

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 aqüífers 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 prioritars 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 (C₁₈) 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 C₁₈ 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 retinguts 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].

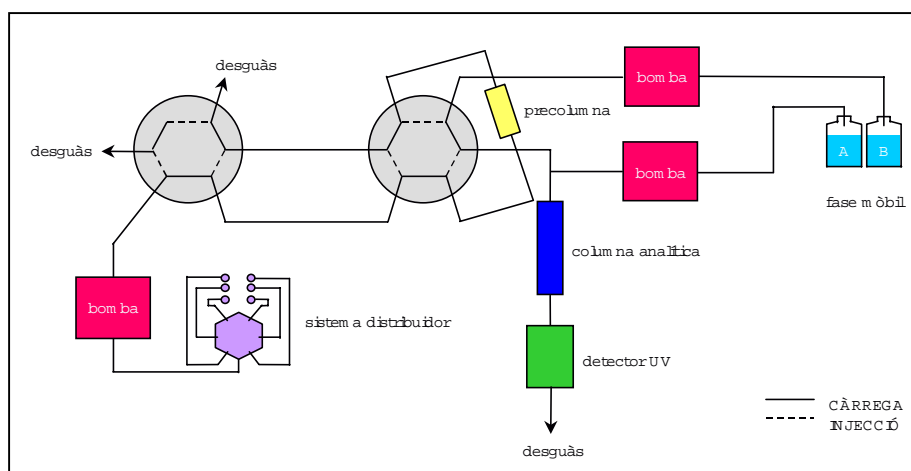


Fig. 1. Esquema del sistema analític emprat per Pocurull et al. [66]

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 *Önnerfjord 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 poliiionitzades 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 aconseguen 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. Wiergowski, J. Chromatogr. A, 754 (1996) 103.
- 2 M.L. Davi, 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. Snavely, 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. Fraise, 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 Kooij, *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. Önnarfjord, 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. Nolkrantz, 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.