

4. CONCLUSIONS
CONCLUSIONS

Les conclusions derivades dels estudis realitzats en la present Tesi Doctoral són les següents:

1. Ha estat possible sintetitzar polímers amb empremta molecular (MIPs) per a una gran varietat de compostos, els quals es diferencien entre ells en aspectes com la mida, la polaritat o el nombre i tipus de grups funcionals.
2. La síntesi de MIPs mitjançant polimerització en solució, tot i haver de triturar i tamissar el polímer abans de ser emprat, ha demostrat ser una tècnica ràpida, relativament senzilla i efectiva per a obtenir MIPs.
3. En la síntesi de MIPs per a un mateix *template* s'ha comprovat com, la via de polimerització seguida o el porogen emprat, influeixen en les característiques finals del MIP.
4. Tot i que és recomanable dur a terme la síntesi de MIPs en solvents orgànics apolars i apròtics, s'ha demostrat com, la síntesi en una mescla d'aigua i un solvent orgànic com a porogen, també pot donar lloc a un polímer amb bones empremtes moleculars i per tant bona selectivitat.
5. L'avaluació cromatogràfica dels MIPs ha estat de gran utilitat per a obtenir una idea sobre les característiques d'empremta molecular de cada MIP i també per conèixer la possible reactivitat creuada que presenta per a altres compostos d'estructura semblant a la del *template*.
6. La reactivitat creuada dels MIPs ha estat aprofitada per a l'extracció selectiva de compostos d'una mateixa família tant en mostres d'aigua de riu com biològiques.
7. S'ha demostrat com els MIPs poden ser emprats tant en sistemes d'extracció en fase sòlida fora de línia com acoblats en línia a la cromatografia de líquids, sempre i quan el solvent d'elució a emprar

sigui compatible amb el sistema cromatogràfic i adient per portar a terme la separació dels compostos.

8. L'ús dels MIPs com a sorbents en sistemes d'extracció en fase sòlida pot ser aplicat a l'extracció selectiva de compostos en matrius tan diverses com la mediambiental i la biològica.
9. Tot i que els MIPs generalment es caracteritzen per tenir baixa capacitat, s'ha demostrat que és possible extreure compostos de naturalesa polar de grans volums d'aigua de riu amb bones recuperacions pels analits extrets.
10. L'etapa de neteja amb un solvent orgànic ha estat clau en molts casos per a assolir una extracció selectiva de l'analit/s d'interès, principalment quan es treballa amb mostres aquoses.
11. L'etapa de neteja junt amb la selectivitat del MIP han permès obtenir cromatogrames molt nets on la matèria orgànica no interfereix en la quantificació de l'analit/s d'interès, la qual cosa és de gran utilitat quan es treballa amb mostres d'elevada complexitat com les de teixit animal.
12. En el cas del MIP preparat amb naproxen com a molècula *template*, l'etapa de neteja permet eliminar gran part de la matèria orgànica present a les mostres d'orina, de manera que ha estat possible variar el gradient de separació per tal que el compost d'interès elueixi en el menor temps possible i així aconseguir temps d'anàlisi més curts.
13. En el cas del MIP empremtat amb ENRO i en el del MIP empremtat amb CIPRO, el procés de MISPE s'ha combinat amb una altra etapa d'extracció prèvia emprant un sorbent comercial d'elevada retenció. Aquest procés d'extracció en dues etapes ha permès realitzar un canvi de solvent, de manera que els compostos que inicialment estan en una

mostra aquosa finalment són preconcentrats a través del MIP en un solvent orgànic en el qual les interaccions selectives són màximes.

14. El procés d'SPE en dues etapes desenvolupat en l'estudi del MIP empremtat amb la CIPRO, ha permès realitzar una neteja de la mostra molt eficaç que, combinada amb la selectivitat del MIP, ha donat lloc a extractes molt nets, la qual cosa ha permès que l'extracte obtingut s'hagi pogut injectar directament en un detector de MS fent innecessària la tècnica cromatogràfica i per tant reduir el temps d'anàlisi.

The conclusions drawn from the various studies of the present Thesis can be summarized as follows:

1. Molecularly imprinted polymers can be synthesised for a wide variety of compounds which are different in size, functional group and polar characteristics.
2. Synthesising MIPs by conventional solution polymerisation is a rapid and relatively easy method for obtaining these materials, although the polymer obtained has to be ground and sieved before it is used.
3. It has been confirmed that for a given template molecule, the synthetic protocol followed and the porogen used affect the characteristics of the polymer.
4. Although it has been stated that MIPs should be synthesised in non-polar and non-protic solvents, this Thesis has demonstrated that imprinted polymers with good imprinting effect can be prepared in mixtures of water and an organic solvent.
5. It is very useful to make a chromatographic evaluation of MIPs to have some idea about the imprinting effect of the polymer and to check the selectivity of the MIP for other analytes that are structurally related to the template molecule.
6. The cross-reactivity shown by the MIPs can be exploited to selectively extract mixtures of compounds from the same group in river water and biological samples.
7. MIPs can be applied in both off-line and on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography when the eluting solvent is compatible with the chromatographic system and is appropriate for the chromatographic separation.

8. Molecularly imprinted polymers can be applied to the selective solid-phase extraction of compounds from complex matrices such as environmental and biological samples.
9. Although the capacity of MIPs is usually low, it has been demonstrated here that compounds can also be extracted from high sample volumes and good recoveries obtained for the analytes extracted.
10. The clean-up step with an organic solvent is very important in some studies to enhance the selectivity of the MIP, mainly when the target analyte/s has to be selectively extracted from aqueous samples.
11. The clean-up step combined with the selectivity of the MIP allow cleaner chromatograms to be obtained, because the matrix compounds do not interfere in the quantification of the target analyte/s. This is an advantage particularly when complex samples, such as tissue samples, are analysed.
12. In the study of the naproxen MIP, the clean-up step nearly removes the organic compounds from urine. Therefore the separation gradient was changed and the time of analysis decreased.
13. In the studies of the ENRO and CIPRO MIPs, the MISPE process was combined with a previous extraction step in which a commercial SPE sorbent was used. This two-step SPE makes it possible to remove the aqueous content of the sample. Consequently, the analytes pass through the MIP in the appropriate organic solvent.
14. The two-step SPE process performed in the study of CIPRO MIP cleans up the sample more efficiently, so the clean extract obtained from the extraction procedure can be directly injected into a MS detector, avoiding the separation step and decreasing the time of analysis.

ANNEXOS



ANNEX I

Abreviatures utilitzades en la present tesi:

1-NS	àcid 1-naftalensulfònic
4-CP	4-clorofenol
4-NP	4-nitrofenol
4-VP	4-vinilpiridina
ABDV	2,2'-azobis-(2,4-dimetilvaleronitril)
ACN	acetonitril
AIBN	2,2'-azobisisobutironitril
BPO	peròxid de benzoil
CEC	electrocromatografia capil·lar
CHCl ₃	cloroform
CIPRO	ciprofloxacina
DCM	diclorometà
DMSO	dimetilsulfòxid
DPE	elució amb diferencial de pulsos
DVB	divinilbenzè
ECD	detector electroquímic
EGDMA	dimetacrilat d'etilenglicol
ELISA	assaig amb enzim unit a un immunosorbent
ENRO	enrofloxacina
GC	cromatografia de gasos
GCB	carbó negre grafitat
HAc	àcid acètic
HPLC	cromatografia de líquids d'alta resolució
i.d.	diàmetre intern
IF	factor d'empremta molecular
IS	immunosorbent
K'	factor de capacitat
LC	cromatografia de líquids
LLE	extracció líquid-líquid

MAA	àcid metacrílic
MAE	extracció assistida amb microones
MDAA	N,N'-metilendiàcrilamida
MeOH	metanol
MIP	polímers amb empremta d'ió metàl·lic
MIP	polímer amb empremta molecular
MISPE	extracció en fase sòlida mitjançant polímers amb empremta molecular
MMLLE	membranes microporoses d'extracció líquid-líquid
MS	espectrometria de masses
NIP	polímer de control
OTC	oxitetraciclina
PAHs	hidrocarburs aromàtics policíclics
PCA	anàlisi per components principals
PE	elució amb pulsos
PETRA	tetraacrilat de pentaeritritol
PGC	carbó porós grafitat
PLS	regressió per mínims quadrats parcials
PS-DVB	poliestirè divinilbenzè
RAM	material d'accés restringit
RI	índex de retenció
RIA	radioimmunoassaig
SBSE	extracció per sorció amb barres magnètiques agitadores
SLM	membrana de líquid suportat
SPE	extracció en fase sòlida
SPME	microextracció en fase sòlida
TRIM	dimetacrilat de 1,3-propilenglicol
UV	radiació ultraviolada

ANNEX II

Els treballs que han sorgit de la present Tesi Doctoral, inclosos als capítols 1 i 2, que s'han publicat o estan pendents de publicació en revistes científiques, són els següents:

- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *Molecularly imprinted polymers applied to the solid-phase extraction of compounds from environmental and biological samples*, Trends Anal. Chem., (pendent de publicació) (apartat 1.3).
- E. Caro, N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, *Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples*, J. Chromatogr. A 963 (2002) 169 (apartat 2.1.1).
- E. Caro, N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, *On-line solid-phase extraction with molecularly imprinted polymers to selectively extract substituted 4-chlorophenols and 4-nitrophenol from water*, J. Chromatogr. A 995 (2003) 233 (apartat 2.1.2).
- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *Molecularly imprinted solid-phase extraction of naphthalene sulfonates from water*, J. Chromatogr. A 1047 (2004) 175 (apartat 2.2.1).
- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *Selective enrichment of anti-inflammatory drugs from river water samples by solid-phase extraction with a molecularly imprinted polymer*, J. Sep. Sci (en premsa) (apartat 2.3.1).
- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *A new molecularly imprinted polymer for the selective extraction of*

naproxen naproxen from urine samples by solid-phase extraction, J. Chromatogr. B 813 (2004) 137 (apartat 2.3.2).

- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *Synthesis and application of an oxytetracycline imprinted polymer for the solid-phase extraction of tetracycline antibiotics*, Anal. Chim. Acta (pendent de publicació) (apartat 2.4.1).
- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *Novel enrofloxacin imprinted polymer applied to the solid-phase extraction of fluorinated quinolones from urine and tissue samples*, J. Chromatogr. A (pendent de publicació) (apartat 2.5.1).
- E. Caro, R.M. Marcé, P.A.G. Cormack, D.C. Sherrington, F. Borrull, *Direct determination of ciprofloxacin by mass spectrometry after two-step solid-phase extraction using a molecularly imprinted polymer*, J. Chromatogr. A (pendent de publicació) (apartat 2.5.2).