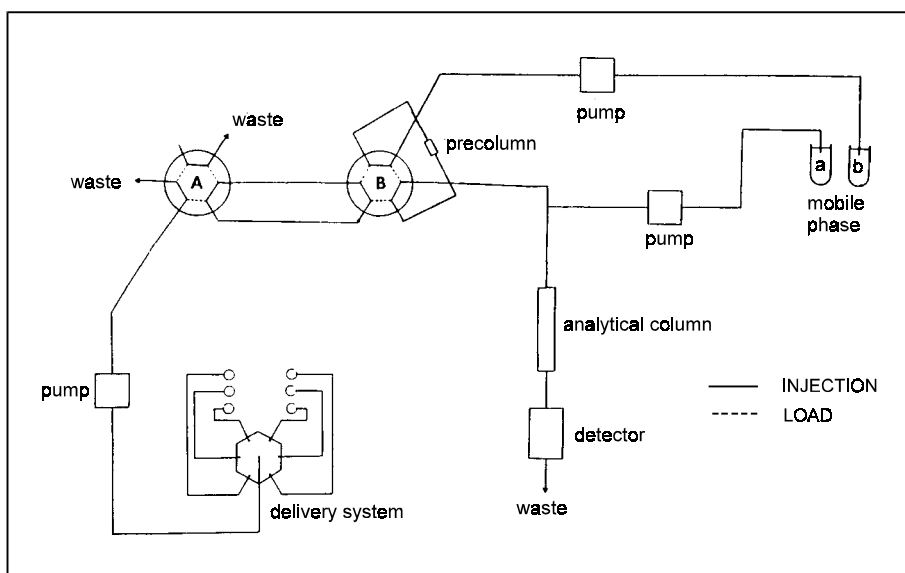


Fig. 1. Set-up used

RESULTS AND DISCUSSION

Derivatizing polymeric resins with a hydrophilic functional group increases their capacity for retaining polar compounds. These sorbents have been used by several authors [23-28] to preconcentrate polar compounds, such as phenols, pesticides and aromatic compounds, and the recoveries have been higher than when the same underivatized resins were used.

In this study a new chemical modification of the polystyrene-divinylbenzene resin (PS-DVB) is presented to be used as sorbent in the solid-phase extraction of the analytes mentioned above. The PS-DVB beads were chemically modified by aromatic electrophilic substitution with phthalic acid anhydride, using nitrobenzene as the solvent and aluminium chloride as the catalyst. In order to prevent the beads from degrading, suitable stirring conditions were established. The polymer was characterized by IR spectroscopy. The salient features of the infrared spectrum of the resin show a broad H-bonded νOH at ca. 3500 cm^{-1} , $\nu\text{C=O}$ of the ketonic carbonyl at 1670 cm^{-1} and COOH absorption at ca. 1700 cm^{-1} .

Two reaction temperatures (room temperature and 40°C) were tested in order to study the extent of the reaction, and similar degrees of substitution (11% from elemental analysis) were obtained, so the conclusion was that the reaction temperature does not influence the modification degree. The low degree of substitution may be due to the restricted accessibility of reactive sites. The reaction was carried out five times with similar results.

After the sorbent had been synthesised and characterised, the breakthrough curve for phenol, which is a polar compound with a low breakthrough volume for most commercial sorbents [6,26,27], was recorded in order to establish the suitability of this sorbent for on-line SPE. This curve was obtained by introducing a standard solution of 10 mg l^{-1} of phenol in Milli-Q water at pH 2.5 (with HCl) directly into the

UV detector at 280 nm bypassing the Rheodyne with the precolumn; when a stable response was obtained, the Rheodyne valve was moved so that the sample was passed through the precolumn at 1 ml min^{-1} . If the breakthrough volume is the volume at which the detector reaches 10% of its 100% value, the breakthrough volume of phenol obtained with this sorbent was 14 ml. In previous works [26,27], breakthrough volumes for phenol, obtained under the same conditions, with commercial sorbents have been determined. These breakthrough volumes were 5 ml for PLRP-S, 7 ml for Envi-Chrom P and 8 ml for Amberchrom CG-161 m. Therefore, the capacity of this sorbent for phenol is higher than other sorbents used.

To determine the linearity of the response of the chromatographic method by direct injection, 20 μl of standard solutions of the analytes studied was injected. Good linearity was found between 0.25 or 0.1 and 40 mg l^{-1} for all compounds, with good regression coefficients (r^2) between 0.9995 for atrazine and MCPA to 0.9998 for oxamyl. Detection limits were calculated by the statistical criteria [29] with k value equal to 6 and the values found were between 2.5 and $25 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for oxamyl and MCPA, respectively, except for 2-CP and phenol which were 40 and $100 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$, respectively.

Different sample volumes (10, 25, 50, 100 ml) of Milli-Q water at pH 2.5 spiked with the analytes studied in a concentration between $20 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for 10 ml and $2 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for 100 ml were on-line preconcentrated in the new sorbent.

Table 2

Recovery values (%) and relative standard deviation ($n=5$) obtained with the new sorbent using different volumes of Milli-Q water sample

Compound	Volume (ml)
----------	-------------

	10		25		50		100	
	R%	RSD %	R%	RSD %	R%	RSD %	R%	RSD %
Oxamyl	79	1	79	3	81	3	74	1
Methomyl	73	2	79	3	77	2	71	1
Ph	70	2	72	2	72	5	41	3
4-NP	79	1	80	2	83	1	81	1
2,4-DNP	74	1	79	1	83	1	81	1
2-CP	79	1	83	2	86	1	85	1
Bentazone	79	2	80	1	85	3	83	1
Simazine	86	3	83	2	79	3	84	2
MCPA	72	2	75	3	78	1	79	1
Atrazine	76	2	81	1	87	2	86	1

For all conditions see text.

Table 2 shows the recoveries of these compounds which, in some cases, were higher than those of other chemically modified polymeric resins. Good recoveries were obtained when 100 ml of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ was preconcentrated, and for all compounds the recovery values were higher than 70%, except for phenol for which it was nearly 40%. When 50 ml of $4 \mu\text{g l}^{-1}$ was preconcentrated all the recoveries were higher than 72% (phenol included). For this reason, 50 ml of sample was selected for further analysis. These recoveries were higher than the obtained in previous works with PLRP-S and Envi-Chrom P, and mainly, for the most polar compounds, such as oxamyl, methomyl and phenol [26,27]. In the preconcentration of 25 ml of sample, the recoveries for these three analytes were 75, 68 and 33%, respectively, with PLRP-S, and 65, 64, and 47% with Envi-Chrom P, whereas with the new chemically modified resin, they were higher than 72% for the three compounds. From the results obtained, the new sorbent seems to be more suitable for the

determination of polar compounds in water than other commercially available sorbents.

The performance of the method was tested on tap and Ebro river water. As a first step, 50 ml of tap water at pH 2.5 spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ was preconcentrated, but some peaks, such as phenol, 2-CP and bentazone did not appear (Fig. 2d). So, 300 μl of 10% Na_2SO_3 solution was added for every 100 ml of tap water to eliminate free chlorine, and then all the peaks of the analytes appeared; moreover, the initial peak corresponding to fulvic and humic acids decreased (Fig. 2c). For this reason, 500 μl of 10% Na_2SO_3 solution was added to the sample, and the initial peak became even smaller than in the previous analysis (Fig. 2b). The recovery values attained by adding 500 μl of sulphite solution to this matrix were as good as those with Milli-Q water. Fig. 2a shows the chromatogram obtained from analysing 50 ml of tap water with an addition of 500 μl of sulphite solution for every 100 ml of sample but without standard addition. None of the polar analytes were found in these samples, however a peak with the same retention time as atrazine appears in the chromatogram but in further studies it was not positively identified by GC-MS.

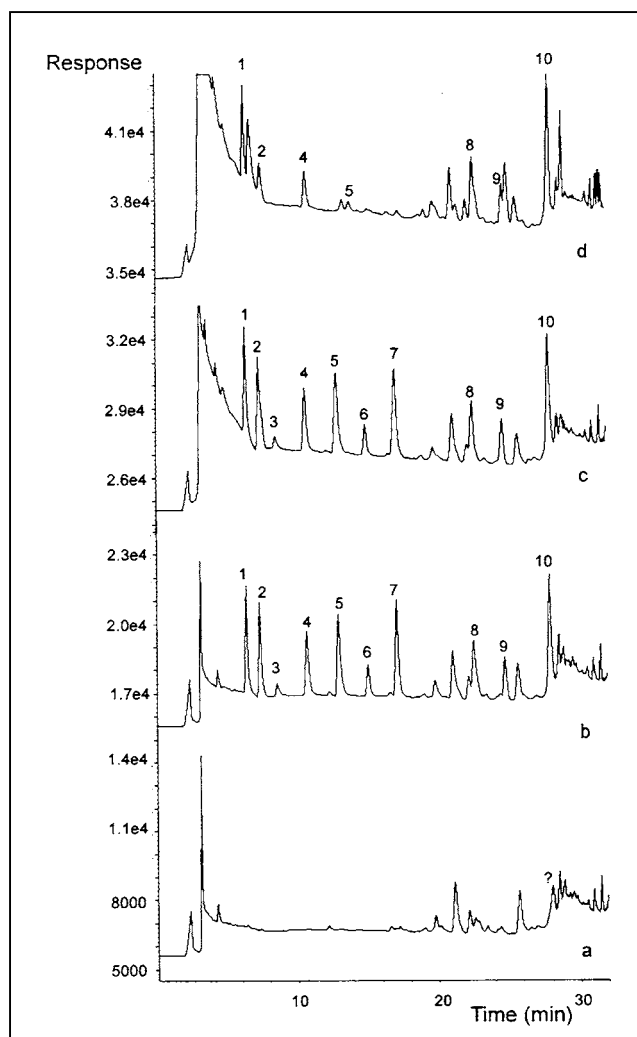


Fig. 2. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment of 50 ml of tap water with and without the addition of different volumes of 10% Na_2SO_3 solution for every 100 ml of sample: (a) blank with the addition of 500 μl of sulphite; (b) spiked with 4 $\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes and 500 μl of sulphite; (c) spiked with 4 $\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes and 300 μl of sulphite; and (d) spiked with 4 $\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes without sulphite. Peak designation: (1) oxamyl, (2) methomyl, (3) phenol, (4) 4-NP, (5) 2,4-DNP, (6) 2-CP, (7) bentazone, (8) simazine, (9) MCPA, (10) atrazine.

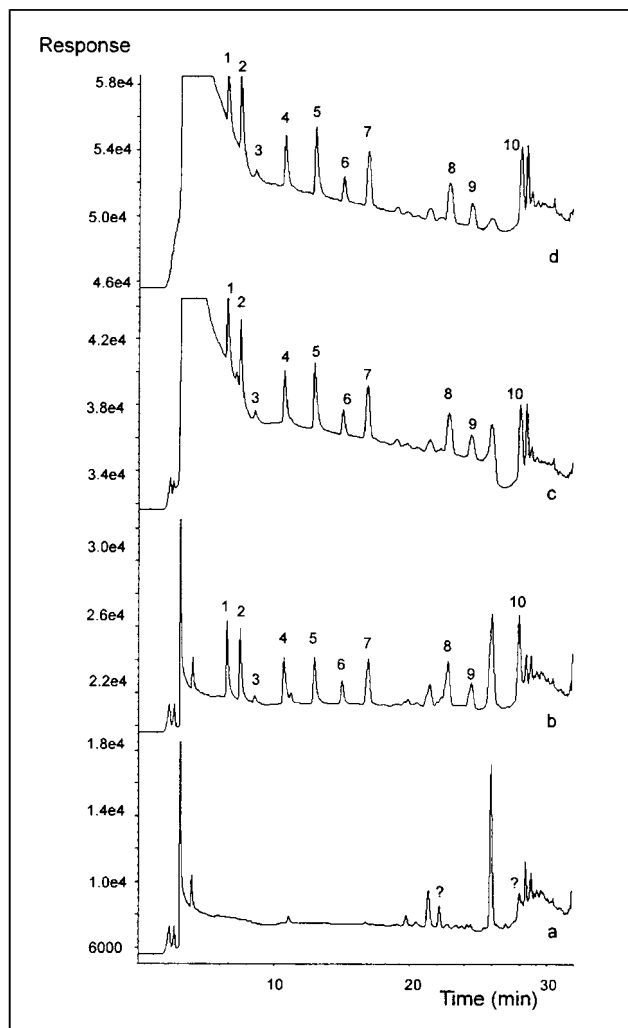


Fig. 3. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment of 50 ml of Ebro river water with and without the addition of different volumes of 10% Na₂SO₃ solution for every 100 ml of sample: (a) blank with the addition of 1000 µl of sulphite; (b) spiked with 4 µg l⁻¹ of the analytes and 1000 µl of sulphite; (c) spiked with 4 µg l⁻¹ of the analytes and 500 µl of sulphite; and (d) spiked with 4 µg l⁻¹ of the analytes without sulphite. For peak designation see Fig.2.

The same study was carried out with Ebro river water. Different volumes of 10% Na_2SO_3 solution were added to 50 ml of Ebro river water at pH 2.5 and spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of the pesticide and phenolic compound mixture in order to reduce the influence of the matrix. The volumes tested were 500 μl and 1000 μl for every 100 ml of sample, and when 500 μl was added the initial peak of humic and fulvic acids was similar to the peak without sulphite, but when 1000 μl was added the effect of the matrix decreased, and the initial peak was narrower than in the other two analyses. Results are depicted in Fig. 3, where Fig. 3a shows the chromatogram obtained for the analysis of 50 ml of Ebro river water to which 1000 μl of sulphite solution (in 100 ml of sample) has been added, and Fig. 3b-d show the chromatograms obtained for the analysis of this sample with a standard addition of $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of each compound without (Fig. 3d) and with 500 μl (Fig. 3c) and 1000 μl of sulphite solution (in 100 ml of sample).

Table 3

Recoveries (R%) and relative standard deviation ($n=5$) obtained with 50 ml of Ebro river water at pH 2.5 spiked with $4 \mu\text{g l}^{-1}$ of analytes and an addition of 1000 μl of 10% Na_2SO_3 for every 100 ml of sample

Compound	R%	R.S.D.%
Oxamyl	76	2
Methomyl	71	5
Ph	41	6
4-NP	74	3
2,4-DNP	55	6
2-CP	84	5
Bentazone	72	6
Simazine	84	5
MCPA	74	1
Atrazine	83	3

The recoveries obtained by preconcentrating 50 ml of river water with the addition of 1000 μl of sulphite for every 100 ml of sample are shown in Table 3. These are

slightly lower than the ones obtained with Milli-Q water, except for Ph and 2,4-DNP, whose recoveries were about 41 and 55%, respectively.

The linearity of the response for the total analytical system, including the preconcentration step, with Ebro river water was checked for a sample volume of 50 ml spiked with different concentrations of each compound and with the addition of 1000 μl of sulphite for every 100 ml of sample. The results obtained for the linear range and the detection limits [29] (with $k=6$) are included in Table 4.

Table 4

Linear ranges, r^2 and detection limits with on-line trace enrichment of 50 ml of Ebro river water at pH 2.5 and with 1000 μl of Na_2SO_3 added (for every 100 ml of sample)

Compound	Linear range ($\mu\text{g l}^{-1}$)	r^2	Detection limit ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Oxamyl	1-50	0.9999	0.3
Methomyl	1.2-50	0.9999	0.4
Ph	2-50	0.9991	0.6
4-NP	1.2-50	0.9998	0.4
2,4-DNP	1.2-50	0.9999	0.4
2-CP	1.5-50	0.9999	0.5
Bentazone	1-50	0.9997	0.3
Simazine	1.8-50	0.9995	0.6
MCPA	3-50	0.9998	0.9
Atrazine	4-50	0.9999	1.4

In Fig. 3a, two peaks with the same retention time as simazine and atrazine appear in the chromatogram, whereas peaks corresponding to the rest of the analytes cannot be observed. To confirm the presence of these compounds, 500 ml of the sample was off-line concentrated with a Lichrolut EN cartridge using a procedure described by Aguilar et al. [30], and simazine was identified by full scan (90%) and

quantified by SIM. The concentration of this compound in the sample is $1.2 \mu\text{g l}^{-1}$ by GC-MS and $1.5 \mu\text{g l}^{-1}$ by the HPLC method discussed in this paper.

CONCLUSIONS

This study demonstrates that the introduction of a hydrophilic *o*-carboxybenzoyl moiety into polystyrene-divinylbenzene resin increases surface polarity and allows better contact with the resin surface and aqueous samples. For this reason, with this synthesized sorbent, the breakthrough volume for phenol and the recoveries for the phenolic compounds and pesticides studied are higher than when other commercially available sorbents are used.

The addition of a sulphite solution to real samples has a great effect on the initial humic and fulvic acids band. When sulphite was added this interference decreased. Better results were obtained when 500 and 1000 μl of 10% Na_2SO_3 solution, for every 100 ml of sample, were added to tap and river water, respectively, and in these cases the initial band decreases significantly.

REFERENCES

- [1] I. Liska, J. Krupcik, P.A. Leclercq, *J. High Resolut. Chromatogr.*, 12 (1989) 577.
- [2] L.A. Berrueta, B. Gallo, F. Vicente, *Chromatographia*, 40 (1995) 474.
- [3] G. Achilli, G.P. Cellerino, G. Melzi d'Eril, S. Bird, *J. Chromatogr. A*, 697 (1995) 357.

-
- [4] P. Parrilla, J.L. Martinez Vidal, M. Martinez Galera, A.G. Frenich, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 350 (1994) 633.
- [5] S. Lacorte, D. Barceló. *Anal. Chim. Acta*, 296 (1994) 223.
- [6] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 38 (1994) 579.
- [7] V. Pichon, M.C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.
- [8] I. Liska, E.R. Brouwer, A.G.L. Ostheimer, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, R.B. Geerdink, W.H. Mulder, *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, 47 (1992) 267.
- [9] R.M. Marcé, H. Prosen, C. Crespo, M. Calull, F. Borrull, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 63.
- [10] D. Puig, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 63.
- [11] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [12] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 738 (1996) 1.
- [13] D. Martínez, E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, M. Calull, *J. Chromatogr. A*, 734 (1996) 387.
- [14] O. Fiehn, M. Jekel, *Anal. Chem.*, 68 (1996) 3083.
- [15] A. Di Corcia, R. Sampieri, A. Marcomini, S. Stelluto, *Anal. Chem.*, 65 (1993) 907.
- [16] E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 719 (1996) 105.
- [17] C. Crescenci, A. Di Corcia, G. Passariello, R. Samperi, M.I. Turnes Carou, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 41.
- [18] A. Di Corcia, A. Bellioni, I. Diab Madbouly, S. Marchese, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 383.
- [19] E.R. Brouwer, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 678 (1994) 223.
- [20] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
- [21] A. Junker-Buchheit, M. Witzemberger, *J. Chromatogr. A*, 737 (1996) 67.
- [22] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.
- [23] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 590 (1992) 197.
- [24] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schmidt, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 133.

- [25] P.J. Dumont, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 123.
- [26] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
- [27] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
- [28] M.W. Powell, *J. Chromatogr. A*, 697 (1995) 101.
- [29] R. Boqué, F.X. Rius, *J. Chem. Ed.*, 70 (1993) 230.
- [30] C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 221.

Les substàncies húmiques, formades per àcids húmics i fúlvics, són macromolècules que componen la major part de matèria orgànica dissolta en l'aigua [1]. La seva concentració en aigües mediambientals oscil·la entre 0 i 10 mg l⁻¹ [2]. Degut a la seva elevada aromaticitat donen una gran banda inicial emprant la detecció ultraviolada en les anàlisis d'aquestes mostres. A més, quan s'utilitza un sorbent amb elevada capacitat de retenció, tal i com el que s'emprarà en aquest treball, aquesta banda és més gran [3].

En la bibliografia poden trobar-se alguns mètodes per tal de disminuir la senyal proporcionada per aquestes substàncies tot i que no l'eliminen totalment. Alguns autors opten per emprar una precolumna que permet l'exclusió de macromolècules [2], altres per fer un pas de *clean-up* addicional [4] i altres una oxidació amb KMnO₄ [5] tal i com ja s'ha comentat en el Capítol I de la present Tesi Doctoral.

Els resultats satisfactoris obtinguts en el treball anterior com a conseqüència de l'addició de Na₂SO₃ han originat el plantejament del present estudi. L'objectiu principal d'aquest treball ha consistit en aprofundir sobre l'efecte del sulfit sòdic de disminuir el senyal corresponent a les substàncies húmiques presents en mostres d'aigua reals, i a més provar altres tractaments químics de la mostra que també permetin reduir aquesta banda inicial interferent, i així facilitar la determinació de compostos d'elevada polaritat que coelueixen amb les substàncies húmiques.

Igual que en els treballs anteriors, les mostres han estat analitzades mitjançant l'acoblament *on-line* de l'extracció en fase sòlida a la cromatografia de líquids. La detecció ha estat de nou la ultraviolada, ja que aquesta és la més habitual en laboratoris d'anàlisi, i perquè és la que proporciona un senyal major per les substàncies húmiques i per tant permet observar millor l'efecte dels tractaments aplicats. El sorbent emprat per a realitzar l'extracció ha estat el sintetitzat en l'últim treball, és a dir el polímer de PS-DVB funcionalitzat amb el grup o-

carboxibenzoil, ja que ha proporcionat millors recuperacions pels analits polars que altres sorbents comercials.

Els analits escollits per a realitzar aquest treball han estat una mescla de 7 compostos fenòlics i plaguicides d'elevada polaritat (el resorcinol, el fenol, el 4-nitrofenol, el 2-clorofenol, l'oxamil, el metomil i la bentazona) que han estat eluïts de la precolumna en contracorrent emprant únicament el solvent orgànic de la fase mòbil. Aquest tipus d'elució evita l'eixamplament dels pics cromatogràfics, però té el desavantatge que provoca un lleuger augment de les dimensions de la banda inicial interferent.

Abans de començar a aplicar algun tractament químic a la mostra s'ha procedit a optimitzar la separació cromatogràfica dels 7 compostos. A continuació, s'han determinat experimentalment els volums de ruptura i les recuperacions de tots els analits mitjançant el mètode descrit per *Pichon et al.* [6] que consisteix en la preconcentració de diferents volums de mostra mantenint constant la quantitat d'analit injectada.

Un cop trobat el volum de mostra màxim a preconcentrar, s'ha avaluat l'efecte de diversos reactius químics amb diferents propietats reductores sobre la banda de les substàncies húmiques presents en l'aigua de l'aixeta. Aquests reactius han estat solucions del 10% (*p/v*) de sulfit sòdic, tiosulfat sòdic i àcid oxàlic de les quals s'han addicionat diferents volums a la mostra. També s'ha provat de disminuir la banda mitjançant l'oxidació amb permanganat potàssic tal i com havien realitzat *Bonifazi et al.* [5] prèviament.

De tots els tractaments avaluats, l'addició de sulfit sòdic és el que ha proporcionat una major disminució de la banda inicial, i per tant s'ha aplicat en l'anàlisi d'aigua del riu Ebre i també s'ha obtingut una disminució considerable d'aquesta banda. Aquesta disminució de la interferència de la matriu ha permès la determinació dels analits més polars habitualment emmascarats per les substàncies húmiques.

Després de l'optimització del volum de sulfit sòdic adequat per ambdós tipus de matriu, aigua de l'aixeta i del riu Ebre, s'han comparat les recuperacions obtingudes mitjançant aquest mètode i les obtingudes en l'anàlisi de dissolucions estàndard en les que no s'ha fet cap tractament químic.

Per tal de poder determinar la quantitat exacta de Na_2SO_3 que cal addicionar a la mostra segons la concentració de substàncies húmiques dissoltes, el següent pas ha consistit en l'addició de diferents volums de dissolució de sulfit a una sèrie de mostres d'aigua superficial simulades en les que s'han dissolt diferents quantitats d'àcids húmics de diversos pesos moleculars.

Aquests estudis realitzats i els resultats obtinguts s'han exposat en el treball publicat en la revista *Chromatographia*, 48 (1998) 231-236, que s'inclou a continuació.

Bibliografia

- 1 J. Peuravuori, K. Pihlaja, *Anal. Chim. Acta*, 337 (1997) 133.
- 2 P. Önnérjörd, D. Barceló, J. Emnéus, L. Gorton, G. Marko-Varga, J. *Chromatogr. A*, 737 (1996) 35.
- 3 D. Puig, D. Barceló, J. *Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
- 4 R.B. Geerdink, S. van Tol-Wildenburg, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *Analyst*, 122 (1997) 889.
- 5 P. Bonifazi, E. Pierini, F. Bruner, *Chromatographia*, 44 (1997) 595.
- 6 V. Pichon, M-C. Hennion, J. *Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.

CHEMICAL REMOVAL OF HUMIC SUBSTANCES INTERFERING WITH THE ON-LINE SOLID-PHASE EXTRACTION - LIQUID CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF POLAR POLLUTANTS

ABSTRACT

Different methods for removing interference by humic substances in the analysis of polar pollutants have been compared in the analysis of environmental water by solid-phase extraction (SPE) with a chemically modified polymeric resin coupled on-line to liquid chromatography with UV detection.

The methods were based on the use of chemical reagents. The best method was found to be addition of sodium sulphite to humic-containing water before SPE. The appropriate amount of sulphite depends on the amount of humic substances dissolved in the sample - for analysis of 50 ml tap and Ebro river water, respectively, 250 µl and 500 µl 10% Na₂SO₃ solution had to be added. In both cases, the recovery values after chemical treatment were similar to those when a Milli-Q quality water standard was analysed.

Keywords: Column liquid chromatography; On-line preconcentration; Humic substances; Polar pollutants in water.

INTRODUCTION

Methods in which solid-phase extraction is hyphenated with high-performance liquid chromatography (HPLC), with UV and diode-array (DAD) detection, are those most frequently used for determining polar pollutants in environmental water. On classical SPE sorbents (bonded silicas and styrene-divinylbenzene copolymers) these compounds have low breakthrough volumes, but new chemically modified polymeric resins with different functional moieties (e.g. acetyl, hydroxymethyl, benzoyl and *o*-carboxybenzoyl) [1-4] and highly crosslinked polymers [5,6], which have higher sorption power than the other sorbents, mainly for polar analytes, have recently been developed.

When on-line SPE-HPLC is used to analyse surface water samples containing high levels of humic substances, a band at the beginning of the chromatogram hampers the determination of the early-eluting peaks from the most polar analytes [2-7]. This matrix interference increases when a SPE sorbent with high sorptive power is used (e.g. a chemically modified polymeric resin or a highly crosslinked polymeric sorbent) [2-6].

Humic substances, including humic and fulvic acids, are acidic, yellow-to-black polyelectrolytes which usually account for most of the dissolved organic matter [8]. They are polymers with an average molecular mass of 1000-10000 containing heterogenic structures such as methoxy aromatic compounds, phenols and aryl ketones [9]. Normal concentrations of humic acids in ground, surface and estuarine water are extremely variable and range between 0 and 10 mg l⁻¹ [10] and the humic acid concentration might be different in samples taken at the same site with only a few days difference between sampling times [11]. These substances are UV-absorptive because of their high percentage of aromaticity [8]. This is the origin of the initial broad band during analysis of real water samples with UV detection.

To avoid or reduce humic interference, other detection systems which are more selective than DAD and UV can be used; these include mass spectrometry (MS) [9,10,12], fluorescence detection [2,9] or electrochemical detection [13,14]. Although these systems enable the determination of some analytes without this matrix interference, sometimes, depending on the amount of humic substances dissolved in the sample, these detection systems are not sufficiently selective and humic interference still occurs. UV detection is, in addition, the system most frequently used in laboratories and so other methods are required to eliminate the band corresponding to humic and fulvic acids.

Some analysts have solved matrix effects in humic-containing water samples by using a precolumn (alkyl-diol-silica) based on the non-adsorptive size- exclusion of macromolecules and simultaneous partitioning of the analytes, but the retention of this precolumn is not sufficient for the most polar analytes and the humic hump is not wholly eliminated [10]. Clean-up at high pH (pH 11) followed by heart-cutting of the precolumn eluent has also been used. The explanation given is that humic substances are highly polar molecules which are easily eluted from the precolumn without incorporation of the analytes of interest [15].

Other workers have reduced this band by chemical treatment with KMnO_4 . This treatment consists in oxidation of humic acids before the extraction process [11,16].

In previous work [4,17,18] we have used Na_2SO_3 to eliminate free chlorine in tap water, because it reacts with phenols to produce chlorophenols, and observed that the initial peak corresponding to fulvic and humic acids decreased in size. For this reason, we tried to reduce the initial hump by use of different chemical reagents such as sodium thiosulphate and oxalic acid with reducing properties similar to those of sodium sulphite.

This paper focuses on the use of different chemical reagents to reduce the initial hump which can prevent the analysis of polar organic pollutants in humic-containing

water samples. Analysis of the organic pollutants was performed by use of an SPE sorbent with high sorptive power (a chemically modified polymeric resin) coupled on-line to HPLC with UV detection.

EXPERIMENTAL

Equipment

Experiments were performed using two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps with a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. The mobile phase was degassed with a Shimadzu DGU-4A degasser. The temperature of the column was controlled by means of a Shimadzu CTO-10A oven. Chromatographic data were collected and recorded by use of an HP-3365 Series II Chemstation. The compounds were separated on a 25x0.46 cm I.D. Kromasil 100 C₁₈ column, particle size 5 µm, supplied by Teknokroma (Barcelona, Spain).

To check the response of the instrument standard solutions were injected through a Rheodyne (Cotati, CA, USA) valve with a 20 µl loop; an automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands) was used for on-line SPE. The on-line trace enrichment process was performed with 10x3 mm I.D. steel precolumns laboratory-packed with a chemically modified polymeric sorbent, with an *o*-carboxybenzoyl moiety, which had been synthesized in our laboratory [4]. A Waters (Milford, MA, USA) M45 pump was used to deliver the sample and to condition the precolumn.

Reagents and Standards

The compounds studied were a mixture of polar pesticides and phenolic compounds. The phenolic compounds were resorcinol, phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP) and 2-chlorophenol (2-CP); these were purchased from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany). The pesticides were oxamyl and methomyl (carbamates) and bentazone (diazine) from Riedel-de Haën (Seelze, Germany). Stock standard solutions (2000 mg l^{-1}) of each compound were prepared in methanol. Standard solutions were prepared weekly by diluting the stock standard solutions with Milli-Q water (Millipore, Bedford, MA, USA), and more dilute working solutions were prepared daily by diluting with Milli-Q, tap or river water. All solutions were stored at 4°C . HPLC-quality acetonitrile (Fisher Scientific, Leicestershire, UK) and Milli-Q quality water, adjusted to pH 3 with sulphuric acid (Probus, Badalona, Spain), were used to prepare the mobile phase.

Hydrochloric acid (Probus, Badalona, Spain) was added to adjust the pH of the sample to 2.5 before SPE to prevent the analytes from occurring in the ionic form. Tap and river water samples were filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ nylon membrane (Whatman, Maidstone, UK) before SPE to eliminate particulate matter. Different volumes of sodium sulphite (Na_2SO_3) (Panreac, Barcelona, Spain), sodium thiosulphate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (Probus), oxalic acid ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) (Probus) and potassium permanganate (KMnO_4) (Probus) solutions were added to real samples to reduce the peak that appears at the beginning of the chromatogram because of the presence of humic and fulvic acids in these samples. Humic acid of $M_r \sim 600\text{-}1000$ from Fluka (Buchs, Switzerland) and of $M_r \sim 5000\text{-}10000$ from Aldrich-Chemie were used to determine the relationship between the concentration of humic acid in the sample and the amount of Na_2SO_3 added.

Chromatographic Conditions

Gradient elution was performed with Milli-Q quality water at pH 3 (solvent A) and acetonitrile as organic modifier (solvent B). The flow rate was 1 ml min⁻¹ and the temperature of the column oven was set at 65°C. The gradient profile was 15% B initially, 45% B after 20 min, 100% B at 22 min, isocratic for 2 min, and back to the initial conditions in 2 min. Post-run time was 10 min.

Detection was performed at 280 nm for phenolic compounds and at 240 nm for pesticides. The wavelength program used enabled detection of each compound at its wavelength maximum absorbance.

On-line Trace Enrichment Procedure

The on-line solid-phase extraction process was performed using a chemically modified polymeric resin with an *o*-carboxybenzoyl moiety, prepared from a polystyrene-divinylbenzene resin; the synthesis has been described elsewhere [4]. The program used for conditioning the precolumn and for sample preconcentration with the Must automatic column-switching device is shown in Table 1.

Table 1
Sample preconcentration program for on-line SPE

Step	Time (min)	Flow rate (ml min ⁻¹)	Event	Solution
1	0	2	Washing tubes	Acetonitrile
2	5	2	Conditioning precolumn	Acetonitrile
3	6	2	Washing tubes	Milli-Q water at pH 2.5
4	11	2	Activating precolumn	Milli-Q water at pH 2.5
5	12	2	Washing tubes	Sample

6	17	4	Sample preconcentration	Sample
7	*		Analyte desorption	Acetonitrile of mobile phase

* Depends on sample volume

Analytes were desorbed in the backflush mode, using only the organic solvent (solvent B, acetonitrile) of the mobile phase. This effectively suppressed peak broadening as a result of the different properties of the analytical column and the precolumn sorbent [19,20]. Solvents A and B were mixed before they reached the analytical column. When this equipment design was used for SPE of environmental water a slight increase in the humic hump was observed.

RESULTS AND DISCUSSION

Chromatographic Separation

Before the on-line solid-phase extraction study, the gradient elution and the wavelength program were optimized for separation of the seven compounds studied in a short time (<20 min). The optimum conditions have already been described in the section on chromatographic conditions.

Direct injection of 20 μl samples resulted in good linearity for all compounds at 0.025-20 mg l^{-1} ; regression coefficients (r^2) were >0.9998. Detection limits were calculated by the statistical program ULC (Univariate Linear Calibration) with $k=6$ [21] and the values found were between 5 $\mu\text{g l}^{-1}$ for oxamyl and 12 $\mu\text{g l}^{-1}$ for bentazone. For this reason, samples must be preconcentrated to enable detection of the low levels allowed in environmental waters.

Breakthrough Volumes

The SPE sorbent, a chemically modified polymeric resin with an *o*-carboxybenzoyl moiety, was chosen because it resulted in higher breakthrough volumes for polar analytes than did other commercial sorbents [4,18]. An experimental method for determining both breakthrough volumes and recoveries has been described elsewhere [7,22-24]; it is easily performed with this on-line arrangement. One advantage of this method is that these values can be obtained from few on-line preconcentrations for all analytes and under experimental conditions that correspond to those used for real analysis (trace level and several analytes together) [23].

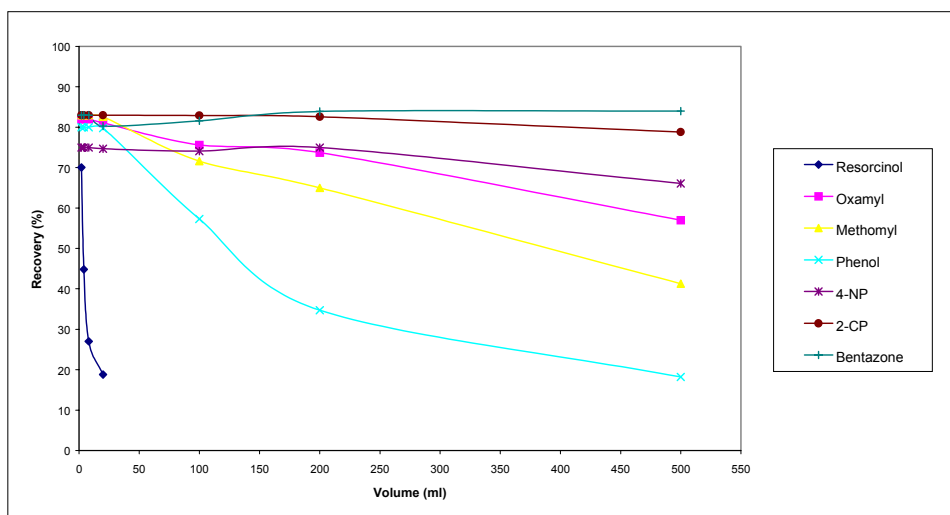


Fig. 1. Experimental variation of the recovery obtained by on-line preconcentration of different volumes of Milli-Q water samples containing a constant amount (0.1 μg) of the analytes.

Different sample volumes (2, 4, 8, 20, 50, 100, 200 and 500 ml) of Milli-Q quality water were spiked with different concentrations of the analytes so that the amounts of the analytes in the samples were constant (0.1 μg injected). These

were then percolated through the precolumn. The recoveries were calculated by dividing the peak area obtained for a given sample volume by the peak area obtained by direct loop injection of the same amount of compound; breakthrough occurred when the recovery began to decrease. The results of measuring breakthrough volumes are shown in Fig. 1. It can be seen that except for phenol and resorcinol recoveries sample for all analytes were >70% after preconcentration of a 200 ml sample. Recovery values were 57 and 76% for phenol after preconcentration of 100 and 50 ml, respectively, whereas 45% of resorcinol was recovered from a 4 ml sample and none was recovered when 50 ml was preconcentrated. From the results obtained 50 ml was selected for further analysis, except for the determination of resorcinol, the breakthrough volume of which was 2 ml.

Breakthrough was only studied using Milli-Q water because it has been reported that breakthrough volumes for different types of water do not vary substantially [7,23].

Reduction in Interference by Humic Substances

A method must be found which considerably reduces the characteristic frontal humic hump and which enables polar analytes to be determined more accurately. For this reason, various chemical reagents with different reductive properties, 10% (w/v) sodium sulphite, sodium thiosulphate or oxalic acid solutions, were added to tap water samples (pH 2.5) to remove this humic hump. Different volumes of these solutions (150, 250 or 500 µl for every 50 ml of sample) were added to the sample before extraction. The best results were obtained using Na_2SO_3 – addition of 250 µl Na_2SO_3 to 50 ml tap water was sufficient to eliminate the initial broad band whereas with the other reagents there was no significant reduction in the matrix interference peak. Fig. 2 shows

the chromatograms obtained after preconcentration of 50 ml tap water spiked with $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of each target analyte and addition of 250 μl of these reagents. It should be pointed out that resorcinol was not retained in the precolumn with this sample volume (50 ml).

In contradiction of our initial supposition, these results suggest that the humic band is not reduced by the reducing power of the chemical reagents, because sulphite is a less powerful reducing agent than the other two reagents used. One possible explanation of the reduction in size of the frontal humic hump on addition of sodium sulphite is that some of the ketone and aldehyde carbonyl groups present in the humic substances [25,26] undergo addition of bisulphite at the pH of the sample (2.5) [27]. This reaction might transform the humic substances into more highly polar compounds which are not sufficiently retained by the precolumn sorbent in the sample preconcentration step, resulting in cleaner chromatograms. Further studies are required to improve our knowledge of this reaction.

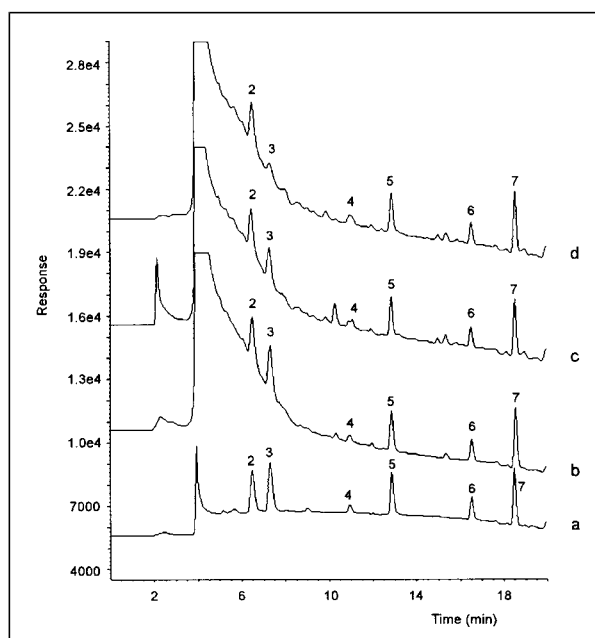


Fig. 2. Chromatograms obtained after on-line trace enrichment of 50 ml tap water spiked with $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of each analyte after adding 250 μL of (a) sodium sulphite, (b) sodium thiosulphate, (c) oxalic acid and (d) no reagent solution. Peaks: 2, oxamyl; 3, methomyl; 4, phenol; 5, 4-NP; 6, 2-CP; 7, bentazone.

Another method of reducing this band, which has been used by Bonifazi et al. [11,16], is to oxidize the humic substances with potassium permanganate. The sample was acidified to pH 1 with HCl, and then 0.2M KMnO_4 solution was added dropwise until the sample turned violet. The solution was stirred for 30 min, then H_2O_2 (30%) was added until the sample became colourless, and finally, to prevent the hydrolysis of the sorbent, the sample pH was adjusted to 2.5 by addition of 6N sodium hydroxide. After this treatment the band decreased only slightly, so the method was less effective than addition of Na_2SO_3 .

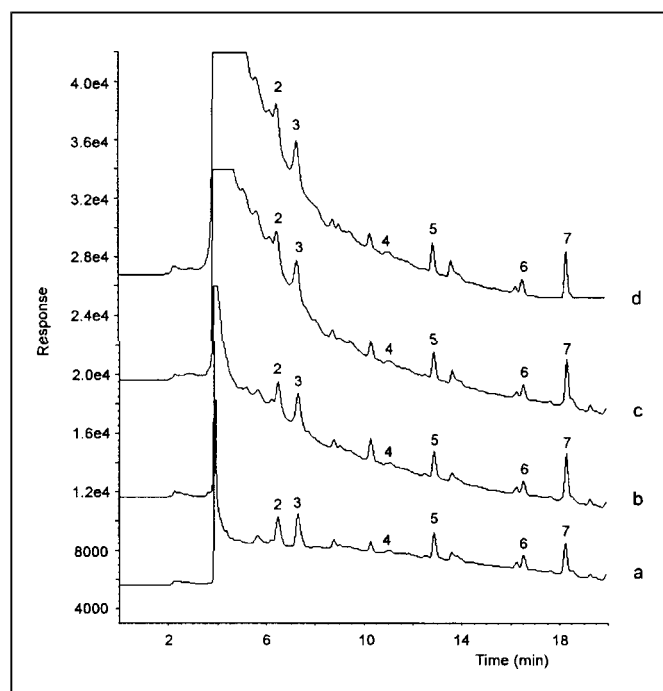


Fig. 3. Chromatograms obtained after on-line trace enrichment of 50 ml Ebro river water spiked with $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of each analyte with or without addition of different volumes of 10% Na_2SO_3 solution: (a)

500 μl , (b) 250 μl , (c) 150 μl , (d) without addition of Na_2SO_3 solution. Peak designation as for Fig. 2.

Addition of Na_2SO_3 was also studied in the preconcentration of 50 ml of Ebro river water. For this sample matrix, 500 μl of 10% Na_2SO_3 solution had to be added to reduce the frontal humic hump sufficiently – after addition of 250 μl the initial hump still prevented analysis of the most polar compounds. Fig. 3 shows the chromatograms obtained after preconcentration of 50 ml of Ebro river water spiked with 2 $\mu\text{g l}^{-1}$ and addition of 150, 250 and 500 μl Na_2SO_3 solution.

Table 2

Recovery values obtained in the on-line preconcentration of a 50 ml sample spiked with 2 $\mu\text{g l}^{-1}$ of each analyte.

Compound	Milli-Q water	Tap water ^a	Ebro river water ^b
Resorcinol	6	-----	-----
Oxamyl	88	85	87
Methomyl	89	78	77
Phenol	77	58	47
4-NP	82	81	75
2-CP	81	84	78
Bentazone	86	76	66

For all results % RSD ($n=6$) values were <9, except for resorcinol (13).

^aWith addition of 250 μl 10% Na_2SO_3 solution.

^bWith addition of 500 μl 10% Na_2SO_3 solution.

The recoveries obtained by preconcentrating 50 ml tap and river water with the addition of sulphite were similar to those obtained with Milli-Q quality water, except for phenol and bentazone, the recoveries of which were lower when the amount of sulphite added was increased. These recoveries are shown in Table 2.

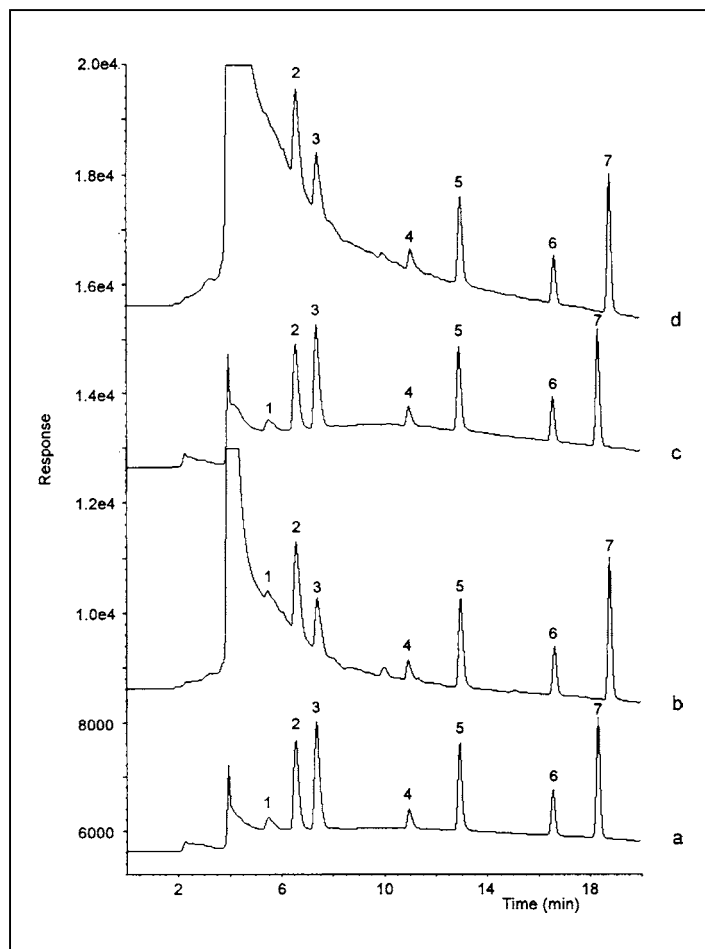


Fig. 4. Chromatograms obtained after on-line trace enrichment of 8 ml tap water spiked with $12.5 \mu\text{g l}^{-1}$ of each analyte with or without addition of $250 \mu\text{l}$ sulphite solution: (a) with sulphite, (b) without sulphite, (c) with sulphite and addition of 10 mg l^{-1} reference humic acids, and (d) without sulphite and addition of 10 mg l^{-1} reference humic acids. Peak designation: 1, resorcinol; others as for Fig. 2.

For resorcinol, the peak of which is completely obscured by matrix peak interferences when 8 ml tap water is preconcentrated, it was found that after addition of $250 \mu\text{l}$ 10% Na_2SO_3 solution the peak could be detected with the same

recovery (29%) as when Milli-Q quality water is used. When tap water sample was spiked with 10 mg l^{-1} reference humic acid solution it was observed that the treatment with $250 \text{ }\mu\text{l}$ sulphite was still effective and there was no significant decrease in the recovery of resorcinol. The chromatograms obtained in this study are compared in Fig. 4 and demonstrate that the treatment enables the detection, without interferences, of very polar compounds usually covered by the hump of humic substance.

Relationship Between the Concentration of Humic Substances and the Amount of Na_2SO_3 Added

This study was performed to determine the amount of 10% Na_2SO_3 solution appropriate for a specific concentration of humic substances in the sample. Two different reference humic acids, $M_r \sim 600\text{-}1000$ and $M_r \sim 5000\text{-}10000$, were dissolved in Milli-Q quality water at 500 mg l^{-1} (250 mg l^{-1} of each) and the solution was diluted to 5 and 10 mg l^{-1} . These simulated surface water samples were spiked with $2 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ of the analytes and 50 ml was preconcentrated on the chemically modified resin. The matrix interference in the resulting chromatograms was similar to that from real water samples. Different volumes of 10% Na_2SO_3 solution (150, 250 and $500 \text{ }\mu\text{l}$) were added to reduce the humic acid band. Addition of $150 \text{ }\mu\text{l}$ sulphite solution was sufficient for water samples containing 5 mg l^{-1} of humic acids; $250 \text{ }\mu\text{l}$ was needed for water samples containing 10 mg l^{-1} of humic acids.

As has been mentioned above, $250 \text{ }\mu\text{l}$ sulphite solution was sufficient to reduce the initial humic hump in the analysis of 50 ml of tap water. These results agree with those obtained for the simulated surface waters ($250 \text{ }\mu\text{l}$ for 10 mg l^{-1} humic acids, the maximum concentration found in real water). When 50 ml Ebro river water was analyzed, however, $500 \text{ }\mu\text{l}$ of this solution was necessary. This might

be because the dissolved organic matter is made up of more than just humic and fulvic acids [25,26].

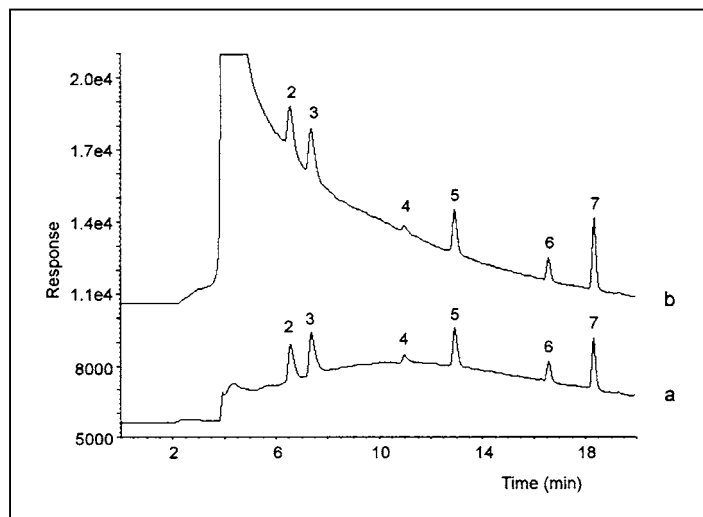


Fig. 5. Chromatograms obtained after on-line trace enrichment of 50 ml Milli-Q water spiked with 5 mg l^{-1} humic acid solution and $2 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ each analyte: (a) with addition of $150 \text{ } \mu\text{l}$ sulphite solution and (b) without sulphite addition. Peak designation as for Fig. 2.

It seems that addition of sulphite reduces the matrix interference which appears at the beginning of the chromatogram but does not reduce interference from humic acids which elute later, because a small hump still appears in the middle of the chromatogram. This phenomenon is shown in Fig. 5, and might be because the last-eluted humic acids have fewer carbonyl groups than the humic acids which form the frontal hump. It should be pointed out that, fortunately, the hump of humic substances in the middle of the chromatogram did not appear after analysis of any of the real water samples, whereas the frontal hump appeared in all the samples.

CONCLUSIONS

This study has demonstrated that addition of sodium sulphite is the best method for removing the humic substance band which can make the early-eluted polar analytes difficult to determine. This method could be used for determination, by HPLC with low selectivity UV detection, of polar pesticides and phenolic compounds preconcentrated on a sorbent of high sorption power (chemically modified polymeric resin).

The appropriate volume of sulphite solution depends on the concentration of humic substances dissolved in the sample. When preconcentrating 50 ml tap water, it was necessary to add 250 µl sulphite solution; when the same volume of Ebro river water was analyzed, however, 500 µl of sulphite solution had to be added.

The recovery values obtained after chemical treatment of environmental water samples with sulphite were similar to those obtained when a Milli-Q water standard was analyzed, except for phenol and bentazone, the recoveries of which were lower when the amount of sulphite added was increased.

REFERENCES

- [1] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
- [2] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
- [3] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
- [4] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 803 (1998) 147.
- [5] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.

-
- [6] Application Info 47, Spark Holland, 1995.
- [7] O. Jáuregui, M.T. Galceran, *Anal. Chim. Acta*, 340 (1997) 191.
- [8] J. Peuravuori, K. Pihlaja, *Anal. Chim. Acta*, 337 (1997) 133.
- [9] S. Chiron, E. Martinez, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 283.
- [10] P. Önnérjord, D. Barceló, J. Emnéus, L. Gorton, G. Marko-Varga, *J. Chromatogr. A*, 737 (1996) 35.
- [11] P. Bonifazi, E. Pierini, F. Bruner, *Chromatographia*, 44 (1997) 595.
- [12] R.M. Marcé, H. Prosen, C. Crespo, M. Calull, F. Borrull, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 63.
- [13] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 738 (1996) 1.
- [14] D. Puig, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 63.
- [15] R.B. Geerdink, S. van Tol-Wildenburg, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *Analyst*, 122 (1997) 889.
- [16] P. Bonifazi, A.R. Mastrogiacono, E. Pierini, F. Bruner, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 57 (1994) 21.
- [17] N. Masqué, R. M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 793 (1998) 257.
- [18] N. Masqué, E. Pocurull, R. M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 47 (1998) 176.
- [19] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [20] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Trends Anal. Chem.*, 17 (1998) 384.
- [21] R. Boqué, F.X. Rius, *J. Chem. Educ.*, 70 (1993) 230.
- [22] M.C. Hennion, P. Escribe, in D. Barceló (Editor) *Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality Assurance*, Elsevier, Amsterdam, 1993, p. 23.
- [23] V. Pichon, M.C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.
- [24] C. Rivasseau, M. Caude, *Chromatographia*, 41 (1995) 462.
- [25] R.L. Malcolm, *Anal. Chem. Acta*, 232 (1990) 19.
- [26] I.B. Christensen, D.L. Jensen, C. Grøn, Z. Filip, T.H. Christensen, *Wat. Res.*, 32 (1998) 125.
- [27] L.F. Fieser, M. Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, London, 1967.



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
Departament de Química Analítica i Química Orgànica
Àrea de Química Analítica

DESENVOLUPAMENT DE SORBENTS
POLIMÈRICS PER A L'EXTRACCIÓ EN FASE
SÒLIDA DE CONTAMINANTS ORGÀNICS
POLARS EN AIGÜES

Memòria presentada per
NÚRIA MASQUÉ GRANJA
per optar al grau de
Doctor en Química
Tarragona, 2000

Les substàncies húmiques, formades per àcids húmics i fúlvics, són macromolècules que componen la major part de matèria orgànica dissolta en l'aigua [1]. La seva concentració en aigües mediambientals oscil·la entre 0 i 10 mg l⁻¹ [2]. Degut a la seva elevada aromaticitat donen una gran banda inicial emprant la detecció ultraviolada en les anàlisis d'aquestes mostres. A més, quan s'utilitza un sorbent amb elevada capacitat de retenció, tal i com el que s'emprarà en aquest treball, aquesta banda és més gran [3].

En la bibliografia poden trobar-se alguns mètodes per tal de disminuir la senyal proporcionada per aquestes substàncies tot i que no l'eliminen totalment. Alguns autors opten per emprar una precolumna que permet l'exclusió de macromolècules [2], altres per fer un pas de *clean-up* addicional [4] i altres una oxidació amb KMnO₄ [5] tal i com ja s'ha comentat en el Capítol I de la present Tesi Doctoral.

Els resultats satisfactoris obtinguts en el treball anterior com a conseqüència de l'addició de Na₂SO₃ han originat el plantejament del present estudi. L'objectiu principal d'aquest treball ha consistit en aprofundir sobre l'efecte del sulfit sòdic de disminuir el senyal corresponent a les substàncies húmiques presents en mostres d'aigua reals, i a més provar altres tractaments químics de la mostra que també permetin reduir aquesta banda inicial interferent, i així facilitar la determinació de compostos d'elevada polaritat que coelueixen amb les substàncies húmiques.

Igual que en els treballs anteriors, les mostres han estat analitzades mitjançant l'acoblament *on-line* de l'extracció en fase sòlida a la cromatografia de líquids. La detecció ha estat de nou la ultraviolada, ja que aquesta és la més habitual en laboratoris d'anàlisi, i perquè és la que proporciona un senyal major per les substàncies húmiques i per tant permet observar millor l'efecte dels tractaments aplicats. El sorbent emprat per a realitzar l'extracció ha estat el sintetitzat en l'últim treball, és a dir el polímer de PS-DVB funcionalitzat amb el grup o-

carboxibenzoil, ja que ha proporcionat millors recuperacions pels analits polars que altres sorbents comercials.

Els analits escollits per a realitzar aquest treball han estat una mescla de 7 compostos fenòlics i plaguicides d'elevada polaritat (el resorcinol, el fenol, el 4-nitrofenol, el 2-clorofenol, l'oxamil, el metomil i la bentazona) que han estat eluïts de la precolumna en contracorrent emprant únicament el solvent orgànic de la fase mòbil. Aquest tipus d'elució evita l'eixamplament dels pics cromatogràfics, però té el desavantatge que provoca un lleuger augment de les dimensions de la banda inicial interferent.

Abans de començar a aplicar algun tractament químic a la mostra s'ha procedit a optimitzar la separació cromatogràfica dels 7 compostos. A continuació, s'han determinat experimentalment els volums de ruptura i les recuperacions de tots els analits mitjançant el mètode descrit per *Pichon et al.* [6] que consisteix en la preconcentració de diferents volums de mostra mantenint constant la quantitat d'analit injectada.

Un cop trobat el volum de mostra màxim a preconcentrar, s'ha avaluat l'efecte de diversos reactius químics amb diferents propietats reductores sobre la banda de les substàncies húmiques presents en l'aigua de l'aixeta. Aquests reactius han estat solucions del 10% (*p/v*) de sulfit sòdic, tiosulfat sòdic i àcid oxàlic de les quals s'han addicionat diferents volums a la mostra. També s'ha provat de disminuir la banda mitjançant l'oxidació amb permanganat potàssic tal i com havien realitzat *Bonifazi et al.* [5] prèviament.

De tots els tractaments avaluats, l'addició de sulfit sòdic és el que ha proporcionat una major disminució de la banda inicial, i per tant s'ha aplicat en l'anàlisi d'aigua del riu Ebre i també s'ha obtingut una disminució considerable d'aquesta banda. Aquesta disminució de la interferència de la matriu ha permès la determinació dels analits més polars habitualment emmascarats per les substàncies húmiques.

Després de l'optimització del volum de sulfit sòdic adequat per ambdós tipus de matriu, aigua de l'aixeta i del riu Ebre, s'han comparat les recuperacions obtingudes mitjançant aquest mètode i les obtingudes en l'anàlisi de dissolucions estàndard en les que no s'ha fet cap tractament químic.

Per tal de poder determinar la quantitat exacta de Na_2SO_3 que cal addicionar a la mostra segons la concentració de substàncies húmiques dissoltes, el següent pas ha consistit en l'addició de diferents volums de dissolució de sulfit a una sèrie de mostres d'aigua superficial simulades en les que s'han dissolt diferents quantitats d'àcids húmics de diversos pesos moleculars.

Aquests estudis realitzats i els resultats obtinguts s'han exposat en el treball publicat en la revista *Chromatographia*, 48 (1998) 231-236, que s'inclou a continuació.

Bibliografia

- 1 J. Peuravuori, K. Pihlaja, *Anal. Chim. Acta*, 337 (1997) 133.
- 2 P. Önnérjörd, D. Barceló, J. Emnéus, L. Gorton, G. Marko-Varga, J. *Chromatogr. A*, 737 (1996) 35.
- 3 D. Puig, D. Barceló, J. *Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
- 4 R.B. Geerdink, S. van Tol-Wildenburg, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *Analyst*, 122 (1997) 889.
- 5 P. Bonifazi, E. Pierini, F. Bruner, *Chromatographia*, 44 (1997) 595.
- 6 V. Pichon, M-C. Hennion, J. *Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.

DETERMINATION OF ELEVEN PRIORITY EPA PHENOLICS AT ng L^{-1} LEVELS BY ON-LINE SOLID-PHASE EXTRACTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH UV AND ELECTROCHEMICAL DETECTION

ABSTRACT

The eleven priority, EPA phenolic pollutants were determined by liquid chromatography followed by two detectors in series; UV and electrochemical. Three different sorbents, Envi-Carb (a carbon black) and two functionalized polymeric resins, Bond Elut PPL and another synthesized in our laboratory with an *o*-carboxybenzoyl moiety, were compared for solid-phase extraction (SPE) to detect lower concentrations of the eleven phenolics in natural waters. Higher recoveries were obtained using the functionalized polymeric sorbents compared with Envi-Carb. When real samples were analysed, the synthetic sorbent gave lower interferences than Bond Elut PPL and phenol was determined at low levels with no humic and fulvic acid interference when Na_2SO_3 was added. The linear range for most compounds in tap water was between $0.05\text{--}20\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ and the limits of detection were $<35\text{ ng L}^{-1}$. Repeatability and reproducibility between days for real samples spiked at $0.1\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, expressed as relative standard deviation, were $<8\%$ and 10% , respectively.

Keywords: Column liquid chromatography; Electrochemical detection; Phenolics in water; On-line preconcentration.

INTRODUCTION

Phenolic compounds are common by-products of many industrial processes (manufacture of dyes, plastics, drugs, antioxidants and paper and the petroleum industry), the degradation of some pesticides and the biodegradation of humic substances, tannins and lignins. The European Community Directive 80/778/EEC states that the maximum admissible concentration of phenolic compounds in drinking water should be $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$ for the total content and $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ for the individual content [1] and Directive 75/440/EEC states that; in surface water for drinking purposes, it should be in the $1\text{-}10 \mu\text{g l}^{-1}$ range depending on how it is treated.

Phenolic compounds are usually determined by reversed-phase liquid chromatography (RPLC) with UV or diode-array detection (DAD) [2-8] or electrochemical detection (EC) [5-11]. Amperometric detection is more sensitive than UV detection and the detection limits decrease quite considerably when EC, and not UV, detection is used [6]. This increase in sensitivity is particularly significant when the compounds are eluted isocratically but the isocratic elution of phenolic compounds means that the analysis time is long and that the last-eluted compounds give broad peaks leading to decreased sensitivity [11].

It should be mentioned that the nitrophenolic compounds give a better response with a UV detector than with an electrochemical one. So, in order to obtain good sensitivity a common set-up is to connect a UV detector in series to an electrochemical one so that the nitrophenolic compounds can be detected with the UV detector and the rest of the compounds with the electrochemical detector [11]. Gradient elution is preferable to isocratic elution because the analysis time is shorter and the last-eluted peaks are not so broad.

To achieve the low levels required by the directives an enrichment step is needed before chromatographic analysis in both detection systems [8]. Nowadays, SPE is the most common technique for sample enrichment, because of its advantages over liquid-liquid extraction (LLE) [12]. Several sorbents have been tested for determining phenolic compounds in water. Those which have been studied most

are C₁₈ chemically bonded to silica [4,6,13], carbon black [14-18] and polymeric sorbents such as PLRP-S [3-5,7,11]. Carbon blacks have been used to analyse phenols in water but elution in the backflush mode is necessary due to excessive retention on these solids [15,16].

The main problem for determining phenolic compounds is their high polarity and that of some nitrophenolic compounds which means the breakthrough volume is small and they elute on a hump of the chromatogram due to the humic and fulvic acids. This makes determination difficult [2,10,22].

Recently, several highly crosslinked polymers (such as Lichrolut EN [2,3,19,20], Styrosorb [21], Isolute ENV [2] and HYSphere-1 [18,22]) have been applied in the SPE of these analytes. They have an open structure (highly porous material) which maximises the active surface compared with the previously mentioned sorbents, leading to better breakthrough volumes for the polar compounds.

Chemically-modified polymeric resins with a polar functional group such as acetyl [3,23-25], hydroxymethyl [23,25], benzoyl [26] and *o*-carboxybenzoyl [27] have been developed for use in the SPE of polar compounds. In most cases, the breakthrough volumes of polar compounds with these sorbents are larger than volumes obtained with their unmodified analogues [3]. Lightly sulphonated resins have also been used [23,28].

Nowadays on-line SPE is preferred to off-line SPE because automation is easier, reproducibility is better and the limits of detection are lower. When SPE is on-line coupled to LC, the incompatibility between the sorbent of the precolumn and the stationary phase of the analytical column can cause peak broadening because the mobile phase is not polar enough to elute the compounds trapped in the precolumn. This problem may be solved by slightly modifying the LC instrument and eluting the compounds retained in the precolumn only with the organic component of the mobile phase [4].

The aim of this study was to compare three different sorbents (a carbon black, Envi-Carb, and two functionalized polymeric resins, Bond Elut PPL and another sorbent which was synthesized in our laboratory with an *o*-carboxybenzoyl moiety [27]), for SPE of the eleven priority EPA phenolic pollutants from water. The SPE was on-line coupled to a liquid chromatograph with UV detection, to determine the nitrophenols, and electrochemical detection, to determine the rest of the analytes, connected in series.

The method was applied to detect these compounds in several surface waters. Na_2SO_3 was added to eliminate the free chlorine in tap water, which may react with phenols and produce chlorophenols [6]. Previously [27], we observed that when Na_2SO_3 was added the band which appears at the beginning of the chromatogram due to the presence of humic and fulvic acids decreased. For this reason, addition of sulphite was made to the tap and river water samples to decrease the effect of these acids and so determine most polar compounds more accurately.

EXPERIMENTAL

Equipment

Experiments were performed using two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps, with a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector and an HP-1049A electrochemical detector (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) connected in series. The mobile phase was degassed with a Shimadzu DGU-4A degasser. The temperature of the column was controlled by a Shimadzu CTO-10A oven and chromatographic data were collected and recorded using an HP-3365 Series II Chemstation controlled by Windows 3.11 (Microsoft). The compounds were

separated using a 25 x 0.46 cm I.D. Kromasil 100 C₁₈ column, particle size 5 µm, supplied by Teknokroma (Barcelona, Spain).

To check the response of the instrument, standard solutions were injected through a Rheodyne (Cotati, CA, USA) valve with a 20 µl loop, and an automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands) was used with on-line SPE. The on-line trace enrichment process was carried out using steel precolumns of 10 x 3 mm I.D. laboratory-packed with the different sorbents studied. A Waters (Milford, MA, USA) M45 pump was used to deliver the sample and condition the precolumn.

Reagents and Standards

The compounds studied were the eleven priority EPA phenolic pollutants: phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP), 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP), 2-chlorophenol (2-CP), 2-nitrophenol (2-NP), 2,4-dimethylphenol (2,4-DMP), 2-methyl-4,6-dinitrophenol (2-M-4,6-DNP), 4-chloro-3-methylphenol (4-C-3-MP), 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP), 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP) and pentachlorophenol (PCP). They were all supplied by Aldrich Chemie (Steinheim, Germany), except PCP which was from Jansen Chemie (Geel, Belgium). Standard solutions of 2000 mg l⁻¹ of each compound were prepared in methanol. Working standard solutions were prepared weekly by diluting the stock standard solutions with Milli-Q water (Millipore, Bedford, MA, USA), and more diluted working solutions were prepared daily by diluting with Milli-Q, tap or river water. All solutions were stored at 4°C.

HPLC-quality acetonitrile (Fisher Scientific, Leicestershire, UK) and Milli-Q water with 1% acetic acid (Probus, Badalona, Spain) were used to prepare of the mobile phase. To adjust the ionic strength of the eluent, 0.05 g l⁻¹ of potassium chloride (BDH, Poole, UK) was added.

Hydrochloric acid (Probus, Badalona, Spain) was added to adjust the pH of the sample to 2.5 before the SPE step in order to prevent the analytes from assuming in ionic form. 500 or 1000 μl of 10% solution of Na_2SO_3 (Panreac, Barcelona, Spain), for each 100 ml of sample, was added to tap and river water samples, respectively, to eliminate the free chlorine in tap water, which may react with phenols and produce chlorophenols, and to reduce the peak that appears at the beginning of the chromatogram because of the presence of humic and fulvic acids [27].

Tap and river water samples were filtered through a 0.45 μm nylon membrane (Whatman, Maidstone, UK) before the SPE to eliminate particulate matter.

Chromatographic Conditions

The eluents for chromatographic separation were a solution of acetic acid (1%) containing 0.05 g l^{-1} of KCl as solvent A and acetonitrile as solvent B. The flow rate was 1 ml min^{-1} and the temperature of the column oven was set at 65°C. The gradient profile was: initially 40% B, 75% B after 25 min, 100% B at 27 min, isocratic for 2 min, and the mobile phase returned to initial conditions in 2 min for a subsequent analysis run.

UV detection was at 316 nm for 4-NP and 280 nm for the other nitrophenols (2,4-DNP, 2-NP and 2-M-4,6-DNP). The electrochemical detector worked in the amperometric mode with a glassy carbon electrode at a potential of 1.0 V, between the working and the reference electrodes, to determine the rest of the phenolic compounds studied. A solid-state Ag-AgCl reference electrode was used, so the eluent had to contain KCl (0.05 g l^{-1}). Electrochemical cleaning was used every 10

injections to correct the electrodeposition on the electrode surface, by applying a cyclic treatment with alternate potentials. The working electrode was polished in the conventional way about every 40 injections.

On-line Trace Enrichment Procedure

The on-line solid-phase extraction process was performed using three different sorbents: a carbon black Envi-Carb (Supelco, Bellefonte, PA, USA), a functionalized polymeric resin Bond Elut PPL (Varian, Harbor City, CA, USA) and a chemically modified polystyrene-divinylbenzene sorbent, with an *o*-carboxybenzoyl moiety, obtained from porous, crosslinked, polystyrene-divinylbenzene described previously [27]. These sorbents were laboratory-packed in a 10 x 3 mm I.D. stainless steel precolumn. The program for the Must automatic, column-switching device used in sample preconcentration is shown in Table 1.

Table 1
Sample preconcentration program in on-line SPE process

Step	Time (min)	Flow rate (mL min ⁻¹)	Event	Solution
1	0	2	Washing tubes	acetonitrile
2	5	2	Conditioning precolumn	acetonitrile
3	6	2	Washing tubes	Milli-Q water at pH 2.5
4	11	2	Activating precolumn	Milli-Q water at pH 2.5
5	12	2	Washing tubes	sample
6	17	4	Sample preconcentration	
7	*		Analyte desorption	acetonitrile of mobile phase

* depends on sample volume

Analytes were desorbed in the backflush mode, using only by the organic solvent (acetonitrile) of the mobile phase, so as to prevent peaks from broadening due to the different nature of the analytical column and the precolumn sorbent [4], and then both solvents were mixed before reaching the analytical column.

RESULTS AND DISCUSSION

Chromatographic separation

Fig. 1 shows chromatograms, obtained from both detectors, of a standard solution of 0.5 mg l^{-1} of analytes. Separation was in less than 25 min. Some peaks of the compounds detected by EC detection eluted very close to others which appeared in the UV chromatogram, but they did not interfere with each other. For EC detection to respond better to nitrophenolic compounds it is necessary to work at higher potentials [11], and this involves a higher background, especially when gradient elution is applied. For this reason, UV detection was used with these compounds working at their maximum absorbance wavelength. For other compounds, EC detection at 1.0 V was selected because they have a higher response to this detector.

Good linearity was found for all nitro compounds at $0.015\text{--}20 \text{ mg l}^{-1}$ using the UV detector, and $0.01\text{--}5 \text{ mg l}^{-1}$ for 2,4,6-TCP and PCP, and $0.01\text{--}1 \text{ mg l}^{-1}$ for the remaining compounds using EC detection. In both instances the regression coefficients (r^2) were >0.9990 .

On-line Solid Phase Extraction

Breakthrough curves were recorded for phenol in order to establish the capacity of the sorbents used. These curves were recorded in the same way as in previous work [3,26], with 10 mg l⁻¹ phenol dissolved in Milli-Q water pH 2.5 at 1.0 ml min⁻¹, and the signal was measured at 280 nm. If the breakthrough volume is that at which the detector reaches 10% of its total value, the breakthrough volumes of phenol with these sorbents were 2 ml for Envi-Carb, 14 ml for Bond Elut PPL and 14.2 ml for the synthesized sorbent. Volumes obtained with Bond Elut PPL and the synthesized sorbent were higher than those with other commercial polymers such as PLRP-S, Envi-Chrom P and Amberchrom (4.5, 6.8 and 7.5 ml respectively) [3,26]. The breakthrough volume on Envi-Carb is similar to that obtained with another carbon black, Carboxack B, used previously [18]. The slopes of the breakthrough curves for Bond Elut PPL and the synthesized sorbent were similar. However the slope of the curve for Envi-Carb was sharper, as already seen for Carboxack [18]. This reflects the different interactions between analytes and the carbon black or polymeric sorbents.

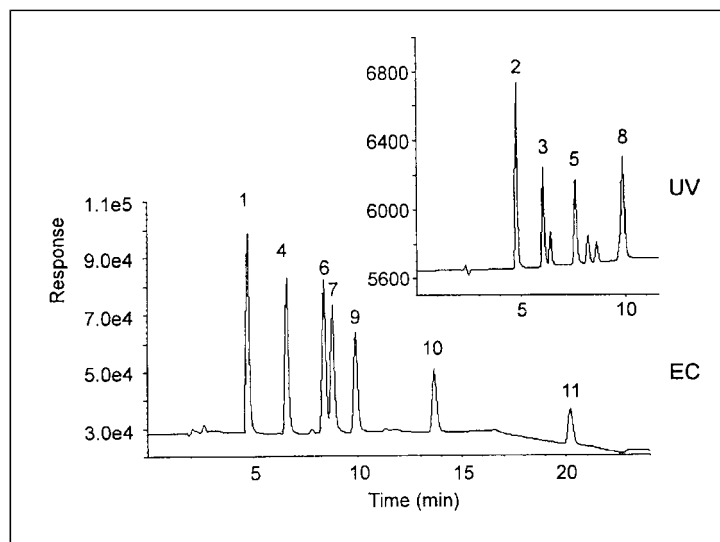


Fig.1. Chromatograms of standard solution of 0.5 mg l^{-1} analytes by direct injection UV and EC detection. Conditions, see text. Peak assignments: (1) Ph, (2) 4-NP, (3) 2,4-DNP, (4) 2-CP, (5) 2-NP, (6) 2,4-DMP, (7) 4-C-3-MP, (8) 2-M-4,6-DNP, (9) 2,4-DCP, (10) 2,4,6-TCP, (11) PCP.

Application to Real Samples

The performance of the three sorbents was checked with tap water. As in previous experiments, $500 \text{ }\mu\text{l}$ of 10% Na_2SO_3 solution, for each 100 ml of sample, was added to all tap water samples to remove residual chlorine and reduce the matrix effect due to humic and fulvic acids [27].

Two sample volumes, 10 and 25 ml, were preconcentrated with these sorbents. When 25 ml of sample spiked with $0.1 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ of the eleven analytes was preconcentrated with Bond Elut PPL and the synthesized sorbent, recoveries were similar in both cases and $>70\%$ for all compounds, except for PCP which was nearly 45%. However, with Envi-Carb, the recoveries with the same sample volume and concentration were lower, mainly for the most polar phenolic compounds such

as Ph, 4-NP and 2,4-DNP which had recoveries of 35, 55, and 25% respectively, and for PCP which had a recovery of nearly 20%. Although the two functionalized polymeric sorbents had similar recoveries, the band that appeared at the beginning of the chromatogram was narrower with the synthesized sorbent than the band with Bond Elut PPL, mainly in the EC detector. For these reasons, the synthesized sorbent was selected for further analyses. Figs. 2 (electrochemical detection) and 3 (UV detection) show chromatograms obtained when preconcentrating 25 ml tap water with (b and d) and without (a and c) addition of $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ of the eleven phenolic compounds using Bond Elut PPL (a and b) and the synthesized sorbent (c and d).

The linearity of response for the total analytical system, including the preconcentration step with the sorbent with the *o*-carboxybenzoyl moiety, was initially checked for both detectors for 25 ml tap water spiked at different concentrations. Blank experiments showed that phenols were undetectable in this water. Linear ranges and the detection limits, calculated by the statistical program ULC (Univariate Linear Calibration) with k equal to 6 [29] are shown in Table 2. In some samples of tap water two peaks appeared at the same retention time as 4-NP and 2-NP in the UV chromatogram (see Fig. 3) but the concentration was near the limit of detection.

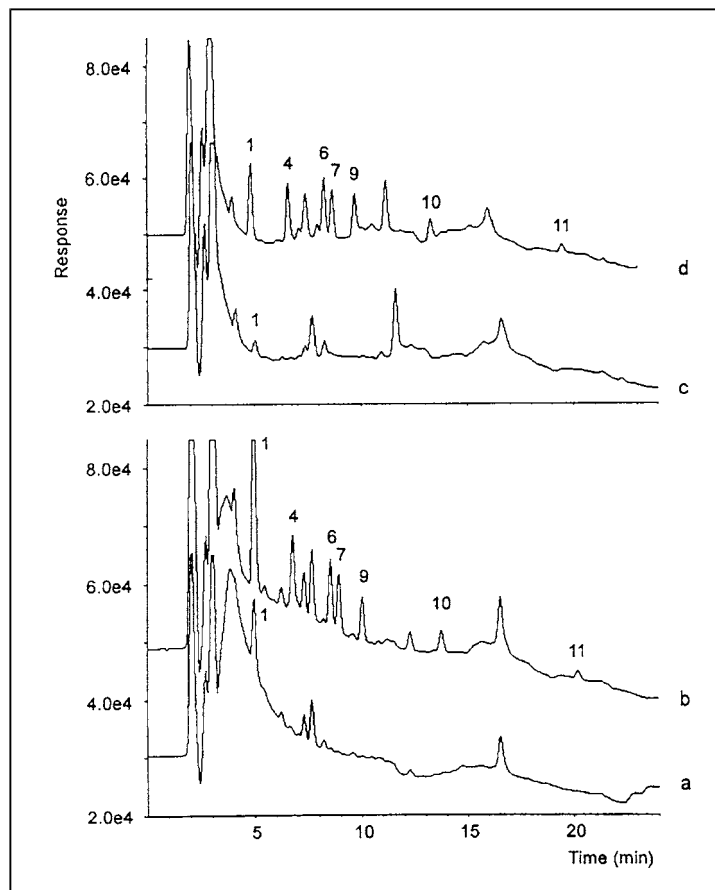


Fig. 2. Chromatograms obtained with EC detector when preconcentrating 25 ml tap water (pH 2.5) with (b,d) and without (a,c) addition of $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ of all analytes using Bond Elut PPL (a,b) and synthetic sorbent (c,d). Peaks as Fig. 1.

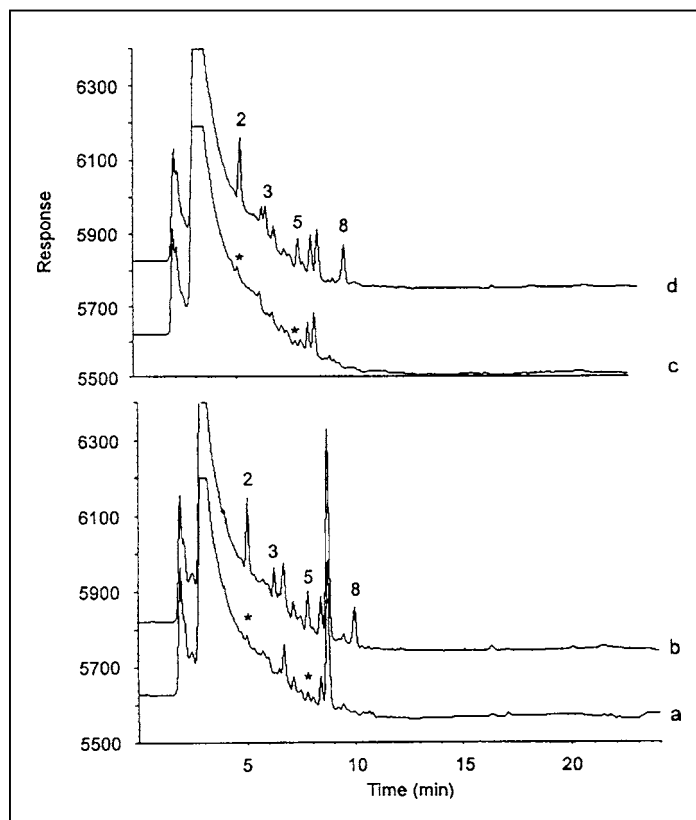


Fig. 3. Chromatograms obtained with UV detector when preconcentrating 25 ml tap water (pH 2.5) with (b,d) and without (a,c) addition of $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ of all analytes using Bond Elut PPL (a,b) and the synthetic sorbent (c,d). Peaks as Fig. 1.

In the EC chromatogram one peak appeared at the same retention time as phenol (see Fig. 2) and was identified from the electrochemical ratios of areas obtained by repeatedly injecting the same sample at different potentials (0.8, 0.9, 1.0 and 1.1 V) [6]. Table 3 gives the electrochemical ratios of two 25 ml standard solutions (one of Milli-Q water and the other of tap water) of $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ phenol. Phenol was present in tap water at 50 ng L^{-1} level. The repeatability and the reproducibility between days of

the method, expressed as the relative standard deviation of 5 analyses of tap water samples spiked at $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$, were <8% and 10%, respectively, for all compounds.

Table 2

Linear range and detection limits in on-line preconcentration of real samples with synthetic sorbent

Compound	Tap water ^{a)}			River water ^{b)}		
	Linear range ($\mu\text{g l}^{-1}$)	r^2	LOD (ng l^{-1})	Linear range ($\mu\text{g l}^{-1}$)	r^2	LOD (ng l^{-1})
Ph	0.05-2	0.9984	25	0.25-5	0.9998	77
4-NP	0.05-20	0.9998	13	0.1-20	0.9992	25
2,4-DNP	0.1-20	0.9998	25	0.1-20	0.9994	30
2-CP	0.05-2	0.9985	12	0.1-5	0.9999	22
2-NP	0.075-20	0.9998	30	0.1-20	0.9993	36
2,4-DMP	0.05-2	0.9998	25	0.1-2	0.9999	30
4-C-3-MP	0.05-2	0.9977	32	0.1-2	0.9994	28
2-M-4,6-DNP	0.05-20	0.9998	24	0.1-20	0.9993	34
2,4-DCP	0.05-2	0.9993	15	0.1-2	0.9990	24
2,4,6-TCP	0.075-5	0.9998	35	0.1-5	0.9983	32
PCP	0.1-2	0.9975	27	0.1-5	0.9995	30

^{a)}Analysis of 25 ml tap water at pH 2.5 (with 500 μl sulphite for each 100 ml sample).

^{b)}Analysis of 10 ml Ebro river water at pH 2.5 (with 1000 μl sulphite for each 100 ml sample).

Table 3
Electrochemical ratios of peak areas with same retention time as phenol at different voltages

Sample	Ratio of voltages						
	0.8/0.9 V	0.8/1.0 V	0.8/1.1 V	0.9/1.0 V	0.9/1.1 V	1.0/1.1 V	
Standard solution of phenol	0.19	0.13	0.13	0.70	0.66	0.94	
Tap water	0.16	0.12	0.11	0.72	0.63	0.90	
Ebro river water	0.15	0.14	0.10	0.76	0.69	0.91	
Llobregat river water	0.23	0.12	0.07	0.52	0.32	0.61	
Ter river water	0.14	0.06	0.05	0.46	0.38	0.82	

Ten and 25 ml samples of Ebro river water were preconcentrated with the synthetic sorbent; 1000 μl of 10% Na_2SO_3 solution was added for each 100 ml of river water. Even when sulphite was added to preconcentrate 25 ml of Ebro river water, the matrix peak at the beginning of the chromatogram masked the phenol peak and prevented it from being identified and quantified. For this reason 10 ml was selected to check the linearity with this sample. The results of the linearity study and the detection limits, calculated by the ULC program [29], are shown in Table 2. No peaks corresponding to phenols were observed in blank chromatograms. Recovery values were similar to those obtained with tap water. Fig. 4 shows chromatograms obtained in the preconcentration of 10 ml of Ebro river water from Amposta (Tarragona, Spain; June 1997) with and without standard addition of $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$ of each phenolic compound with both detectors. Two peaks appeared at the same retention time as Ph and 2,4-DCP in the EC chromatogram. The electrochemical ratios of the peak areas at different voltages for both analytes were determined, but 2,4-DCP was not identified. Phenol was identified and its concentration was $3 \mu\text{g l}^{-1}$ (see Table 3). Two peaks were tentatively identified as 4-NP and 2-NP in the UV chromatogram but their presence was not confirmed by an additional technique. The repeatability and the reproducibility between days, with Ebro river water, were similar to those obtained with tap water.

It is pointed out that phenol may be determined in river water without interference using the *o*-carboxybenzoyl sorbent with an addition of Na_2SO_3 . However, when other sorbents are used, phenol appears on the hump of the humic and fulvic acids and it cannot be determined in river water [2,10,22].

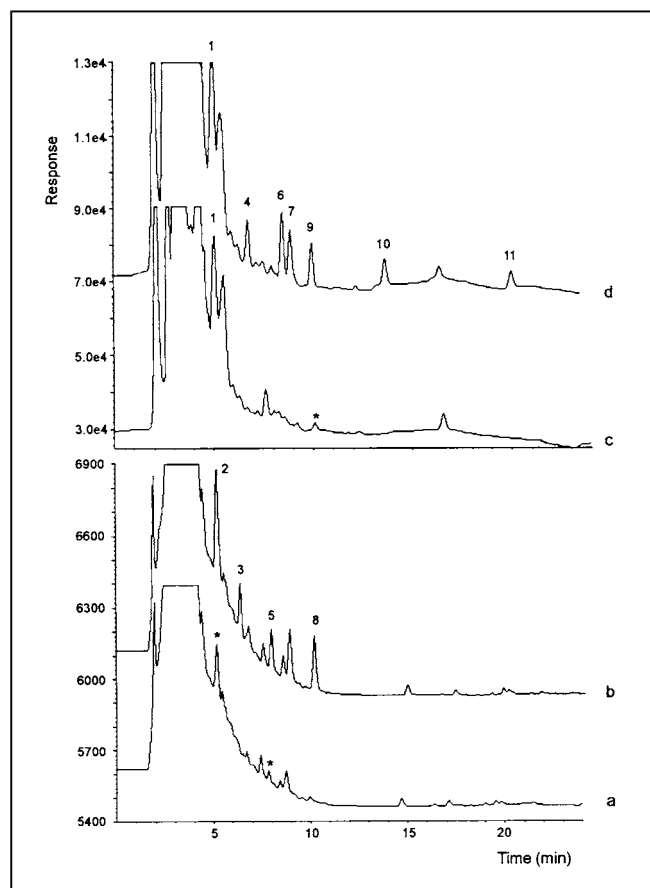


Fig. 4. Chromatograms with UV (a,b) and EC (c,d) detectors when preconcentrating 10 ml Ebro river water (pH 2.5) with (b,d) and without (a,c) addition of $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$ each phenolic compound using the synthetic sorbent. Peaks as Fig. 1.

Water samples from the Llobregat and Ter rivers (near Barcelona city) were also analysed; 10 ml from each river was preconcentrated. In both samples a peak appeared at the same retention time as phenol but, from the electrochemical ratios (see Table 3) it was not assigned to this compound. The rest of the phenolic compounds did not appear in these samples.

CONCLUSIONS

UV and electrochemical detectors coupled in series enabled nitrophenolic compounds which give low responses with electrochemical detection in liquid chromatography and gradient elution, to be determined in less than 25 min.

It has been shown that the *o*-carboxybenzoyl sorbent is more suitable for determining the eleven priority EPA phenolic pollutants in environmental waters than other commercially available sorbents, such as Envi-Carb and Bond Elut PPL, because it gives higher recoveries than Envi-Carb and similar ones to Bond Elut PPL but it had a narrower band at the beginning of the chromatogram, due to humic and fulvic acids present in natural waters. Addition of Na₂SO₃ to the samples enabled phenol to be detected without interference.

This method enabled the eleven phenolic compounds to be determined at levels <0.1 µg l⁻¹ in tap and river water, the maximum concentration allowed in water for human consumption.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to acknowledge the "Direcció General de Recerca de la Generalitat de Catalunya" for supporting this study. They also thank Scharlau (Barcelona, Spain) and Supelco (Bellefonte, PA, USA) for gifts of Bond Elut PPL and Envi-Carb, respectively.

REFERENCES

-
- [1] Drinking Water Directive 80/778/EEC. Commission of the European Communities. Brussels, 1980.
 - [2] D. Puig , D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
 - [3] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
 - [4] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
 - [5] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 738 (1996) 1.
 - [6] J. Ruana, I. Urbe, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 655 (1993) 217.
 - [7] D. Puig, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 63 .
 - [8] D. Puig, D. Barceló, *Trends Anal. Chem.*, 15 (1996) 362.
 - [9] M.T. Galceran, O. Jáuregui, *Anal. Chim. Acta*, 304 (1995) 75.
 - [10] O. Jáuregui, M.T. Galceran, *Anal. Chim. Acta*, 340 (1997) 191.
 - [11] E. Pocurull, G. Sánchez, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 31.
 - [12] M.C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 10 (1991) 317.
 - [13] G. Achilli, G.P. Cellerino, G. Melzi d'Eril, S. Bird, *J. Chromatogr. A*, 697 (1995) 357.
 - [14] J.Slobodník, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *J.Chromatogr. A*, 750 (1996) 227.
 - [15] A. Di Corcia, A. Bellioni, M.D. Madbouly, S. Marchese, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 383.
 - [16] C. Crescenzi, A. Di Corcia, G. Passariello, R. Samperi, M.I. Turnes Carou, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 41.
 - [17] J. Nolte, B. Graß, F. Heimlich, D. Klockow, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 357 (1997) 763.
 - [18] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 793 (1998) 257.
 - [19] O. Fiehn, M. Jekel, *Anal. Chem.*, 68 (1996) 3083.
 - [20] J. Koch, P. Völker, *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 23 (1995) 66.
 - [21] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.

- [22] Application Info 47, Spark Holland, 1995.
- [23] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schmidt, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 133.
- [24] L.W. Schmidt, J.J. Sun, J.S. Fritz, D.F. Hagen, C.G. Markell, E.E. Wisted, *J. Chromatogr.*, 641 (1993) 57.
- [25] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
- [26] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
- [27] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 803 (1998) 147.
- [28] P.J. Dumont, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 123.
- [29] R. Boqué, F.X. Rius, *J. Chem. Educ.*, 70 (1993) 230.

Els els capítols anteriors s'ha comentat que una de les limitacions més importants que presenten alguns dels sorbents convencionals és la baixa recuperació que proporcionen als analits de caràcter més polar. Per a solventar aquesta problemàtica, en els darrers anys han sorgit nous sorbents que es basen fonamentalment en copolímers altament entrecreuats, comercialitzats sota diferents noms, i polímers químicament modificats, com els preparats en els treballs inicials d'aquest capítol. Aquests sorbents presenten un elevat potencial per a la retenció de diferents tipus d'analits, sobretot els compostos més hidrofílics. Aquest fet ha marcat el desenvolupament d'aquest nou treball, l'objectiu del qual ha estat comparar tres sorbents comercials de diferents característiques en l'extracció d'un grup de vuit compostos fenòlics i plaguicides polars. Alguns d'aquests analits coincideixen amb els emprats anteriorment, d'aquesta manera els resultats produïts es podran comparar amb els obtinguts amb els sorbents emprats en els altres treballs presentats fins ara, com per exemple el PLRP-S, el LiChrolut EN, l'Amberchrom GC-161m, ...

Els tres sorbents escollits per a realitzar aquest treball han estat un carbó negre grafititzat (Carbopack B), una reïna polimèrica químicament modificada (Bond Elut PPL) i un polímer altament entrecreuat (HYSphere-1). Aquests sorbents s'han seleccionat perquè són de diferents tipus, essent els dos últims comercialitzats darrerament i recomenats tots tres per a l'extracció de compostos polars. El Bond Elut PPL és recomanat per a l'extracció de compostos d'elevada polaritat, com ara els compostos fenòlics; el HYSphere-1 ha proporcionat recuperacions elevades per tots els onze compostos fenòlics regulats per la EPA i alguns plaguicides [1,2]; i els sorbents de carbó també han donat recuperacions elevades en l'extracció d'aquests analits [3-5].

Com en tots els treballs previs, aquests sorbents han estat avaluats en la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb detecció ultraviolada. Els analits també s'han eluït en contracorrent emprant solament el solvent orgànic de la fase mòbil.

Per tal d'assolir l'objectiu d'aquest treball, en el primer pas comparatiu entre els tres sorbents s'han enregistrat les corresponents corbes de ruptura pel fenol mitjançant el mètode ja emprat en els apartats anteriors. Les corbes obtingudes s'han pogut comparar amb les enregistrades amb altres sorbents utilitzats en treballs previs.

La segona comparació dels sorbents s'ha dut a terme amb la determinació dels corresponents volums de ruptura per a la resta d'analits. D'aquest estudi s'ha escollit el sorbent amb capacitat de retenció més gran (el HYSphere-1), i també el volum màxim de mostra a preconcentrar sense que hi hagi elució dels analits, per aplicar-ho als següents estudis.

Seguidament, s'ha avaluat aquest sorbent per a la determinació d'aquests analits en mostres d'aigua de l'aixeta i del riu Ebre. Amb la finalitat d'eliminar la interferència de les substàncies húmiques presents en aquestes matrius que apareix a l'inici dels cromatogrames, s'ha addicionat Na_2SO_3 i s'ha obtingut l'efecte demostrat en treballs precedents inclosos en aquest capítol [6].

Finalment, s'ha validat el mètode desenvolupat per a la determinació d'aquest analit en aigua de l'aixeta emprant el sorbent HYSphere-1 en l'extracció en fase sòlida.

Els estudis presentats en aquest treball han estat publicats en la revista *Journal of Chromatography A*, 793 (1998) 257-263 dels quals s'inclou una còpia a continuació.

Bibliografia

- 1 Application Info 47, Spark Holland, 1995.

- 2 I. Ferrer, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 161.
- 3 A. Di Corcia, A. Bellioni, M. Diab Madbouly, S. Marchese, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 383.
- 4 C. Crescenzi, A. Di Corcia, G. Passariello, R. Samperi, M.I. Turnes Carou, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 41.
- 5 J. Slobodník, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 750 (1996) 227.
- 6 N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 803 (1998) 147.

COMPARISON OF DIFFERENT SORBENTS FOR ON-LINE SOLID-PHASE EXTRACTION OF PESTICIDES AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM NATURAL WATER FOLLOWED BY LIQUID CHROMATOGRAPHY

ABSTRACT

Three different sorbents, Carbopack B, a carbon black, Bond Elut PPL, a functionalized polymeric resin, and HYSphere-1, a highly crosslinked polymeric resin, in a steel precolumn of 10x3 mm I.D., were compared for solid-phase extraction (SPE) of a group of pesticides and phenolic compounds in water which was on-line coupled to reversed-phase liquid chromatography and UV detection. HYSphere-1 gave a higher breakthrough volume for phenol, one of the most polar compounds studied and enabled 100 ml of water to be concentrated with no significant losses of the compounds studied (73% for phenol). Recoveries in tap water were between 67% for phenol and 86% for eight polar analytes, and detection limits between 0.03 $\mu\text{g l}^{-1}$ and 0.17 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Keywords: Pesticides; Phenolic compounds

INTRODUCTION

Phenolic compounds and pesticides are important water pollutants which are subject to legislation because of their toxicity, even at low concentrations. A European Community (EC) Directive specifies a legal tolerance level of $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ for each phenolic compound or pesticide and $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$ for the sum of all compounds in water intended for human consumption [1,2].

Pesticides are usually determined by gas chromatography (GC) or reversed-phase liquid chromatography (RPLC) with a variety of detection systems [3-8]. Phenolic compounds are usually determined by RPLC with different detection systems such as UV and DAD [7-13], electrochemical [10,12] or fluorescence [8,14]. Chromatographic techniques cannot reach the low levels allowed in natural waters and so samples need to be preconcentrated.

Nowadays, solid-phase extraction (SPE) is the most important technique for sample enrichment, because it overcomes many of the disadvantages of liquid-liquid extraction (LLE) [15]. Several sorbents have been tested for determining pesticides and phenolic compounds. The most widely used sorbents for these analytes are C_8 and C_{18} chemically bonded to silica [11,16-20], carbon black [21,22] and polymeric resins (such as PLRP-S) [3,4,10-12,20]. The most polar compounds have low breakthrough volumes with these sorbents [3,11] except for carbon material [23] and for some highly cross-linked styrene-divinylbenzenes (Envi-Chrom P) [10,11].

In recent years, chemically modified polymeric resins with a polar functional group have been developed and used in the SPE of these compounds, and the breakthrough volumes were higher than those obtained with their unmodified analogues [7,8,13,24,25].

Recently, new highly cross-linked styrene-divinylbenzene packing materials, such as LiChrolut EN [6-9,26,27], Styrosorb and Macronet Hypersol [28], Isolute ENV [9] and HYSphere-1 [29] have become available. These sorbents have a higher

degree of cross-linking, and so have an open structure (high-porosity materials), which increases their specific surface area [30] and allows greater π - π interactions between analytes and sorbent. This means that the breakthrough volumes will be higher than the ones obtained when less cross-linked sorbents are used.

In this work, three different sorbents, a carbon black (Carbopack B), a functionalized polymeric resin (Bond Elut PPL) and a highly cross-linked polymeric resin (HYSphere-1), are compared for the SPE of some polar pesticides and phenolic compounds from surface and drinking waters.

These sorbents have been chosen because Bond Elut PPL has been recommended for the extraction of highly polar species such as phenolic compounds from large volumes of water samples, HYSphere-1 provides high recoveries for the eleven EPA priority phenols as has been previously reported [29], and the carbon black sorbents have given high recovery values for the off-line SPE of pesticides and phenolic compounds [21-23], although they do have some problems with the on-line SPE because of the peak broadening caused by the analytes being strongly retained by carbon. But, in this work, the analytes were desorbed in the backflush mode only by the organic solvent of the mobile phase to prevent the peaks from broadening.

EXPERIMENTAL

Equipment

The chromatographic experiments were performed using two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps with a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. The column oven was a Shimadzu CTO-10A and the standard solutions were injected through a Rheodyne (Cotati, CA, USA) valve with a 20 μ l loop. The nine analytes were completely separated using a 250x4.6 mm I.D. stainless-steel column packed with Spherisorb ODS2, 5 μ m (Teknokroma, Barcelona, Spain). The chromatographic data were collected and recorded using an HP-3365 Series II Chemstation which was controlled by Windows 3.11(Microsoft).

An automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands) was used in on-line SPE. The on-line trace enrichment process was carried out using steel precolumns of 10x3 mm I.D. purchased from the Free University (Amsterdam, The Netherlands) and laboratory-packed with the above-mentioned sorbents. An Applied Biosystems 400 pump (Ramsey, MN, USA) was used to deliver the sample.

Chemicals

The compounds studied were: the phenolic compounds phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP) and 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP), and the pesticides simazine and atrazine (triazines), methomyl and oxamyl (carbamates), MCPA (chlorphenoxy acid) and bentazone (diazine). The phenolic compounds were purchased from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany), and the pesticides, except bentazone which was obtained from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany), were from Riedel-de Haën (Seelze, Germany).

HPLC-gradient-grade acetonitrile (Scharlau, Barcelona, Spain) and Milli-Q quality water, adjusted to pH 3 with sulphuric acid (Probus, Badalona, Spain), were used to prepare the mobile phase.

A stock standard solution of 2000 mg l⁻¹ of each compound was prepared in methanol. Working standard solutions were prepared daily by diluting the stock standard solutions with Milli-Q purified (Millipore), tap or river water. All solutions were stored at 4°C in the refrigerator. Hydrochloric acid (Probus, Badalona, Spain) was added to adjust the pH of the sample to 2.5 before the SPE. Different volumes of 10% solution of Na₂SO₃ (Panreac, Barcelona, Spain) were added to real samples in order to eliminate the free chlorine in tap water, which may react with phenols and produce chlorophenols, and to reduce the peak that appears at the beginning of the chromatogram because of the presence of humic and fulvic acids [13]. Tap and river water samples were filtered through a 0.45 µm nylon membrane (MSI, Westboro, MA, USA) before the preconcentration step to eliminate particulate matter.

Chromatographic Conditions

The gradient elution was carried out with Milli-Q water at pH 3 (solvent A) and acetonitrile as organic modifier (solvent B). The flow-rate was 1ml min⁻¹ and the temperature of the column oven was set at 65°C. The solvent program was a linear gradient from 20% B to 40% B in 20 min, 100% B at 25 min, isocratic for 2 min, and the mobile phase returned to initial conditions in 2 min for subsequent analysis runs. The detection was performed at 280 nm for phenolic compounds and at 240 nm for pesticides, except for MCPA which was quantified at 230 nm. The wavelength program used allows each compound to be detected at its maximum absorbance.

On-line Trace Enrichment

On-line trace enrichment was carried out using three different sorbents: a carbon black Carbopack B 120/400 (Supelco, Bellefonte, PA, USA), a highly cross-linked styrene-divinylbenzene copolymer, HYSphere-1 (5 μm) (Spark Holland, Emmen, Netherlands) and Bond Elut PPL (125 μm) (Varian, Harbor City, CA, USA). The last of these sorbents is a functionalized polymeric resin.

As a pretreatment step, the water samples were acidified with hydrochloric acid to pH 2.5 in order to prevent the analytes from taking their ionic form.

The Must automatic column-switching device was used in the SPE process, which enabled the sample preconcentration program shown in Table 1 to be automated. The Applied Biosystems 400 pump was used to deliver the sample and the conditioning solutions.

The analytes were desorbed in the backflush mode, only by the organic solvent (acetonitrile) of the mobile phase, so as to prevent the peaks from broadening due to the different nature of the analytical column and the precolumn sorbent. So the sample band in the precolumn was compressed into a narrow band before entering the analytical column and the band broadening effect reduced [11].

Table 1
Sample preconcentration program in the on-line SPE process

Step	Time (min)	Flow rate (ml min ⁻¹)	Event
1	0	2	Washing tubes with acetonitrile
2	5	2	Conditioning precolumn with acetonitrile
3	6	2	Washing tubes with Milli-Q water at pH 2.5
4	11	2	Activating precolumn with Milli-Q water at pH 2.5
5	12	2	Washing tubes with sample

RESULTS AND DISCUSSION

Before the on-line solid-phase extraction study, gradient elution and wavelength were optimized in order to separate the nine compounds in a short analysis time. Fig. 1 shows the chromatogram obtained in the analysis of a standard solution of 10 mg l^{-1} of analytes in optimum conditions. These optimum conditions have been described previously. Good linearity was found, for all compounds, between 0.05 or 0.1 and 40 mg l^{-1} and regression coefficients (r^2) were higher than 0.9995. Detection limits were calculated by the statistical program ULC (Univariate Linear Calibration) with k equal to 6 [31] and the values found were between $10 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for oxamyl and $32 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ for phenol.

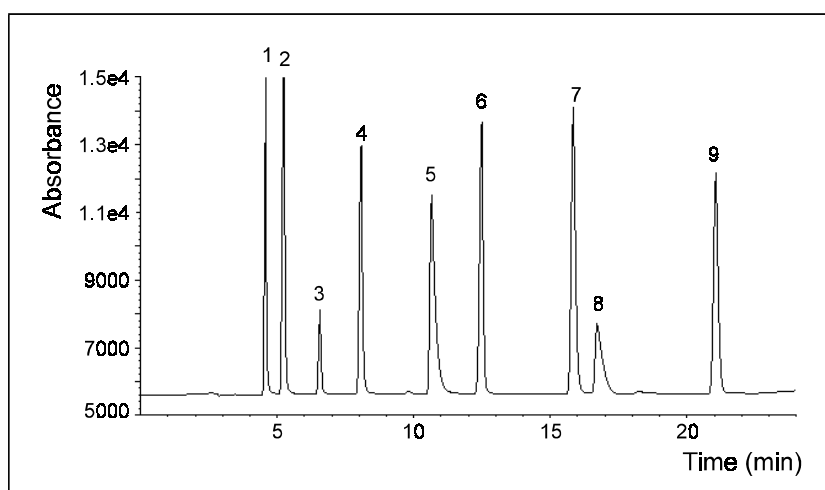


Fig. 1. Chromatogram of standard solution of 10 mg l^{-1} of compounds. For conditions, see text. Peaks: (1) oxamyl, (2) methomyl, (3) phenol, (4) 4-nitrophenol, (5) 2,4-dinitrophenol, (6) bentazone, (7) simazine, (8) MCPA and (9) atrazine.

Comparison of Sorbents

To compare the three sorbents used, the breakthrough curves of phenol for each sorbent were obtained introducing a standard solution of 10 mg l^{-1} of phenol in Milli-Q water at pH 2.5 (with HCl) directly into the UV detector at 280 nm bypassing the Rheodyne with the precolumn, and when a stable response was obtained, the Rheodyne valve was moved so that the sample passed through the sorbent at 1 ml min^{-1} . If the breakthrough is the volume at which the detector reaches 10% of its 100% value, the breakthrough volumes for phenol obtained with these sorbents were 2 ml with Carboxen B 120/400, 14 ml with Bond Elut PPL and 22 ml with HYSphere-1. The breakthrough volumes for Ph with Bond Elut PPL and HYSphere-1 were higher than the ones obtained with other commercial sorbents such as C_{18} , PLRP-S, Envi-Chrom P and Amberchrom [7,8,29]. The chemically modified polymeric resin, Bond Elut PPL, gave breakthrough volumes for Ph which were similar to the ones obtained with chemically modified polymeric sorbents synthesized in our laboratory in previous works [7,8,13]. HYSphere-1 had a greater capacity than Bond Elut PPL because of its higher degree of cross-linking, which increases the specific surface area [30], and its smaller particle size (HYSphere-1 $5 \text{ }\mu\text{m}$ and Bond Elut PPL $125 \text{ }\mu\text{m}$) which increases the surface area between the water sample and the sorbent and allows more interactions between the analytes and the resin surface. The use of an SPE sorbent with a smaller particle size has a positive effect on capacity and efficiency [29].

To study the breakthrough volumes for all compounds, different sample volumes (50, 100 and 200 ml) of a standard solution of the analyte mixtures were preconcentrated in the three sorbents. The results of this study are shown in Table 2, where it can be seen that better recoveries were obtained for all compounds with HYSphere-1. When 100 ml of $2 \text{ }\mu\text{g l}^{-1}$ was analyzed, the recovery value for phenol was 43% with Bond Elut PPL, whereas with HYSphere-1 it was 73%. For the rest of

the compounds both sorbents gave similar recoveries, between 77-78% for methomyl and 87-88% for simazine. When Carbopack B was used, recoveries lower than 68% were obtained for all compounds (3% for phenol), except for simazine, MCPA and atrazine, the values of which were similar to the ones for HYSphere-1 and Bond Elut PPL. The recoveries for oxamyl and methomyl (35 and 68% respectively) with Carbopack B were similar to the recoveries when another graphitized carbon black (Envi-Carb) was used by other authors [23]. When 200 ml of a standard solution at a level of $1 \mu\text{g l}^{-1}$ was analyzed with Bond Elut PPL and HYSphere-1 the recoveries did not decrease, except for phenol which had values of 23% with Bond Elut PPL and 50% with HYSphere-1. For these reasons, 100 ml of sample and HYSphere-1 sorbent were selected for further analysis. The typical relative standard deviation (R.S.D.) were 2-3%, and they were invariably lower than 8% ($n=6$). Fig. 2 shows the chromatograms obtained when analysing 100 ml of a standard solution of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ and it can be seen that there was no peak broadening in the chromatogram when precolumns with sorbents such as carbon black or highly cross-linked polymeric resin were coupled to a C_{18} analytical column.

Table 2

Recovery values obtained preconcentrating different sample volumes with the three sorbents ($n=6$)

Compound	Carbopack B		Bond Elut PPL			Hysphere-1		
	50 ml	100 ml	50 ml	100 ml	200 ml	50 ml	100 ml	200 ml
Oxamyl	68	35	82	82	81	82	82	82
Methomyl	80	68	79	77	74	78	78	80
Ph	7	3	68	43	23	77	73	50
4-NP	57	38	86	86	86	84	83	83
2,4-DNP	24	27	85	87	89	84	86	86

Bentazone	64	54	82	82	83	86	82	83
Simazine	86	88	85	88	89	86	87	89
MCPA	82	102	83	86	86	79	87	86
Atrazine	82	83	81	82	82	83	83	84

For all conditions, see text.

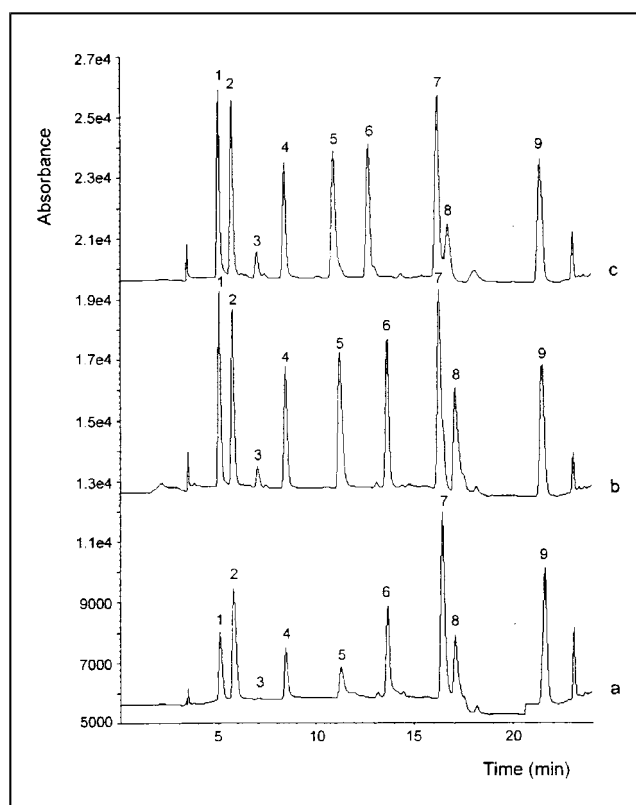


Fig. 2. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment of 100 ml of standard solution of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ using as a precolumn (a) Carboxypack, (b) Bond Elut PPL and (c) Hysphere-1. For peak assignation, see Fig. 1.

Application

The performance of the method was tested on real samples using HYSphere-1 as sorbent. When real samples were analysed, we added 0.5 ml and 1 ml of 10% Na₂SO₃ solution for every 100 ml of tap and Ebro river water, respectively [13], in order to decrease the initial band due to humic and fulvic acids, and also to prevent the formation of chlorinated compounds when a standard solution of phenolic compounds are added to a real sample with residual chloride. The recoveries for real samples, including the Na₂SO₃ treatment, were similar to the ones obtained when Milli-Q water was used. Recovery values of 67-85 and 64-80% were obtained for tap water and Ebro river water, respectively.

The linearity of the response for the total analytical system, including the preconcentration step with the HYSphere-1 sorbent, was checked for a volume of 100 ml of tap water spiked at different concentrations. The results obtained for the linear range and the detection limits (with *k* equal to 6) [31] are shown in Table 3.

Table 3

Study of the linear range and detection limits in the preconcentration of 100 ml of tap water at pH 2.5 and with 0.5 ml of 10% Na₂SO₃ solution added

Compound	Linear range ($\mu\text{g l}^{-1}$)	r^2	Detection limit ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Oxamyl	0.2-50	0.9998	0.06
Methomyl	0.2-50	0.9997	0.06
Ph	0.5-50	0.9987	0.17
4-NP	0.1-50	0.9997	0.03
2,4-DNP	0.2-50	0.9997	0.07
Bentazone	0.2-50	0.9998	0.07

Simazine	0.2-50	0.9994	0.06
MCPA	0.2-50	0.9992	0.07
Atrazine	0.2-50	0.9996	0.07

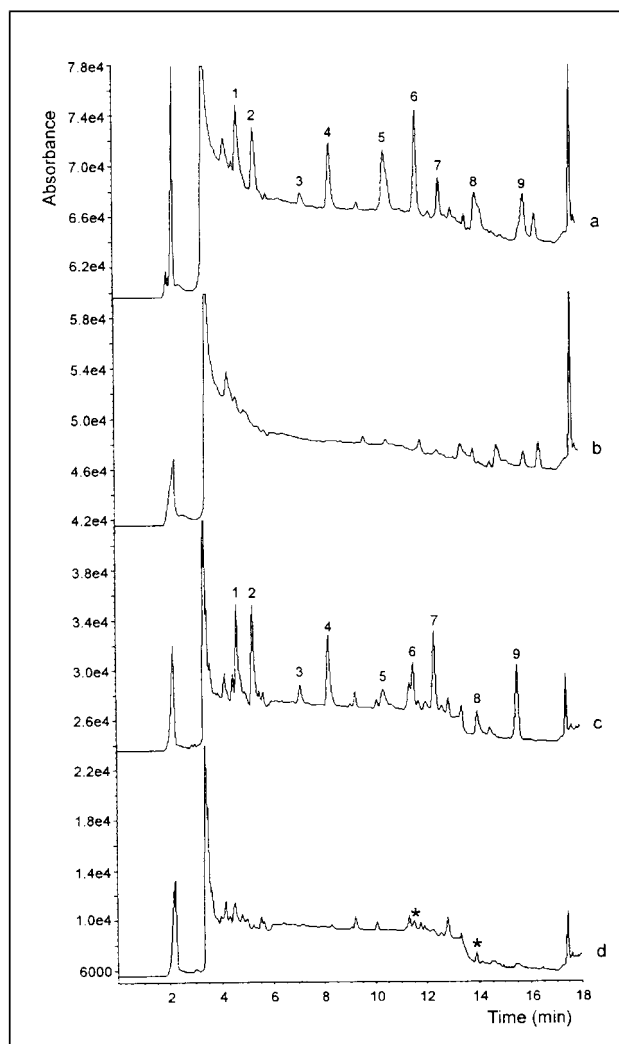


Fig. 3. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment of 100 ml of tap water with and without standard addition of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of compounds (a,b) and 100

ml of Ebro river water with and without standard addition of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of compounds (c,d). For peak assignation, see Fig. 1.

Fig. 3 shows the chromatograms for 100 ml of tap and Ebro river water with and without standard addition of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ of compounds. It should be pointed out that the retention times of some analytes in this figure are slightly different to those in Figs. 1 and 2 because the analytical column had been replaced by another one. In the Ebro river water sample two peaks at the same retention time than bentazone and MCPA appeared in the chromatogram, which would correspond to concentrations of 0.24 and $0.52 \mu\text{g l}^{-1}$, respectively. Because of their low concentrations, the presence of the herbicides could not be confirmed by LC-PB-MS available in our laboratory [32].

CONCLUSIONS

This study demonstrated that HYSphere-1 has higher recoveries for some pesticides and phenolic compounds in surface and tap water than other commercially available sorbents such as Bond Elut PPL and Carboxen B.

Pesticides and phenolic compounds at low $\mu\text{g l}^{-1}$ levels could be efficiently concentrated from 100 ml of water sample volume by on-line SPE with HYSphere-1 and quantitative recoveries were obtained.

Problems arising from high contents of fulvic and humic acids were solved by adding 10% Na_2SO_3 solution to the samples.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to acknowledge the "Direcció General de Recerca de la Generalitat de Catalunya" for supporting this study. They also thank Spark Holland (Emmen, The Netherlands) and Scharlau (Barcelona, Spain) for gifts of HYSphere-1 and Bond Elut PPL, respectively.

REFERENCES

- [1] Drinking Water Directive 80/778/EEC, Commission of the European Communities, 1980.
- [2] EEC Drinking Water Guideline 80/779/EEC, EEC No L229/11-29, 1980.
- [3] R.M. Marcé, H. Prosen, C. Crespo, M. Calull, F. Borrull, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 63.
- [4] I. Liska, E.R. Brouwer, A.G.L. Ostheimer, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 47 (1992) 267.
- [5] C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 754 (1996) 77.
- [6] C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 221.
- [7] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
- [8] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
- [9] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
- [10] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 738 (1996) 1.
- [11] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [12] D. Puig, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 63.
- [13] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 803 (1998) 147.
- [14] G. Lampretch, J.F.K. Huber, *J. Chromatogr. A*, 677 (1994) 47.
- [15] M.C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 10 (1991) 317.
- [16] P. Parrilla, J.L. Martinez Vidal, M. Martinez Galera, A.G. Frenich, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 350 (1994) 633.

-
- [17] G. Achilli, G.P. Cellerino, G. Melzi d'Eril, S. Bird, *J. Chromatogr. A*, 697 (1995) 357.
- [18] G.W. Somsen, I. Jagt, C. Gooijer, N.H. Velthorst, U.A.Th. Brinkman, T. Visser, *J. Chromatogr. A*, 756 (1996) 145.
- [19] V. Pichon, M.C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.
- [20] S. Lacorte, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 296 (1994) 223.
- [21] A. Di Corcia, A. Bellioni, M. Diab Madbouly, S. Marchese, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 383.
- [22] C. Crescenzi, A. Di Corcia, G. Passariello, R. Samperi, M.I. Turnes Carou, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 41.
- [23] J. Slobodnik, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 750 (1996) 227.
- [24] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 590 (1992) 197.
- [25] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schmidt, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 133.
- [26] O. Fiehn, M. Jekel, *Anal. Chem.*, 68 (1996) 3083.
- [27] A. Junker-Buchheit, M. Witzenbacher, *J. Chromatogr. A*, 737 (1996) 67.
- [28] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.
- [29] Application Info 47, Spark Holland, 1995.
- [30] M. Galià, F. Svec, J.M.J. Frechet, *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, 32 (1994) 2169.
- [31] R. Boqué, X. Rius, *J. Chem. Educ.*, 70 (1993) 230.
- [32] C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *Chromatographia*, 43 (1996) 592.

En els capítols anteriors d'aquesta Part Experimental s'ha observat que els polímers altament entrecreuats i els químicament modificats són els sorbents que han proporcionat unes recuperacions més elevades en l'extracció en fase sòlida dels analits més polars. Aquests resultats es deuen bàsicament a l'elevat grau entrecreuament dels primers que proporciona una major àrea superficial, i a la superfície hidrofílica dels últims [1-4].

Tal com ja s'ha esmentat en el Capítol II, les propietats físiques que caracteritzen cada sorbent exerceixen un important efecte sobre la retenció dels analits. A més, el grau baix de funcionalització en les modificacions presentades prèviament s'ha assignat a la difícil accessibilitat dels reactius dins l'estructura del polímer. Aquests fets han promogut la realització del present treball, en què s'avalua l'efecte de les diferents propietats físiques de les reïnes sobre les recuperacions en el procés de SPE i sobre el grau de funcionalització en la modificació química de les mateixes.

Per tal d'assolir els objectius plantejats s'han escollit tres reïnes comercials de PS-DVB amb diferents propietats físiques (àrea superficial, diàmetre de porus i diàmetre de partícula) que han estat, per ordre creixent d'àrea superficial, el PLRP-S 30, el PLRP-S 10 i l'Amberchrom GC-161m. Aquestes reïnes s'han modificat químicament introduint el grup *o*-carboxibenzoil, segons el mètode emprat en el treball de l'apartat III.3, ja que és el grup que ha proporcionat un menor grau de modificació. Per tant, un dels objectius d'aquest treball consisteix en intentar augmentar el grau de funcionalització en la modificació amb aquest grup variant les propietats físiques de la reina de partida.

Els tres sorbents comercials i els tres respectius funcionalitzats s'han empaquetat en precolumnes de 10x3 mm de diàmetre intern i s'han comparat en la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb detecció ultraviolada. Els analits en aquest cas han estat eluïts en el mateix sentit de la

càrrega de la mostra, ja que s'ha observat que no es produïa eixamplament dels pics, emprant únicament el solvent orgànic (acetonitril) de la fase mòbil.

Els analits seleccionats per a avaluar aquests sorbents han estat una mescla de compostos fenòlics, plaguicides i metabòlits d'aquests últims d'elevada polaritat. En aquest treball també s'ha addicionat Na_2SO_3 a les mostres d'aigua del riu Ebre per la seva capacitat de disminuir la banda inicial corresponent a les substàncies húmiques.

Per a iniciar aquest treball s'ha dut a terme la modificació de les tres reïnes mitjançant una reacció de Friedel-Crafts. Aquestes modificacions s'han realitzat a tres temperatures diferents per a avaluar l'efecte de la temperatura sobre l'extensió de la reacció. Un cop modificats, els tres polímers s'han caracteritzat per espectroscòpia infraroja i anàlisi elemental. D'aquesta manera s'ha pogut comprovar si existeix una influència de les diferents propietats físiques de les reïnes sobre el grau de funcionalització en aquesta modificació.

Un cop optimitzada la separació cromatogràfica dels analits, el següent pas ha consistit en la determinació dels volums de ruptura i les recuperacions de tots els analits amb tots els sorbents en preconcentrar diferents volums de dissolucions estàndard [5]. Aquest estudi ha permès avaluar l'efecte de les diferents propietats físiques d'aquests sorbents en el procés d'extracció. Observant aquests resultats es pot determinar quin sorbent és el més adequat per a l'extracció d'analits d'elevada polaritat, i així identificar quina és la propietat física que té més influència en la capacitat de retenció d'un sorbent.

Fent una comparació de les recuperacions obtingudes amb els sorbents comercials, no funcionalitzats, i les obtingudes amb les corresponents reïnes modificades es pot observar la influència de la modificació química amb un grup hidrofílic sobre la retenció d'analits d'elevada polaritat, tal i com ja s'havia demostrat en treballs previs d'aquesta Tesi Doctoral.

Un cop trobat el sorbent més adequat dels sis estudiats per extreure aquests compostos polars, així com el volum màxim de mostra a preconcentrar sense que es produeixi elució dels analits, s'ha passat a validar el mètode analitzant mostres d'aigua del riu Ebre.

Els estudis realitzats, així com els resultats obtinguts, s'han recollit en el treball publicat en la revista *Journal of High Resolution Chromatography*, 22 (1999) 547-552, del qual s'inclou una còpia a continuació.

Bibliografia

- 1 M. Galià, F. Svec, J.M.J. Frechet, *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, 32 (1994) 2169.
- 2 I. Ferrer, D. Barceló, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 180.
- 3 M-C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 856 (1999) 3.
- 4 N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Trends Anal. Chem.*, 17 (1998) 384.
- 5 V. Pichon, M-C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.

FUNCTIONALIZED POLYMERIC SORBENTS FOR SOLID-PHASE EXTRACTION OF POLAR POLLUTANTS

ABSTRACT

This study assesses how the physical characteristics of styrene-divinylbenzene (PS-DVB) resins affect the extent to which they are modified when they are functionalized, and how they affect recoveries in the on-line solid-phase extraction (SPE) of some polar phenolic compounds, pesticides and metabolites from water samples which were analyzed by liquid chromatography and UV detection. For this purpose, three commercial PS-DVB resins with different physical characteristics (Amberchrom GC-161m and two different PLRP-S resins) were chemically modified by placing a hydrophilic group, an *o*-carboxybenzoyl moiety, on their surface; although the physical characteristics are different, the extent of the modification did not vary significantly. The results from the SPE process with each sorbent were related to their physical and chemical properties. The polymers with higher surface area provided better recoveries. Moreover, the recoveries for these analytes were better with the chemically-modified polymers due to the higher polarity of these sorbents. The best recovery values were with the sorbent obtained from the chemical modification of Amberchrom GC-161m, the commercial sorbent with higher surface area. For instance, in the analysis of 50 ml of a sample of $2 \mu\text{g l}^{-1}$, the recovery of phenol was 40% with Amberchrom GC-161m and 65% with the chemically-modified Amberchrom GC-161m.

Keywords: Water analysis; Polar pollutants; Solid-phase extraction; Chemically-modified polymeric resins.

INTRODUCTION

Solid-phase extraction (SPE) is the most important technique for sample enrichment in water analysis. There are many applications in off-line and on-line SPE methods but, at present, on-line methods are preferred because of their advantages over off-line procedures [1,2].

Several types of sorbents have been developed, such as chemically bonded silica, carbon blacks and styrene-divinylbenzene copolymers (PS-DVB). The most problematic compounds are the polar ones, whose breakthrough volumes are low in most of the sorbents mentioned. On using recently developed sorbents, such as highly crosslinked polymers and chemically-modified polymeric resins, the breakthrough volumes are usually higher [3].

Highly crosslinked polymers have an open structure (high-porosity materials) which increases their specific surface area and allows greater π - π interactions between analytes and sorbents [3,4]. The breakthrough volumes will therefore be higher than those obtained when less crosslinked sorbents are used. Some highly crosslinked polymers are Lichrolut EN, Envi-Chrom P, Styrosorb, Isolute ENV and HYSphere-1 which have been found to give higher recoveries than the classical SPE sorbents in the trace enrichment of polar analytes from aqueous samples [3, 5-11].

Chemically-modified polymeric resins of PS-DVB have a higher surface polarity than underivatized PS-DVB, and for this reason polar analytes are retained more in these sorbents (π - π and polar interactions) [3]. Different polar functional groups such as acetyl [5,12-15], hydroxymethyl [13,14], benzoyl [6] and *o*-carboxybenzoyl [16-18] have been introduced into polymeric resins. There are also some commercially available functionalized PS-DVB such as Bond Elut PPL [7,17]. Due to their hydrophilicity, these sorbents have given higher recoveries than their

unmodified analogues, mainly for the most polar analytes [5,12-14].

As well as the functionalization and the crosslinking degree of the polymeric SPE sorbents, their physical characteristics (pore volume, pore size and surface area) also exert a considerable effect on the recovery of the analytes. Particle size can also affect the retention, but in porous materials this effect is very small in comparison to the increase in retention observed with an increase in specific surface area and/or a decrease in pore size (which are strongly inter-related). Nevertheless, some authors [8] obtained a higher breakthrough volume of phenol when a highly crosslinked sorbent (HYSphere-1) with smaller particles was used. A lower surface area generally means that the sorbent will have a somewhat less capacity. This was demonstrated by some authors [9,19,20] and the explanation given was that more interactions were possible between the analytes and the sorbent. Similarly, pore size and surface area can also affect the degree of functionalization in the chemical modification of the polymeric resins. The highly porous materials have a higher real active surface available which enables easier accessibility to the reactive sites, thus allowing the degree of functionalization to be increased.

The aim of this paper is to assess the effect of the different physical characteristics of PS-DVB resins on the recoveries in the SPE process and on the extent of the modification in the functionalization of these sorbents. Three polymeric resins modified with an *o*-carboxybenzoyl moiety were synthesized from various commercial PS-DVB resins with different physical characteristics. They were tested for the on-line SPE of some polar phenolic compounds, pesticides and metabolites which were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection. These sorbents were compared one another and to their unmodified analogues, and the differences in sorbent behaviour were correlated with their physical characteristics.

EXPERIMENTAL

Reagents and Standards

The eight target compounds can be divided into three groups: phenolic compounds (phenol, 4-nitrophenol and resorcinol), triazine pesticides and metabolites (atrazine, desisopropylatrazine (DIA), and desethylatrazine (DEA)) and carbamate pesticides (oxamyl and methomyl). The chemical structures of these compounds are shown in Fig. 1. The phenolic compounds were obtained from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany) and the pesticides and metabolites from Riedel-de Haën (Seelze, Germany). They were all 95-99% purity. Stock solutions of each compound (2000 mg l⁻¹) were prepared in methanol. Standard solutions of 100 mg l⁻¹ were prepared weekly by diluting the stock solutions with Milli-Q quality water (Millipore, Bedford, MA, USA) and they were used daily to spike water samples. Stock solutions were stored under refrigeration at 4°C for three months.

Acetonitrile (Lichrosolv) for chromatography (Merck, Darmstadt, Germany) and Milli-Q quality water, adjusted to pH 3 with H₂SO₄ (Probus, Badalona, Spain), were used to prepare the mobile phase.

HCl (Probus) was added to adjust the pH of the sample to 2.5 before the SPE process in order to prevent the phenolic compounds from occurring in ionic form. Real water samples were filtered through a 0.45 µm nylon membrane (Whatman, Maidstone, UK) before the SPE to eliminate particulate matter.

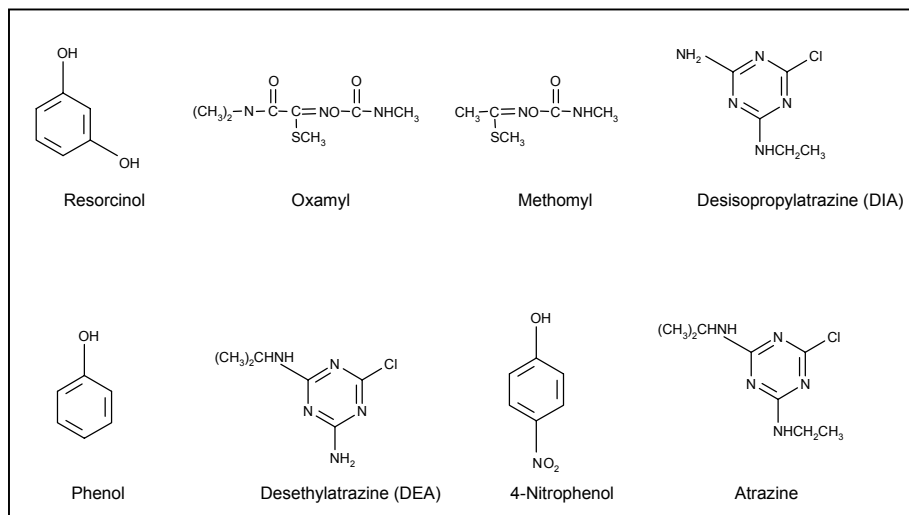


Fig. 1. Chemical structures of the target compounds

A volume of 500 μl of a 10% (w/v) Na_2SO_3 solution (Panreac, Barcelona, Spain) was added to 50 ml of Ebro river water samples to reduce frontal signals in the chromatograms from the coextracted humic substances [16,18].

The reagents used in the synthetic procedures were nitrobenzene from Probus, and aluminium chloride and phthalic anhydride, both from Fluka (Buchs, Switzerland).

SPE Materials and Synthetic Procedure

Various porous crosslinked PS-DVB beads, such as Amberchrom GC-161m (Tosohaas, Montgomeryville, PA, USA) and two PLRP-S resins with different physical properties (PLRP-S 10 and PLRP-S 30) (Polymer Laboratories, Shropshire, UK) were chemically modified by placing an *o*-carboxybenzoyl on their surface. Some physical characteristics of these commercial resins are shown in

Table 1.

Table 1
Physical characteristics of the polymeric resins

Resin	Surface area (m ² g ⁻¹)	Pore size (nm)	Particle size (μm)
Amberchrom	900	15	50-100
PLRP-S 10	500	10	10-15
PLRP-S 30	375	30	10-15

The *o*-carboxybenzoyl derivatives of each resin were prepared by aromatic electrophilic substitution with phthalic acid anhydride, using nitrobenzene as the solvent and aluminium chloride as the catalyst. 2.5 g of the divinylbenzene-crosslinked polystyrene was swollen in 70 ml of nitrobenzene at room temperature under mechanical stirring for 8 h. Mechanical stirring was used instead of magnetic stirring in order to prevent degradation of the beads. Afterwards, 4.5 g of AlCl₃ was added slowly and under mechanical stirring. Subsequently, 5.2 g of phthalic anhydride was added. The reaction mixture was stirred for 15 h at room temperature. The reaction was quenched by adding acetone with 1% HCl. The filtered polymers were washed twice with methanol and dried under vacuum at 60 °C. The chemically-modified polymeric resins from Amberchrom, PLRP-S 30 and PLRP-S 10 were named FC1, FC4 and FC5, respectively.

HPLC Conditions and On-Line SPE

Two Shimadzu LC-10AD pumps (Tokyo, Japan) were used to deliver the mobile

phase which was degassed with a Shimadzu DGU-4A degasser. The compounds were separated using a 25 x 0.46 cm i.d. Kromasil 100 C₁₈ column, particle size 5 µm, supplied by Teknokroma (Barcelona, Spain) and the temperature of this column was controlled by a Shimadzu CTO-10A oven. The analytes were detected by a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. A Hewlett-Packard (Waldbronn, Germany) dual-channel interface module HP-35900C connected the analytical system to the HP-3365 Series II Chemstation which collected and recorded the chromatographic data.

To check the response of the instrument, standard solutions were injected using a Rheodyne valve (Cotati, CA, USA) with a 20 µl loop, and an automatic Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands) was used for on-line SPE.

The analytes were separated using a gradient of Milli-Q water (adjusted at pH 3 with sulphuric acid) (solvent A)-acetonitrile (solvent B) from 15 to 25% B in 9.30 min, to 50% B in 4.30 min, to 100% B in 6 min and then 2 min isocratic elution at 100% B. Afterwards, the mobile phase returned to the initial conditions in 2 min. The post-run time was 10 min. The flow rate of the mobile phase was 1 ml min⁻¹ and the temperature of the column oven was set at 65°C. The wavelength program used allowed to detect each compound at its maximum absorbance. The detection was performed at 280 nm for the phenolic compounds and at 240 nm for the pesticides and metabolites.

Stainless-steel precolumns 10 x 3 mm i.d.), laboratory-packed with the commercial polymeric sorbents and the respective sorbents modified with the *o*-carboxybenzoyl moiety, were used to perform the on-line trace enrichment. As in previous papers [7,17,18], the sorbents were activated with 2 ml of acetonitrile and 2 ml of Milli-Q water at pH 2.5 in sequence. Once activated, the water sample was

passed through the sorbent at a flow-rate of 4 ml min⁻¹. In the next step, the analytes trapped on the precolumn were desorbed, using only the organic solvent (acetonitrile) of the mobile phase, in the forwardflush mode for 1 min (approx. 0.16 ml acetonitrile), and transferred on-line to the analytical column. Both solvents of the mobile phase were mixed before they reached the analytical column. A Waters M45 pump (Milford, MA, USA) was used to deliver the sample and the conditioning and cleaning solvents.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of the Polymers

The PS-DVB resins were electrophilically substituted with phthalic acid anhydride by the Friedel-Crafts reaction. Nitrobenzene was used as solvent and aluminum chloride as catalyst at room temperature. Higher reaction temperatures (40 and 70 °C) did not increase the extent of the reaction. Thus, the reaction temperature does not have significant influence on the modification degree.

Modifications were carried out in triplicate and elemental analysis showed that the extent of the modifications, expressed as the percentage of functionalized styrene moieties *versus* the total aromatic monomer units, was 11% for Amberchrom (FC1), 5% for PLRP-S 10 (FC5) and 10% for PLRP-S 30 (FC4). Despite the different physical characteristics of the three commercial polymers, the modification degree did not show noteworthy differences. These low degrees of substitution may be due to the restricted accessibility to the reactive sites or to the fact that phthalic acid anhydride is not as reactive as other reagents, such as the benzoyl chloride which was used to modify Amberchrom with a benzoyl moiety and the extent of the modification was 60% [6].

The modified polymers were finally sieved (sieves of 50 and 10 μm) and it could be verified that the particle size ranges had not changed in the reactions and they had the same ranges than their analogues. Their pore size and surface area were not determined because it is supposed that they had suffered small changes since the extent of modifications were low. Moreover, due to the extent of modifications did not vary significantly between the three polymers, these small changes in the physical properties were similar in all sorbents.

The polymers were also characterized by IR spectroscopy. The salient features of the infrared spectra of the resins are a broad H-bonded νOH at ca. 3500 cm^{-1} , $\nu\text{C=O}$ of the ketonic carbonyl at 1670 cm^{-1} , and COOH absorption at ca. 1700 cm^{-1} .

On-Line Trace Enrichment

Peak broadening, due to the different nature of the analytical column and the precolumn sorbent, was effectively suppressed by on-line desorbing with only the acetonitrile of the mobile phase [3,11]. Desorptions of more than 1 min were tested, but the shape of the peaks and the recoveries of all analytes were similar to those obtained in the selected conditions (forwardflush mode for 1 min).

The breakthrough volumes of the analytes with the on-line SPE sorbents were obtained according to the following method [21]. Different sample volumes (2, 4, 8, 20, 50, 100, 200 and 500 ml) of standard solutions spiked with different concentrations of analytes, so that the amount of each analyte in the samples was constant (0.1 μg injected), were percolated through the different precolumns. The recoveries were calculated by dividing the area obtained for a given sample volume by the peak area of direct loop injection of the same amount and the breakthrough

occurred when the recovery began to decrease. Table 2 and Table 3 show some of the recoveries obtained with the different sorbents when this method was used.

Table 2 shows that the recoveries with Amberchrom were the highest, mainly for the most polar analytes at high sample volumes. The recoveries with PLRP-S 30 were the lowest. For example, in the SPE of 200 ml of sample ($0.5 \mu\text{g l}^{-1}$) the recovery of oxamyl was 46%, 14% and 7% with Amberchrom, PLRP-S 10 and PLRP-S 30, respectively. Relating the physical properties of these polymers (see Table 1) to the recoveries obtained, indicated that the differences in the data obtained with the different sorbents were mainly due to the surface area. Amberchrom is the sorbent with the highest surface area ($900 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), so there were more interactions between sorbents and analytes and the retention and the breakthrough volumes increased. Furthermore, when the two sorbents with the same particle size (PLRP-S 10 and PLRP-S 30, 10-15 μm) were compared, the recoveries were higher with the sorbent which had larger surface area (PLRP-S 10).

The order was the same for the modified resins (see Table 3). Since the extent of the modification by the three sorbents did not vary significantly, the higher retention may also be due to the larger surface area of the sorbent.

Table 2
Recovery values (% R) obtained by preconcentrating different sample volumes with the three commercial sorbents

Compound	20 mL			50 mL			200 mL		
	AMB (*)	PLRP-S 10	PLRP-S 30	AMB (*)	PLRP-S 10	PLRP-S 30	AMB (*)	PLRP-S 10	PLRP-S 30
Resorcinol	14	5	---	6	---	---	---	---	---
Oxamyl	74	68	52	65	54	25	46	14	7
Methomyl	77	70	62	65	42	29	31	10	8
DA	73	73	68	67	46	36	32	11	9
Phenol	69	43	42	40	20	23	26	8	14
DEA	73	72	75	73	77	75	73	60	48
4-Nitrophenol	72	70	72	70	72	69	55	22	24
Atrazine	74	69	71	78	73	77	79	85	76

a) 5 µg L⁻¹, b) 2 µg L⁻¹ and c) 0.5 µg L⁻¹. --- not detected

(*) Ambichrom GC-161m

% RSD are lower than 10% in all instances (n= 4).

Table 3
Recovery values (% R) obtained by preconcentrating different sample volumes with the three modified sorbents

Compound	20 mL			50 mL			200 mL		
	FC1	FC5	FC4	FC1	FC5	FC4	FC1	FC5	FC4
Resorcinol	24	13	8	15	---	---	---	---	---
Oxamyl	70	72	71	71	72	63	62	42	21
Methomyl	74	73	75	74	76	69	59	29	29
DA	76	75	75	75	76	69	64	30	22
Phenol	73	79	70	65	45	33	31	10	10
DEA	72	75	76	71	75	76	70	79	77
4-Nitrophenol	69	72	72	70	73	73	68	53	43
Atrazine	80	71	72	87	74	74	83	83	85

a) 5 µg L⁻¹, b) 2 µg L⁻¹ and c) 0.5 µg L⁻¹. --- not detected
% RSDs are lower than 10% in all instances (n= 4)

By comparing each commercial sorbent with its respective chemically-modified polymer, it was seen that the introduction of a hydrophilic group, an *o*-carboxybenzoyl moiety, in the PS-DVB increased the recoveries of the analytes (compare Table 2 with Table 3). This is because the polarity of the polymer surface increased, so more polar interactions (hydrogen bonds and dipolar interactions) can be formed between the polar analytes and the SPE sorbent [22]. Consequently, the capacity of the modified polymers is increased and the breakthrough volumes of these analytes are larger.

According to these results, FC1 was selected as the best of the sorbents studied for the trace enrichment of polar compounds. The polarity of its surface and its larger surface area allowed a greater number of the two types of interaction (π - π and polar interactions) with the analytes and consequently higher recoveries.

It should be pointed out that with the instrumental design used the coupling of SPE sorbents with different particle sizes to the sorbent of the analytical column (5 μ m) (see Table 1) no peak broadening was observed. This is shown in Fig. 2 which shows chromatograms obtained with some of the sorbents studied. It should be pointed out that with these polymers the particle size seems not to be so influential on the breakthrough volume as is mentioned in other studies where HYSphere-1 was used as SPE sorbent [8].

In order to analyse real water samples, 50 ml of samples were selected as the volume to preconcentrate in FC1, because the recovery values for all compounds were higher than 65%, except for resorcinol (15%). With higher sample volumes, the recoveries decreased for most polar analytes, mainly for phenol whose recovery was 31% for 200 ml of sample (see Table 3). These recoveries were higher than the obtained in previous works [5,6] with Envi-Chrom P (a highly crosslinked polymer) for oxamyl, methomyl and phenol; in the preconcentration of 25 ml of

sample with Envi-Chrom P the recoveries were 65, 64 and 47%, respectively. The recoveries with FC1 were higher than those obtained by other authors [20] for oxamyl and methomyl (less than 25% recovered preconcentrating 25 ml sample) using standard C₁₈ and C₁₈/OH (specifically designed for polar compounds) sorbents (precolum size 10 x 2 mm i.d.). With the other SPE sorbents used in this study smaller sample volumes have to be selected to obtain good recoveries. Consequently, a significant improvement from classical SPE sorbents is that FC1 enables higher sample volumes to be preconcentrated and lower concentrations to be determined.

Analysis of Real Water Samples

When the sample volume had been established (50 ml), the linear range, detection limits, repeatability and reproducibility between days of the method were determined (except for resorcinol which was eluted at this sample volume) by fortifying Ebro river water samples. The linear range of the method was between 0.8 and 50 µg l⁻¹, for most of the analytes, and 0.3 and 50 µg l⁻¹ for atrazine. The correlation coefficients were good, with values between 0.9990 for DEA and 0.9998 for 4-NP. Detection limits, as results of fortification experiments, were calculated by the method of Winefordner and Long using the statistical program ULC (Univariate Linear Calibration) with *k* equal to 6 [23,24]. They were between 0.1 µg l⁻¹ for atrazine and 0.4 µg l⁻¹ for phenol, except for DEA which had a higher limit of detection, 0.6 µg l⁻¹, because it eluted at the same retention time as an interference of the sample matrix.

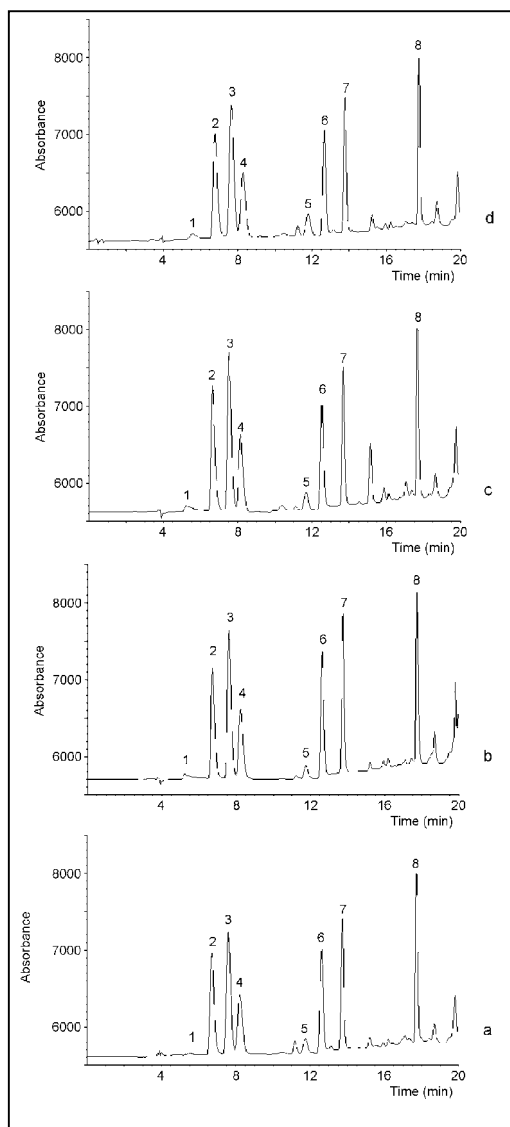


Fig. 2. Chromatograms obtained by on-line trace enrichment of 50 ml of standard solution of $2 \mu\text{g l}^{-1}$ using as a precolumn sorbent (a) Amberchrom, (b) FC4, (c) FC5 and (d) FC1. Peak assignments: (1) resorcinol, (2) oxamyl, (3) methomyl, (4) DIA, (5) phenol, (6) DEA, (7) 4-nitrophenol, and (8) atrazine.

The repeatability and the reproducibility between days of the method, expressed as the relative standard deviation of 4 analyses of 50 ml of Ebro river water spiked at $1 \mu\text{g l}^{-1}$, were lower than 10% for all compounds.

Fig. 3 shows the chromatograms obtained when preconcentrating in FC1 50 ml of Ebro river water (April 1998) with and without standard addition of $1 \mu\text{g l}^{-1}$ of each target analyte. In the blank chromatogram, three peaks at the same retention time as DIA, DEA and atrazine appear, which indicates that these three substances might be present, whereas there were no peaks corresponding to the other analytes. For DIA and DEA the signal was near the detection limits and they could not be quantified. Nevertheless, a concentration of $0.35 \mu\text{g l}^{-1}$ was found for atrazine. These pesticides have already been found in samples of the same origin in our laboratory using HPLC-APCI-MS [25].

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by CICYT (95-0243-OP) and the Consorci d'Aigües de Tarragona. N. Masqué gratefully acknowledges "Direcció General de la Recerca de la Generalitat de Catalunya" for a doctoral grant (1999TDOC 00022).

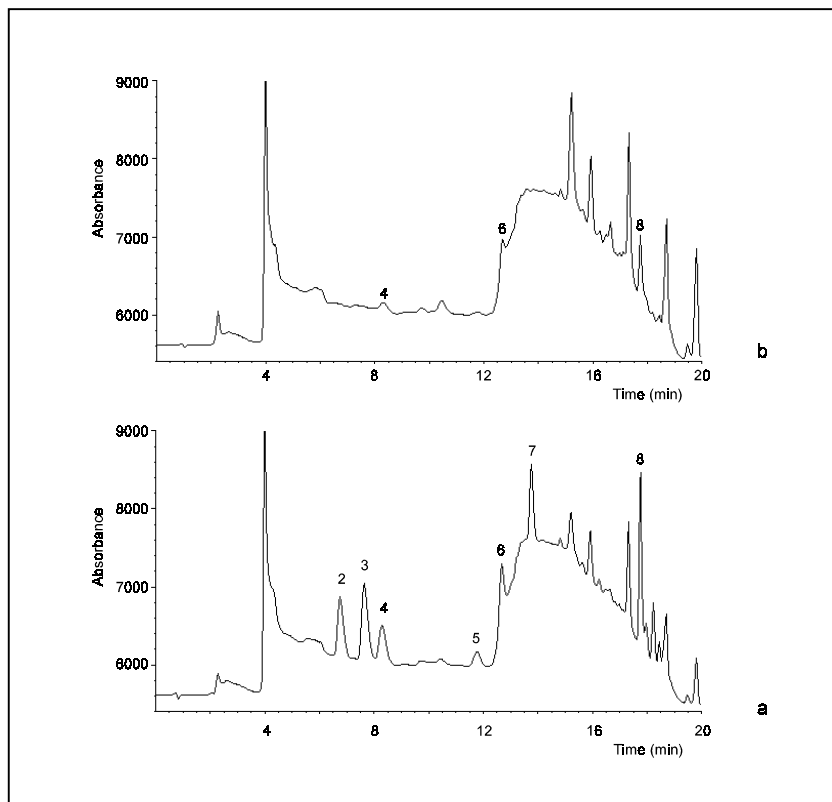


Fig. 3. Chromatograms obtained by on-line solid-phase extraction of (a) 50 ml of Ebro river water with standard addition of $1 \mu\text{g l}^{-1}$ of each target analyte and 500 μl of sulphite solution, (b) 50 ml of Ebro river water with addition of 500 μl of sulphite solution. Peak assignments: (4) DIA, (6) DEA and (8) atrazine.

REFERENCES

- [1] M-C. Hennion, P. Escribe, in D. Barceló (Editor), *Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality Assurance*, Elsevier, Amsterdam, 23 (1993).
- [2] I. Liska, *J. Chromatogr. A*, 655 (1993) 163.
- [3] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Trends Anal. Chem.*, 17 (1998) 384.

-
- [4] M. Galià, F. Svec, J.M.J. Frechet, *J. Polymer Sci. Polymer Chem.*, 32 (1994) 2169.
 - [5] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
 - [6] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
 - [7] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 793 (1998) 257.
 - [8] Application info 47, Spark Holland (1995).
 - [9] D. Puig, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 371.
 - [10] M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 352 (1995) 672.
 - [11] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
 - [12] L.W. Schmidt, J.J. Sun, J.S. Fritz, D.F. Hagen, C.G. Markell, E.E. Wisted, *J. Chromatogr.*, 641 (1993) 57.
 - [13] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.
 - [14] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schmidt, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 133.
 - [15] N. Cardellicchio, S. Cavalli, V. Piangerelli, S. Giandomenico, P. Ragone, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 358 (1997) 749.
 - [16] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 803 (1998) 147.
 - [17] N. Masqué, E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 47 (1998) 176.
 - [18] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 48 (1998) 231.
 - [19] S. Guenu, M-C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 737 (1996) 15.
 - [20] M-C. Hennion, C. Cau-Dit-Coumes, V. Pichon, *J. Chromatogr. A*, 823 (1998) 147.
 - [21] V. Pichon, M-C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 665 (1994) 269.
 - [22] B.J. Brune, G.F. Payne, M.V. Chaubal, *Langmuir*, 13 (1997) 5766.
 - [23] G.L. Long, J.D. Winefordner, *Anal. Chem.*, 55 (1983) 712A.
 - [24] R. Boqué, F.X. Rius, *J. Chem. Educ.*, 70 (1993) 230.

- [25] C. Aguilar, I. Ferrer, F. Borrull, R.M. Marcé, D. Barceló, *Anal. Chim. Acta*, 386 (1999) 237.

A partir dels resultats satisfactoris obtinguts en els treballs realitzats fins ara amb la introducció de grups hidrofílics en l'estructura d'una reïna de PS-DVB, en aquest treball s'han introduït dos nous grups funcionals que permeten incrementar la polaritat del sorbent comparat amb els sorbents prèviament sintetitzats. D'aquesta manera s'espera obtenir unes recuperacions encara majors emprant aquests nous sorbents químicament modificats en l'extracció d'analits d'elevada polaritat degut a l'augment del nombre d'interaccions polars.

Amb l'objectiu de desenvolupar aquests dos nous sorbents químicament modificats, prèviament no descrits en la bibliografia, s'han introduït els grups 2-carboxi-3/4-nitrobenzoil (3/4 indica mescla dels isomers amb el grup nitro en posició 3 ó 4) i el 2,4-dicarboxibenzoil mitjançant substitucions aromàtiques electrofíliques de Friedel-Crafts. Tal i com pot observar-se en la Figura 1 de l'article adjuntat a continuació, aquests dos grups es diferencien únicament per l'existència dels grups funcionals nitro o bé carboxílic, que són grups addicionals no existents en el grup *o*-carboxibenzoil introduït en treballs anteriors. Ja que alguns dels analits elegits per a dur a terme aquests estudis coincideixen amb els emprats en treballs previs, durant aquest treball s'ha pogut realitzar una comparació entre aquests tres sorbents relacionant els resultats obtinguts amb la presència o absència d'aquests grups funcionals addicionals. També s'ha pogut realitzar una comparació amb el sorbent de PS-DVB de partença, l'Amberchrom GC-161m, que presenta una superfície hidrofòbica.

Com en els treballs anteriors, els sorbents, empaquetats en precolumnes de 10x3 mm de diàmetre intern, s'han emprat en la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb detecció ultraviolada, i l'elució s'ha realitzat en contracorrent amb el component orgànic de la fase mobil (acetonitril). La banda inicial corresponent a les substàncies húmiques ha estat disminuïda per l'efecte de l'addició de Na₂SO₃.

En aquesta ocasió, els sorbents s'han avaluat per a la SPE de dos grups diferents d'analits. El primer grup està format per una mescla de compostos fenòlics, plaguicides i metabòlits polars, mentre que el segon està constituït exclusivament per compostos fenòlics d'elevada polaritat.

Un cop sintetitzats, ambdós polímers s'han caracteritzat per espectroscòpia infraroja i anàlisi elemental amb què s'ha pogut determinar el grau de funcionalització dels dos nous polímers.

Previ a l'avaluació dels sorbents en el procés de SPE, s'ha optimitzat un mateix gradient d'elució per tal de separar ambdós grups d'analits, i també s'ha buscat un programa de longituds d'ona adequat en el detector ultraviolat per poder detectar cada analit a la seva longitud d'ona de màxima resposta.

A continuació, s'han determinat els volums de ruptura i les recuperacions pels analits que formen la mescla de compostos fenòlics, plaguicides i metabòlits amb els tres sorbents (el no modificat i els dos nous sintetitzats). Aquests s'han determinat de la mateixa manera que en treballs anteriors seguint el procediment descrit per *Pichon et al.* [1]. Observant els resultats obtinguts es pot determinar quin dels dos grups introduïts permet més interaccions polars amb els analits.

En el següent pas, després d'observar les bones recuperacions produïdes pels nous sorbents modificats, s'ha decidit provar-los en la SPE del grup d'analits constituït per compostos fenòlics d'elevada polaritat. Prèviament s'ha demostrat que aquests analits presenten molt baixes recuperacions amb els sorbents comercials PLRP-S, Amberchrom GC-161m, Envi-Chrom P i LiChrolut EN [2].

Seguidament, s'ha fet una comparació entre els resultats obtinguts amb aquests sorbents modificats i amb el funcionalitzat amb el grup *o*-carboxibenzoil presentat en treballs anteriors. D'aquesta manera s'ha pogut demostrar la

influència dels diferents grups funcionals introduïts en la formació d'interaccions de caràcter hidrofilic entre aquests sorbents i els analits polars.

Per últim, aquests dos nous sorbents químicament modificats s'han utilitzat en l'anàlisi de mostres d'aigua del riu Ebre. Així, s'ha validat el mètode analític desenvolupat amb ambdós sorbents per a la determinació del grup d'analits format per la mescla de plaguicides, metabòlits i compostos fenòlics en aquesta matriu. El mètode no s'ha validat pel grup de compostos fenòlics més polars ja que aquests han presentat uns volums de ruptura molt baixos que impliquen límits de detecció elevats.

A continuació s'inclou una còpia de l'article publicat en la revista *Chromatographia*, 50 (1999) 21-26 fruit dels estudis realitzats en aquest treball.

Bibliografia

- 1 V. Pichon, M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 665 (1994) 269.
- 2 N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 771 (1997) 55.

INFLUENCE OF CHEMICAL MODIFICATION OF POLYMERIC RESIN ON RETENTION OF POLAR COMPOUNDS IN SOLID-PHASE EXTRACTION

ABSTRACT

Three polymeric sorbents, two of which had been chemically modified with different hydrophilic functional moieties and the third, which was the corresponding unmodified polystyrene-divinylbenzene (PS-DVB) resin, were compared for solid-phase extraction (SPE) of several polar pesticides and phenolic compounds from water samples. The SPE system was on-line coupled to a liquid chromatograph with UV detector.

Chemical modification of the PS-DVB resin with either 2-carboxy-3/4-nitrobenzoyl or 2,4-dicarboxybenzoyl, improved the efficiency of the SPE process by increasing polar interactions with the analytes. The sorbent with the nitro group gave higher recoveries, mainly for the most polar analytes. This sorbent enabled 100 ml river water to be preconcentrated to determine the target analytes in this matrix.

Keywords: Column liquid chromatography; Solid-phase extraction; Chemically-modified polymeric resins; Polar pollutants; Water analysis.

INTRODUCTION

Pollutants in water need to be determined to solve environmental and health problems. In recent years, solid-phase extraction (SPE) has become a very important technique for sample preparation in the environmental field. However, many types of organic compound, mainly polar ones, are not completely extracted from predominantly aqueous solutions with typical SPE materials (modified silicas, carbon blacks and styrene-divinylbenzene copolymers (PS-DVB)). Moreover, silica-based materials have considerable pH lability. These drawbacks can be overcome by using chemically derivatized polymeric resins which have enhanced surface hydrophilicity and improved extraction efficiencies, due to the possibility of polar interactions between the polar analytes and the functional groups of these resins.

Some of these derivatized polymers were used by Sun et al. in analytical columns, in reversed-phase liquid chromatography, and they were much better wetted by water and had higher retention times for most polar test compounds [1]. Best results were given by the acetyl resin although the hydroxymethyl resin also retained polar analytes more strongly than the underivatized resin. These results suggested that resins can be used as SPE sorbents. Several authors have used these acetyl [2-7] and hydroxymethyl [2,4] resins in SPE. Recoveries for the most polar analytes were higher than recoveries obtained with underivatized resin and other SPE sorbents, such as C₁₈-silica [2-4], PLRP-S (PS-DVB resin) and Envi-Chrom P (highly crosslinked PS-DVB) [7]. In previous papers, we described introduction of other hydrophilic groups, such as benzoyl [8] and *o*-carboxybenzoyl [9-12], into PS-DVB resins. These sorbents were compared with PLRP-S, Envi-Chrom P, LiChrolut EN (highly crosslinked PS-DVB) [8] and Envi-Carb (graphitized carbon black (GCB)) [10] in the extraction of polar phenolic compounds and pesticides from water samples, and they gave

higher breakthrough volumes in all cases, except for LiChrolut EN which gave slightly higher recoveries.

Bond Elut PPL is a commercially available, functionalized PS-DVB which has been developed to extract highly polar species, such as phenol, from large volumes of water. It has been used and compared with GCBs in the SPE of pesticides and phenolic compounds from natural waters, and breakthrough volumes were higher (for phenol: 2 ml with Envi-Carb, 14 ml with Bond Elut PPL and 14.2 ml for polystyrene-divinylbenzene resin modified with *o*-carboxybenzoyl moiety) [10]. It has also been compared with HYSphere-1 (highly crosslinked PS-DVB, but in this case the breakthrough volume was higher: 22 ml) [13].

Slightly sulfonated resins have also been used as SPE sorbents [4,14,15]. If a polymeric resin is sulfonated, it changes into a cation-exchanger. Moreover, hydrogen bonding between some analytes and the sulfonic acid group on the resin is also possible.

Other authors have synthesised a new functionalized crosslinked polymer with a carboxylic acid group using ring-opening-metathesis polymerization [16,17]. This sorbent is a crosslinked poly(norbornene-5,6-dicarboxylic acid), so hydrophilic analytes can be retained by the carbonyl groups, which increase the hydrophilic character of the resin. It has been used in the SPE of a wide range of organic compounds which are retained by both hydrophobic adsorption and ion-exchange.

In the search for new chemically modified polymeric resins that increase the retention of the most polar analytes, we have introduced two new hydrophilic functional moieties, 2-carboxy-3/4-nitrobenzoyl and 2,4-dicarboxybenzoyl, on a PS-DVB resin. To our knowledge these modifications have not been used for SPE. The aim of this work is to evaluate the effect of these modifications on the

retention of polar water pollutants in SPE. For this reason, these sorbents have been compared with the unmodified resin and with another chemically modified polymer, previously synthesised in our laboratory, to determine the effect of the different functional groups introduced.

EXPERIMENTAL

Equipment

The liquid chromatographic system consisted of two Shimadzu (Tokyo, Japan) LC-10AD pumps, a Shimadzu DGU-4A degasser, and a Shimadzu SPD-10A UV spectrophotometric detector. The analytical column was a 25 x 0.46 cm I.D. Kromasil 100 C₁₈, particle size: 5 µm, supplied by Teknokroma (Barcelona, Spain) the temperature of which was controlled by a Shimadzu CTO-10A oven. For direct injection, a Rheodyne valve (Cotati, CA, USA) with a 20 µl loop was used. A Hewlett-Packard (Waldbronn, Germany) dual-channel interface module HP-35900C connected the analytical system to the HP-3365 Series II Chemstation recording chromatographic data.

A Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands) was used in the on-line SPE. A Waters (Milford, MA, USA) M45 pump was used to deliver the sample and to condition and clean the sorbents. Trace enrichment was by using 10 x 3 mm I.D. steel precolumns, laboratory-packed with the different sorbents studied.

Reagents and Standards

The compounds studied (phenolic compounds and pesticides) can be divided into two groups. Group A is made up of oxamyl and methomyl (carbamate pesticides), atrazine and desisopropylatrazine (DIA) (triazine and metabolite),

phenol (Ph), dimethoate (organophosphorus pesticide) and 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) (aryloxyalkanoic acid pesticide). Group B is made up exclusively of highly-polar phenolic compounds, such as hydroquinone, resorcinol, catechol, orcinol and guaiacol. Phenolic compounds were from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany) and pesticides from Riedel-de Haën (Seelze, Germany). They were all 95-99% purity. Stock solutions of each compound (2 g l^{-1}) were prepared in methanol. Standard solutions were prepared weekly by diluting stock solutions with pure demineralized water from a Milli-Q filtration system (Millipore, Bedford, MA, USA) (Milli-Q water). They were used daily to spike water samples. All solutions were stored under refrigeration at 4°C.

Acetonitrile for chromatography (Lichrosolv) (Merck, Darmstadt, Germany) and Milli-Q quality water, adjusted to pH 3 with sulphuric acid (Probus, Badalona, Spain), were used to prepare the mobile phase. Hydrochloric acid (Probus) was added to adjust the pH of the sample to 2.5 before SPE in order to prevent analytes ionising. Real water samples were filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ nylon membrane (Whatman, Maidstone, UK) before SPE to eliminate particulate matter. 1 ml 10% (w/v) Na_2SO_3 solution (Panreac, Barcelona, Spain) was added to 100 ml Ebro river water samples to reduce the frontal hump that appears in the chromatograms because of the presence of humic substances [9,11].

Reagents used in the synthetic procedures were nitrobenzene and acetic anhydride from Probus, anhydrous aluminium chloride and 3-nitrophthalic acid from Fluka (Buchs, Switzerland) and trimellitic acid (1,2,4-benzenetricarboxylic anhydride) from Aldrich-Chemie.

Synthetic Procedures and Polymer Characterisation

Both chemically-modified resins were prepared from porous crosslinked polystyrene-divinylbenzene (PS-DVB) beads. Amberchrom GC-161m (Tosohaas, Montgomeryville, PA, USA) is a spherical resin with an average particle and pore size of 50-100 μm and 110-175 $\text{\AA}$, respectively, and a specific surface of 900 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$. Both reactions were carried out by a Friedel-Crafts reaction at room temperature and under mechanical stirring for 15 h. Magnetic stirring could not be used because it degraded the beads. Both reactions were quenched by adding acetone with 1% HCl. The filtered polymers were washed three times with methanol and dried under vacuum at 60°C. Chemical structures of these sorbents are shown in Fig. 1.

Modification with a 2-Carboxy-3/4-Nitrobenzoyl Moiety

The 2-carboxy-3/4-nitrobenzoyl derivative (we will use -3/4- in all paper to indicate a mixture of isomers with the nitro group in positions 3 and 4), A-NO₂, was prepared by aromatic electrophilic substitution with 3/4-nitrophthalic anhydride using distilled nitrobenzene as the solvent and anhydrous aluminium chloride as the catalyst. The 3/4-nitrophthalic anhydride was previously prepared in our laboratory by heating, under magnetic stirring, a mixture of 21 g 3-nitrophthalic acid and 40 g redistilled acetic anhydride until a clear solution was obtained. The hot mixture was allowed to cool before being filtered. The crystalline mass was washed four times with diethyl ether and dried under vacuum at 60°C. 2.5 g Amberchrom was swollen in 70 ml nitrobenzene at room temperature under mechanical stirring for 8 h. Afterwards, 4.5 g AlCl₃ was added slowly and, when it had dissolved, 6.8 g 3/4-nitrophthalic anhydride and 75 ml of nitrobenzene were added.

The presence of this moiety was proved by a broad H-bonded νOH at c.a. 3500 cm^{-1} , $\nu\text{C=O}$ of the ketonic carbonyl at 1670 cm^{-1} , COOH absorption at c.a. 1700

cm^{-1} and a small band of νNO_2 at c.a. 1550 cm^{-1} on the IR spectrum. The extent of the modification, 7%, was established by elemental analysis.

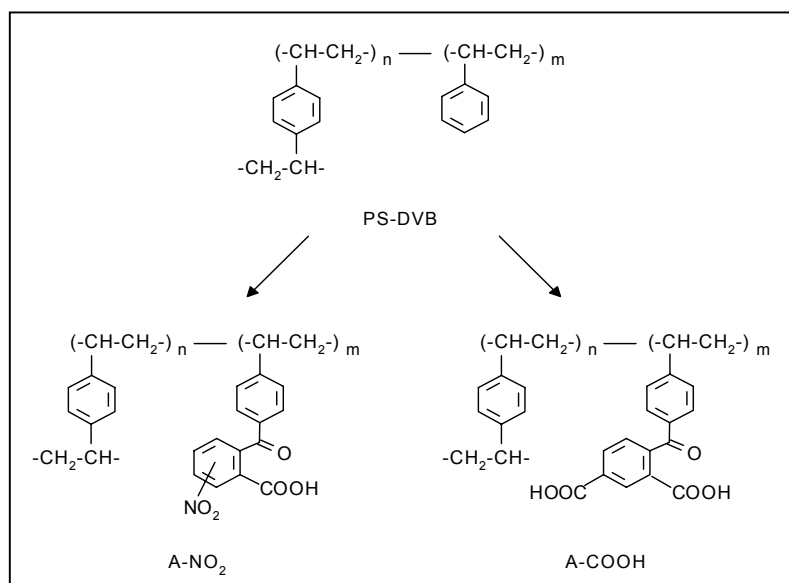


Fig. 1. Structures of functionalized polymeric sorbents.

Modification with a 2,4-Dicarboxybenzoyl Moiety

The 2,4-dicarboxybenzoyl derivative, A-COOH was prepared like the previous one. That is, 2 g Amberchrom was swollen in 70 ml nitrobenzene at room temperature under mechanical stirring for 8 h. Subsequently, 11.2 g AlCl_3 was added slowly. When it had dissolved, 7.86 g trimellitic acid, ground and dissolved in nitrobenzene by heating and 75 ml nitrobenzene were added.

This polymer was also characterised by IR spectroscopy. The salient features of the infrared spectra show a broad H-bonded νOH at c.a. 3500 cm^{-1} and another broad band assignable to the COOH absorption at c.a. 1730 cm^{-1} . Elemental analysis showed that the extent of modification was 6%.

The low degree of modification may be due to restricted accessibility to reactive sites or to the fact that the anhydrides are not as reactive as other reagents [12].

Chromatographic Conditions and On-Line SPE Procedure

Both groups of analytes were separated using the same elution gradient. Solvent A was Milli-Q water acidified at pH 3 with sulphuric acid and solvent B was acetonitrile (ACN). The gradient profile was 15-25% ACN from 0-9.5 min, 50% ACN at 14 min, 70% ACN at 18 min, 100% ACN at 20 min and then isocratic elution for 2 min. Afterwards, the mobile phase was returned to the initial conditions in 2 min. The post-run time was 10 min. The flow-rate of the mobile phase was 1 ml min^{-1} and the column temperature 65°C .

Group A was detected at 240 nm, except phenol and dimethoate which were detected at 210 nm and 2,4-D at 220 nm. All analytes in group B were monitored at 280 nm.

Stainless-steel precolumns (10 x 3mm I.D.), laboratory-packed with the unmodified or modified polymeric sorbents, were used to perform on-line trace enrichment. The sorbents were conditioned with 2 ml ACN and 2 ml Milli-Q water acidified (pH 2.5) at a flow-rate of 2.5 ml min^{-1} . Once activated, the sample was percolated at 4 ml min^{-1} . In the next step, analytes were desorbed using only the organic solvent (ACN) of the mobile phase (backflush mode; 1 min), to reduce band broadening, and transferred on-line to the analytical column. Both components of the mobile phase were mixed before they reached the analytical column [18].

RESULTS AND DISCUSSION

On-line Trace Enrichment

Before on-line SPE, the wavelength program and gradient elution were optimised to separate the analytes studied. Optimum conditions are already described under Chromatographic Conditions. The linearity of response by direct injection was good: 0.25-20 mg l⁻¹ for all compounds, and regression coefficients were higher than 0.9995.

Recoveries and breakthrough volumes in the SPE process were determined for analytes in group A by percolating different sample volumes (4, 20, 50, 100 and 200 ml) of standard solutions spiked with different concentrations of analytes through the different precolumns, so that the amount of each analyte in the samples was constant (0.1 µg injected). Recoveries were calculated by measuring the peak area for each compound and dividing it by the area obtained by direct injection. Table 1 shows the recoveries obtained with the two new sorbents and the unmodified resin.

By comparing the three SPE sorbents, it can be seen that introducing hydrophilic groups into the PS-DVB resin increased recoveries of analytes, mainly those of the most polar, because polar interactions (hydrogen bonds and dipolar interactions) were possible between these new resins and analytes. This is the case especially at high sample volumes. For example, when 200 ml was preconcentrated, all the compounds had recoveries of more than 70% with the functionalized polymers, except for phenol which gave 36% with A-COOH and 60% with A-NO₂. However, with Amberchrom, the underivatized resin, recoveries were between 53% for oxamyl and 20% for phenol (except for dimethoate, 2,4-D and atrazine which had recoveries of more than 77%,

although these recoveries were slightly lower than with the modified resins) (see Table 1).

As results with the modified resins were better, we tested these for the SPE of highly polar compounds, group B, for which low recoveries with some commercial sorbents (PLRP-S, Amberchrom, Envi-Chrom P and LiChrolut EN) were obtained previously [7]. Recoveries of these analytes were also better with the synthesised resins, as seen in Table 2, but only 4 ml could be extracted which involves high limits of detection with the detector used. So, this group was not considered in the application to real samples.

Table 1
Recoveries (% R) of group A analytes obtained by preconcentrating sample volumes with three sorbents

Compounds	20 ml				50 ml				100 ml				200 ml			
	A	A-COOH	A-NO ₂		A	A-COOH	A-NO ₂		A	A-COOH	A-NO ₂		A	A-COOH	A-NO ₂	
Oxamyl	75	80	83		77	80	88		69	82	86		53	80	80	
Methomyl	73	78	77		71	78	80		55	78	81		33	71	77	
DPA	73	77	74		71	77	76		56	77	80		34	71	75	
Ph	63	72	78		56	68	78		47	55	64		20	36	60	
Dinethoate	79	79	78		83	80	86		76	81	85		86	81	78	
2,4-D	76	75	72		81	85	77		79	86	86		78	82	86	
Atrazine	70	74	77		78	79	81		78	83	87		77	87	86	

A : Amberchrom GC-161m
RSDs < 7% in all instances (n= 4).

Table 2
Recoveries (% R) of group B analytes obtained by preconcentrating sample volumes with three adsorbents

Compounds	4 ml			20 ml			50 ml			100 ml		
	A	A-COOH	A-NO ₂	A	A-COOH	A-NO ₂	A	A-COOH	A-NO ₂	A	A-COOH	A-NO ₂
Hydroquinone	15	31	35	---	11	10	---	---	---	---	---	---
Resorcinol	36	63	68	5	22	23	---	9	7	---	---	---
Catechol	52	73	79	25	59	70	18	46	46	16	19	16
Orcinol	62	72	71	41	67	74	18	49	56	8	32	30
Guaiacol	73	80	78	80	86	83	81	81	83	77	83	84

A : Amberchrom GC 161m

RSDs < 12% in all instances (n= 4).

From these results, we can conclude that A-NO₂ is more suitable than A-COOH for the SPE of polar pollutants from water samples, since recoveries were slightly higher. Phenol also gave a much better recovery with A-NO₂ (60% versus 36% with A-COOH) when a 200 ml sample was preconcentrated, as mentioned previously. This may be due to the fact that the hydrophilicity of the 2-carboxy-3/4-nitrobenzoyl moiety is greater than that of the 2,4-dicarboxybenzoyl moiety, since the extent of modification was similar in the two procedures. The difference between these moieties is the presence of a nitro or a carboxylic group (see Fig. 1). The nitro group has a higher polarity than the carboxylic group, hence analytes may interact better with the resin. Besides, if these new resins are compared with a *o*-carboxybenzoyl (the same moiety as in the new sorbents but without the nitro or carboxylic groups) modified sorbent (FC1), synthesized (11% modified) and used previously [12], we conclude that the presence of nitro or carboxylic groups led to more polar interactions with the analytes and, therefore, recovery values were better. These recoveries can be compared in

Table 3.

Table 3

Mean recoveries (%R) obtained with three chemically modified sorbents in preconcentration of 200 ml standard solution spiked at 0.5 µg l⁻¹.

Compounds	200 ml		
	FC1	A-COOH	A-NO ₂
Oxamyl	62	80	80
Methomyl	59	71	77
DIA	64	71	75
Ph	31	36	60
Atrazine	70	87	86

RSDs <10% in all instances (*n*=4).

These results show that A-NO₂ is the best of the sorbents studied for the SPE of polar pollutants from environmental water samples. For this reason, it was selected to carry out the SPE of these samples.

Analysis of Real Water Samples

Real water was preconcentrated in samples of 100 ml because when this volume of standard solution was preconcentrated with A-NO₂, recoveries for all compounds in group A, were higher than 80%, except for Ph which had a recovery of 64% (see Table 1).

When the sample volume had been established, the linearity, detection limits, repeatability and reproducibility (between days) of the method were determined for the analytes in group A with Ebro river water. The linearity of the method was between 0.4-50 µg l⁻¹ and 1-50 µg l⁻¹ for most of the analytes, except for DIA, the linearity of which was 2-50 µg l⁻¹, and for dimethoate, which had a linear response 4-50 µg l⁻¹. The correlation coefficients were good, with values ranging 0.9981-0.9996. Detection limits (LOD) were calculated by Winefordner and Long's method using the statistical program ULC (Univariate Linear Calibration) with $k=6$ [19,20]. They were between 0.2-1 µg l⁻¹ (1 µg l⁻¹ was for dimethoate which eluted on a big interfering peak of the matrix). Repeatability and reproducibility between days of the method, expressed as the RSD of 5 analyses of 100 ml of Ebro river water spiked at 4 µg l⁻¹ were lower than 10% for all compounds.

Figure 2 shows the chromatograms of 100 ml of Ebro river water (July 1998) and the same sample spiked with a standard solution of 4 µg l⁻¹ of the analytes in group A when they were preconcentrated with A-NO₂. It can be seen that a peak with the same retention time as 2,4-D appears in the blank chromatogram.

This signal may be tentatively assigned to this compound but it was near the LOD and it could not be quantified.

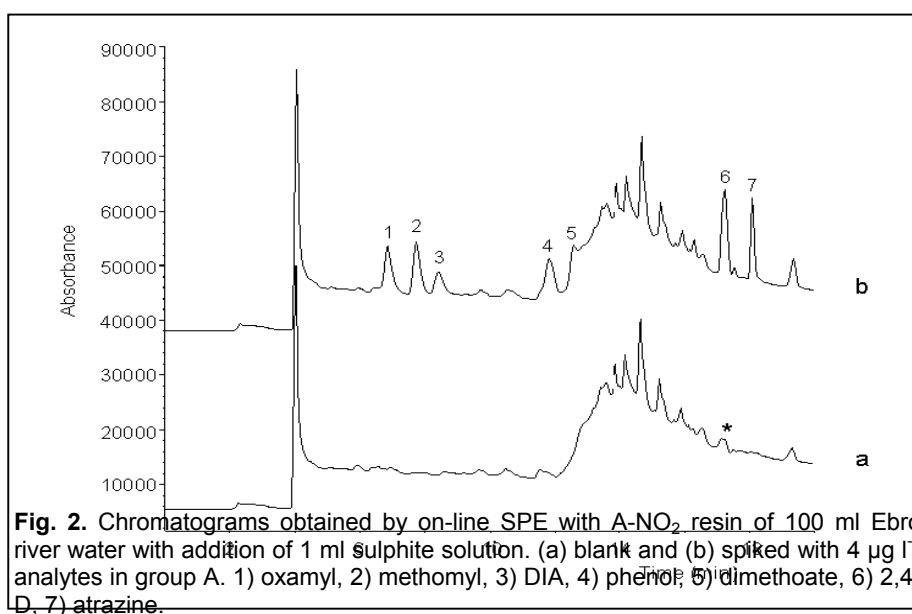


Fig. 2. Chromatograms obtained by on-line SPE with A-NO₂ resin of 100 ml Ebro river water with addition of 1 ml sulphite solution. (a) blank and (b) spiked with 4 µg l⁻¹ analytes in group A. 1) oxamyl, 2) methomyl, 3) DIA, 4) phenol, 5) dimethoate, 6) 2,4-D, 7) atrazine.

CONCLUSIONS

This paper demonstrates that the introduction of the 2-carboxy-3/4-nitrobenzoyl or the 2,4-dicarboxybenzoyl moieties into a PS-DVB resin makes the SPE of

polar pollutants from environmental waters more efficient because the surface becomes more hydrophilic. The better of the two sorbents was the one containing a nitro group in the moiety introduced. Recoveries were also better when the moiety contained a carboxylic group than when it did not. Some polar pesticides and phenolic compounds were efficiently extracted from 100 ml water samples by on-line SPE with the functionalized resin with the 2-carboxy-3/4-nitrobenzoyl moiety, and recoveries were higher than 80%, except for phenol, 64%.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Dr J.C. Ronda for his advice on the synthesis of derivatised polymers. This work was financially supported by CICYT (95-0243-OP) and the Consorci d'Aigües de Tarragona. N. Masqué gratefully acknowledges Direcció General de Recerca de la Generalitat de Catalunya for a predoctoral grant (1999TDOC 00022).

REFERENCES

- [1] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 522 (1990) 95.
- [2] J.J. Sun, J.S. Fritz, *J. Chromatogr.*, 590 (1992) 197.

-
- [3] L.W. Schmidt, J.J. Sun, J.S. Fritz, D.F. Hagen, C.G. Markell, E.E. Wisted, *J. Chromatogr.*, 641 (1993) 57.
- [4] J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schmidt, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 133.
- [5] N. Cardellicchio, S. Cavalli, V. Piangerelli, S. Giandomenico, P. Ragone, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 358 (1997) 749.
- [6] M.W. Powell, *J. Chromatogr. A*, 697 (1995) 101.
- [7] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 771 (1997) 55.
- [8] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *Analyst*, 122 (1997) 425.
- [9] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 803 (1998) 147.
- [10] N. Masqué, E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 47 (1998) 176.
- [11] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 48 (1998) 231.
- [12] N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. High Resolut. Chromatogr.*, 22 (1999) 21.
- [13] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *J. Chromatogr. A*, 793 (1998) 257.
- [14] P.J. Dumont, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 123.
- [15] D. Puig, D. Barceló, I. Silgoner, M. Grasserbauer, *J. Mass Spectrom.*, 31 (1996) 1297.
- [16] M.R. Buchmeiser, N. Atzl, G.K. Bonn, *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (1997) 9166.
- [17] D.L. Ambrose, J.S. Fritz, M.R. Buchmeiser, N. Atzl, G.K. Bonn, *J. Chromatogr. A*, 786 (1997) 259.
- [18] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [19] G.L. Long, J.D. Winefordner, *Anal. Chem.*, 55 (1983) 712A.
- [20] R. Boqué, F.X. Rius, *J. Chem. Educ.*, 70 (1993) 230.

En els apartats anteriors s'ha pogut observar que tots els sorbents desenvolupats proporcionen millors recuperacions pels analits més polars que la corresponent reïna polimèrica de partida i que alguns dels sorbents comercials. Però tal i com ja s'ha esmentat en el segon capítol d'aquesta Tesi, aquests sorbents, i també els sorbents comercials convencionals i els polímers altament entrecruats, no presenten una especificitat adequada per a poder extreure selectivament un analit o grup d'analits determinat, sinó que es caracteritzen per tenir una elevada capacitat de retenció que els fa útils per a la determinació d'un ampli ventall d'analits. Tanmateix, aquesta gran efectivitat implica que altres substàncies presents en la mostra, com ara els àcids húmics i fúlvics, també siguin extretes i puguin interferir en la determinació dels analits d'interès.

Per tal de solventar la limitació d'aquests sorbents, en els darrers anys s'han desenvolupat els immunosorbents que han estat aplicats en la SPE de contaminants orgànics presents en mostres mediambientals complexes [1]. Els immunosorbents estan basats en interaccions altament selectives antigen-anticòs que els proporciona una elevada especificitat, però la dificultat d'obtenir els anticossos biològics, entre altres inconvenients, ha provocat el desenvolupament d'anticossos artificials, com ara els polímers amb empremta molecular (MIPs).

Tal i com ja s'ha esmentat en el Capítol II, els MIPs són polímers que presenten elevada selectivitat per l'analit (*template*) pel qual han estat sintetitzats. Principalment, aquests polímers han estat emprats amb èxit com a materials de separació en la determinació de fàrmacs en mostres biològiques i plaguicides en mostres mediambientals complexes [2,3]. Tot i que existeixen altres aplicacions d'aquests polímers, un camp d'investigació prometedor actualment és la seva aplicació com a sorbents per a la SPE selectiva de diferents classes de compostos en diversos tipus de mostres (mediambientals, biològiques, aliments, ...).

L'aplicació dels MIPs en la SPE de contaminants orgànics en mostres d'aigua és molt reduïda i es limita a l'extracció d'alguns plaguicides [4-7]. Totes aquestes extraccions s'han realitzat *off-line* al sistema cromatogràfic, tret de dues en què una precolumna de C₁₈ en sèrie a una de MIP s'han acoblat *on-line* a la cromatografia de líquids [6,7].

La necessitat de nous MIPs que siguin selectius per a altres tipus de compostos i també de la seva aplicació en la SPE acoblada *on-line* al sistema cromatogràfic han originat el plantejament d'aquest treball. Per tant, en aquest treball es pretén desenvolupar un MIP selectiu pel 4-nitrofenol i la seva avaluació en la SPE acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids per a la determinació d'aquest analit en mostres d'aigua. Tot i ser el 4-nitrofenol un dels compostos fenòlics regulats per la US EPA, no s'ha trobat en la bibliografia cap aplicació d'un MIP selectiu per a aquest analit.

La síntesi dels polímers emprats en aquest treball i l'avaluació cromatogràfica dels mateixos s'ha realitzat en el *Department of Pure and Applied Chemistry* de la *University of Strathclyde* a Glasgow, sota la tutela del Professor David C. Sherrington i el Doctor Peter A.G. Cormack, en una estada de tres mesos a l'any 1998. Cal destacar que aquest grup de recerca forma part d'un projecte europeu en el qual es desenvolupen MIPs amb finalitats analítiques. L'avaluació dels polímers com a sorbents en la SPE s'ha dut a terme en l'Àrea de Química Analítica de la Universitat Rovira i Virgili.

Aquest treball s'ha iniciat amb la síntesi del MIP i del corresponent polímer de control, aquest últim s'ha sintetitzat de la mateixa manera que el MIP però sense la presència del template. Un cop finalitzada la síntesi s'ha procedit a la preparació (tritració i tamisat) d'ambdós polímers per a poder ser avaluats cromatogràficament i en l'extracció en fase sòlida. Cal esmentar que s'han preparat diferents MIPs utilitzant diversos monòmers funcionals, però en aquest

treball sol s'ha avaluat el que ha donat millors resultats en la seva valoració cromatogràfica.

Seguidament, ambdós polímers s'han empaquetat en columnes analítiques i s'han avaluat com a materials de separació en l'anàlisi d'una mescla de compostos fenòlics. D'aquest estudi s'ha pogut observar l'existència de l'empremta molecular en el MIP.

El següent pas ha consistit en l'avaluació dels polímers en l'extracció en fase sòlida dels 11 compostos fenòlics regulats per la US EPA. Inicialment s'ha optimitzat el solvent emprat en el procés de *clean-up* del sorbent, així com el volum necessari d'aquest solvent, per a l'extracció selectiva del 4-nitrofenol amb el sorbent amb empremta molecular. La realització d'aquest mateix estudi amb el polímer de control ha demostrat que aquest no presenta selectivitat pel 4-nitrofenol.

A continuació, s'ha estudiat l'efecte del pH de la mostra sobre el procés d'extracció, i s'han investigat diferents tipus d'interaccions entre els analits i el MIP per tal d'obtenir una extracció selectiva. També s'ha analitzat la influència de l'àcid acètic contingut en l'eluent emprat en la desorció sobre la recuperació del 4-nitrofenol. I, seguidament, s'ha determinat el volum de ruptura pel 4-nitrofenol en el MIP.

Finalment, per tal d'avaluar la selectivitat del MIP pel 4-nitrofenol en l'anàlisi de mostres reals complexes, s'ha utilitzat aquest polímer en l'extracció d'aigua del riu Ebre. En aquest estudi es pretén demostrar que el MIP és suficientment selectiu per a que les substàncies húmiques quedin menys retingudes que en altres tipus de sorbents. Per aquest motiu els resultats obtinguts s'han comparat amb els del polímer altament entrecreuat no selectiu LiChrolut EN.

Els estudis portats a terme en aquest treball han estat acceptats per a la seva publicació a la revista *Analytical Chemistry*, del qual s'adjunta una còpia a continuació.

Bibliografia

- 1 V. Pichon, M. Bouzige, C. Miège, M.-C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 219.
- 2 J.A. Tarbin, M. Sharman, *Anal. Commun.*, 36 (1999) 105.
- 3 J. Matsui, Y. Miyoshi, O. Doblhoff-Dier, T. Takeuchi, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 4404.
- 4 C. Baggiani, F. Trotta, G. Giraudi, C. Giovannoli, A. Vanni, *Anal. Commun.*, 36 (1999) 263.
- 5 J. Matsui, M. Okada, M. Tsuruoka, T. Takeuchi, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 85.
- 6 B. Bjarnason, L. Chimuka, O. Ramström, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 2152.
- 7 I. Ferrer, D. Barceló, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 180.

**SYNTHESIS AND EVALUATION OF A MOLECULARLY IMPRINTED
POLYMER FOR SELECTIVE ON-LINE SOLID-PHASE EXTRACTION
OF
4-NITROPHENOL FROM ENVIRONMENTAL WATER**

ABSTRACT

A molecularly imprinted polymer (MIP) able to bind 4-nitrophenol (4-NP) was prepared using non-covalent molecular imprinting methods and evaluated as a selective sorbent in molecularly imprinted solid-phase extraction (MISPE) on-line coupled to a reverse-phase HPLC. It has been shown that the conditions chosen for washing the MIP and for eluting the analyte in the MISPE process are extremely important for ensuring good selectivity and recovery. River water samples, spiked with the eleven Environmental Protection Agency (EPA) phenolic compounds at $\mu\text{g l}^{-1}$ levels, were preconcentrated on-line using this MIP and 4-NP was selectively extracted. The humic acid interference was simultaneously reduced considerably. The MIP was also compared with a commercially available highly cross-linked polymer (LiChrolut EN) and the former yielded cleaner extracts.

Solid-phase extraction (SPE) is routinely used to preconcentrate analytes of interest present at low levels of concentration, to remove interfering components from complex matrices and to change the solvent (e.g. from aqueous to organic) before chromatographic analysis. Recently, it has also been used to store and transport the analytes.

Due to the popularity of SPE, many new functionalized polymeric sorbents and highly cross-linked polymers have recently appeared as alternatives to conventional SPE materials in order to facilitate the trace enrichment of polar analytes [1,2]. Moreover, there has been a lot of recent interest in the development of selective SPE sorbents that yield cleaner extracts in the analysis of complex matrices, e.g. blood, urine and environmental water samples. One such class of selective extraction materials are the immunosorbents (ISs), which rely upon reversible and highly selective antigen-antibody interactions. They have been applied in the determination of several organic pollutants in complex environmental matrices, in both off-line and on-line methodologies [3]. Nevertheless, the difficulty and cost in obtaining biological antibodies, in addition to the other disadvantages of immunosorbents, has led to the development of synthetic antibody mimics, such as molecularly imprinted polymers (MIPs).

MIPs are cross-linked macromolecules bearing “tailor-made” binding sites for target molecules. They are prepared by the complexation, in solution, of a target compound (template) with functional monomers, through either covalent or non-covalent bonds, followed by polymerization with an excess of cross-linker to form a highly cross-linked polymer network. Upon removal of the template molecule from the polymer network, specific recognition sites that are complementary to the template in terms of their size, shape and functionality are exposed. MIPs show high selectivity in rebinding the template in preference to other closely related structures. Important considerations in the design of these polymers have been reviewed by several authors [4-6].

MIPs are being exploited in an increasing number of applications that include their use as “tailor-made” separation materials, as antibody/receptor binding site mimics in recognition and assay systems, as enzyme mimics for catalytic applications, as recognition elements in biosensors as well as in facilitated chemical synthesis [7-12]. To date, their most extensively investigated application has been as separation materials for the analysis of numerous compounds such as drugs [13,14], pesticides [15,16] and amino acids [17] in techniques such as liquid chromatography [13,15,16], thin-layer chromatography [17] and capillary electrochromatography [14]. The good selectivity obtained with MIP-based separation materials led to them being considered as promising selective sorbents for SPE. They are as a result now being extensively investigated as highly selective SPE sorbents for the washing and the preconcentration of samples prior to analysis. As mentioned above, molecularly imprinted solid phases for extraction are an alternative to immunosorbents in SPE.

Recent developments in MISPE have been reviewed by several authors [18,19]. MISPE has been used to determine drugs in complex biological fluids [20-24], nicotine in chewing gum and tobacco [25,26], bentazone in water [27] and triazine herbicides in beef liver [28], water [29,30], apple extracts and urine [30]. However, to our knowledge, all the MISPE procedures described to date have been used only in an off-line mode to a chromatographic system, except for the work of Ferrer *et al.* [1] and Bjarnason *et al.* [30]. These authors performed a first on-line SPE of triazines from complex samples with a C₁₈-silica precolumn, then all the extracted species were eluted to a MIP column by means of acetonitrile. The triazines were selectively retained on the MIP column resulting in the relief of the matrix and improvement of the subsequent chromatogram (acquired in an on-line chromatographic system with a C₁₈ column). Moreover, the use of MISPE with complex environmental samples is rare and indeed is still under development.

It is known that on-line SPE procedures overcome some of the drawbacks associated with off-line SPE. For example, there is no sample manipulation between the preconcentration and the analysis steps, so loss of the analyte and the risk of contamination are reduced and the detection limits and the reproducibility improved. Furthermore, the whole sample extract enters the analytical column, so the sample volume can be smaller, the consumption of organic solvents is lower and the potential for automation is improved.

The present paper describes the synthesis and the evaluation of a non-covalently imprinted MIP as a selective SPE sorbent, on-line coupled to a liquid chromatographic system, to selectively enrich 4-nitrophenol (4-NP) from environmental water samples. 4-NP can be toxic even at low concentrations, especially to aquatic organisms. For this reason it is regulated by the Environmental Protection Agency (EPA). MIPs imprinted against any of the eleven priority EPA phenolic compounds have not been prepared before, except by Joshi *et al.* [31] who synthesized a MIP selective for phenol via a covalent approach to remove phenol impurities from anisole.

EXPERIMENTAL SECTION

Chemicals

The chemicals for the polymer syntheses were 4-nitrophenol (4-NP), 4-vinylpyridine (4-VP) and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) from Aldrich (Steinheim, Germany), 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) from Acros Organics (Geel, Belgium) and acetonitrile from Rathburn Chemicals (Walkerburn, UK). The monomers were purified prior to use via standard procedures in order to

remove stabilizers. The AIBN was recrystallized from acetone and the acetonitrile dried over molecular sieves. **Safety:** special precautions are required when handling 4-VP because it is toxic and may cause burns and sensitization by inhalation and in contact with skin.

The HPLC-grade solvents were purchased from either Rathburn Chemicals or Merck (Darmstadt, Germany) and the water collected from a Millipore water purification system (Milli-Q water). The acetic and chlorhidric acids were from Probus (Badalona, Spain). The structurally related phenolic pollutants used to investigate the selectivity of the polymers were 4-chlorophenol (4-CP) and the eleven priority EPA phenolic compounds: phenol (Ph), 4-nitrophenol (4-NP), 2,4-dinitrophenol (2,4-DNP), 2-chlorophenol (2-CP), 2-nitrophenol (2-NP) 2,4-dimethylphenol (2,4-DMP), 4-chloro-3-methylphenol (4-C-3-MP), 2-methyl-4,6-dinitrophenol (2-M-4,6-DNP), 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP), 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP) and pentachlorophenol (PCP), and were all supplied by Aldrich, except for PCP which was from Jansen Chemie (Geel, Belgium).

Apparatus

To evaluate the polymers in analytical columns, ground polymer particles were suspended in chloroform by sonication and then slurry packed into 15 x 0.46 cm i.d. stainless steel HPLC columns at 2500 psi using an air-driven fluid pump (Haskel) with acetone as the solvent. An SP 8800 ternary HPLC pump and an SP 8450 UV detector (Spectra-Physics, Mountain View, CA, USA) were used. The on-line SPE coupled to a liquid chromatograph utilized a Must column-switching device (Spark Holland, Emmen, The Netherlands), a Waters (Milford, MA, USA) M45 pump and 10 x 3 mm i.d. stainless steel precolumns, laboratory-packed with circa 40 mg of the in-house synthesized polymers. The chromatographic system consisted of two LC-10AD pumps, a DGU-4A

degasser, a CTO-10A oven and a SPD-10A UV spectrophotometric detector from Shimadzu (Tokyo, Japan). The injection loop volume was 20 μ l and the analytical column was a 25 x 0.4 cm i.d. Spherisorb ODS2, 5 μ m, supplied by Teknokroma (Barcelona, Spain).

Preparation of the Imprinted Polymer

For the preparation of the 4-NP imprinted polymer, the template (4-NP) (0.280 g, 2 mmol) was dissolved in acetonitrile (10 ml) in a 25 ml thick-walled glass tube. The functional monomer (4-VP) (0.850 g, 8 mmols), the cross-linking monomer (EGDMA) (8.000 g, 40 mmols) and the initiator (AIBN) (0.185 g, 1.12 mmols) were then added to the above solution. The solution was cooled on an ice bath, sparged with oxygen-free nitrogen for five minutes, the glass tube sealed under nitrogen and then placed in a water bath at 60 °C. The reaction was allowed to proceed for 19 hours. A reference, non-imprinted, polymer that did not contain any template was prepared simultaneously using the same protocol. The hard polymers that were obtained were crushed, ground and wet-sieved using acetone to obtain regularly sized particles between 25 and 38 μ m suitable for the chromatographic and MISPE evaluations.

Chromatographic Conditions and On-Line SPE Procedure

The chromatographic evaluation of the polymers was carried out using acetonitrile/acetic acid 99.9/0.1 (v/v) as the mobile phase at 0.5 ml/min. The injection volume was 20 μ l, the UV detector wavelength was 280 nm and the analyses were performed at room temperature. For the MISPE experiments, the mobile phase consisted of Milli-Q quality water, acidified to pH 2.5 with acetic acid, as solvent A and acetonitrile (containing 1% (v/v) acetic acid) as solvent B. Both solvent A and solvent B were mixed prior to reaching the analytical column.

The flow-rate of the mobile phase was 1 ml/min and the gradient profile was 15-25% B from 0-10 min, 30% B at 25 min, 100% B at 34 min and then isocratic elution for 2 min. Afterwards, the mobile phase was returned to its initial composition over 2 min. The post-run time was 10 min. The oven temperature was set at 65 °C and all compounds were detected at 280 nm, except for PCP which was detected at 302 nm.

For on-line MISPE the polymers were conditioned with 2 ml acetonitrile and 2 ml acidified Milli-Q water (pH 2.5). The spiked water sample was applied to the conditioned precolumn and the polymer then washed with 0.4 ml dichloromethane and 2 ml Milli-Q water (pH 2.5). The retained analytes were desorbed using solvent B alone and in the backflush mode to reduce band-broadening, and then transferred on-line to the analytical column [32].

RESULTS AND DISCUSSION

Chromatographic Evaluation of the Polymers

The analytical columns packed with the polymers were washed on-line with acetonitrile/acetic acid (99.7/0.3 (v/v)) until a stable baseline was obtained. They were then evaluated under the chromatographic conditions described earlier by injecting 10 mg l⁻¹ solutions of phenol, 4-chlorophenol and 4-nitrophenol as test analytes onto the columns. The three phenolic compounds gave different retention times on the non-imprinted control column, and for this reason the data obtained in these analyses was normalized by calculating the Normalized Retention Index (*RI*). The *RI* gives a measure of the degree of recognition for a given analyte. The template molecule gives a value of 1 by definition, and other, less strongly retained, compounds give smaller values [33]. The *RI* is defined as:

$$RI = \frac{K'_{\text{analyte(MIP)}} / K'_{\text{analyte(control)}}}{K'_{\text{template(MIP)}} / K'_{\text{template(control)}}}$$

where K' is the capacity factor.

To calculate K' , the dead time of the MIP and the control columns was measured by injecting acetone as a void marker. Table 1 shows the K' values for the test phenolic compounds in both columns and the corresponding RI values. 4-CP and Ph give rise to smaller RI values than 4-NP, and this result verifies the imprinting effect.

Table 1

Capacity factors (K') and normalised retention indices (RI) obtained from HPLC evaluation of the polymers

Compound	K' (MIP)	K' (control)	RI
Ph	0.53	0.47	0.69
4-CP	0.89	0.71	0.77
4-NP	1.90	1.17	1.00

On-line MISPE

The polymers in the precolumns were initially washed with solvent B (acetonitrile containing 1% (v/v) acetic acid) to remove any residual template that could potentially interfere with the analysis, until 4-NP was no longer detectable in the eluate. The next step was to optimize the SPE process and to compare the performance of the imprinted and non-imprinted polymers in the extraction of the eleven priority EPA phenolic compounds.

The extraction step from water involved passing 10 ml of spiked ($10\ \mu\text{g l}^{-1}$ of each analyte) Milli-Q water, adjusted to pH 2.5 with HCl, through the precolumn. However, the preconcentration of the analytes was not selective for 4-NP without a subsequent washing process to remove the non-specifically bound compounds, because all the compounds bound to the MIP in a reverse-phase fashion, except for PCP which was not retained by the polymers. A suitable (normal-phase) washing process would remove the non-specifically bound compounds from the MIP, whilst the 4-NP would remain bound. In this way the 4-NP could be selectively extracted. So, in the first instance, three organic solvents, acetonitrile, ethyl acetate and dichloromethane, were tested as washing solvents to remove the non-specifically bound analytes.

In spite of the fact that neither ethyl acetate nor dichloromethane is miscible with water, the Must column-switching device used in the MISPE allowed use of both solvents without any problem [32]. When the precolumn was washed with 0.2 ml acetonitrile, the recoveries of all the analytes decreased considerably. With 0.4 ml acetonitrile the 4-NP neither could be determined selectively because various analytes gave small signals, and with higher volumes of acetonitrile all the phenolics were washed off from the precolumn, including the 4-NP. However, when 0.1 ml ethyl acetate was passed through the precolumn, all phenolics were washed off, except for 4-NP, 2,4-DNP and 2-M-4,6-DNP. These three bound phenols were then eluted onto the analytical column, and the recoveries were found to be 20, 52 and 36%, respectively. With higher volumes of ethyl acetate all the phenols were washed off the polymer. Nevertheless, when the same volume (0.1 ml) of dichloromethane was used to wash the polymer, and the bound analytes subsequently eluted, only one intense signal was observed (4-NP), whilst the other phenolic analytes gave rise to small signals or indeed no signal at all, showing that a selective washing protocol had been discovered. Dichloromethane was therefore selected as the washing solvent of choice, and

the next step was to find a suitable volume of dichloromethane to selectively extract 4-NP.

Different volumes (0.2, 0.4 and 0.6 ml) of dichloromethane were investigated in the selective washing step. The results are shown in Table 2. 4-NP was not selectively retained on the MIP with 0.2 ml dichloromethane because three compounds, 4-C-3-MP, 2,4-DCP and 2,4,6-TCP, also appeared in the subsequent elution chromatogram, although the other analytes had been successfully removed. However, when the precolumn was washed with 0.4 or 0.6 ml of dichloromethane only one peak appeared in the subsequent elution chromatogram, and this corresponded to 4-NP. These results are shown in Figure 1.

Table 2

Recoveries (%) obtained by washing the 4-NP-imprinted polymer with different volumes of dichloromethane following the preconcentration of 10 ml of a standard solution spiked at $10 \mu\text{g l}^{-1}$ with all analytes ^a

Analyte	Volume CH_2Cl_2 (ml)				
	0	0.1	0.2	0.4	0.6
4-NP	76	73	67	58	50
4-C-3-MP	59	48	33	--	--
2,4-DCP	48	28	15	--	--
2,4,6-TCP	38	12	3	--	--

^a %RSDs were lower than 7 in all instances ($n=4$)

The non-imprinted polymer was used to extract the same sample in the same manner, but when 0.4 ml of dichloromethane was applied as a washing solvent, no peaks appeared in the elution chromatogram. These results clearly

demonstrate the desired difference in selectivity between the imprinted and the non-imprinted control polymer. Figure 2 illustrates the distinctly behavior of the non-imprinted polymer. From an analytical point of view, 0.4 ml was selected as the ideal volume of dichloromethane for selective washing of the MIP, because with higher volumes the recovery decreased (see Table 2). The dichloromethane washing step eliminates the non-specific interactions between the analytes and the polymer. This fact explains why the recovery of 4-NP is decreased when a washing step is employed. So, for a selective MISPE, lower recoveries are obtained.

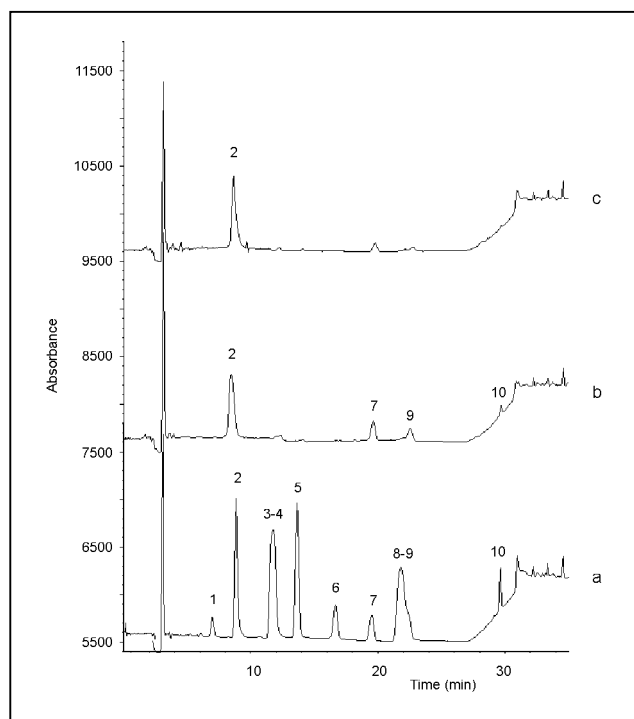


Fig. 1. Chromatograms obtained by on-line SPE with the 4-NP-imprinted polymer of 10 ml standard solution (pH 2.5) spiked at $10 \mu\text{g l}^{-1}$ with each phenolic compound. (a) without washing step and (b,c) with washing step using 0.2 and 0.4

ml of dichloromethane respectively. (1) Ph, (2) 4-NP, (3) 2,4-DNP, (4) 2-CP, (5) 2-NP, (6) 2,4-DMP, (7) 4-C-3-MP, (8) 2-M-4,6-DNP, (9) 2,4-DCP, (10) 2,4,6-TCP.

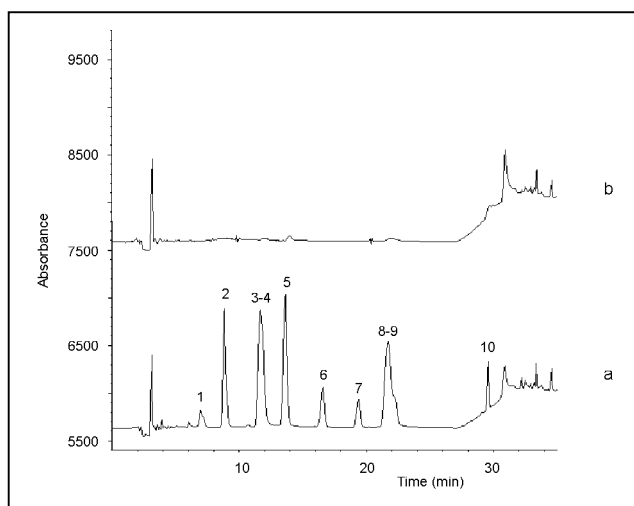


Fig. 2. Chromatograms obtained by on-line SPE with the non-imprinted polymer of 10 ml standard solution (pH 2.5) spiked at $10 \mu\text{g l}^{-1}$ with each phenolic compound. (a) without washing step and (b) with washing step using 0.4 ml of dichloromethane. Peak designation: as per Fig. 1.

Dichloromethane has low polarity and aprotic properties, so the MIP operation mode changes from reverse-phase mode during the aqueous sample loading to affinity mode in the selective washing with dichloromethane. In the affinity mode hydrogen bonding could be the dominant interaction responsible for specific retention of 4-NP on the MIP.

The effect of the sample pH on the extraction process was also evaluated. The sample pH was adjusted to 9 in order to exploit potential ionic interactions between the phenolate forms of the analytes and the nitrogen atoms in the pyridine residues of the polymer, in an attempt to increase the recovery of 4-NP.

However, the extraction with the imprinted polymer was not selective, even after a washing step with 0.4 ml of dichloromethane. The analytes that could be detected were 4-NP, 2,4-DNP, 2-M-4,6-DNP, 2,4,6-TCP and PCP, with recoveries 4, 66, 75, 26 and 42%, respectively. These results suggest that at pH 9 non-specific ionic interactions are more important than any specific interactions arising from imprinting. As a result, the subsequent analyses were all performed at pH 2.5.

To confirm that the acetic acid in the elution solvent (solvent B) had an important role to play in desorbing 4-NP from the MIP, pure acetonitrile was tested as the elution solvent. Under these conditions the 4-NP recovery decreased from 58% to 39% (%RSD was 4 for 4 analyses). Thus, the addition of acetic acid results in an increase in the recovery of 4-NP. The most likely explanation is that acetic acid competes with 4-NP for the functional groups in the binding sites, and in doing so desorbs the 4-NP from the MIP.

The breakthrough volume for 4-NP in the MIP was determined under the optimum conditions. This was carried out by percolating through the MIP different volumes (10, 15 and 25 ml) of standard solutions spiked with different concentrations of analytes, such that the amount of each analyte in the samples injected was constant (0.1 µg). The 4-NP recoveries were 58, 44 and 38% (%RSDs were lower than 8 for 4 analyses) for the 10, 15 and 25 ml sample volumes respectively. From these results, it can be concluded that 10 ml is a suitable sample volume because with higher sample volumes the recovery decreased. To obtain a higher recovery, less dichloromethane had to be used, but under these conditions other analytes were also recovered (see Table 2). Further studies to increase the capacity of this imprint, and thus the sensitivity of the method, are in progress.

MISPE of Real Water Samples

The potential value of the imprinted polymer for on-line MISPE of 4-NP in complex matrices was investigated. The complex matrix chosen was Ebro river water (TOC content 2.5-3.5 mg l⁻¹) which commonly contains humic acids. Humic acids can prevent detection of polar compounds because a broad band due to the presence of these acids elutes early in chromatograms [2]. To address this matrix interference problem, we tested the MIP with Ebro river water samples and compared its performance with a commercially available highly cross-linked polystyrene-divinylbenzene resin, LiChrolut EN (Merck, Darmstadt, Germany). The difference in performance between the 4-NP MIP and LiChrolut EN in the analysis of 10 ml of Ebro river water spiked at 10 µg l⁻¹ with each of the phenolic compounds is shown in Figure 3. SPE was carried out under the optimum conditions for both sorbents. As can be seen in Figure 3b, none of the analytes could be determined using LiChrolut EN when the washing step was employed. However, with the MIP the 4-NP was selectively extracted (Figure 3a). This result also confirms the existence of specific interactions between 4-NP and the MIP arising from imprinting. The washing step with dichloromethane enabled the humic acids band to be reduced but, obviously, LiChrolut EN could not be washed with dichloromethane because the 4-NP was eluted simultaneously. It should also be noted that the MIP gave a slightly narrower interfering matrix signal than LiChrolut EN when the washing process was not carried out (see Figures 3c and d). In spite of the higher selectivity of the MIP, the recovery of 4-NP was only 36% (with the washing step) (Figure 3a) in contrast to 75% for LiChrolut EN (without the washing step) (Figure 3d) (%RSDs were lower than 7 for 4 analyses). Thus, more development work is needed to improve this methodology, and in particular to improve capacity so that lower detection limits can be reached.

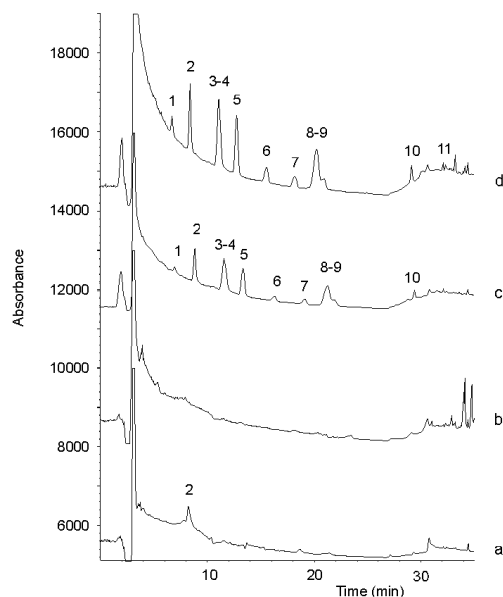


Fig. 3. Chromatograms obtained by on-line SPE with the 4-NP-imprinted polymer (a,c) and LiChrolut EN (b,d) of 10 ml Ebro river water (pH 2.5) spiked at $10 \mu\text{g l}^{-1}$ with each phenolic compound. (a, b) with washing step using 0.4 ml of dichloromethane and (c,d) without washing step. Peak designation: (11) PCP, others as per Fig. 1.

Finally, it is worth noting that the MIP precolumn was used to preconcentrate at least 70 water samples with no noticeable deterioration in performance, which augurs well for the future of MISPE.

CONCLUSIONS

The results obtained during the course of this research clearly demonstrate the value of the non-covalent imprinting technique for producing “tailor-made” sorbents for SPE, and in particular for the environmental pollutant 4-NP. This research also demonstrates the practicality of on-line coupling MISPE to a liquid chromatographic system, where the analyte is selectively extracted using only a MIP, an approach that has not hitherto been demonstrated. The application of on-line MISPE to environmental water samples confirmed the ability of the MIP precolumn to selectively isolate 4-NP from other matrix components. This result addresses an important characteristic disadvantage of the commercial sorbents commonly used for this analyte, i.e. non-selectivity. In contrast to the MIP, the non-imprinted control polymer and LiChrolut EN did not show specificity towards 4-NP, although careful selection of the SPE parameters was necessary to achieve selective extraction with the imprinted polymer. Further optimization of the MIP synthesis may improve the capacity of the MISPE column and, consequently, allow lower 4-NP concentrations to be determined.

ACKNOWLEDGEMENTS

N. Masqué gratefully acknowledges Direcció General de Recerca de la Generalitat de Catalunya for a pre-doctoral grant (1999TDOC 00022) and Dr S. Bayouhdh (University of Strathclyde, Glasgow, UK) for his advice on the synthetic procedures.

REFERENCES

- [1] I. Ferrer, D. Barceló, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 180.
- [2] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Trends Anal. Chem.*, 17 (1998) 384.
- [3] V. Pichon, M. Bouzige, C. Miège, M.-C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 219.
- [4] J. Steinke, D.C. Sherrington, I.R. Dunkin, *Adv. Polym. Sci.*, 123 (1995) 81.
- [5] G. Wulff, *EXS*, 80 (1997) 13.
- [6] B. Sellergren, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 164.
- [7] K. Mosbach, K. Haupt, X.-C. Liu, P.A.G. Cormack, O. Ramström, *ACS Symp. Ser.*, 703 (1998) 29.
- [8] O. Ramström, R.J. Ansell, *Chirality*, 10 (1998) 195.
- [9] A.G. Mayes, K. Mosbach, *Trends Anal. Chem.*, 16 (1997) 321.
- [10] K. Ensing, T. de Boer, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 138.
- [11] T. Takeuchi, J. Haginaka, *J. Chromatogr. B*, 728 (1999) 1.
- [12] L. Ye, O. Ramström, R.J. Ansell, M.O. Månsson, K. Mosbach, *Biotechnol. Bioeng.*, 64 (1999) 650.
- [13] J.A. Tarbin, M. Sharman, *Anal. Commun.*, 36 (1999) 105.
- [14] L. Schweitz, L.I. Andersson, S. Nilsson, *Anal. Chem.*, 69 (1997) 1179.
- [15] Y. Nomura, H. Huguruma, K. Yano, A. Kugimiya, S. Maniven, K. Ikebukuro, I. Karube, *Anal. Letters*, 31 (1998) 973.
- [16] J. Matsui, Y. Miyoshi, O. Doblhoff-Dier, T. Takeuchi, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 4404.
- [17] D. Kriz, C. Berggren Kriz, L.I. Andersson, K. Mosbach, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 2636.
- [18] J. Olsen, P. Martin, I.D. Wilson, *Anal. Commun.*, 35 (1998) 13H.
- [19] D. Stevenson, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 154.
- [20] J. Olsen, P. Martin, I.D. Wilson, G.R. Jones, *Analyst*, 124 (1999) 467.
- [21] B.A. Rashid, R.J. Briggs, J.N. Hay, D. Stevenson, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 303.

- [22] P. Martin, I.D. Wilson, D.E. Morgan, G.R. Jones, K. Jones, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 45.
- [23] L.I. Andersson, A. Paprica, T. Arvidsson, *Chromatographia*, 46 (1997) 57.
- [24] W.M. Mullet, E.P.C. Lai, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 3636.
- [25] A. Zander, P. Findlay, T. Renner, B. Sellergren, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 3304.
- [26] W.M. Mullet, E.P.C. Lai, B. Sellergren, *Anal. Commun.*, 364 (1999) 512.
- [27] C. Baggiani, F. Trotta, G. Giraudi, C. Giovannoli, A. Vanni, *Anal. Commun.*, 36 (1999) 263.
- [28] M.T. Muldoon, L.H. Stanker, *Anal. Chem.*, 69 (1997) 803.
- [29] J. Matsui, M. Okada, M. Tsuruoka, T. Takeuchi, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 85.
- [30] B. Bjarnason, L. Chimuka, O. Ramström, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 2152.
- [31] V.P. Joshi, S.K. Karode, M.G. Kulkarni, R.A. Mashelkar, *Chem. Eng. Sci.*, 53 (1998) 2271.
- [32] E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, *Chromatographia*, 41 (1995) 521.
- [33] A.G. Mayes, L.I. Andersson, K. Mosbach, *Anal. Biochem.*, 222 (1994) 483.



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI
DEPARTAMENT DE QUÍMICA ANALÍTICA
I QUÍMICA ORGÀNICA

El Dr. FRANCESC BORRULL I BALLARÍN, Professor Titular del Departament de Química Analítica i Química Orgànica de la Facultat de Química de la Universitat Rovira i Virgili, i

La Dra. ROSA MARIA MARCÉ I RECASENS, Professora Titular del Departament de Química Analítica i Química Orgànica de la Facultat de Química de la Universitat Rovira i Virgili,

CERTIFIQUEM:

Que la present Tesi Doctoral, que duu per títol: "DESENVOLUPAMENT DE SORBENTS POLIMÈRICS PER A L'EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA DE CONTAMINANTS ORGÀNICS POLARS EN AIGÜES", presentada per NÚRIA MASQUÉ GRANJA per optar al grau de Doctor en Química, ha estat realitzada sota la nostra direcció, a l'Àrea de Química Analítica del Departament de Química Analítica i Química Orgànica d'aquesta universitat, i que tots els resultats presentats són fruit de les experiències realitzades per la doctoranda esmentada.

I, per a que consti, expedim aquest certificat a Tarragona, 3 de maig de 2000.

Dr. Francesc Borrull i Ballarín

Dra. Rosa Maria Marcé i Recasens

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 o-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 entrecreuats 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 permeses ($<0.1 \mu\text{g l}^{-1}$), 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.

Les conclusions derivades del treball realitzat en la present Tesi Doctoral són les següents:

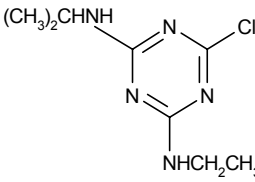
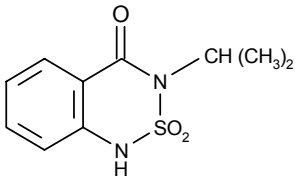
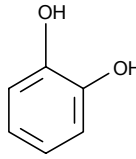
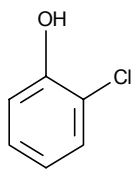
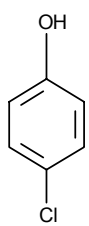
1. Ha estat possible sintetitzar reïnes polimèriques químicament modificades introduint un grup hidrofílic a la reïna de PS-DVB Amberchrom GC-161m.
2. Aquestes reïnes modificades han permès incrementar les recuperacions obtingudes amb la reïna de partida en l'extracció en fase sòlida de contaminants orgànics polars presents en mostres d'aigua.
3. Les tres reïnes modificades obtingudes amb la introducció dels grups acetil, benzoil o bé *o*-carboxibenzoil, presenten volums de ruptura similars tot i que el grau de modificació de l'última és considerablement inferior.
4. L'existència d'un grup addicional nitro o carboxílic a l'estructura del grup *o*-carboxibenzoil ha implicat unes recuperacions més grans pels analits polars que les obtingudes amb el sorbent que conté únicament aquest últim grup funcional. A la vegada, el sorbent amb el grup nitro és més efectiu en l'extracció d'aquests analits que el que conté el grup carboxílic.
5. Les diferents propietats físiques (àrea superficial, diàmetre de porus i diàmetre de partícula) no tenen influència sobre el grau de modificació de l'Amberchrom GC-161m amb el grup funcional *o*-carboxibenzoil en les condicions experimentals estudiades.
6. S'ha demostrat que l'àrea superficial del sorbent és una de les propietats físiques que té més influència sobre les recuperacions en el procés d'extracció en fase sòlida.
7. En la comparació dels diferents sorbents polimèrics altament entrecreuats disponibles comercialment que s'han emprat es pot concloure que les

diferents recuperacions que proporcionen es poden relacionar amb les seves propietats físiques. El sorbent d'aquest tipus amb més capacitat de retenció dels diferents estudiats ha estat el LiChrolut EN, que és dels que tenen àrea superficial més gran.

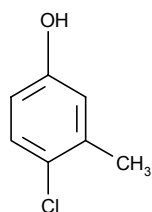
8. Dels diferents tipus de sorbents (carbons, polimèrics convencionals, polimèrics químicament modificats i polimèrics altament entrecreuat) avaluats en aquesta Tesi Doctoral per a l'extracció en fase sòlida de compostos polars, el que ha proporcionat recuperacions més elevades ha estat alguns polímers altament entrecreuat.
9. L'addició de sulfit sòdic a les mostres d'aigua reals analitzades ha disminuït la interferència inicial produïda per les substàncies húmiques presents en la mostra i per tant aquesta addició ha permès la determinació dels analits més polars.
10. L'elució emprant únicament el solvent orgànic de la fase mòbil ha permès l'acoblament *on-line* d'aquests sorbents de gran capacitat de retenció a una columna convencional de C₁₈ de cromatografia de líquids sense que es produeixi un eixamplament dels pics cromatogràfics.
11. La utilització del sorbent químicament modificat amb el grup *o*-carboxibenzoil en l'extracció acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb un detector UV i un d'electroquímic acoblats en sèrie ha permès determinar els onze compostos fenòlics regulats per la US EPA per sota els nivells màxims permesos.
12. S'ha demostrat la possibilitat de sintetitzar un polímer amb empremta molecular selectiu pel 4-nitrofenol.

13. També s'ha demostrat la possibilitat d'aplicar aquest polímer amb empremta molecular a l'extracció en fase sòlida acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids i que la composició de l'eluent influeix de manera important en l'elució dels analits.
14. Per tal d'obtenir una extracció selectiva cal addicionar una etapa de neteja del polímer amb un solvent orgànic abans de l'elució dels analits essent el volum d'aquest solvent un paràmetre crític.
15. La utilització d'aquest polímer amb empremta molecular ha permès l'extracció selectiva del 4-nitrofenol en mostres reals complexes.

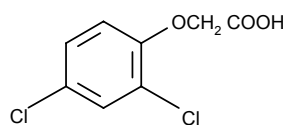
ANNEX I. Estructura dels compostos estudiats.

COMPOST	ESTRUCTURA
Atrazina	
Bentazona	
Catecol	
2-Clorofenol	
4-Clorofenol	

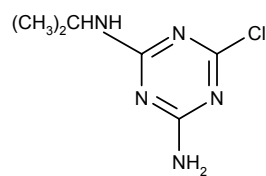
4-Cloro-3-metilfenol



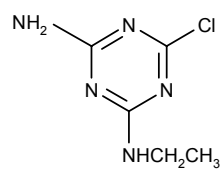
2,4-D



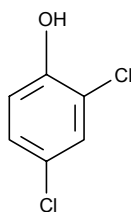
Desetilatrazina (DEA)



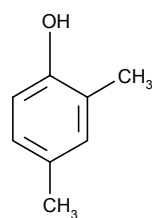
Desisopropilatrazina (DIA)



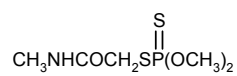
2,4-Diclorofenol



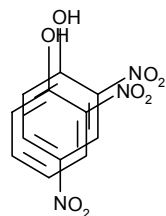
2,4-Dimetilfenol



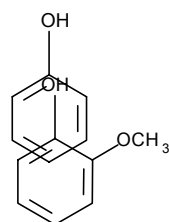
Dimetoat



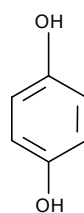
2,4- Dinitrofenol



Fenol

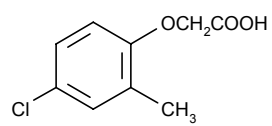


Guaiacol



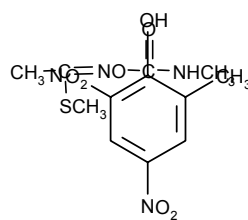
Hidroquinona

MCPA



2-Metil-4,6-dinitrofenol

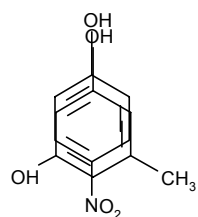
Metomil



2-Nitrofenol

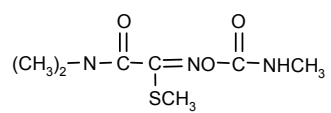
4-Nitrofenol

Orcinol

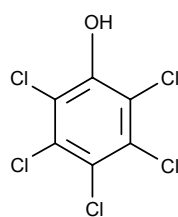


Oxamil

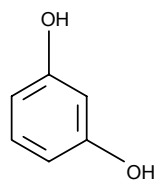
Pentachlorofenol



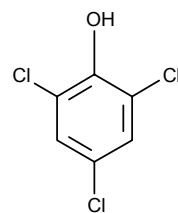
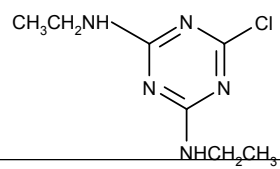
Resorcinol



Simazina



2,4,6-Triclorofenol



ANNEX II

Els treballs sorgits de la present Tesi Doctoral, inclosos en els capítols II i III, s'han publicat o estan pendents de publicació en les següents revistes:

- N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, Trends Anal. Chem., 17 (1998) 384-394, (*apartat II.2*).
- N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 771 (1997) 55-61, (*apartat III.1*).
- N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, Analyst, 122 (1997) 425-428, (*apartat III.2*).
- N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 803 (1998) 147-155, (*apartat III.3*).
- N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 48 (1998) 231-236, (*apartat III.4*).
- N. Masqué, E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 47 (1998) 176-182, (*apartat III.5*).
- N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 793 (1998) 257-263, (*apartat III.6*).
- N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, J. High Resol. Chromatogr., 22 (1999) 547-552, (*apartat III.7*).
- N. Masqué, M. Galià, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 50 (1999) 21-26, (*apartat III.8*).
- N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, Anal. Chem., 72 (2000) 4122-4126, (*apartat III.9*).

En primer lloc, vull expressar el meu agraïment als Drs. Francesc Borrull i Rosa Maria Marcé per haver-me ofert l'oportunitat de realitzar aquesta Tesi Doctoral, així com per l'interès en la meva formació científica, el suport, l'ajuda i la confiança mostrats.

També voldria manifestar la meva gratitud a totes aquelles persones que, d'una o altra forma, han contribuït al desenvolupament d'aquesta tesi, i molt especialment:

A la Dra. Marina Galià, pels seus consells i comentaris en la preparació dels sorbents químicament modificats.

Al Prof. David C. Sherrington i al Dr. Peter A.G. Cormack, de la University of Strathclyde de Glasgow, per la bona acollida en el seu grup de recerca durant una estada de tres mesos, així com per la seva amistat i suport. També vull fer extens aquest agraïment a la resta de companys d'aquest grup per les bones estones que vam passar durant aquest període.

A tots els components del grup de recerca amb els quals he pogut comptar per a qualsevol cosa: ànims, suport i, sobretot, gran amistat i bons moments.

Per últim, també vull fer especial esment del suport incondicional de la meva família, molt especialment el dels meus pares i del Chema, que m'han ajudat en tot moment per poder arribar fins aquí.

ÍNDEX

OBJECTIU

CAPÍTOL I

INTRODUCCIÓ

CAPÍTOL II

ESTAT DE LA QÜESTIÓ

**II.2. NOUS SORBENTS POLIMÈRICS I D'ALTRES TIPUS PER A
L'EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA DE MICROCONTAMINANTS
ORGÀNICS POLARS EN AIGÜES**

CAPÍTOL III

PART EXPERIMENTAL

III.1. Utilització d'una reïna polimèrica químicament modificada com a sorbent en el procés d'extracció en fase sòlida per a determinar compostos fenòlics en aigua

**III.2. Extracció en fase sòlida de fenols i plaguicides en
aigua amb una reïna polimèrica modificada**

III.3. Nova reïna polimèrica químicament modificada per a l'extracció en fase sòlida de plaguicides i compostos fenòlics en aigua

**III.4. Eliminació química de les substàncies húmiques
interferents en la determinació de contaminants polars
mitjançant l'extracció en fase sòlida acoblada *on-line* a
la cromatografia de líquids**

III.5. Determinació dels onze compostos fenòlics prioritaris segons l'EPA a nivells de ng l^{-1} mitjançant l'extracció en fase sòlida acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids amb detecció ultraviolada i electroquímica

III.6. Comparació de diferents sorbents per a l'extracció en fase sòlida acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids en la determinació de plaguicides i compostos fenòlics en mostres d'aigua

III.7. Funcionalització de sorbents polimèrics per a l'extracció en fase sòlida de contaminants polars

**III.8. Influència de la modificació química de les reïnes
polimèriques d'extracció en fase sòlida en la retenció
de compostos polars**

III.9. Síntesi i avaluació d'un polímer amb empremta molecular per a l'extracció en fase sòlida *on-line* i selectiva del 4-nitrofenol en aigua

III.10. Discussió dels resultats

CAPÍTOL IV

CONCLUSIONS

ANNEXOS

OBJECTIU	1
CAPÍTOL I. INTRODUCCIÓ	5
I.1. Extracció en Fase Sòlida	11
I.1.1. Formats Disponibles Comercialment.....	12
I.1.2. Acoblament <i>On-Line</i> de l'Extracció en Fase Sòlida a les Tècniques Cromatogràfiques	16
I.1.3. Sistemes Automatitzats de l'Extracció en Fase Sòlida.....	22
I.1.4. Problemàtica en la Determinació de Compostos Polars	22
I.2. Bibliografia.....	27
CAPÍTOL II. ESTAT DE LA QÜESTIÓ	33
II.1. Sorbents per a l'Extracció en Fase Sòlida.....	35
II.1.1. Sorbents Convencionals	36
II.1.1.1. Sorbents de Base Sílice	36
II.1.1.2. Bescanviadors Iònics	39
II.1.1.3. Sorbents de Carbó.....	40
II.1.1.4. Sorbents Polimèrics	43
II.1.2. Nous sorbents	46
II.1.2.1. Polímers Altament Entrecreuats	46
II.1.2.2. Polímers Químicament Modificats	54
II.1.2.3. Immunosorbents	57
II.1.2.4. Polímers amb empremta Molecular	61
II.1.2.5. Altres Sorbents	66
II.1.3. Bibliografia.....	68
II.2. Nous Sorbents Polimèrics i d'Altres Tipus per a l'Extracció en Fase Sòlida de Microcontaminants Orgànics Polars en Aigües	77
CAPÍTOL III. PART EXPERIMENTAL	105

III.1. Utilització d'una Reïna Polimèrica Químicament Modificada com a Sorbent en el Procés d'Extracció en Fase Sòlida per a Determinar Compostos Fenòlics en Aigua	111
III.2. Extracció en Fase Sòlida de Fenols i Plaguicides en Aigua amb una Reïna Polimèrica Modificada.....	135
III.3. Nova Reïna Polimèrica Químicament Modificada per a l'Extracció en Fase Sòlida de Plaguicides i Compostos Fenòlics en Aigua.....	159
III.4. Eliminació Químic de les Substàncies Húmiques Interferents en la Determinació de Contaminants Polars Mitjançant l'Extracció en Fase Sòlida Acoblada <i>On-Line</i> a la Cromatografia de Líquids	185
III.5. Determinació dels Onze Compostos Fenòlics Prioritaris Segons l'EPA a Nivells de ng L^{-1} Mitjançant l'Extracció en Fase Sòlida Acoblada <i>On-Line</i> a la Cromatografia de Líquids amb Detecció Ultraviolada i Electroquímica	211
III.6. Comparació de Diferents Sorbents per a l'Extracció en Fase Sòlida Acoblada <i>On-Line</i> a la Cromatografia de Líquids en la Determinació de Plaguicides i Compostos Fenòlics en Mostres d'Aigua	237
III.7. Funcionalització de Sorbents Polimèrics per a l'Extracció en Fase Sòlida de Contaminants Polars	259
III.8. Influència de la Modificació Químic de les Reïnes Polimèriques d'Extracció en Fase Sòlida en la Retenció de Compostos Polars	285
III.9. Síntesi i Avaluació d'un Polímer amb empremta Molecular per a l'Extracció en Fase Sòlida <i>On-Line</i> i Selectiva del 4-Nitrofenol en Aigua.....	309
III.10. Discussió dels Resultats	335
CAPÍTOL IV. CONCLUSIONS	349

ANNEXOS	355
Annex I	357
Annex II	363

L'objectiu fonamental de la present Tesi Doctoral ha estat el desenvolupament i aplicació de nous sorbents polimèrics per tal d'obtenir bones recuperacions en l'extracció en fase sòlida de contaminants orgànics polars presents en mostres d'aigua. Dins d'aquest objectiu principal es poden destacar diferents objectius específics:

- Síntesi i avaluació de nous sorbents polimèrics químicament modificats i sorbents polimèrics amb empremta molecular.
- Comparació dels sorbents desenvolupats amb diferents sorbents comercials per a l'extracció en fase sòlida acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids en la determinació de microcontaminants orgànics polars.
- Desenvolupament de mètodes per a la determinació de compostos orgànics polars en aigües.

Al llarg dels anys, la qualitat de l'aigua, font i base de la vida a la Terra, ha anat deteriorant-se degut a la presència de contaminants que té dissolts. La gran industrialització, la intensa urbanització i l'ampli ús de productes agroquímics han donat lloc a la introducció de compostos inorgànics i orgànics tòxics al medi ambient, i s'ha reduït així dràsticament la qualitat de les aigües superficials i dels aquífers subterranis que són font de l'aigua de consum per una gran part de la població mundial. Uns 700 compostos químics, incloent més de 600 compostos orgànics, la majoria dels quals són biològicament actius, han estat detectats en mostres d'aigua [1,2]. Els contaminants més habituals són plaguicides, compostos organoclorats, hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs), compostos fenòlics, amines, ftalats, compostos aromàtic o alquil sulfonats, etc.

La majoria dels contaminants antropogènics presents a l'aigua són tòxics i perillosos no sols per als humans sinó també per als animals i les plantes [3,4]. La preocupació existent en molts països sobre l'impacte d'aquestes substàncies ha fet que s'incrementin les accions reguladores per part de les autoritats responsables [5], encara que no existeix una uniformitat entre les legislacions de cadascun dels països a l'hora d'establir les concentracions màximes admissibles. Així, la Unió Europea (UE) i l'Agència Americana de Protecció del Medi Ambient (US EPA) estableixen nivells de l'ordre de baixos $\mu\text{g l}^{-1}$ com a concentració individual màxima permesa en aigües de beguda per a la majoria de microcontaminants orgànics [6-8], però els valors establerts per cadascuna són diferents en molts casos.

Per tal de poder portar a terme un control del nivell de contaminació a les aigües s'han anat desenvolupant diferents mètodes, els quals han anat evolucionant cap a una millora de la selectivitat i una disminució dels límits de detecció. Les tècniques cromatogràfiques, principalment la cromatografia de gasos (GC) i la cromatografia de líquids d'alta resolució (HPLC), actualment constitueixen les eines analítiques més comunes per a la separació i quantificació de

contaminants orgànics en mostres ambientals. La cromatografia de gasos s'empra per a determinar els compostos volàtils, en canvi els compostos termolàbils i els polars són habitualment determinats mitjançant la cromatografia de líquids per tal d'evitar la derivatització dels analits requerida en la cromatografia de gasos. La cromatografia de fluids supercrítics (SFC) és una alternativa apropiada com a tècnica complementària a les tècniques cromatogràfiques ja esmentades en aquells casos en què aquestes presenten limitacions, com ara en la determinació de compostos termolàbils d'elevat pes molecular i difícilment detectables mitjançant un detector habitual de HPLC. L'electroforesi capil·lar també ha estat emprada en la determinació de contaminants en mostres mediambientals, tot i que el seu nombre d'aplicacions en aquest camp és actualment inferior al de les tècniques cromatogràfiques degut principalment als elevats límits de detecció que presenta.

En general, les mostres mediambientals no es poden analitzar directament amb les tècniques esmentades, ja que aquestes no permeten arribar als límits de detecció requerits per les normatives. Aquest fet implica una etapa prèvia de tractament de la mostra per tal de preconcentrar els analits i, en alguns casos, eliminar les possibles interferències en mostres complexes. Les tècniques més emprades per a dur a terme la preconcentració de compostos orgànics presents en mostres aquoses són l'extracció líquid-líquid (LLE), l'extracció en fase sòlida (SPE) o més recentment la microextracció en fase sòlida (SPME) [8-12]. Altres tècniques més específiques per als compostos volàtils són la purga i trampa, *closed loop stripping* i l'espai de cap (*headspace*). V. Lopez Avila [13] ha descrit els avantatges i els desavantatges d'aquestes tècniques d'extracció.

La preconcentració de la mostra també pot realitzar-se mitjançant la utilització de membranes líquides suportades (SLM). Aquestes membranes han estat emprades amb èxit en la determinació de diversos contaminants orgànics de diferent polaritat, com ara fenols i plaguicides, en mostres d'aigua natural [14,15]. N.C. van de Merbel [15] ha descrit les diferents aplicacions d'aquestes membranes acoblades *on-line* a un sistema cromatogràfic o electroforètic.

L'avantatge d'emprar aquestes membranes és que permeten extreure selectivament determinades classes de compostos mentre que altres no són extretes, fet de gran interès en l'anàlisi de mostres mediambientals complexes. Malauradament, la preconcentració de la mostra no pot realitzar-se a fluxos elevats i conseqüentment requereixen temps llargs d'extracció.

L'extracció líquid-líquid ha estat la tècnica de tractament de mostra més àmpliament emprada degut a la seva gran simplicitat, a la mínima instrumentació que requereix i la seva extensa implementació en mètodes oficials d'anàlisi. No obstant, aquesta tècnica presenta una sèrie d'inconvenients entre els quals cal destacar l'ús de grans volums de solvents orgànics (normalment tòxics, inflamables i cars), formació d'emulsions, risc de contaminació i de pèrdues d'analits volàtils en les diferents etapes del procés, temps d'extracció considerable, i sovint la necessitat de dur a terme diverses etapes de concentració dels extractes per arribar al rendiment de preconcentració desitjat [10,16,17].

S'ha intentat solventar aquests inconvenients mitjançant el desenvolupament de diferents alternatives respecte de la LLE clàssica. Algunes d'aquestes alternatives són la microextracció líquid-líquid [18] i l'acoblament del sistema d'extracció líquid-líquid *on-line* al sistema cromatogràfic [19,20]. La LLE clàssica i aquestes tècniques alternatives han estat ben descrites en la bibliografia [21].

Malgrat els avantatges d'aquestes tècniques alternatives sorgides arran de la LLE clàssica, la tendència a reduir les quantitats de solvents orgànics emprats als laboratoris analítics han contribuït a que la LLE sigui cada cop més substituïda per l'extracció en fase sòlida. A més, la introducció d'analits polars, com ara els productes de degradació dels microcontaminants orgànics, a les llistes de contaminants prioritaris ha remarcat la necessitat de mètodes de preconcentració alternatius a la LLE, com ara la SPE, ja que la majoria d'aquests analits polars són sovint parcialment solubles en aigua i no poden ser

extrets amb bones recuperacions, independentment de quin solvent orgànic s'empri [22].

La SPE fou introduïda a principis dels anys setanta com una alternativa a la LLE ja que evita o minimitza els inconvenients ja esmentats d'aquesta última tècnica. Els seus avantatges són la reducció del volum de solvent orgànic, major rapidesa degut a la seva fàcil automatització, i no formació d'emulsions [16]. Un altre motiu pel creixent interès en les tècniques de SPE és l'existència d'una gran diversitat de sorbents que permeten extreure analits de diferent polaritat. Tots aquests factors han contribuït a l'acceptació de la SPE per les agències reguladores, i així ja ha estat inclosa en alguns mètodes oficials d'anàlisi de la US EPA. Per exemple, els mètodes 3535 i el 553 de la US EPA indiquen l'ús de sílices enllaçades (C_{18}) i de reïnes de poliestirè-divinilbenzè com a sorbents per a l'extracció de benzidines, ftalats i plaguicides en mostres d'aigua [13].

La SPE és una àrea d'investigació activa, fet demostrat per l'increment del nombre de publicacions que descriuen sorbents nous i més selectius. Els fonaments i diverses aplicacions d'aquesta tècnica d'extracció es troben àmpliament descrits en la literatura [10,16,22,23].

D'altra banda, la microextracció en fase sòlida va ser desenvolupada als inicis dels anys noranta i també s'ha aplicat a l'extracció de diferents contaminants en mostres aquoses [13,24-27]. Aquesta tècnica presenta alguns avantatges respecte a les tècniques d'extracció prèviament esmentades, com són la rapidesa, senzillesa, baix cost i consum nul de solvents orgànics. La SPME ha estat bàsicament acoblada a la cromatografia de gasos, però també es pot acoblar a altres tècniques analítiques, com ara la cromatografia de líquids i l'electroforesi capil·lar, encara que aquest acoblament és més complex.

I.1. EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA

L'extracció en fase sòlida es basa en processos de migració diferencial en els quals els compostos són retinguts o eluïts depenent de la diferent afinitat entre el sorbent i la fase mòbil. La retenció és deguda a la formació d'interaccions reversibles, entre l'analit i la superfície del sorbent, de tipus hidrofòbic (forces de Van der Waals), polar (ponts d'hidrogen i forces dipol-dipol) o iòniques. Per aquest motiu, abans de seleccionar un sorbent per a dur a terme la SPE, és necessari tenir en compte algunes consideracions fisicoquímiques tal com són els grups funcionals dels analits, el tipus de sorbent, les energies de les interaccions, les interaccions secundàries analits-sorbent, les interaccions matriu-sorbent i les interaccions analits-matriu [28].

A més de la preconcentració dels analits, que és la funció més important d'aquesta tècnica de tractament de la mostra, existeixen altres aplicacions entre les quals es troben l'eliminació de substàncies interferents de la matriu, canvi de solvent (per exemple de aquós a orgànic) i emmagatzematge i transport dels analits [16,29-31].

Fins fa poc els sorbents emprats a la SPE han estat sílices modificades, carbó negre grafititzat i reïnes polimèriques. Tanmateix, els volums de ruptura (*breakthrough volumes*) dels compostos més polars són baixos en la majoria dels sorbents esmentats. Recentment, s'han desenvolupat nous sorbents polimèrics funcionalitzats i polímers altament entrecreuats com a alternatives als sorbents clàssics en la preconcentració dels analits polars.

A continuació, es comenten els diferents formats disponibles comercialment en què es disposen els diversos sorbents existents, així com alguns aspectes que s'han de tenir en compte en l'acoblament *on-line* de la SPE al sistema

cromatogràfic i la problemàtica concreta de la determinació de compostos polars.

I.1.1. FORMATS DISPONIBLES COMERCIALMENT

El format més freqüentment emprat en la SPE és el cartutx o xeringa. Aquests poden ser de polipropilè o vidre i contenen diferents tipus i quantitat de sorbent (de 100 mg a 1g) entre dos fritats porosos d'acer inoxidable o polietilè. El seu disseny varia depenent de la casa comercial.

Un altre format comercial són els discs. Aquests estan disponibles en tres dissenys diferents, els consistents en una xarxa de microfibras de politetrafluoroetilè flexible sobre la qual hi ha suspeses les partícules del sorbent (PLM), els discs de matriu de fibra de vidre (PEGFD) i recentment, J.T. Baker ha introduït un nou tipus de discs laminars, coneguts com a Speedisks, que consisteixen en un llit prim de micropartícules suportades sobre una estructura laminar en un disc [22,23]. El primer tipus de discs és el més habitual, i les dimensions més usuals són de 4 a 90 mm de diàmetre (47 mm és el diàmetre estàndard) i 0.5 mm de gruix [23]. *Thurman et al.* [32] han descrit els recents avanços en el camp dels discs emprats en la SPE de mostres ambientals.

L'ús de discs comporta alguns avantatges respecte al dels cartutxos que es poden justificar gràcies a la seva major àrea superficial, el seu llit més estret, l'homogeneïtat en l'estructura i la seva estabilitat. Aquests avantatges permeten processar volums de mostra a una velocitat superior a la dels cartutxos, obtenir extractes amb menys interferències i eviten el problema de l'aparició de canals en l'estructura que redueixen la capacitat per a la retenció dels analits [22,23,33-37].

Urbe et al. [38] van fer un estudi comparatiu entre cartutxos i discs de PLM i de PEGFD de sílice amb el grup C_{18} enllaçat per a l'anàlisi de compostos aromàtics policíclics en aigua. Els autors van poder demostrar que els discos de PEGFD s'obstruïen amb menor facilitat i que el temps d'extracció era més curt. Pel que fa a la capacitat, les recuperacions dels analits van ser similars en els tres sistemes. *Pichon et al.* [39] van emprar discs laminars Speedisk que van permetre la preconcentració d'un litre d'aigua superficial en menys de 5 minuts. *Lacorte et al.* [40] han demostrat la major rapidesa de processament de la mostra dels Speedisks davant la dels cartutxos en la determinació de compostos fenòlics en abocaments industrials.

Malgrat els avantatges dels discs respecte als cartutxos, aquests últims actualment segueixen sent més emprats degut principalment al nombre limitat de sorbents disponibles comercialment en format de disc. No obstant, els cartutxos també presenten algun avantatge com és que normalment requereixen menys volum de solvent que els discs [37,41], tot i que alguns autors han emprat més solvent amb els cartutxos [35]. En un estudi comparatiu, *Viana et al.* [42] han obtingut millors recuperacions per un conjunt de plaguicides emprant cartutxos. En aquest estudi l'extracció es va realitzar amb discs (47 mm) i cartutxos de C_8 i C_{18} (500 mg), i es va poder observar que les recuperacions eren superiors pels cartutxos, comparant un mateix tipus de sorbent.

Els dos principals tipus de discs emprats són els de sílices enllaçades o els de poliestirè-divinilbenzè (PS-DVB). Un inconvenient en treballar amb discs és que els volums de ruptura poden ser inferiors que en treballar amb cartutxos, principalment per l'extracció dels analits més polars. Per aquest motiu, els discs s'empren quan existeix una forta interacció entre l'analit i el sorbent.

Galceran et al. [37,43] van emprar discs de sílice enllaçada (C_{18}) i PS-DVB i els van comparar amb cartutxos de C_{18} per extreure fenol i clorofenols d'aigua de

mar, de riu i de consum. Van demostrar que el temps d'extracció és inferior utilitzant discs i la possibilitat d'emprar més d'un disc en la mateixa extracció per tal d'augmentar la recuperació dels analits. Uns altres autors també han emprat dos discs combinats (un de C_{18} i l'altre d'un bescanviador aniònic) en el mateix dispositiu per a l'anàlisi d'alguns herbicides i els seus metabòlits en aigües i sòls, fet que ha permès obtenir millors recuperacions i sobretot extractes més nets [44].

Tal com s'ha esmentat anteriorment, els sorbents habituals en format de disc presenten certes limitacions, sobretot pels analits de característiques polars. Per aquest motiu, en els darrers anys han sorgit nous sorbents en aquest format per a solventar aquesta problemàtica. Uns d'aquests nous sorbents són els de PS-DVB funcionalitzat amb els grups sulfònic o acetil [36]. Un exemple és l'aplicació d'un disc de PS-DVB amb grup acetil que van portar a terme *Schmidt et al.* [45] per a la determinació de fenols en aigües. Aquests autors demostren que el PS-DVB acetilat proporciona majors recuperacions que el seu anàleg no modificat (PS-DVB). *Dumont et al.* [46] van emprar un PS-DVB sulfonat per extreure un grup d'analits de diferent polaritat (compostos fenòlics i alcans halogenats) i l'extracció fou efectiva amb recuperacions superiors al 90% per tots els analits en preconcentrar 15 ml de mostra.

Una important aplicació dels discs és la determinació dels àcids haloacètics i el dalapon en aigua de consum mitjançant el mètode oficial 552.1 de la US EPA, en el qual s'utilitza un bescanviador aniònic (SAX) [23].

Un nou dispositiu per a dur a terme la preconcentració i principalment el *clean-up* de la mostra és l'anomenat *96-well plate*. Aquest consisteix d'una placa amb 96 "pous" que contenen discs o llits empaquetats de sorbent, i presenta els avantatges de possible automatització i per tant d'elevada rapidesa, gràcies també a la gran capacitat d'execució (diversos centenars de mostres poden ser processades per dia) [47]. S'utilitza principalment en la indústria farmacèutica i

bioquímica, però la incorporació de nous tipus de sorbents en aquest dispositiu ofereix la possibilitat d'emprar-lo en altres camps.

I.1.2. ACOBLAMENT *ON-LINE* DE L'EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA A LES TÈCNIQUES CROMATOGRÀFIQUES

L'extracció en fase sòlida pot ser portada a terme *off-line* o bé acoblada *on-line* al sistema cromatogràfic. En ambdós modes l'extracció es realitza de forma similar, excepte el pas de desorció en el qual, en l'acoblament *on-line*, els analits retenguts són eluïts directament des de la precolumna cap a la columna analítica del sistema cromatogràfic. Els avantatges i les limitacions d'ambdós modes d'extracció estan àmpliament detallats en la bibliografia [48].

En l'acoblament *on-line* els sorbents solen estar disposats en precolumnes, tot i que també es poden utilitzar discs en un dispositiu especial que permet emprar diferent nombre i tipus de discs [49,50].

L'extracció *off-line* ha estat més extensament aplicada que l'acoblada *on-line* al sistema cromatogràfic degut a la seva major simplicitat. Malgrat tot, la tendència en els darrers anys ha estat un considerable augment en l'ús de l'acoblament *on-line* pels nombrosos avantatges que presenta, entre els quals es pot destacar la no manipulació de la mostra entre l'extracció i l'anàlisi i com a conseqüència s'evita el risc de pèrdua i contaminació i s'obtenen millors límits de detecció i reproductibilitat. A més, s'analitza tot l'extracte i per tant permet reduir considerablement el volum de mostra a preconcentrar així com el volum de solvents orgànics. També presenta un major potencial d'automatització [10,51]. Malgrat tot, sembla que la SPE en mode *off-line* tindrà un paper important en les anàlisis de mostres complexes degut a la seva gran flexibilitat i al fet que permet analitzar el mateix extracte mitjançant diverses tècniques [52].

La SPE s'ha acoblat *on-line* a diferents tècniques cromatogràfiques com són la cromatografia de gasos (GC), la cromatografia de líquids d'alta resolució (HPLC), la cromatografia de fluids supercrítics (SFC) i més recentment a l'electroforesi capil·lar (CE). Tal i com ja s'ha esmentat anteriorment, la HPLC és la tècnica cromatogràfica més emprada per a determinar compostos polars, ja que la GC requereix derivatització dels analits per millorar la seva volatilitat i a més l'acoblament SPE-HPLC és més senzill que l'acoblament SPE-GC. L'acoblament SPE-GC requereix un pas addicional d'assecat del sorbent previ a la desorció i també una interfase per a volatilitzar i eliminar l'eluent emprat per desorbir els analits [53]. Aquest acoblament ha estat àmpliament emprat en la determinació de contaminants en aigües com són plaguicides [53,56], compostos fenòlics [57], ftalats [58], etc... . L'acoblament de la SPE a la SFC també requereix un pas addicional d'assecat del sorbent abans de la desorció dels analits, encara que en aquest cas és la pròpia fase mòbil la que elueix els analits retinguts a la precolumna. En la bibliografia poden trobar-se algunes aplicacions d'aquest tipus d'acoblament SPE-SFC en les quals s'han determinat contaminants orgànics en mostres aquoses, com són compostos fenòlics [59], plaguicides [60] i hidrocarburs aromàtics policíclics [61]. S'ha demostrat que en l'acoblament SPE-SFC s'obté una major selectivitat que en l'acoblament SPE-HPLC ja que disminueix la banda dels àcids húmics i fúlvics deguda a la matriu de la mostra. Una aplicació de l'acoblament *on-line* de la SPE amb l'electroforesi capil·lar és la portada a terme per *Veraart et al.* [62] en què part de l'eluent, emprat en la desorció dels analits, és introduït directament en el capil·lar.

Malgrat els avantatges que presenta l'acoblament *on-line* SPE-HPLC, també cal esmentar alguns inconvenients com ara que les petites dimensions de la precolumna, la quantitat de sorbent oscil·la entre 20 i 100 mg, poden provocar una baixa retenció dels analits; la solució és seleccionar un sorbent amb major capacitat de retenció [22,52]. Una segona limitació d'aquest acoblament és la possible incompatibilitat entre el sorbent de la precolumna i el de la columna analítica. En l'acoblament SPE-HPLC, el sorbent de la precolumna s'ha de

seleccionar per la seva eficàcia i també per la seva compatibilitat amb el sorbent de la columna analítica [22]. El sorbent de la columna analítica ha de tenir la capacitat de retenció igual o superior a la del sorbent de la precolumna, i a més a més la precolumna ha de ser el més petita possible, per tal d'evitar l'eixamplament dels pics [10,28,63]. Així per exemple, en la determinació de compostos polars, la combinació de sorbents polimèrics o de carbó grafititzat amb les columnes analítiques més convencionals de C₁₈ provoca una pèrdua d'eficàcia degut a que els analits són més retinguts pels sorbents de la precolumna que no pas pels de la columna analítica [10,22,63] i també degut a la poca força eluotròpica de la fase mòbil.

A la bibliografia poden trobar-se diferents solucions a aquesta problemàtica d'eixamplament dels pics cromatogràfics. Una d'aquestes possibles solucions consisteix en l'ús d'un gradient d'elució adequat que provoqui la compressió dels analits a l'entrada de la columna analítica [10,64], tenint en compte que els primers pics (analits més polars) no coelueixin amb la banda inicial corresponent als àcids húmics i fúlvics presents en mostres d'aigua. Una altra possible alternativa, útil en alguns casos, consisteix en eluir els analits de la precolumna en contracorrent, ja que així els analits són comprimits en una banda estreta abans d'arribar a la columna analítica i conseqüentment s'obtenen pics més estrets [65]. *Pocurull et al.* [66] proposen evitar aquest problema mitjançant l'elució, en contracorrent, dels analits retinguts en precolumnes polimèriques emprant solament el solvent orgànic que compon la fase mòbil i posteriorment, entre la precolumna i la columna analítica i mitjançant una peça en forma de T sense volum mort, es forma la fase mòbil. En la Figura 1 es pot observar un esquema del sistema analític emprat per aquests autors. Una variació d'aquest últim mètode és la portada a terme per *Slobodnik et al.* [63]. Aquests autors ha realitzat una modificació de l'equip en què un grup de plaguicides polars, retinguts en una precolumna de carbó o polimèrica, són eluïts en contracorrent emprant únicament acetonitril, impulsat per una bomba addicional, que posteriorment és mesclat amb la fase mòbil i així

els analits arriben a la columna analítica. Un inconvenient d'aquests tipus de modificacions del sistema analític és un lleuger augment en la interferència de la matriu de la mostra degut a la major força eluotròpica d'aquests solvents orgànics respecte a la de tota la fase mòbil [66].

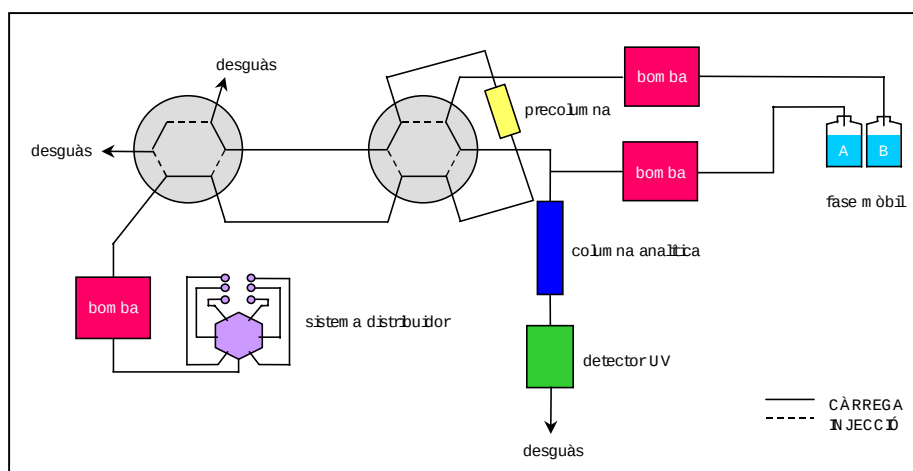


Fig. 1. Esquema del sistema analític emprat per Pocurull et al. [66]

Recentment, *Duinkerken et al.* [67] i *Renner et al.* [68] han demostrat que l'augment de la temperatura de l'eluent emprat en la desorció millora significativament l'eficàcia de la SPE acoblada *on-line* a la LC. Aquest mètode, conegut com a desorció tèrmicament assistida (TDA), permet que l'elució dels analits s'aconsegueixi amb un volum més petit de solvent i s'obtinguin uns pics més estrets, per tant facilita l'ús d'un sorbent d'alta capacitat de retenció en l'extracció *on-line* a una columna habitual de LC. *Renner et al.* [68] han obtingut uns pics un 10% més estrets per a una sèrie de plaguicides mitjançant la TAD comparat amb la SPE-LC habitual. Aquests mateixos autors [68] també obtenen

millors recuperacions amb la TAD per a una sèrie de plaguicides, explosius i PAHs ja que l'increment de temperatura afavoreix la seva desorció. A més, *Duinkerken et al.* [67] remarquen un altre avantatge del sistema emprat per a dur a terme la TDA, ja que en l'acoblament *on-line* de la SPE a la GC si aquest sistema s'utilitza per a escalfar el gas emprat en el secat de la precolumna, després de percolar-hi la mostra, s'aconsegueix reduir considerablement el temps de secat del sorbent que sol ser de 30 minuts sense augmentar la temperatura.

En els darrers anys, s'ha introduït un mètode desenvolupat arran d'un sistema *on-line* SPE-LC per a la monitorització de contaminants orgànics en mostres d'aigua. Aquest mètode consisteix en la utilització d'una única columna curta (SSC), normalment de 10-20 mm i de 2-4.6 mm de diàmetre intern, per a l'extracció de la mostra, la preconcentració de les traces i la separació analítica [69-73]. Així, aquesta columna (habitualment de C₁₈) és inicialment condicionada i aleshores s'hi preconcentra un volum determinat de mostra igual que en el cas d'una SPE clàssica; a continuació s'inicia el gradient de la fase mòbil que dona lloc a la separació analítica. En aquest cas, s'obté un gran pic a l'inici dels cromatogrames degut a la matriu. Per tant, doncs, els requisits bàsics són que hi hagi una suficient discriminació entre la matriu de la mostra i els analits, i que aquesta columna tingui suficient capacitat per donar recuperacions elevades i retenció dels analits durant la introducció de la mostra [74]. Aquest mètode ha estat aplicat a la determinació de diverses famílies de microcontaminants en aigües, com per exemple plaguicides [69-73], compostos aromàtics sulfonats [69] i hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs) [71], i presenta l'avantatge d'una instrumentació més senzilla que els sistemes *on-line* SPE-LC. Actualment aquesta metodologia es troba en procés d'optimització de les dimensions i tipus de columna.

Un altre mètode desenvolupat consisteix en l'acoblament de dues columnes analítiques (LC-LC). La primera columna exerceix un paper rellevant, ja que ha

de permetre la separació eficaç dels analits i de les substàncies interferents de la mostra, i en la segona columna té lloc la separació analítica dels compostos a determinar. Depenent de les dimensions i la capacitat de retenció de la primera columna aquest mètode pot assimilar-se a l'acoblament SPE-LC. Els avantatges fonamentals d'aquest acoblament són una millora de la selectivitat i sensibilitat, respecte als mètodes basats en cromatografia de líquids convencional, i també la possibilitat d'automatització. Pel que fa a les seves limitacions, cal destacar que aquest mètode és més adequat per a la determinació d'un o pocs analits, amb coeficients de retenció similars, de manera que tots els analits puguin ser transferits a la segona columna i per a l'anàlisi de traces pot ser necessària una etapa prèvia de preconcentració. Així doncs, l'acoblament SPE-LC i aquest acoblament poden ser complementaris per a la preconcentració i neteja de mostres mediambientals [75]. En l'anàlisi d'aigües, l'acoblament LC-LC ha estat bàsicament aplicat en la determinació de plaguicides [76-78] tot i que també existeixen aplicacions per a altres analits com ara explosius i els seus productes de degradació [79].

I.1.3. SISTEMES AUTOMATITZATS DE L'EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA

Ens els darrers anys s'han introduït dispositius automàtics, disponibles comercialment, que permeten l'automatització de l'extracció en fase sòlida tant en mode *off-line* com en l'acoblament *on-line* al sistema analític. Aquests dispositius presenten nombrosos avantatges com són rapidesa, producció de resultats més precisos i possibilitat de total automatització d'entre altres avantatges [23]. Existeixen diferents models d'aquests dispositius els quals es troben ben descrits a la bibliografia [16,23,80].

En l'extracció *off-line* automatitzada se solen emprar el mateix tipus de cartutxos que en la SPE manual. Un dels sistemes automàtics comercialitzats per l'extracció *off-line* és l'ASPEC XL (Gilson) que ha estat utilitzat en la determinació de diferents compostos orgànics, com per exemple compostos fenòlics [81,82] i plaguicides [83], en aigües.

L'acoblament *on-line* de la SPE a diferents tècniques cromatogràfiques es pot automatitzar, i per exemple dos dels dispositius comercials que permeten aquesta automatització són el sistema PROSPEKT (Spark Holland) i el sistema OSP-2 (Merck) que han estat àmpliament emprats en la determinació de diversos contaminants orgànics en mostres d'aigua [16,23,84-88].

I.1.4. PROBLEMÀTICA EN LA DETERMINACIÓ DE COMPOSTOS POLARS

Com ja s'ha esmentat anteriorment, els sorbents convencionals emprats per a l'extracció de compostos orgànics en aigua no són capaços de retenir els analits més polars i per tant donen baixes recuperacions per aquests compostos. A més, en l'anàlisi d'aigües mitjançant la SPE i la cromatografia de líquids en fase inversa apareix una banda a l'inici del cromatograma que dificulta la determinació dels analits que elueixen abans, és a dir, dels analits amb major caràcter polar. Aquesta banda correspon a la interferència de la matriu deguda a les substàncies húmiques (àcids húmics i fúlvics) presents en aquest tipus de mostres complexes, la qual és més important com més gran sigui la capacitat de retenció del sorbent emprat en l'extracció [43,64].

Per tal d'eliminar o reduir aquesta interferència s'han desenvolupat una sèrie de mètodes que faciliten la quantificació dels analits més polars en mostres d'aigua amb alt contingut de matèria orgànica.

Per exemple, *Bonifazi et al.* [89,90] han aconseguit reduir aquesta banda mitjançant un tractament químic de la mostra amb KMnO_4 , abans del procés d'extracció, amb què les substàncies húmiques són oxidades. Un altre reactiu químic emprat amb la mateixa finalitat és el Na_2SO_3 que transforma els àcids húmics en compostos de major polaritat els quals no queden retinguts en els sorbents, conseqüentment s'obtenen extractes més nets [91].

Un altre d'aquests mètodes consisteix en l'ús de materials d'accés restringit (RAM) que es caracteritzen per la limitada accessibilitat de macromolècules, com ara les substàncies húmiques de la mostra, als llocs actius del suport porós. Els diferents tipus existents d'aquests materials i les seves diferents aplicacions es troben descrits a la bibliografia [92,93]. Aquests RAM han estat principalment emprats en la separació per exclusió segons grandària de macromolècules en el camp del bioanàlisi, en canvi són molt poques les aplicacions d'aquest tipus de materials en el camp mediambiental. Un exemple d'aquestes aplicacions és el realitzat per Önnérford *et al.* [65] que han emprat un RAM, de sílice alquil-diòl, com a precolumna per a la preconcentració *on-line* d'una sèrie de triazines en aigua de riu. Malgrat obtenir una gran reproductibilitat dels resultats, els autors conclouen que la retenció en aquesta precolumna no és suficient pels analits més polars (recuperacions inferiors al 10% preconcentrant 25 ml de mostra) i la interferència de la matriu no és totalment eliminada. Hogendoorn *et al.* [77] també han emprat diversos materials d'aquest tipus, com a columnes analítiques (en LC o com a primera columna en l'acoblament LC-LC) o com a sorbents per a la SPE, en la determinació d'un grup d'herbicides polars en mostres d'aigua amb un alt contingut de matèria orgànica. Els autors han obtingut recuperacions superiors al 85% per tots els analits en preconcentrar *off-line* 100 ml de mostra i a més han aconseguit eliminar considerablement la interferència de la matriu facilitant la determinació dels analits a nivell traça.

Uns altres autors han optat per emprar una precolumna empaquetada amb cèl·lules de llevat (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilitzades sobre gel de sílice per a la preconcentració de diversos plaguicides polars en mostres d'aigua mediambiental [94]. Aquest tipus de precolumna ha permès extreure selectivament els plaguicides, mentre que els àcids húmics i fúlvics i altres compostos d'elevat pes molecular no hi queden retinguts. Així, els autors han

pogut determinar els plaguicides a nivells traça preconcentrant *on-line* únicament 25 ml de mostra sense cap *clean-up* addicional.

Un altre mètode és el portat a terme per *Pichon et al.* [38,95] amb el qual han evitat la coextracció dels àcids húmics i fúlvics amb una sèrie de plaguicides polars. Els analits han estat retinguts en forma iònica (a pH 7) en un polímer altament entrecreuat, mitjançant interaccions entre la matriu del sorbent i la part orgànica dels analits, i s'han obtingut bones recuperacions. En canvi, part de les substàncies húmiques no han estat retingudes en aquest sorbent i s'observa una disminució considerable de la interferència de la matriu. Els autors expliquen aquesta disminució pel fet que les substàncies húmiques a aquest pH estan poliionitzades i per tant no poden ser retingudes en el sorbent, en canvi a pH àcid poden interaccionar fàcilment donant la banda inicial ja esmentada. Un mètode similar és el realitzat per *Geerdink et al.* [96]. En el seu treball aquests autors preconcentren una sèrie d'herbicides polars a pH àcid i aconseguixen reduir la banda inicial mitjançant un posterior *clean-up* de la precolumna amb una dissolució de NaOH (pH 11), amb el qual elueixen les substàncies húmiques mentre que els analits romanen retinguts en el sorbent. L'explicació dels autors per aquest efecte és la mateixa que la donada en el mètode anterior proposat per *Pichon et al.*.

Un mètode alternatiu és l'extracció de compostos fàcilment ionitzables en dues etapes, ja sigui en mode *off-line* o *on-line* al sistema cromatogràfic, emprant dos discs o cartutxos [44,97] o bé dues precolumnes [85,98] en sèrie, respectivament. Aquest mètode ha estat aplicat en la determinació de plaguicides [44,97] i compostos fenòlics [85,98] en mostres d'aigua mediambiental. Mitjançant aquest mètode, les substàncies húmiques i els analits d'interès són retinguts en sorbents diferents permetent l'elució dels analits cap a la columna analítica sense interferència de la matèria orgànica de la matriu.

Malgrat aquests mètodes existents, la determinació de compostos d'elevada polaritat presenta encara una important limitació. Com ja s'ha esmentat la limitació principal en la determinació d'aquests compostos és la baixa recuperació pels analits més polars que s'obté amb els sorbents convencionals. Per aquest motiu, en els darrers anys estan sorgint nous materials per a solventar aquesta problemàtica. També estan sorgint altres materials que es caracteritzen per la seva selectivitat davant un analit o grup d'analits determinats i que permeten reduir la banda dels àcids húmics i fúlvics i altres interferències de la matriu. A continuació, en el següent capítol, es comenten les principals característiques dels diferents tipus de sorbents per a l'extracció en fase sòlida de compostos orgànics en mostres d'aigua, així com algunes aplicacions d'aquests. Per tant, s'inclouran els sorbents convencionals i també els desenvolupats més recentment que han permès unes millors recuperacions pels analits amb major caràcter polar i unes anàlisis més selectives.

I.2. BIBLIOGRAFIA

- 1 M. Biziuk, A. Przyjazny, J. Czerwinski, M. Wierowski, J. Chromatogr. A, 754 (1996) 103.
- 2 M.L. Davì, F. Gnudi, Wat. Res., 33 (1999) 3213.
- 3 H.M.G. van der Werf, Agric. Ecosyst. Environ., 60 (1996) 81.
- 4 P.T.C. Harrison, P. Holmes, C.D.N. Humfrey, Sci. Total Environ., 205 (1997) 97.
- 5 W.A. Telliard, Crit. Rev. Anal. Chem., 29 (1999) 249.
- 6 M-C. Hennion, V. Pichon, D. Barceló, Trends Anal. Chem., 13 (1994) 361.
- 7 National Primary Drinking Water Regulation; Fed. Reg., Part 12, 40 CFR Part 141. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1991.
- 8 S.D. Richardson, Anal. Chem., 71 (1999) 181R.
- 9 R.E. Clement, P.W. Yang, C.J. Koester, Anal. Chem., 71 (1999) 257R.
- 10 M-C. Hennion, P. Scribe in D. Barceló (ed.), *Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality Assurance*. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Vol. 13, Elsevier, Amsterdam, 1993.
- 11 M. Biziuk, A. Przyjazny, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 417.
- 12 P. Kuráň, L. Soják, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 119.
- 13 V. Lopez Avila, Crit. Rev. Anal. Chem., 29 (1999) 195.
- 14 N. Megersa, J.Å. Jönsson, Analyst, 123 (1998) 225.
- 15 N.C. van de Merbel, J. Chromatogr. A, 856 (1999) 55.
- 16 L.A. Berrueta, B. Gallo, F. Vicente, Chromatographia, 40 (1995) 474.
- 17 A. Martín Esteban, P. Fernández, A.R. Fernández-Alba, C. Cámara, Quim. Anal., 17 (1998) 51.
- 18 L.S. de Jager, A.R.J. Andrews, Chromatographia, 50 (1999) 733.
- 19 E.C. Goosens, D. de Jong, G.J. de Jong, F.D. Rinkema, U.A.Th. Brinkman, J. High Resol. Chromatogr., 18 (1995) 38.

- 20 E.C. Goosens, D. de Jong, G.J. de Jong, U.A.Th. Brinkman, J. High Resol. Chromatogr., 20 (1997) 325.
- 21 R.E. Majors, LC·GC Int, 10 (1997) 93.
- 22 M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 856 (1999) 3.
- 23 E.M. Thurman, M.S. Mills, *Solid-Phase Extraction: Principles and Practice*, John Wiley & Sons, New York, 1998.
- 24 A. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marcé, J. Chromatogr. A, 839 (1999) 253.
- 25 J. Pawliszyn, *Solid-Phase Microextraction: Theory and Practice*, Wiley-VCH Inc., New York, 1997.
- 26 H. Prosen, L. Zupan*ić*-Kralj, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 272.
- 27 A. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marcé, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 557.
- 28 M.W.F. Nielen, *Selective On-Line Precolumn Sample Handling and Trace Enrichment in Liquid Chromatography*, Tesi Doctoral, Free University, Amsterdam, 1987.
- 29 I. Ferrer, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 161.
- 30 C. Aguilar, I. Ferrer, F. Borrull, R.M. Marcé, D. Barceló, Anal. Chim. Acta, 386 (1999) 237.
- 31 I. Liška, K. Bíliková, J. Chromatogr. A, 795 (1998) 61.
- 32 E.M. Thurman, K. Snavey, Trends Anal. Chem., 19 (2000) 18.
- 33 S.K. Poole, C.F. Poole, Anal. Commun., 33 (1996) 15H.
- 34 C.F. Poole, S.K. Poole, D.S. Seibert, C.M. Chapman, J. Chromatogr. B, 689 (1997) 245.
- 35 D.D.Blevins, S.K. Schultheis, LC·GC Int., 7 (1994) 70.
- 36 D. Barceló, S. Chiron, S. Lacorte, E. Martinez, J.S. Salau, M-C. Hennion, Trends Anal. Chem., 13 (1994) 352.
- 37 M.T. Galceran, O. Jáuregui, Anal. Chim. Acta, 304 (1995) 75.
- 38 I. Urbe, J. Ruana, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 337.
- 39 V. Pichon, M. Charpack, M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 795 (1998) 83.
- 40 S. Lacorte, D. Fraisse, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 857 (1999) 97.

- 41 M.B. Riley, R.J. Keese, *Weed Sci.*, 44 (1996) 689.
- 42 E. Viana, M.J. Redondo, G. Font, J.C. Moltó, *J. Chromatogr. A*, 733 (1996) 267.
- 43 O. Jáuregui, M.T. Galceran, *Anal. Chim. Acta*, 340 (1997) 191.
- 44 I. Ferrer, D. Barceló, E.M. Thurman, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 1009.
- 45 L.W. Schmidt, J.J. Sun, J.S. Fritz, D.F. Hagen, C.G. Markell, E.E. Wisted, *J. Chromatogr.*, 641 (1993) 57.
- 46 P.J. Dumont, J.S. Fritz, *J. Chromatogr. A*, 691 (1995) 123.
- 47 D.A. Wells, *LC·GC Europe*, 12 (1999) 704.
- 48 I. Liška, *J. Chromatogr. A*, 655 (1993) 163.
- 49 E.R. Brouwer, D.J. van Iperen, I. Liška, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 47 (1992) 257.
- 50 C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 754 (1996) 77.
- 51 R.M. Marcé, H. Prosen, C. Crespo, M. Calull, F. Borrull, U.A.Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, 696 (1995) 63.
- 52 D. Puig, D. Barceló, *Trends Anal. Chem.*, 15 (1996) 362.
- 53 S. Öllers, M. van Lieshout, H-G. Janssen, C.A. Cramers, *LC·GC Int.*, 10 (1997) 435.
- 54 T.H.M. Noij, M.M.E. van de Kooi, *J. High Resol. Chromatogr.*, 18 (1995) 535.
- 55 K.K. Verma, A.J.H. Louter, A. Jain, E. Pocurull, J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, *Chromatographia*, 44 (1997) 372.
- 56 E. Pocurull, C. Aguilar, F. Borrull, R.M. Marcé, *J. Chromatogr. A*, 818 (1998) 85.
- 57 A.J.H. Louter, P.A. Jones, J.D. Jorritsma, J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, *J. High Resol. Chromatogr.*, 20 (1997) 363.
- 58 T. Hyötyläinen, K. Grob, M. Biedermann, M-L. Riekkola, *J. High Resol. Chromatogr.*, 20 (1997) 410.
- 59 E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, J.L. Bernal, L. Toribio, M.L. Serna, *J. Chromatogr. A*, 755 (1996) 67.

- 60 P. Sandra, A. Medvedovici, A. Kot, L. Vilas Boas, F. David, LC·GC Int., 9 (1996) 540.
- 61 J.L. Bernal, M.J. Nozal, L. Toribio, M.L. Serna, F. Borrull, R.M. Marcé, E. Pocurull, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 321.
- 62 J.R. Veraart, C. Gooijer, H. Lingeman, N.H. Velthorst, U.A.Th. Brinkman, Chromatographia, 44 (1997) 581.
- 63 J. Slobodník, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.TH. Brinkman, J. Chromatogr. A, 750 (1996) 227.
- 64 D. Puig, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 371.
- 65 P. Önnérjörd, D. Barceló, J. Emnéus, L. Gorton, G. Marko-Varga, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 35.
- 66 E. Pocurull, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 41 (1995) 521.
- 67 A. Duinkerken, A. Schellen, O. Halmingh, M. van Gils, B. Ooms, LC·GC Europe, 13 (2000) 182.
- 68 T. Renner, D. Baumgarten, K.K. Unger, Chromatographia, 45 (1997) 199.
- 69 K-P. Hupe, M. Riedmann, G. Rozing, Chromatographia, 40 (1995) 631.
- 70 A.C. Hogenboom, U.A.Th. Brinkman, W.M.A. Niessen, LC·GC Int., 10 (1997) 669.
- 71 A.C. Hogenboom, U.K. Malmqvist, K. Nolkranzt, J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 759 (1997) 55.
- 72 A.C. Hogenboom, R.J.C.A. Steen, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, Chromatographia, 48 (1998) 475.
- 73 A.C. Hogenboom, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 794 (1998) 201.
- 74 D. Barceló, M-C. Hennion, *Trace Determination of Pesticides and Their Degradation Products in Water*, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Vol. 19, Elsevier, Amsterdam, 1997.
- 75 C. Hidalgo, *Simplificación del Tratamiento de Muestra en el Análisis de Residuos de Herbicidas en Aguas Mediante Aplicación de las Técnicas Cromatográficas Acopladas LC-LC y SPE-LC*, Tesis Doctoral, Universitat Jaume I, Castelló, 1999.

-
- 76 E.A. Hogendoorn, R. Hoogerbrugge, R.A. Baumann, H.D. Meiring, A.P.J.M. de Jong, P. van Zoonen, J. Chromatogr. A, 754 (1996) 49.
- 77 E.A. Hogendoorn, E. Dijkman, B. Baumann, C. Hidalgo, J-V. Sancho, F. Hernández, Anal. Chem., 71 (1999) 1111.
- 78 E.A. Hogendoorn, P. van Zoonen, J. Chromatogr. A, 703 (1995) 149.
- 79 A.P. Kohne, U. Dornberger, T. Welsch, Chromatographia, 48 (1998) 9.
- 80 I. Ferrer, *Desenvolupament de Metodologies d'Extracció Selectiva i Cromatografia de Líquids per a la Vigilància Ambiental de Plaguicides i de Llurs Productes de Degradació en Aigües Naturals*, Tesi Doctoral, Universitat de Barcelona, Barcelona, 1999.
- 81 D. Puig, D. Barceló, Anal. Chim. Acta, 311 (1995) 63.
- 82 M. Castillo, D. Puig, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 301.
- 83 I. Ferrer, V. Pichon, M-C. Hennion, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 777 (1997) 91.
- 84 D. Barceló, M.F. Alpendurada, Lab. Robot. Autom., 9 (1997) 165.
- 85 A.C. Hogenboom, I. Jagt, R.J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, Analyst, 122 (1997) 1371.
- 86 S. Lacorte, D. Barceló, Anal. Chim. Acta, 296 (1994) 223.
- 87 C. Aguilar, I. Ferrer, F. Borrull, R.M. Marcé, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 794 (1998) 147.
- 88 J.D. MacFarlane, J. Autom. Chem., 19 (1997) 175.
- 89 P. Bonifazi, A.R. Mastrogiacomo, E. Pierini, F. Bruner, Intern. J. Environ. Anal. Chem., 57 (1994) 21.
- 90 P. Bonifazi, E. Pierini, F. Bruner, Chromatographia, 44 (1997) 595.
- 91 N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 48 (1998) 231.
- 92 K-S. Boos, A. Rudolphi, LC·GC Int., 11 (1998) 84.
- 93 K-S. Boos, C-H. Grimm, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 175.
- 94 A. Martín Esteban, P. Fernández, C. Cámara, Anal. Chem., 69 (1997) 3267.
- 95 V. Pichon, C. Cau Dit Coumes, L. Chen, S. Guenu, M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 25.

- 96 R.B. Geerdink, S. van Tol-Wildenburg, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *Analyst*, 122 (1997) 889.
- 97 R.B. Geerdink, A. Attema, W.M.A. Niessen, U.A.Th. Brinkman, *LC·GC Int.*, 11 (1998) 361.
- 98 L.E. Vera-Avila, J. Reza, R. Covarrubias, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 63 (1996) 301.

Com que l'objectiu de la present Tesi Doctoral és el desenvolupament de nous sorbents per tal de millorar l'eficàcia de l'extracció de contaminants orgànics polars, en aquest capítol es presenta una revisió de la recerca en el camp dels sorbents d'extracció en fase sòlida de compostos orgànics en mostres d'aigua per tal de determinar l'estat actual del tema. Així doncs, es comenten i discuteixen els avantatges i les limitacions dels diferents sorbents, convencionals i de recent aparició, i es realitza un estudi detallat de la seva aplicació.

En l'anàlisi mediambiental existeixen dos importants camps d'interès, l'anàlisi multiresidu i l'anàlisi específic d'un o d'un grup d'analits. En l'anàlisi multiresidu interessa determinar un ampli ventall de compostos presents en la mostra per tal d'avaluar la qualitat d'aquesta, mentre que en l'anàlisi específica únicament es vol determinar la presència d'un o diversos compostos de la mateixa família en la mostra. Així, cal disposar de sorbents amb una elevada capacitat de retenció per a compostos amb característiques polars ben diferents i també sorbents selectius que només retinguin els analits d'interès.

II.1. SORBENTS PER A L'EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA

En aquest apartat, inicialment es descriuen els diferents sorbents convencionals al mateix temps que es comenten algunes de les seves aplicacions en la SPE de compostos orgànics en mostres aquoses. Aquests sorbents inclouen els de base sílice, els bescanviadors iònics, els de carbó i finalment els polimèrics.

A continuació, es detallen els sorbents de desenvolupament més recent que en general han proporcionat resultats més satisfactoris en l'extracció dels compostos més polars. Aquest grup de nous sorbents està format pels polímers

altament entrecreuats, els polímers químicament modificats, els immunosorbents i els polímers amb empremta molecular.

II.1.1. SORBENTS CONVENCIONALS

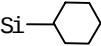
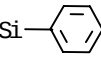
II.1.1.1. Sorbents de Base Sílice

Les sílices enllaçades amb diferents grups funcionals constitueixen els sorbents més àmpliament emprats per a l'extracció en fase sòlida de contaminants orgànics en mostres aquoses. Les més habituals són les que contenen els grups funcionals octil (C_8) [1-5] i octadecil (C_{18}) [3-12], tot i que n'existeixen amb altres grups funcionals com l'etil (C_2) [1,11], el butil (C_4) [1], el fenil [3,4], el ciclohexil (CH) [7] i el cianopropil (CN) [3,11,12]. El mecanisme d'interacció entre aquests grups funcionals enllaçats i els analits es deu principalment a forces hidrofòbiques del tipus forces de van der Waals, tot i que en el cas del cianopropil també poden tenir lloc interaccions dipolars i en el del fenil interaccions π - π . En la Taula 1 es recullen les estructures d'aquests sorbents i s'indica el tipus d'analits adequats per a extreure.

La sílice enllaçada més utilitzada és la que conté el grup C_{18} ja que s'ha demostrat que la seva capacitat és lleugerament superior a la d'altres sílices enllaçades en l'anàlisi de compostos polars. Per exemple, *Pocurull et al.* [7] han demostrat que el grup C_{18} és més eficient en l'extracció de compostos

Taula 1
Principals sílices enllaçades emprades en l'anàlisi d'aigües

Grup Funcional	Estructura	Analits
C_2	$\text{Si-CH}_2\text{CH}_3$	apolars

C ₄	Si-(CH ₂) ₃ CH ₃	apolars
C ₈	Si-(CH ₂) ₇ CH ₃	apolars
C ₁₈	Si-(CH ₂) ₁₇ CH ₃	apolars
Ciclohexil	Si- 	apolars
Fenil	Si- 	apolars
Cianopropil	Si-(CH ₂) ₃ CN	apolars/polars

fenòlics polars que no pas el grup CH; aquests resultats podrien explicar-se per un possible major nombre d'interaccions entre els analits i el sorbent C₁₈. *Parrilla et al.* [4] han demostrat que els grups C₈ i fenil no són adequats per l'anàlisi d'un grup de plaguicides polars degut a les baixes recuperacions que proporcionen, en canvi amb C₁₈ han obtingut majors recuperacions tot i que també han estat baixes pels analits més polars, el metomil i el dimetoat. Sembla que les interaccions π - π entre el grup fenil i aquests plaguicides polars no superen a les del C₁₈ i per tant les recuperacions són inferiors amb el sorbent amb el grup fenil. Tanmateix, un estudi portat a terme per *Chudziak et al.* [3] mostra la major eficàcia del grup fenil respecte a la del C₁₈, C₈ i CN en preconcentrar un grup de compostos fenòlics polars en aigua, tot i que les recuperacions no són molt elevades. En aquest cas, els resultats poden explicar-se per un major nombre d'interaccions π - π entre el sorbent amb el grup fenil i els compostos fenòlics que no pas amb els analits del treball de *Parrilla et al.* A més, les interaccions π - π són més importants en aquest sorbent que no pas les interaccions dipolars del sorbent amb el grup CN i conseqüentment el sorbent fenilat és més adequat per l'anàlisi de fenols en aigua.

Malgrat l'elevada reproductibilitat de retenció d'aquest tipus de sorbents cal esmentar que presenten algunes limitacions, com la seva baixa selectivitat i la baixa estabilitat en medis fortament àcids o bàsics. El seu ús està restringit en l'interval de pH comprès entre 2 i 8 ja que a valors de pH inferiors el grup funcional enllaçat pot hidrolitzar-se i a valors superiors la base de sílice es pot dissoldre. No obstant, la principal limitació de les sílices enllaçades és que ofereixen una baixa retenció pels analits de caràcter més polar [3,13,14].

Per tal de solventar aquest últim desavantatge es poden emprar sílices que continguin silanols residuals, però tot i el seu ús els analits de més elevada polaritat encara presenten baixes recuperacions. Aquests sorbents permeten, a banda de les interaccions hidrofòbiques, interaccions iòniques o ponts d'hidrogen amb els analits polars, i el més comú és el C₁₈/OH o també anomenat C₁₈ polar [14]. *McLaughlin et al.* [9] han demostrat els avantatges d'aquest sorbent respecte al C₁₈ convencional en la retenció de dos metabòlits polars de les triazines, la DIA i la DEA, ja que s'obtenen recuperacions superiors al 90% en l'anàlisi de 200 ml de mostra d'aigües de diferent procedència. Tanmateix, *Hennion et al.* [10] han obtingut resultats més satisfactoris emprant precolumnes de C₁₈ convencionals que amb C₁₈/OH en la determinació d'un grup de carbamats polars. Els autors expliquen aquests resultats degut al menor contingut de carboni del C₁₈/OH (13,5%) davant al dels C₁₈ (18%) emprats, fet que fa que la disminució de les interaccions hidrofòbiques dels analits amb els grups octadecil de la superfície de la sílice no es vegi compensada per l'aparició d'interaccions polars en el sorbent C₁₈/OH.

II.1.1.2. Bescanviadors iònics

Els bescanviadors iònics són sorbents adequats per a l'extracció de compostos orgànics iònics o fàcilment ionitzables que queden retinguts mitjançant interaccions electrostàtiques. Aquests sorbents estan basats en un suport de

sílice o polimèric sobre el qual s'enllacen diferents grups funcionals. Normalment, si es tracta d'un bescanviador catiònic fort conté grups sulfònics i si és un bescanviador catiònic feble conté grups carboxílics. En canvi, en el cas de bescanviadors aniònics forts presenten amines quaternàries i els febles contenen altres tipus d'amines [15].

Els bescanviadors iònics més emprats són els bescanviadors aniònics forts, també anomenats SAX (*strong anionic exchangers*) [16-20]. Tot i que també existeixen aplicacions de bescanviadors catiònics, també coneguts com SCX (*strong cationic exchangers*), com la portada a terme per *Kambhampati et al.* [21] en què han pogut determinar diquat i paraquat a nivells traça en aigües de consum. Un altre exemple d'aplicació de bescanviadors catiònics és el dut a terme per *Dumont et al.* [22] en què sintetitzen i avaluen una reïna polimèrica sulfonada per a l'extracció d'una sèrie de compostos orgànics polars. Aquests autors obtenen una extracció més eficaç per tots els analits amb aquesta nova reïna que no pas amb la reïna anàloga sense sulfonar gràcies a la seva superfície més hidrofílica. Més recentment, *Buchmeiser et al.* [23,24] han sintetitzat un nou sorbent funcionalitzat amb grups carboxílics i l'han emprat com a bescanviador catiònic en l'anàlisi d'anilines i lutidines [23] i d'altres compostos orgànics de diversa polaritat [24]. Aquest nou sorbent ha permès retenir els analits mitjançant interaccions hidrofòbiques i també de bescanvi catiònic, i conseqüentment ha proporcionat una major retenció dels analits més polars.

Tot i aquests exemples, existeixen menys aplicacions d'aquests tipus de sorbents per a l'extracció de compostos orgànics en mostres d'aigües mediambientals que per les sílices enllaçades. Els motius d'aquesta menor utilització es deu bàsicament al fet que cal que els analits puguin adoptar forma iònica, i també a la presència d'elevades concentracions d'ions inorgànics en aquests tipus de mostres que poden interaccionar amb el bescanviador iònic i fan que aquest sigui menys efectiu en l'extracció dels analits d'interès [14,15].

No obstant, en la bibliografia poden trobar-se alguns tractaments químics per tal de disminuir els ions inorgànics, però aquests no són capaços d'eliminar-los totalment de la matriu [14].

II.1.1.3. Sorbents de Carbó

El carbó activat va ser un dels primers materials per a l'extracció de compostos orgànics en mostres d'aigua [25,26]. Actualment, els sorbents de carbó més emprats en la SPE són els carbons negres grafititzats (GCB) que s'obtenen escalfant el carbó negre a altes temperatures (2700-3000°C) en una atmosfera inert. Aquests són no porosos i amb poca àrea superficial específica, aproximadament 100 m²/g [27]. La presència d'heterogeneïtats químiques carregades positivament sobre la seva superfície fan que aquests sorbents puguin actuar tant com sorbents no específics com bescanviadors aniònics [26,28].

Els sorbents de carbó es caracteritzen per la seva elevada capacitat d'adsorció, resistència química i tèrmica, estabilitat en un ampli interval de pH, i a diferència dels primers materials, els carbons activats, presenten estructures més homogènies [26]. Malgrat tot, aquests sorbents porten una problemàtica associada deguda a la capacitat de retenció excessiva; fins i tot alguns analits poden quedar irreversiblement retinguts en la seva superfície. Per a solventar aquest inconvenient s'han proposat diferents alternatives entre les quals poden esmentar-se l'ús d'un gran volum d'eluent, la utilització d'eluents més eficaços com el clorur de metilè o el tetrahidrofurà, o bé l'elució en contracorrent; aquesta última alternativa és recomenable ja que suposa la utilització d'un menor volum de solvent [14,27,29].

Alguns carbons negres grafititzats comercials, com per exemple el Carbopack B, l'Envi-Carb i el Carbograph, han estat emprats en la determinació de diversos microcontaminants orgànics com ara compostos fenòlics [26-31], plaguicides

[27,32-37] i surfactants [27,38] en aigües de consum i de riu demostrant la seva major eficàcia respecte al C_{18} en la retenció dels compostos més polars [28]. També existeixen treballs en els quals els sorbents de carbó han donat resultats menys satisfactoris que les sílices enllaçades. *Soriano et al.* [11] comparen diversos sorbents, entre els quals es troben el Carbograph i les sílices enllaçades C_{18} , C_2 i CN, en l'extracció de plaguicides nitrogenats i el sorbent de carbó ha estat el que ha proporcionat les recuperacions més baixes per aquests analits tot i realitzar l'elució en contracorrent. Una explicació a aquests resultats podria ser la possible retenció excessiva o irreversible dels analits en el sorbent de carbó.

Un altre exemple de l'aplicació d'aquests tipus de sorbents de carbó és el realitzat per *Heberle et al.* [37]. Aquests autors han utilitzat Carbopack B per a l'extracció d'un grup de plaguicides i metabòlits, els quals han estat eluïts seqüencialment segons el seu caràcter polar. Amb aquest sorbent han obtingut recuperacions superiors al 75% pels plaguicides i superiors al 50% pels metabòlits de caràcter més polar en l'extracció d'un litre d'aigua superficial o subterrània. Aquestes baixes recuperacions pels metabòlits podrien ser degudes a l'elevada polaritat aquests compostos.

Dos sorbents de GCB apareguts més recentment són el Carbograph 4 i el Carbograph 5. Aquests sorbents presenten àrees superficials superiors a 100 m^2/g han estat emprats en l'anàlisi d'un grup de plaguicides, compostos fenòlics i surfactants i s'han obtingut millors recuperacions pels analits més polars que amb el sorbent Carbograph (100 m^2/g) [27,29]. L'explicació a aquests resultats és la saturació del limitat nombre de llocs actius en la superfície dels sorbents de carbó quan es preconcentren mostres aquoses mediambientals amb un elevat contingut de matèria orgànica [27].

Una limitació dels GCB és la seva baixa estabilitat mecànica. Els sorbents de carbó porós grafititzat (PGC) són un nou tipus de sorbents de carbó que

consten de grafit immobilitzat sobre una estructura de sílice; aquest fet els proporciona una major estabilitat que els sorbents de carbó negre grafititzat. *Coquart et al.* [39] han emprat un carbó porós grafititzat en l'extracció, acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids i amb elució en contracorrent, de compostos fenòlics d'elevada polaritat i per tots els analits excepte pel fenol, el menys polar dels analits estudiats, han obtingut millors recuperacions que no pas amb un sorbent polimèric (PRP-1). Els autors expliquen aquests resultats pel diferent mecanisme de retenció d'aquests analits polars en els dos sorbents, ja que poden aparèixer fortes interaccions entre els grups hidroxil d'aquests analits amb la superfície polar del carbó. En el mateix treball aquests autors també demostren la superioritat del PGC davant la sílice enllaçada amb C₁₈ per a l'extracció d'aquests analits.

Cal esmentar que en aquest estudi sobre les diferents aplicacions dels sorbents de carbó s'han trobat resultats molt dispars entre els treballs realitzats per diferents autors. Aquesta variabilitat fa referència a què en alguns treballs aquests sorbents han proporcionat recuperacions satisfactòries mentre que en altres les recuperacions han estat baixes. Això pot ser degut a la utilització de diferents tipus de sorbents de carbó, diferents analits i sobretot a l'eluent emprat per a dur a terme la desorció dels analits retinguts en el sorbent. La retenció excessiva o fins i tot irreversible dels analits pot provocar aquestes diferències. Així si s'utilitza un eluent amb poca força eluotrópica poden arribar a obtenir-se recuperacions molt baixes per a determinats analits.

II.1.1.4. Sorbents Polimèrics

Entre els diferents tipus de sorbents polimèrics disponibles, els més extensos són els del copolímer estirè-divinilbenzè (PS-DVB). Un avantatge d'aquests polímers respecte als sorbents de base sílice és que són estables en un interval més ampli de pH. A més, ofereixen una major retenció degut a que la seva

superfície hidrofòbica conté un elevat nombre d'anells aromàtics actius que permeten interaccions π - π amb analits insaturats [15,40].

Des dels inicis del desenvolupament de la SPE s'ha conegut la capacitat de les reïnes de PS-DVB de retenir més fortament analits polars que les sílices enllaçades. Per exemple, *Ballesteros et al.* [41] han obtingut millors resultats emprant la reïna XAD-2 que no pas amb C_{18} o amb un carbó activat en la preconcentració de N-metil carbamats i els seus productes de degradació en aigua. Malgrat tot, aquestes reïnes XAD requereixen un procés de purificació laboriós abans de ser emprades [14,42-44]. *Tolosa et al.* [45] duen a terme la determinació de 35 plaguicides mitjançant la SPE i la GC emprant comparativament cartutxos de XAD-2 i de la barreja XAD-7/XAD-2, i discs de PS-DVB i de C_{18} . En aquest estudi les reïnes XAD proporcionen una reproductibilitat més dolenta, recuperacions més baixes per alguns compostos (degut a adsorcions irreversibles o a la degradació química dels analits) i a més apareixen nombroses interferències procedents de la reïna en els corresponents cromatogrames.

Les reïnes polimèriques PRP-1 i PLRP-S (reïnes de PS-DVB) són uns dels sorbents polimèrics més emprats en l'extracció de contaminants orgànics, com ara compostos fenòlics [7,46,47], plaguicides [47-52] i naftalensulfonats [53]. Aquestes reïnes són més resistents a la pressió que les primeres i a més no requereixen el procés de purificació. Tanmateix, comparteixen alguns inconvenients amb les reïnes XAD, com són la manca de selectivitat i que proporcionen baixos volums de ruptura per analits d'elevat caràcter polar.

Hidalgo et al. [49] han comparat una precolumna de C_{18} amb una de PRP-1 en l'extracció, acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids, de diversos herbicides fenil carbamats en aigües de diferent procedència. La precolumna de PRP-1 ha permès la preconcentració de 100 ml de mostra amb recuperacions superiors al

84% per tots els analits. En canvi, amb C₁₈ el volum màxim que s'ha pogut preconcentrar sense que es produeixi elució dels analits ha estat 50 ml i a més la carbetamida, l'analit més polar de tots els analitzats, ha donat resultats poc reproduïbles amb aquest sorbent. Així, els autors conclouen que el PRP-1 és més adequat que el C₁₈ per a l'extracció d'aquest grup d'herbicides.

Les reïnes de PS-DVB han estat utilitzades en la monitorització de contaminants en aigües mediambientals. Un exemple d'aquestes aplicacions és la duta a terme per *Tanabe et al.* [54] que han determinat 90 plaguicides i 10 productes de degradació en aigua de riu mitjançant un sistema GC-MS extraient-los prèviament amb dos cartutxos Sep-Pak Plus PS-2 en sèrie. En la preconcentració de 500 ml de mostra les recuperacions han oscil·lat entre 72 i 118% i s'han obtingut límits de detecció (entre 0.01 i 0.1 µg l⁻¹) per sota les concentracions màximes permeses per les normatives.

Cal esmentar que les propietats físiques, com ara el volum de porus, el diàmetre de porus, el diàmetre de partícula i l'àrea superficial, dels sorbents polimèrics exerceixen un important efecte sobre la retenció dels analits. És complex determinar la influència individual de cada propietat ja que cal tenir en compte que aquestes propietats físiques estan interrelacionades, encara que es pot afirmar que una major àrea superficial generalment proporciona una capacitat de retenció superior al sorbent ja que possibilita un major nombre d'interaccions amb els analits i per tant unes recuperacions més grans [10,31]. El diàmetre de partícula també pot afectar a l'eficàcia de l'extracció, però en materials porosos aquest efecte és menys important comparat amb l'augment de retenció observat amb un increment de l'àrea superficial específica i/o disminució del diàmetre de porus. En el següent apartat s'introdueixen els polímers altament entrecreuats que es caracteritzen per tenir una elevada àrea superficial i per tant són més efectius en l'extracció dels analits més polars que els sorbents polimèrics convencionals.

II.1.2. NOUS SORBENTS

En els darrers anys, davant la necessitat d'obtenir bones recuperacions pels compostos més polars i també de mètodes d'anàlisi més selectius de mostres complexes mediambientals, s'han desenvolupat nous materials que no presenten algunes de les limitacions dels sorbents convencionals. Entre aquests nous sorbents cal destacar els polímers altament entrecreuats, els polímers químicament modificats, els immunosorbents i els polímers amb empremta molecular, l'estat actual dels quals es descriu en els següents apartats.

II.1.2.1. Polímers Altament Entrecreuats

Aquests sorbents presenten un elevat grau d'entrecreuament i són materials altament porosos, conseqüentment la seva àrea superficial específica es veu incrementada i permet un major nombre d'interaccions, del tipus π - π , amb els analits [55]. Per exemple, el PRP-1 i el PLRP-S presenten unes àrees superficials específiques de 415 i 500 m²/g aproximadament, en canvi l'àrea dels polímers altament entrecreuats oscil·la en l'interval comprès entre 700 i 1200 m²/g, tal i com pot observar-se en la Taula 2. Això implica uns volums de ruptura superiors als obtinguts quan s'empren altres materials amb un grau d'entrecreuament inferior.

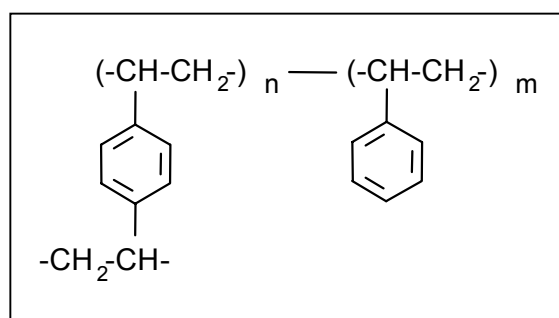
Els materials altament entrecreuats desenvolupats han estat principalment del copolímer poliestirè-divinilbenzè, entre els quals cal esmentar l'Envi-Chrom P [5,27,30,56], el SDB-1 [52,57,58], el LiChrolut EN [5,27,31,59-65], l'Isolute ENV+ [59,64-68], el Styrosorb [69], el HYSphere-1 [68,70], l'Amberchrom GC-161m [60,71], etc. Diferents propietats físiques d'aquests polímers comercials es troben descrites a la Taula 2. En la Figura 1 pot observar-se l'estructura general dels copolímers d'estirè-divinilbenzè.

Taula 2

Propietats físiques d'alguns sorbents polimèrics altament entrecreuats comercials.

Sorbent	Proveïdor	Diàmetre Partícula (µm)	Àrea Superficial (m ² /g)	Diàmetre Porus (Å)
Envi-Chrom P	Supelco	80-160	800-950	110-175
SDB-1	J.T. Baker	40-120	1060	300
LiChrolut EN	Merck	40-120	1200	80
Styrosorb MN-150	Purolite Int.	300-800	1070	n.d.
Isolute ENV+	IST	40-140	1000-1100	900
HYSphere-1	Spark Holland	5	>1000	n.d.
Amberchrom GC-161m	TosoHaas	50-100	900	150
Oasis HLB	Waters	30	830	82
Porapak RDX	Waters	125-150	n.d.	n.d.

n.d. dada no disponible

**Fig. 1.** Estructura del poliestirè-divinilbenzè

L'avantatge d'emprar un polímer altament entrecreuat respecte a un altre d'inferior grau d'entrecreuament ha estat demostrat per diversos autors. Per exemple, *Gueno et al.* [52,57] han fet estudis comparatius del SDB-1 amb els sorbents C₁₈, PRP-1 i el PLRP-S en l'extracció de plaguicides de diferents

polaritats i han obtingut millors recuperacions pels analits més polars emprant el sorbent amb major àrea superficial, és a dir, amb el SDB-1.

El LiChrolut EN ha estat utilitzat comparativament amb el C₁₈ [5,11,61,72], carbons grafititzats [11,16,27,31,34,35,63], el PLRP-S [31], l'Envi-Chrom P [5,27] i el HYSphere-1 [68] per a l'extracció d'una gran varietat de contaminants orgànics en mostres aquoses. Emprant LiChrolut EN s'han obtingut, majoritàriament, recuperacions i volums de ruptura superiors pels analits de caràcter més polar que amb la resta d'altres sorbents. Tanmateix, *Tolosa et al.* [35] han obtingut millors resultats emprant Envi-Carb, que no pas LiChrolut EN, en l'extracció de metabòlits de l'atrazina, malgrat que la determinació del clorotalonil no ha estat satisfactòria amb el sorbent de carbó degut a la seva forta retenció. *Crescenzi et al.* [27] també han obtingut millors resultats utilitzant dos carbons grafititzats, el Carbograph-4 o el Carbograph-5, que amb el LiChrolut EN en la SPE d'un grup de contaminants d'elevada polaritat en aigua de consum. En aquest mateix estudi els autors també demostren la major capacitat del LiChrolut EN davant la del Envi-Chrom P mitjançant l'obtenció de recuperacions superiors pels analits més polars com el fenol i l'ometoat. En canvi, en un altre estudi comparatiu entre el LiChrolut EN, el Carbograph i les sílices enllaçades amb C₁₈, CN i C₂ per a l'extracció de plaguicides nitrogenats, s'han obtingut majors volums de ruptura pels analits més polars, com són el oxamil i el metomil, emprant el polímer altament entrecreuat, malgrat que per la resta d'analits menys polars les recuperacions han estat superiors amb el C₁₈ [11]. *Martínez et al.* [63] també han obtingut millors recuperacions emprant LiChrolut EN que amb un sorbent de carbó grafititzat, l'Envi-Carb, en la determinació d'àcids haloacètics mitjançant la SPE *off-line* i l'electroforesi capil·lar. En la preconcentració de 25 ml de mostra, amb LiChrolut EN les recuperacions han estat superiors al 85%, excepte per l'àcid monobromacètic que ha estat del 65%, en canvi amb l'Envi-Carb no han superat el 15% per cap dels analits.

Aquesta variació dels resultats obtinguts amb els sorbents de carbó (de vegades les recuperacions són superiors amb el LiChrolut EN i altres amb els sorbents de carbó) podrien de nou explicar-se per a la retenció excessiva d'aquests sorbents. Els casos en què les recuperacions són més elevades amb els carbons poden entendre's pel fet que les interaccions de tipus polar entre aquests sorbents i els analits són més importants que les interaccions π - π presents amb el LiChrolut EN.

Fernández-Alba et al. [67] han realitzat una monitorització de plaguicides i alguns metabòlits en aigües subterrànies emprant com a tècniques de preconcentració l'extracció líquid-líquid (LLE) amb diclorometà i la SPE amb discs de C_{18} o bé amb cartutxos d'Isolute ENV+. Dels tres processos extractius la LLE ha estat el que ha donat pitjors resultats degut a la seva baixa selectivitat. L'Isolute ENV+ ha proporcionat els extractes més nets, i a més ha permès monitoritzar un interval més ampli de plaguicides que amb els discs de C_{18} . Per exemple, el dimetoat només ha pogut ser detectat emprant l'Isolute ENV+ com a sorbent en la SPE de la mostra.

Diversos grups d'autors també han comparat el LiChrolut EN amb l'Isolute ENV+, que són els dos polímers altament entrecreuats comercials amb àrea superficial més gran, en l'extracció de compostos fenòlics [31,59], naftalensulfonats [64], colorants azo sulfonats [65] i plaguicides [68] en mostres d'aigua mediambiental. En aquests estudis es pot observar que per a l'extracció dels compostos fenòlics ambdós sorbents proporcionen volums de ruptura i recuperacions similars. En canvi, en l'anàlisi dels colorants azo sulfonats i de naftalensulfonats s'han obtingut millors resultats amb l'Isolute ENV+, ja que el LiChrolut EN no reté adequadament els compostos sulfonats amb més d'un grup sulfònic. Els autors [64,65] proposen que aquests resultats es deuen a les diferents propietats fisicoquímiques d'ambdós sorbents tot i que presenten àrees superficials similars. *Ferrer et al.* [68] han dut a terme un estudi sobre

l'emmagatzematge de plaguicides, extrets d'aigües subterrànies, en sorbents polimèrics emprant HYSphere-1, LiChrolut EN i Isolute ENV+. Al cap d'una setmana d'emmagatzematge els tres sorbents han proporcionat recuperacions similars, però al cap d'un mes el LiChrolut EN ha donat les majors recuperacions tot i que aquestes han estat inferiors a les obtingudes inicialment. Aquests resultats estan en concordança amb l'àrea superficial lleugerament superior del LiChrolut EN.

Uns altres polímers altament entrecreuats que s'han desenvolupat recentment són els basats en el copolímer de divinilbenzè-N-vinilpirrolidona. El Porapak RDX i l'Oasis HLB són els dos sorbents comercials existents d'aquests tipus de material. En la Figura 2 es pot observar l'estructura de l'Oasis HLB. Aquests sorbents es caracteritzen per tenir una part polar (de color verd en la Fig. 2) en la seva estructura que possibilita un millor contacte amb les mostres aquoses. Així poden interaccionar amb els analits polars mitjançant interaccions π - π i polars.

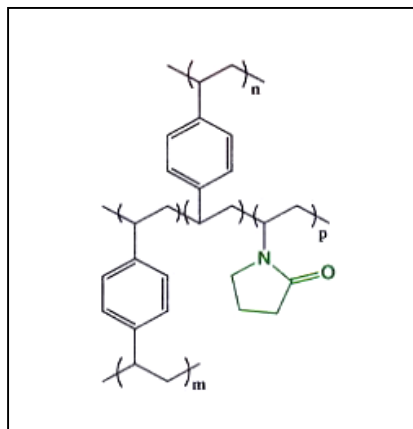


Fig. 2. Estructura de

l'Oasis HLB

El Porapak RDX ha estat utilitzat en la determinació d'explosius nitroamines i nitroaromàtics i dels seus productes de degradació en mostres d'aigua, amb el qual s'han obtingut recuperacions superiors al 90% en la preconcentració de 500 ml d'una solució estàndard fortificada amb $1 \mu\text{g l}^{-1}$ de cada analit [73]. *M.S. Young* [74-77] ha emprat el Porapak RDX en l'anàlisi d'aigües de diferent procedència per a la determinació de contaminants polars, com ara compostos fenòlics, compostos carbonílics, plaguicides i metabòlits, que han estat extrets amb recuperacions elevades, fins i tot pels analits més polars. Malgrat els bons resultats obtinguts en aquests estudis emprant Porapak RDX, *Castillo et al.* [59] han comparat aquest sorbent amb dos copolímers d'estirè-divinilbenzè altament entrecreuats, el LiChrolut EN i l'Isolute ENV+, en l'extracció *off-line* d'un grup de compostos fenòlics, i amb Porapak RDX han obtingut els resultats menys satisfactoris ja que els volums de ruptura han estat de 300 ml per a tots els analits amb aquest sorbent mentre que amb els altres dos sorbents les recuperacions han estat superiors al 70%, excepte pel catecol (28%), en preconcentrar 500 ml d'aigua subterrània fortificada amb $5 \mu\text{g l}^{-1}$. Una explicació a aquest valor podria ser que el nombre d'interaccions π - π entre el Porapak RDX i els compostos fenòlics és menys important que en el cas dels copolímers de PS-DV, i juntament amb les interaccions polars en aquest primer sorbent no permeten superar la retenció dels analits en el LiChrolut EN i l'Isolute ENV+.

L'Oasis HLB és un material macroporós d'elevada àrea superficial que es caracteritza per presentar la possibilitat d'assecar-se durant el procés de preconcentració sense disminuir la seva capacitat de retenció. Aquest és un important avantatge que els sorbents esmentats fins ara no presenten. A més, presenta un ampli interval d'estabilitat de pH i una capacitat de retenció superior a la de les sílices enllaçades i els sorbents polimèrics convencionals [13,78]. Les propietats físiques d'aquest sorbent es troben descrites a la Taula 1. L'Oasis HLB ha estat aplicat principalment en el camp bioanalític, tot i que

recentment s'ha emprat en l'anàlisi mediambiental, com per exemple en l'extracció *off-line* d'àcids haloacètics [63], plaguicides [79,80], compostos fenòlics [81], disruptors endocrins (bisfenol A, nonilfenol, ftalats i diversos plaguicides) [82], cloroanilines i benzidines [56].

Lacorte et al. [81] han obtingut recuperacions superiors a 85% en l'extracció *off-line* d'un grup de compostos fenòlics presents en una mostra de 200 ml d'aigua de riu mitjançant la utilització del sorbent Oasis HLB. Aquests mateixos autors han comparat l'Oasis HLB amb l'Envi-Chrom P i el Porapak RDX en l'extracció de cloroanilines i benzidines presents en efluents industrials [56]. Les recuperacions han estat similars amb tots els sorbents, excepte en el cas de la benzidina i la 3,3'-diclorobenzidina que han presentat millors recuperacions amb l'Oasis HLB. Per exemple, en l'extracció de 200 ml de mostra, fortificada amb $1 \mu\text{g l}^{-1}$, les recuperacions de la benzidina i la 3,3'-diclorobenzidina han estat del 47 i 66% amb l'Envi-Chrom P mentre que amb l'Oasis HLB han estat del 91 i 73%, respectivament. Uns altres autors, *Peruzzi et al.* [80], han dut a terme l'extracció d'una sèrie d'herbicides polars en mostres d'aigua i han comparat l'Oasis HLB amb diferents materials, el C_{18} , l'Isolute ENV+, el C_8 -Isolute ENV+ i un SAX. Després de l'optimització del mètode, quinze dels setze analits estudiats han pogut ser extrets de 500 ml de mostra, fortificada amb $0.5 \mu\text{g l}^{-1}$, amb recuperacions superiors al 70% usant l'Oasis HLB, que ha estat el sorbent més idoni de tots els emprats. Les millors recuperacions obtingudes amb l'Oasis HLB en aquests últims exemples poden ser conseqüència de l'existència d'interaccions polars entre aquest sorbent i els analits.

Malgrat aquests resultats positius amb l'Oasis HLB, altres autors han obtingut recuperacions menys satisfactòries emprant aquest sorbent. Per exemple, *López et al.* [79] han utilitzat aquest mateix sorbent en un estudi comparatiu amb la sílice enllaçada amb el grup C_{18} per a l'extracció de plaguicides organofosforats. En aquest estudi, l'Oasis HLB no ha mostrat una major retenció que el sorbent de base sílice i per tant els autors conclouen que la seva

utilització no aporta cap avantatge addicional en la SPE d'aquests analits, possiblement degut a la inferior polaritat d'aquests analits comparat amb els dels estudis prèviament comentats. Així mateix, *Martínez et al.* [63] han emprat l'Oasis HLB per a extreure un grup de cinc àcids haloacètics i han obtingut recuperacions superiors a les obtingudes amb un sorbent de carbó (Envi-Carb); tanmateix aquestes recuperacions han estat inferiors a les obtingudes amb el LiChrolut EN, principalment pels àcids monocloro- i monobromoacètic que han estat un 6 i 16% recuperats amb l'Oasis HLB mentre que amb el LiChrolut EN les recuperacions han estat de 65 i 53%, respectivament, en l'anàlisi de 100 ml de mostra. Tot i l'elevada polaritat d'aquests analits, sembla que les interaccions π - π amb el LiChrolut EN permeten una retenció superior a la proporcionada pel conjunt d'interaccions de l'Oasis HLB.

II.1.2.2. Polímers Químicament Modificats

Els polímers químicament modificats també han estat desenvolupats en els darrers anys i s'han emprat en l'extracció de compostos polars en mostres aquoses. A aquestes reïnes, generalment, se'ls ha introduït químicament algun grup funcional polar sobre la seva superfície, de forma que s'estableix un millor contacte entre aquesta superfície, ara més hidrofílica, i la mostra aquosa. Conseqüentment, l'augment de la polaritat de la superfície permet una capacitat de retenció superior pels analits amb major caràcter polar que la dels seus anàlegs no modificats, això es degut a l'existència d'interaccions polars entre els grups funcionals introduïts i aquests analits [83-85]. Les reïnes que més s'han modificat són les del copolímer estirè-divinilbenzè amb la introducció de diversos grups funcionals com ara l'acetil [83-87], l'hidroximetil [84,85,87] o el sulfònic [22,85,88,89].

S'han comparat els grups funcionals acetil i hidroximetil per a l'extracció de compostos fenòlics i plaguicides entre altres compostos orgànics. El sorbent

acetilat ha estat en tots els casos el que ha proporcionat recuperacions més elevades, tot i que l'hidroximetilat també ha donat recuperacions superiors a les del sorbent no modificat i a les de la sílice enllaçada amb C₁₈ [84,85,87]. *M.W. Powell* [87] ha dut a terme un estudi comparatiu entre el sorbent de carbó Envi-Carb i una sèrie de cartutxos binaris formats per sílice enllaçada amb grups diamino/PS-DVB acetilat, sílice enllaçada amb grups amino/PS-DVB acetilat i sílice enllaçada amb grups C₈/bescanviador aniònic per a l'extracció de diversos contaminants orgànics de diferent polaritat. De tots els sorbents, el cartutx que ha donat millors recuperacions ha estat el format per la sílice enllaçada amb grups amino/PS-DVB acetilat, mentre que amb l'Envi-Carb les recuperacions han estat les més baixes degut possiblement a la retenció irreversible d'alguns analits. El PS-DVB sulfonat, que té la superfície hidrofílica, s'ha emprat en l'extracció de diversos contaminants polars entre els quals cal destacar els compostos fenòlics [22,85,88]. En el procés de sulfonació el PS-DVB també adopta cert caràcter de bescanviador catiònic, així presenta un mecanisme mixt d'adsorció (hidrofòbic, hidrofílic i bescanviador catiònic) que resulta especialment útil quan s'ha d'analitzar un grup d'analits amb un ampli ventall de polaritats.

Kim et al. [90] han modificat químicament les reïnes de poliestirè-divinilbenzè XAD-2 i XAD-4, mitjançant la introducció del grup *tetraquis* (*p*-carboxifenil) porfirina, i les han avaluat com a sorbents en la SPE del fenol i de clorofenols en aigua de consum. Les recuperacions obtingudes amb els sorbents modificats són superiors a les obtingudes amb els sorbents comercials (XAD-2 i XAD-4). Els autors expliquen aquests resultats degut a un augment del nombre d'interaccions π - π entre els analits i les reïnes com a conseqüència de la introducció de la molècula de porfirina, que també provoca un augment de l'àrea superficial i permet un millor contacte amb la mostra.

Buchmeiser et al. [23,24] han sintetitzat un nou polímer entrecruat i funcionalitzat amb grups carboxílics. Aquest sorbent és el polímer àcid norbornè-5,6-dicarboxílic que també presenta un mecanisme mixt d'adsorció degut a l'existència d'aquests grups funcionals. Així, ha estat emprat per a la SPE d'una gran varietat de compostos orgànics que són retinguts en el polímer mitjançant interaccions hidrofòbiques i de bescanvi catiònic.

Recentment, *Waters Corporation* ha presentat dos nous sorbents polimèrics químicament modificats, l'Oasis MCX i l'Oasis MAX. Aquests dos sorbents provenen de la modificació química del polímer altament entrecruat Oasis HLB en el que s'ha introduït un grup sulfònic (Oasis MCX) o bé un grup amino (Oasis MAX). Així, aquests dos nous sorbents també es caracteritzen per presentar un mecanisme mixt d'adsorció, en aquest cas interaccions hidrofòbiques, hidrofíliques i de bescanvi iònic. Les estructures químiques d'aquests dos sorbents es troben representades a la Figura 3 on s'han remarcat els grups funcionals introduïts en color vermell. Ambdós sorbents s'han aplicat principalment en el camp bioanalític [78], tot i que també existeixen aplicacions en el camp mediambiental. *Young et al.* han utilitzat l'Oasis MCX per extreure paraquat i diquat [82,91] i tiabendazol, carbendazim, atrazina i els seus metabòlits [91] en mostres d'aigua de consum i han obtingut recuperacions satisfactòries, superiors al 75%, per tots els analits en volums de mostra superiors a 200 ml. Aquests autors també han utilitzat l'Oasis MAX per extreure glifosat i el seu metabòlit AMPA en mostres d'aigua de l'aixeta aprofitant el caràcter de bescanviador aniònic d'aquest sorbent, tot i que les recuperacions no han estat les desitjades degut als baixos volums de ruptura [91].

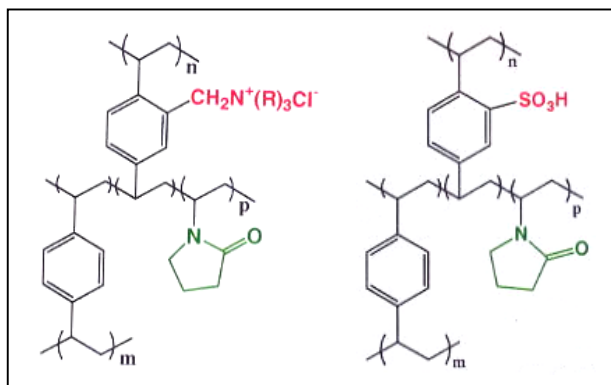


Fig. 3. Estructures químiques dels sorbents a) Oasis MAX
i b) Oasis MCX

Xie *et al.* [92] han preparat el copolímer etilestirè-divinilbenzè i l'han modificat químicament per a sintetitzar el 2-hidroxietil metacrilat-etilestirè-divinilbenzè, essent aquest últim més hidrofílic degut a la presència del grup polar 2-hidroxietil metacrilat. Aquests autors han emprat aquests sorbents amb èxit en la SPE, acoblada *on-line* a la cromatografia de líquids, per a la determinació dels onze compostos fenòlics prioritaris regulats per la US EPA. Comparant ambdós sorbents, els autors han obtingut millors recuperacions utilitzant el sorbent més hidrofílic, sobretot pel fenol que ha presentat una recuperació del 92% mentre que amb l'altre sorbent ha estat del 58% en la preconcentració de 5 ml d'una dissolució estàndard de $10 \mu\text{g l}^{-1}$.

Bond Elut PPL i Spe-ed RP105 són dos sorbents de PS-DVB funcionalitzat introduïts en els darrers anys per *Varian* i *Applied Separations*, respectivament. Aquests distribuïdors recomanen el seu ús per a l'extracció de compostos altament polars, com ara el fenol, presents en grans volums de mostra ja que s'obtenen majors recuperacions que amb C_{18} o amb PS-DVB no funcionalitzat. Tanmateix, en la bibliografia no s'ha trobat cap aplicació d'aquests dos nous materials.

II.1.2.3. Immunosorbents

La principal limitació de tots els sorbents esmentats fins ara és la seva manca de selectivitat, fet especialment important quan s'analitzen mostres mediambientals d'elevada complexitat. Com ja s'ha comentat anteriorment, la matriu d'aquestes mostres és difícil d'eliminar i produeix una banda ampla a l'inici del cromatograma dificultant la determinació dels analits amb major caràcter polar. Aleshores, sovint es requereixen processos de *clean-up* previs a l'anàlisi cromatogràfica. Tanmateix, quan el pretractament de la mostra inclou diverses etapes el risc de pèrdues i contaminació incrementa. En aquest sentit, en els últims anys s'han anat desenvolupant nous materials per a la preconcentració selectiva de compostos orgànics com una clara alternativa als sorbents convencionals.

Els immunosorbents (ISs) són un d'aquest tipus de materials selectius que proporcionen extractes lliures de substàncies interferents. Emprant immunosorbents, la preconcentració i el *clean-up* tenen lloc simultàniament. És a dir, aquesta preconcentració és selectiva i no requereix un pas addicional de neteja de la mostra [93,94].

Aquests sorbents s'obtenen a través de la unió covalent d'anticossos a suports adequats i involucren interaccions selectives i reversibles antigen-anticòs. Un suport idoni ha de ser porós, ja que els anticossos són molècules grans i també per facilitar la preconcentració de mostres complexes; ser hidrofílic, per prevenir les interaccions no específiques; presentar grups funcionals que permetin l'enllaç de suficient nombre d'anticossos; i ser resistent a la pressió per al seu ús en tècniques *on-line* [95-98]. Actualment, les sílices activades amb grups diol o aldehid són els suports més adequats ja que reuneixen tots aquests requisits.

Les interaccions antigen-anticòs comprenen interaccions iòniques, ponts d'hidrogen, atraccions hidrofòbiques i forces de van der Waals. A més, degut al fet que aquestes interaccions tenen lloc entre anticossos receptors i els antígens complementaris apareixen efectes estèrics que són els que

proporcionen la selectivitat, i com a conseqüència únicament l'antigen que produeix immunoresposta o altres compostos d'estructura molt similar (reactivitat creuada) seran capaços d'enllaçar-se amb l'anticòs [40]. D'aquesta manera, s'obté una línia base més neta i permet la determinació i quantificació a nivells de concentracions de l'ordre de pocs $\mu\text{g l}^{-1}$. Aprofitant la reactivitat creuada que presenta un determinat anticòs, és possible extreure diversos compostos de la mateixa família [93,99]. La capacitat dels immunosorbents pot augmentar-se amb una millor selecció del suport sobre el qual s'enllacen els anticossos [95], i també depèn de l'orientació i la puresa dels anticossos immobilitzats [93].

Els immunosorbents han estat emprats durant un llarg període en el pretractament de la mostra en el camp mèdic i biològic. La seva aplicació a l'anàlisi mediambiental és relativament recent degut a les dificultats en l'obtenció d'anticossos selectius per molècules petites. Diferents aplicacions mediambientals d'aquests tipus de materials es troben recollides en la bibliografia [96,97,100].

Els immunosorbents han estat aplicats en l'anàlisi de mostres d'aigua per a la determinació de contaminants orgànics d'un ampli interval de polaritat, com per exemple BTEX (benzè, toluè, etilbenzè i xilè) [101], hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs) [102,103], contaminants industrials polars [103] i plaguicides [93-95,99,104-108]. Els plaguicides que s'han extret mitjançant aquests tipus de materials són les triazines i les fenilurees en aigües de diversos orígens, emprant normalment un únic anticòs (antiisoproturon, anticlorotoluron, antiatrazina i antisimazina) tot i que alguns autors han emprat mesclades d'anticossos [96,100,107].

Existeixen diversos estudis comparatius entre immunosorbents i altres sorbents no específics, com ara el C_{18} [102,106], el PLRP-S [95, 99,103,105] i el PRP-1 [102,103,107]. En tots els casos s'han obtingut uns cromatogrames més nets

utilitzant immunosorbents, fet que permet la determinació d'alguns analits difícils de determinar emprant els sorbents no selectius degut a la gran interferència de la matriu.

Aquests materials han estat emprats tant en la SPE en mode *on-line* [94,95,102-105,107] com en *off-line* [93,99,106,108]. *Ferrer et al.* [94] han demostrat que l'acoblament *on-line* d'un immunosorbent a un sistema LC-APCI-MS és una tècnica molt adequada per a la determinació i quantificació de plaguicides polars presents en diverses matrius mediambientals a nivells de pocs ng l⁻¹, sense que calgui aplicar cap pas addicional de neteja de la mostra. Emprant volums de mostra petits es poden obtenir baixos límits de detecció gràcies a la millora de la selectivitat i a l'alta sensibilitat.

Malgrat l'elevada especificitat d'aquests materials, la tècnica dels immunosorbents requereix un llarg període per a la preparació i purificació dels anticossos i dels sorbents. A més, les variacions entre les diferents sèries d'anticossos dona lloc a immunosorbents poc reproduïbles, afectant així a les recuperacions dels analits. Aquest últim problema pot ser solventat sintetitzant immunosorbents amb anticossos monoclonals, malgrat que l'elevat cost d'aquests experiments fa que encara es trobin sota investigació. També presenten la limitació de que la seva vida mitja varia de 3-6 mesos fins a 2 anys depenent de diversos paràmetres.

Existeix un nombre limitat d'immunosorbents comercialment disponibles i això implica que solament es poden aplicar en la determinació d'un reduït grup d'analits, tot i que actualment diversos laboratoris de recerca estan desenvolupant nous immunosorbents per a altres grups de compostos.

II.1.2.4. Polímers amb Empremta Molecular

L'elevada selectivitat proporcionada pels immunosorbents ha impulsat la síntesi d'anticossos artificials. Els polímers amb empremta molecular (MIPs) són un d'aquests tipus de nous materials selectius que s'han desenvolupat amb la finalitat d'evitar la inestabilitat molts cops presentada pels immunosorbents, però la seva aplicació en el camp mediambiental i específicament en la SPE és encara molt reduïda.

Els MIPs són polímers sintètics i estables que posseeixen llocs actius i selectius per a certes molècules. Aquests sorbents es produeixen a partir de la síntesi de polímers altament entrecreuats en presència d'una molècula determinada anomenada "motlle molecular" o *template* que correspon a l'analit pel qual el sorbent serà selectiu. En la Figura 4 es mostra un esquema general de la preparació dels MIPs. Aquests es preparen mesclant inicialment, en solució, diferents monòmers funcionals amb el *template* que formen un complex mitjançant interaccions específiques covalents o no covalents (ponts d'hidrogen, interaccions iòniques, interaccions π - π , forces de van der Waals, ...). Tot seguit té lloc la corresponent polimerització en presència d'un excés d'un entrecreuador per a formar un polímer rígid altament entrecreuat. Després de l'eliminació del *template* de dins l'estructura del polímer, aquest últim pot ésser utilitzat com a sorbent selectiu per l'analit emprat com a motlle preferentment a altres compostos d'estructura similar. Aquest fet es deu a que el polímer presenta unes cavitats específiques que són complementàries a l'analit en qüestió pel que fa a la mida, la forma i els grups funcionals. Conseqüentment, alguns compostos d'estructura química similar a la del *template* també tindran cabuda en aquestes cavitats. És a dir, el funcionament químic d'aquests tipus de sorbents és molt similar al mostrat pels immunosorbents i per aquest motiu també són coneguts com "anticossos de plàstic". Algunes consideracions importants per a la síntesi d'aquests MIPs han estat recollides en la bibliografia per diversos autors [109-113].

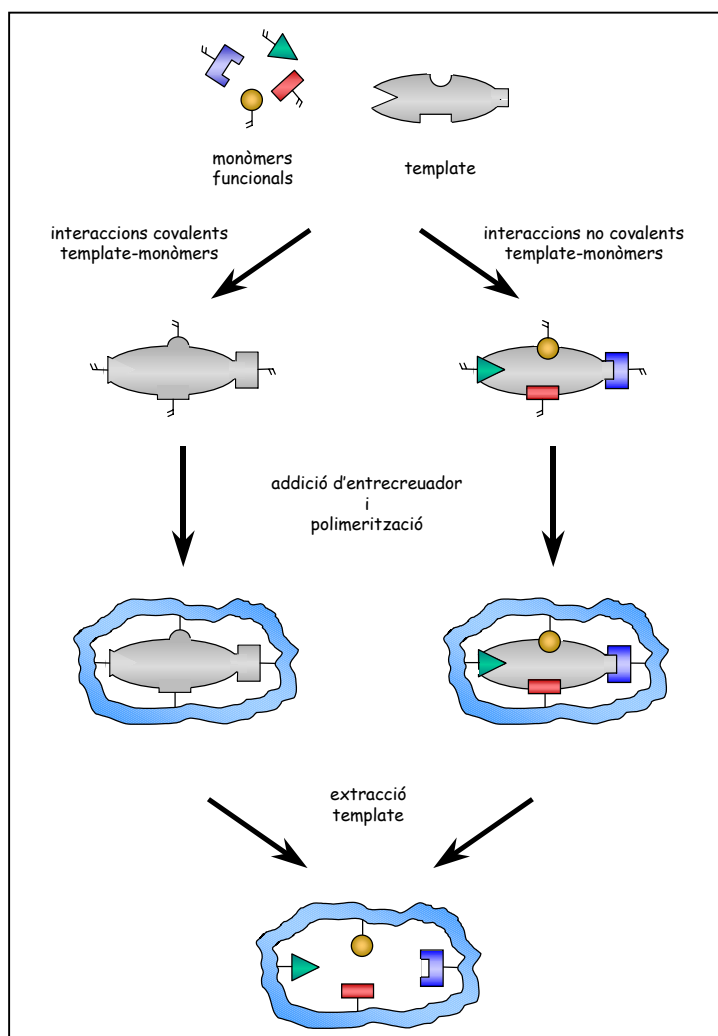


Fig. 4. Esquema general de la síntesi d'un polímer amb empremta molecular.

Els MIPs ofereixen alguns avantatges respecte dels immunosorbents com són facilitat i reproductibilitat més grans i menor temps i cost a l'hora de sintetitzar-los, estabilitat més gran sota condicions severes de temperatura, pH i solvents orgànics, vida mitja més llarga (poden estar diversos anys emmagatzemats a

temperatura ambient sense degradar-se), major capacitat de càrrega de mostra, reutilització i no utilització de material biològic que evita el sacrifici d'animals per a investigació [14,114].

Una problemàtica associada a l'ús de MIPs és el possible sagnat del *template*, procedent de la síntesi del polímer, durant l'anàlisi que pot limitar la seva utilització en la determinació de traces. Aquest problema pot solventar-se habitualment aplicant un tractament previ de neteja del sorbent amb un solvent adequat. Una altra opció, útil quan l'anterior no dóna resultats satisfactoris, consisteix en usar com a *template* un compost estructuralment anàleg a l'analít que es vol determinar [115,116]. Aquesta última solució, però, requereix l'existència d'un anàleg adequat i a més que no interfereixi en la determinació de l'analít en qüestió. Per altra banda, altres inconvenients presentats pels MIPs són la baixa quantitat i l'heterogeneïtat en la distribució dels llocs actius que provoca un gran nombre d'interaccions no específiques i una baixa capacitat de càrrega de mostra; la seva síntesi requereix una determinada quantitat de *template* o anàleg d'elevada puresa; l'afinitat depèn fortament del medi i sobretot que molt pocs analits s'han pogut emprar com a *template* amb èxit [111,114].

Els MIPs presenten un ampli ventall d'aplicacions de les quals cal destacar el seu ús com a materials de separació, com a biosensors i en immunoassaigs entre altres. Totes aquestes aplicacions es troben descrites a la bibliografia, tot i que majoritàriament estan dutes a terme per mostres biològiques i farmacèutiques [117-125]. Fins ara, la seva aplicació més investigada ha estat com a materials de separació per a la determinació de nombrosos analits com per exemple drogues [126,127], plaguicides [115,128-130], PAHs [131] i aminoàcids [132] en tècniques com la cromatografia de líquids [126,128-131], la cromatografia en capa fina [132] i l'electrocromatografia capil·lar [127,133]. La bona selectivitat oferta per aquests tipus de materials ha fet que aquests siguin considerats com a possibles sorbents selectius per a la SPE.

Per tal d'obtenir una extracció selectiva utilitzant un MIP cal dur a terme un procés de *clean-up*, després de preconcentrar la mostra, amb un solvent orgànic adequat per tal d'eliminar les interaccions no específiques que el sorbent manté amb els components de la matriu, i així eluir les substàncies interferents, mentre que el compost emprat com a *template* i altres compostos d'estructura similar romanen retinguts en el MIP gràcies a les interaccions específiques. És a dir, el solvent emprat per aquest *clean-up* ha de ser suficientment eluotrópic per eluir les interferències de la matriu però no els analits d'interès, així els solvents més habitualment usats han estat el diclorometà i el acetonitril.

Els recents desenvolupaments i aplicacions dels MIPs en la SPE (MISPE) han estat recopilats per diversos autors [134,135]. Actualment, existeixen molt poques aplicacions de la MISPE i la majoria també són en el camp farmacèutic i bioquímic. Per exemple, s'han emprat MIPs en la SPE de drogues i fàrmacs en fluids biològics complexos [136-142], nicotina en xiclets i tabac [142,144], hormones vegetals [145] i triazines en fetge de vedella, extractes de fruita i orina [146,147]. Les poques aplicacions mediambientals dutes a terme de la MISPE es basen en la determinació d'alguns plaguicides en mostres d'aigua. Una d'aquestes és la realitzada per *Baggiani et al.* [130] per a l'extracció selectiva de bentazona. Aquests autors han obtingut una recuperació del 91% per aquest analit en la preconcentració *off-line* de 50 ml de mostra emprant el MIP més adequat de tots els que han sintetitzat. Una altra aplicació en aquest mateix camp és la determinació de triazines duta a terme per diversos grups de recerca [147,148]. *Matsui et al.* [148] han preparat un polímer capaç d'extreure selectivament l'atrazina (el *template* en aquest cas) i altres triazines d'estructura similar, la simazina i la propazina, mentre que altres plaguicides d'estructura química molt diferent han estat eluïts ràpidament en aplicar un procés de *clean-up* del MIP, demostrant així l'elevada selectivitat d'aquest polímer pel grup de triazines. *Bjarnason et al.* [147] també han preparat un MIP per triazines emprant la simazina com a *template*. En aquest treball s'ha demostrat l'especificitat del

polímer ja que aquest ha discriminat selectivament els àcid húmics de les quatre triazines presents en la mostra d'aigua.

Fins ara, tots els processos de SPE emprant un polímer amb empremta molecular han estat realitzats *off-line* al sistema cromatogràfic, a excepció en els treballs de *Ferrer et al.* [15] i *Bjarnason et al.* [147]. Aquests autors han dut a terme una primera extracció *on-line* de triazines presents en mostres complexes d'aigua utilitzant una precolumna de sílice enllaçada amb C₁₈. Posteriorment, les espècies retengudes en aquesta primera precolumna són eluïdes, utilitzant acetonitril com a eluent, cap a una segona precolumna empaquetada amb el MIP. En aquesta extracció les triazines es retenen selectivament en el MIP mentre que la resta de components de la matriu s'elueixen, consegüentment s'obté un cromatograma molt més net que quan s'empra únicament la precolumna de C₁₈.

Tot i el baix nombre d'aplicacions existents en el camp mediambiental, aquests resultats tan satisfactoris han encoratjat el desenvolupament de nous tipus de materials. Així, actualment s'estan investigant MIPs com a sorbents altament específics per a la neteja de la mostra i preconcentració d'altres tipus d'analits abans de l'anàlisi cromatogràfica. Probablement, aquests tipus de sorbents acabaran substituint als immunosorbents pels avantatges esmentats anteriorment.

II.1.2.5.- Altres Sorbents

Tot i que els sorbents fins ara esmentats són els més emprats en la SPE, diversos autors han utilitzat uns altres sorbents menys habituals per a l'extracció de contaminants presents en mostres aquoses mediambientals.

Rhee et al. [149] han avaluat i demostrat l'aplicabilitat de dos biopolímers, la quitina i el quitosan, com a sorbents en la preconcentració del fenol i de clorofenols en aigua. En el seu treball proposen que aquest analits són retinguts mitjançant la formació de ponts d'hidrogen amb els àtoms electronegatius presents en els sorbents.

Bucheli et al. [150] han dut a terme un estudi en el que extreuen una sèrie de compostos nitroaromàtics, contaminants orgànics amb capacitat π -acceptora, emprant com a sorbents conglomerats d'argila esfèrica (SCCs). Aquests SCCs s'han utilitzat en la SPE tant en *off-line* com *on-line* al sistema de cromatografia de líquids i han mostrat una elevada selectivitat per aquest tipus d'analits, així s'ha suprimit el senyal corresponent als components de la matriu, com ara els àcids húmics i fúlvics. Comparant aquests sorbents amb el Porapak RDX, s'han obtingut extractes menys nets i recuperacions iguals o inferiors amb la reïna polimèrica, a excepció per l'analit 4-amino-2,6-dinitrotoluen que presenta poca afinitat per aquests conglomerats d'argila.

Tal i com s'ha observat en aquest estudi bibliogràfic dels diferents tipus de sorbents aplicats en l'anàlisi de contaminants orgànics en mostres d'aigua, existeixen en el mercat molt pocs sorbents químicament modificats que permetin extreure quantitativament els analits de major caràcter polar i també polímers amb empremta molecular selectius aplicables en la SPE de mostres mediambientals. És per aquest motiu que l'objectiu d'aquesta Tesi Doctoral es basa en el desenvolupament de nous sorbents d'aquests dos tipus i la seva avaluació i comparació amb sorbents comercials en l'extracció de contaminants orgànics d'elevada polaritat en mostres d'aigua de diferent procedència.

A continuació, després de la bibliografia, s'inclou una còpia del treball publicat en la revista *Trends in Analytical Chemistry*, 17 (1998) 384-394 sorgit arran de l'estudi bibliogràfic realitzat en aquest apartat.

II.1.3. BIBLIOGRAFIA

- 1 Application Info 44, Spark Holland, Emmen, 1995.
- 2 M.L. Davì, M. Liboni, M.G. Malfatto, Intern. J. Environ. Anal. Chem., 74 (1999) 155.
- 3 A. Chudziak, M. Trojanowicz, Chem. Anal. (Warsaw), 40 (1995) 39.
- 4 P. Parrilla, J.L. Martínez Vidal, Anal. Lett., 30 (1997) 1719.
- 5 O. Fiehn, M. Jekel, Anal. Chem., 68 (1996) 3083.
- 6 G. Achilli, G.P. Cellerino, G. Melzi d'Eril, S. Bird, J. Chromatogr. A, 697 (1995) 357.
- 7 E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, Chromatographia, 38 (1994) 579.
- 8 C. Hidalgo, J.V. Sancho, F. Hernández, Quim. Anal., 16 (1997) S259.
- 9 R.A. McLaughlin, B.S. Johnson, J. Chromatogr. A, 790 (1997) 161.
- 10 M-C. Hennion, C. Cau Dit Coumes, V. Pichon, J. Chromatogr. A, 823 (1998) 147.
- 11 J.M. Soriano, B. Jiménez, M.J. Redondo, J.C. Moltó, J. Chromatogr. A, 822 (1998) 67.
- 12 M.V. Russo, G. Goretti, T. Navigato, Chromatographia, 50 (1999) 446.
- 13 E.S.P. Bouvier, D.M. Martin, P.C. Iraneta, M. Capparella, Y-F. Cheng, D.J. Phillips, LC-GC, 15 (1997) 152.
- 14 M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 856 (1999) 3.
- 15 I. Ferrer, D. Barceló, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 180.
- 16 D. Martínez, F. Borrull, M. Calull, J. Ruana, A. Colom, Chromatographia, 48 (1998) 811.
- 17 J.A. Field, K. Monohan, Anal. Chem., 67 (1995) 3357.
- 18 C. Elvira Cozar, P. Cano Faura, L.V. Pérez Arribas, M.E. León González, L.M. Polo Díez, Chromatographia, 40 (1995) 91.
- 19 F.J. Rodríguez Plasencia, F. Navarro Villoslada, L.V. Pérez Arribas, M.E. León González, L.M. Polo Díez, J. Chromatogr. A, 760 (1997) 314.
- 20 E. Mallat, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 823 (1999) 129.

- 21 I. Kambhampati, K.S. Roinestad, T.G. Hartman, J.D. Rosen, E.K. Fukuda, R. Lee Lippincott, R.T. Rosen, J. Chromatogr. A, 688 (1994) 67.
- 22 P.J. Dumont, J.S. Fritz, J. Chromatogr. A, 691 (1995) 123.
- 23 M.R. Buchmeiser, N. Atzl, G.K. Bonn, J. Am. Chem. Soc., 119 (1997) 9166.
- 24 D.L. Ambrose, J.S. Fritz, M.R. Buchmeiser, N. Atzl, G.K. Bonn, J. Chromatogr. A, 786 (1997) 259.
- 25 M-W. Jung, H-M. Park, J-S. Rhee, D-J. Baek, K-J. Paeng, Anal. Sci., 13 (1997) 347.
- 26 E. Matisová, S. Škrabáková, J. Chromatogr. A, 707 (1995) 145.
- 27 C. Crescenzi, A. Di Corcia, G. Passariello, R. Sampieri, M.I. Turnes Carou, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 41.
- 28 A. Di Corcia, S. Marchese, R. Samperi, J. Chromatogr., 642 (1993) 163.
- 29 A. Di Corcia, A. Bellioni, M.D. Madbouly, S. Marchese, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 383.
- 30 E. Pocurull, M. Calull, R.M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 719 (1996) 105.
- 31 D. Puig, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 733 (1996) 371.
- 32 J. Slobodník, Ö. Öztezkizan, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 750 (1996) 227.
- 33 J. Nolte, B. Graß, F. Heimlich, D. Klockow, Fresenius J. Anal. Chem., 357 (1997) 763.
- 34 R.J.C.A. Steen, A.C. Hogenboom, P.E.G. Leonards, R.A.L. Peerboom, W.P. Cofino, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 857 (1999) 157.
- 35 I. Tolosa, B. Douy, F.P. Carvalho, J. Chromatogr. A, 864 (1999) 121.
- 36 T.D. Bucheli, F.C. Grüebler, S.R. Müller, R.P. Schwarzenbach, Anal. Chem., 69 (1997) 1569.
- 37 S.A. Heberle, D.S. Aga, R. Hany, S.R. Müller, Anal. Chem., 72 (2000) 840.
- 38 B. Altenbach, W. Giger, Anal. Chem., 14 (1995) 2325.

- 39 V. Coquart, M-C. Hennion, J. Chromatogr., 600 (1992) 195.
- 40 A. Martín Esteban, P. Fernández, A. Fernández-Alba, C. Cámara, Quim. Anal., 17 (1998) 51.
- 41 E. Ballesteros, M. Gallego, M. Valcárcel, Environ. Sci. Technol., 30 (1996) 2071.
- 42 M. Biziuk, A. Przyjazny, J. Czerwinski, M. Wiergowski, J. Chromatogr. A, 754 (1996) 103.
- 43 M-C. Hennion, P. Scribe in D. Barceló (ed.), *Environmental Analysis: Techniques, Applications and Quality Assurance*. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Vol. 13, Elsevier, Amsterdam, 1993.
- 44 E.M. Thurman, M.S. Mills, *Solid-Phase Extraction: Principles and Practice*, John Wiley & Sons, New York, 1998.
- 45 I. Tolosa, J.W. Readman, L.D. Mee, J. Chromatogr. A, 725 (1996) 93.
- 46 D. Puig, D. Barceló, Anal. Chim. Acta, 311 (1995) 63.
- 47 A.C. Hogenboom, I. Jagt, R.J.J. Vreuls, U.A.Th. Brinkman, Analyst, 122 (1997) 1371.
- 48 J. Slobodník, H. Lingeman, U.A.Th. Brinkman, Chromatographia, 50 (1999) 141.
- 49 C. Hidalgo, J.V. Sancho, F.J. López, F. Hernández, J. Chromatogr. A, 823 (1998) 121.
- 50 R.M. Marcé, H. Prosen, C. Crespo, M. Calull, F. Borrull, U.A.Th. Brinkman, J. Chromatogr. A, 696 (1995) 63.
- 51 S. Lacorte, D. Barceló, Anal. Chim. Acta, 296 (1994) 223.
- 52 V. Pichon, C. Cau Dit Coumes, L. Chen, S. Guenu, M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 25.
- 53 E. Pocurull, C. Aguilar, M.C. Alonso, D. Barceló, F. Borrull, R.M. Marcé, J. Chromatogr. A, 854 (1999) 187.
- 54 A. Tanabe, H. Mitobe, K. Kawata, M. Sakai, J. AOAC Int., 83 (2000) 61.
- 55 M. Galià, F. Svec, J.M.J. Fréchet, J. Polym. Sci. Polym. Chem., 32 (1994) 2169.

- 56 S. Lacorte, M-C. Perrot, D. Fraisse, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 833 (1999) 181.
- 57 S. Guenu, M-C. Hennion, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 15.
- 58 R. Schilling, P.J. Clarkson, M. Cooke, Fresenius J. Anal. Chem., 360 (1998) 90.
- 59 M. Castillo, D. Puig, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 301.
- 60 A. Laganà, G. D'Ascenzo, G. Fago, A. Marino, Chromatographia, 46 (1997) 256.
- 61 A. Junker-Buchheit, M. Witzenbacher, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 67.
- 62 M. Castillo, D. Barceló, A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 26.
- 63 D. Martínez, F. Borrull, M. Calull, J. Chromatogr. A, 827 (1998) 105.
- 64 M.C. Alonso, D. Barceló, Anal. Chim. Acta, 400 (1999) 211.
- 65 I. Schönsee, J. Riu, D. Barceló, Quim. Anal., 16 (1997) S243.
- 66 M.C. Alonso, M. Castillo, D. Barceló, Anal. Chem., 71 (1999) 2586.
- 67 A.R. Fernández-Alba, A. Agüera, M. Contreras, G. Peñuela, I. Ferrer, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 823 (1998) 35.
- 68 I. Ferrer, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 778 (1997) 161.
- 69 M.P. Tsyurupa, M.M. Ilyin, A.I. Andreeva, V.A. Davankov, Fresenius J. Anal. Chem., 352 (1995) 672.
- 70 Application Info 47, Spark Holland, Emmen, 1995.
- 71 H. Stutz, K. Pittertschatscher, H. Malissa jr., Mikrochim. Acta, 128 (1998) 107.
- 72 P. Onnerfjord, D. Barceló, J. Emnéus, L. Gorton, G. Marko-Varga, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 35.
- 73 E.S.P. Bouvier, S.A. Oehrle, LC·GC, 13 (1995) 120.
- 74 M.S. Young, Waters Corporation, PITTCO 96 Presentation, 1996.
- 75 M.S. Young, Waters Column, VI (1) (1996) 16.
- 76 M.S. Young, Waters Column, VI (3) (1996) 6.
- 77 M.S. Young, J. AOAC Int., 81 (1998) 99.

- 78 J-J. Lee, J.E. O'Gara, D.P. Walsh, A.R. Pelisse, E.S.P. Bouvier, P.C. Iraneta, H. Cheng, D.J. Phillips, Waters Corporation, HPLC'99 Presentation, Granada, 1999.
- 79 F.J. López, J. Beltran, M. Forcada, F. Hernández, J. Chromatogr. A, 823 (1998) 25.
- 80 M. Peruzzi, G. Bartolucci, F. Cioni, J. Chromatogr. A, 867 (2000) 169.
- 81 S. Lacorte, D. Fraisse, D. Barceló, J. Chromatogr. A, 857 (1999) 97.
- 82 M.S. Young, *Determination of Endocrine Disruptors in Food, Soil and Water Using Novel Solid-Phase Extraction Sorbents*. Waters Seminar, Waters Corporation, 1999.
http://www.waters.com/waters_website/pdfs/MY_EEDv2.pdf
- 83 L.W. Schimdt, J.J. Sun, J.S. Fritz, D.F. Hagen, C.G. Markell, E.E. Wisted, J. Chromatogr., 641 (1993) 57.
- 84 J.J. Sun, J.S. Fritz, J. Chromatogr., 590 (1992) 197.
- 85 J.S. Fritz, P.J. Dumont, L.W. Schimdt, J. Chromatogr. A, 691 (1995) 133.
- 86 N. Cardellicchio, S. Cavalli, V. Piangerelli, S. Giandomenico, P. Ragone, Fresenius J. Anal. Chem., 358 (1997) 749.
- 87 M.W. Powell, J. Chromatogr. A, 697 (1995) 101.
- 88 D. Puig, D. Barceló, I. Silgoner, M. Grasserbauer, J. Mass Spectrom., 31 (1996) 1297.
- 89 D.L. Mayer, J.S. Fritz, J. Chromatogr. A, 773 (1997) 189.
- 90 D-G. Kim, M-W. Jung, I.R. Paeng, J-S. Rhee, K-J. Paeng, Microchem. J., 63 (1999) 134.
- 91 M.S. Young, D.J. Phillips, Waters Corporation, HPLC'99 Presentation, Granada, 1999.
- 92 S. Xie, F. Svec, J.M.J. Fréchet, Chem. Mater., 10 (1998) 4072.
- 93 V. Pichon, L. Chen, M-C. Hennion, R. Daniel, A. Martel, F. Le Goffic, J. Abian, D. Barceló, Anal. Chem., 67 (1995) 2451.
- 94 I. Ferrer, M-C. Hennion, D. Barceló, Anal. Chem., 69 (1997) 4508.
- 95 V. Pichon, H. Rogniaux, N. Fischer Durand, S. Ben Rejeb, F. Le Goffic, M-C. Hennion, Chromatographia, 45 (1997) 289.

- 96 A. Martín Esteban, P. Fernández, C. Cámara, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 357 (1997) 927.
- 97 V. Pichon, M. Bouzige, C. Miège, M-C. Hennion, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 219.
- 98 D. Barceló, M-C. Hennion, *Trace Determination of Pesticides and Their Degradation Products in Water*, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Vol. 19, Elsevier, Amsterdam, 1997.
- 99 I. Ferrer, V. Pichon, M-C. Hennion, D. Barceló, *J. Chromatogr. A*, 777 (1997) 91.
- 100 V. Pichon, M. Bouzige, M-C. Hennion, *Anal. Chim. Acta*, 376 (1998) 21.
- 101 S. Ouyang, Y. Xu, Y.H. Chen, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 931.
- 102 M. Bouzige, V. Pichon, M-C. Hennion, *J. Chromatogr. A*, 823 (1998) 197.
- 103 M. Bouzige, G. Machtalère, P. Legeay, V. Pichon, M-C. Hennion, *Waste Manage.*, 19 (1999) 171.
- 104 D.H. Thomas, M. Beck-Westermeyer, D.S. Hage, *Anal. Chem*, 66 (1994) 3823.
- 105 V. Pichon, L. Chen, M-C. Hennion, *Anal. Chim. Acta*, 311 (1995) 429.
- 106 A. Martín Esteban, P. Kwasowski, D. Stevenson, *Chromatographia*, 45 (1997) 364.
- 107 A. Martín Esteban, P. Fernández, D. Stevenson, C. Cámara, *Analyst*, 122 (1997) 1113.
- 108 V. Pichon, E. Aulard-Macler, H. Oubihi, P. Sassiati, M-C. Hennion, M. Caude, *Chromatographia*, 46 (1997) 529.
- 109 J. Steinke, D.C. Sherrington, I.R. Dunkin, *Adv. Polym. Sci.*, 123 (1995) 81.
- 110 G. Wulff, *EXS*, 80 (1997) 13.
- 111 B. Sellergren, *Trends Anal. Chem.*, 18 (1999) 164.
- 112 S. Rimmer, *Chromatographia*, 46 (1998) 470.
- 113 E. Yilmaz, K. Mosbach, K. Haupt, *Anal. Commun.*, 36 (1999) 167.
- 114 B. Sellergren, *Trends Anal. Chem.*, 16 (1997) 310.
- 115 F. Lanza, B. Sellergren, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 2092.
- 116 L.I. Andersson, A. Paprica, T. Arvidsson, *Chromatographia*, 46 (1997) 57.

- 117 K. Mosbach, K. Haupt, X-C. Liu, P.A.G. Cormack, O. Ramström, ACS Symp. Ser., 703 (1998) 29.
- 118 O. Ramström, R.J. Ansell, Chirality, 10 (1998) 195.
- 119 A.G. Mayes, K. Mosbach, Trends Anal. Chem., 16 (1997) 321.
- 120 K. Ensing, T. de Boer, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 138.
- 121 F.L. Dickert, O. Hayden, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 192.
- 122 T. Takeuchi, J. Haginaka, J. Chromatogr. B, 728 (1999) 1.
- 123 L. Ye, O. Ramström, R.J. Ansell, M.O. Månsson, K. Mosbach, Biotechnol. Bioeng., 64 (1999) 650.
- 124 P.K. Owens, L. Karlsson, E.S.M. Lutz, L.I. Andersson, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 146.
- 125 I. Surugiu, L. Ye, E. Yilmaz, A. Dzgoev, B. Danielson, K. Mosbach, K. Haupt, Analyst, 125 (2000) 13.
- 126 J.A. Tarbin, M. Sharman, Anal. Commun., 36 (1999) 105.
- 127 L. Schweitz, L.I. Andersson, S. Nilsson, Anal. Chem., 69 (1997) 1179.
- 128 Y. Nomura, H. Hugumura, K. Yano, A. Kugimiya, S. Maniven, K. Ikebukuro, I. Karube, Anal. Lett., 31 (1998) 973.
- 129 J. Matsui, Y. Miyoshi, O. Doblhoff-Dier, T. Takeuchi, Anal. Chem., 67 (1995) 4404.
- 130 C. Baggiani, F. Trotta, G. Giraudi, C. Giovannoli, A. Vanni, Anal. Commun., 36 (1999) 263.
- 131 K. Hosoya, Y. Iwakoshi, K. Yoshizako, K. Kimata, N. Tanaka, H. Takehira, J. Haginaka, J. High Resol. Chromatogr., 22 (1999) 256.
- 132 D. Kriz, C. Berggren Kriz, L.I. Andersson, K. Mosbach, Anal. Chem., 66 (1994) 2636.
- 133 L. Schweitz, L.I. Andersson, S. Nilsson, J. Chromatogr. A, 817 (1998) 5.
- 134 J. Olsen, P. Martin, I.D. Wilson, Anal. Commun., 35 (1998) 13H.
- 135 D. Stevenson, Trends Anal. Chem., 18 (1999) 154.
- 136 J. Olsen, P. Martin, I.D. Wilson, G.R. Jones, Analyst, 124 (1999) 467.
- 137 B.A. Rashid, R.J. Briggs, J.N. Hay, D. Stevenson, Anal. Commun., 34 (1997) 303.

- 138 P. Martin, I. D. Wilson, D.E. Morgan, G.R. Jones, K. Jones, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 45.
- 139 W.M. Mullett, E.P.C. Lai, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 3636.
- 140 W.M. Mullett, E.P.C. Lai, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 21 (1999) 835.
- 141 R.F. Venn, R.J. Goody, *Chromatographia*, 50 (1999) 407.
- 142 L.I. Andersson, *J. Chromatogr. B*, 739 (2000) 163.
- 143 A. Zander, P. Findlay, T. Renner, B. Sellergren, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 3304.
- 144 W.M. Mullett, E.P.C. Lai, B. Sellergren, *Anal. Commun.*, 364 (1999) 512.
- 145 A. Kugimiya, T. Takeuchi, *Anal. Chim. Acta*, 395 (1999) 251.
- 146 M.T. Muldoon, L. H. Stanker, *Anal. Chem.*, 69 (1997) 803.
- 147 B. Bjarnason, L. Chimuka, O. Ramström, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 2152.
- 148 J. Matsui, M. Okada, M. Tsuruoka, T. Takeuchi, *Anal. Commun.*, 34 (1997) 85.
- 149 J-S. Rhee, M-W. Jung, K-J. Paeng, *Anal. Sci.*, 14 (1998) 1089.
- 150 T.D. Bucheli, S.R. Müller, P. Reichmuth, S.B. Haderlein, R.P. Schwarzenbach, *Anal. Chem.*, 71 (1999) 2171.