

LLISTAT DE FIGURES

Figura 1: Distribució geogràfica aproximada de l'alzina surera. (ca.wikipedia.org , 2008)	12
Figura 2: Alzina surera pelada. (digitalnatura.org , 2007)	14
Figura 3: Secció radial (a) i tangencial (b) de les cel·les del suro. (<i>Silva et al.</i> , 2005)	15
Figura 4: Secció tangencial de les cel·les de suro que mostra la seva rugositat. (<i>Silva et al.</i> , 2005)	15
Figura 5: Representació esquemàtica de l'estructura de la paret cel·lular del suro. (<i>Pereira</i> , 2007)	16
Figura 6: Representació esquemàtica de la composició química del suro i de l'alzina surera (<i>Pereira</i> , 2007)	18
Figura 7: Macromolècula de suberina. Model proposat per Bernards. (ScienceDirect.com , 2006)	19
Figura 8: Estructura dels monòmers precursors de la síntesi enzimàtica de la lignina. (<i>Pereira</i> , 2007)	20
Figura 9: Aparell HPLC (<i>Agilent technologies</i> , 2012)	31
Figura 10: Esquema d'un espectròmetre IR. (experimentaciollivre.wordpress.com)	35
Figura 11: Sistema d'extracció Soxhlet. (chemie.unibas.ch)	44
Figura 12: (A) Reflux (what-when-how.com) ; (B) Evaporador rotatori (faidherbe.org)	47
Figura 13: Cromatograma de gasos de la suberina després de la piròlisi en presència de TMAH (<i>IRNASE-CSIC, Sevilla</i>)	70
Figura 14: Espectre d'infraroig del suro (suro), suro lliure d'extractius alifàtics (alif), suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics (fen) i suro lliure de tots els extractius (ext)	73

Figura 15: Espectre d'infraroig de la suberina	74
Figura 16: Cromatograma corresponent a la solució de metamitron 10 µg/mL	75
Figura 17: Cromatograma corresponent a la solució d'alaclor 10 µg/mL	75
Figura 18: Cromatograma corresponent a la solució de 2,4-D 10 µg/mL.....	76
Figura 19: Cromatograma corresponent a la solució de clorpirifos 10 µg/mL	76
Figura 20: Corba de calibració del metamitron (rang de concentracions: 0,4-10µg/mL)	76
Figura 21: Corba de calibració de l'alaclor (rang de concentracions: 2-40µg/mL)	77
Figura 22: Corba de calibració del 2,4-D (rang de concentracions: 0,4-10µg/mL)	77
Figura 23: Corba de calibració del clorpirifos (rang de concentracions: 0,4-10µg/mL)	77
Figura 24: Variació de la quantitat de pesticida adsorbit en funció de la massa de sorbent utilitzada expressada en (A) µg de pesticida/d de sorbent (Cs) i (B) com a percentatge de la quantitat inicial	80
Figura 25: Variació de la quantitat de pesticida adsorbit en funció del volum de solució utilitzat expressada en (A) µg de pesticida/d de sorbent (Cs) i (B) com a percentatge de la quantitat inicial	82
Figura 26: Corba de calibració del metamitron (rang de concentracions: 0,2 - 2µg/mL)	86
Figura 27: Cromatograma de la solució de metamitron abans de la sorció (Ci)	87
Figura 28: Cromatograma de la solució de metamitron després de la sorció amb suro (CAT-1)	87
Figura 29: Intensitat d'adsorció (A) (µg de pesticida/g de sorbent) i eficiència d'adsorció (B) (%) del metamitron segons la fracció de suro utilitzada com a sorbent	88

<u>Figura 30:</u> Espectre d'infraroig del suro abans i després de l'adsorció de metamitron	89
<u>Figura 31:</u> Corba de calibració de l'alaclor (rang de concentracions: 0,25 - 5,0µg/mL)	95
<u>Figura 32:</u> Cromatograma de la solució d'alaclor abans de la sorció (Ci)	96
<u>Figura 33:</u> Cromatograma de la solució d'alaclor després de la sorció amb suro (CAT-1).....	96
<u>Figura 34:</u> Intensitat d'adsorció (A) (µg de pesticida/g de sorbent) i eficiència d'adsorció (B) (%) de l'alaclor segons la fracció de suro utilitzada com a sorbent	97
<u>Figura 35:</u> Espectre d'infraroig del suro abans i després de l'adsorció d'alaclor	98
<u>Figura 36:</u> Corba de calibració del 2,4-D (rang de concentracions: 0,2 - 2µg/mL)	104
<u>Figura 37:</u> Cromatograma de la solució de 2,4-D abans de la sorció (Ci)	105
<u>Figura 38:</u> Cromatograma de la solució de 2,4-D després de la sorció amb suro	105
<u>Figura 39:</u> Corba de calibració del clorpirifos (rang de concentracions: 1 - 40µg/mL)	108
<u>Figura 40:</u> Cromatograma de la solució de clorpirifos abans de la sorció (Ci)	109
<u>Figura 41:</u> Cromatograma de la solució de clorpirifos després de la sorció amb suro (EXT-6)	109
<u>Figura 42:</u> Intensitat d'adsorció (A) (µg de pesticida/g de sorbent) i eficiència d'adsorció (B) (%) del clorpirifos segons la fracció de suro utilitzada com a sorbent	111
<u>Figura 43:</u> Espectre d'infraroig del suro abans i després de l'adsorció del clorpirifos	112

LLISTAT DE TAULES

Taula 1: Propietats generals del suro. (<i>Silva et al.,2005</i>)	23
Taula 2: Propietats químiques dels pesticides. (<i>E. Barriuso,2005 ; Mackay,2004</i>)	29
Taula 3: Característiques de les dissolucions de pesticida pel seu estudi previ per HPLC	53
Taula 4: Condicions d'anàlisi per HPLC	53
Taula 5: Característiques de les solucions patró dels pesticides en els assajos de sorció per a l'efecte de la massa	55
Taula 6: Característiques de les solucions patró dels pesticides en els assajos de sorció per a l'efecte del volum	57
Taula 7: Característiques de les dissolucions de pesticides sotmeses a sorció per a l'efecte del volum	57
Taula 8: Característiques de les dissolucions de pesticides sotmeses a sorció en els assajos amb les fraccions de suro	60
Taula 9: Composició elemental del suro i les seves fraccions	69
Taula 10: Composició (%) de la suberina extreta de la mostra de suro CAT-1 (<i>IRNASE-CSIC, Sevilla</i>)	70
Taula 11: Longituds d'ona (cm^{-1}) dels principals grups funcionals del suro. (<i>Pereira, 2007</i>)	71
Taula 12: Longituds d'ona (cm^{-1}) dels principals grups funcionals del suro i les seves fraccions.....	72
Taula 13: Temps de retenció dels pesticides en l'anàlisi per HPLC	76
Taula 14: Concentracions de treball per als assajos inicials de sorció	78

<u>Taula 15:</u> pH de les solucions dels pesticides en els assajos sobre l'efecte de la massa	79
<u>Taula 16:</u> Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció en funció de la massa de sorbent	79
<u>Taula 17:</u> pH de les solucions dels pesticides en els assajos sobre l'efecte del volum	81
<u>Taula 18:</u> Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció en funció del volum de solució	81
<u>Taula 19:</u> pH de les dissolucions de metamitron abans i després de la sorció amb cada fracció.....	85
<u>Taula 20:</u> Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció del metamitron (concentració teòrica inicial: 2µg/mL) segons la fracció de suro utilitzada	88
<u>Taula 21:</u> Variació de les vibracions dels àtoms del suro deguda a l'adsorció del metamitron	90
<u>Taula 22:</u> pH de les dissolucions d'alaclor abans i després de la sorció amb cada fracció.....	94
<u>Taula 23:</u> Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció de l'alaclor (concentració teòrica inicial: 5µg/mL) segons la fracció de suro utilitzada	97
<u>Taula 24:</u> Variació de les vibracions dels àtoms del suro deguda a l'adsorció de l'alaclor.....	99
<u>Taula 25:</u> pH de les dissolucions de 2,4-D abans i després de la sorció amb cada fracció.....	103
<u>Taula 26:</u> Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció del 2,4-D (concentració teòrica inicial: 2µg/mL) segons la fracció de suro utilitzada	106
<u>Taula 27:</u> Concentració de les solucions de clorpirifos (concentració teòrica inicial: 40µg/mL) abans i després de la sorció amb cada fracció i concentració de les neteges amb acetonitril corresponents a cada recipient	110
<u>Taula 28:</u> Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció del clorpirifos (concentració teòrica inicial: 40µg/mL) segons la fracció de suro utilitzada	111

Taula 29: Variació de les vibracions dels àtoms del suro deguda a l'adsorció del clorpirifos	113
---	------------

LLISTAT D'EQUACIONS.

Equació 1: Càlcul del rati atòmic H/C	68
Equació 2: Càlcul del rati atòmic O/C	68
Equació 3: Càlcul de l'índex de polaritat	68
Equació 4: Càlcul de la intensitat de sorció (µg/g)	78
Equació 5: Càlcul de l'eficiència d'adsorció (%)	78

LLEGENDA D'ABREVIACIONS

Suro: mostra de suro sense tractar provinent de Catalunya (Girona, Cassà de la Selva) (CAT-1)

Alif: mostra de suro CAT-1 lliure d'extractius alifàtics.

Fen: mostra de suro CAT-1 lliure d'extractius alifàtics i fenòlics (després de l'extracció amb etanol).

Ext: mostra de suro provinent CAT-1 lliure d'extractius totals (després de l'extracció amb aigua).

Desub: mostra de suro CAT-1 lliure d'extractius i de suberina (mostra desuberitzada).

Sub: mostra de suberina extreta del la mostra de suro CAT-1.

Suro – ext: mostra de suro sense tractar provinent d'Extremadura (EXT-6)

Ext – ext: mostra de suro provinent ext-6 lliure d'extractius totals (després de l'extracció amb aigua).

Desub – ext: mostra de suro EXT-6 lliure d'extractius i de suberina (mostra desuberitzada).

Sub – ext: mostra de suberina extreta del la mostra de suro EXT-6.

RESUM

La presència de pesticides en el medi ambient pot comportar efectes nocius pel propi medi i la salut humana, fet que, en alguns casos, converteix en necessària la seva eliminació.

Un dels mètodes utilitzats per dur a terme aquesta eliminació és la sorció de contaminants sobre materials adsorbents. Per tal de fer d'aquest mètode un procés sostenible cal investigar nous materials capaços de retenir els contaminants.

El suro és la part més externa de l'escorça de l'alzina surera: *Quercus Suber L.* S'extreu cada 5-10 anys depenent de la regió i es caracteritza per ser una font natural, renovable i biodegradable amb una heterogènia composició química que el converteix en un material potencialment apte com a adsorbent d'un ampli rang de contaminants.

A dia d'avui, escassos estudis han estat centrats en l'ús del suro sense tractar com a biosorbent per desenvolupar tecnologies sostenibles de descontaminació d'aigües.

Domingues et al. (2005, 2007) van investigar l'afinitat del suro per adsorbir pesticides piretroides (cypermethrin i bifenthrin) i, més recentment, Olivella et al. (2011^{a,b}, Olivella 2013) van estudiar l'afinitat del suro per descontaminar aigües que contenen hidrocarburs policíclics aromàtics.

Malgrat tot, el coneixement científic pel que fa al paper dels compostos químics del suro sobre la sorció dels contaminants orgànics és escàs i incomplet.

En aquest context, l'objectiu principal d'aquest treball és investigar l'afinitat d'adsorció del suro amb quatre pesticides de diferent hidrofobicitat i estructura química i estudiar el paper que hi juguen els seus compostos químics (extractius, suberina, lignina i polisacàrids) en aquest procés de sorció.

Els pesticides investigats han estat:

- Metamitron: poc hidrofòbic ($\log K_{ow} = 0.83$) i de caràcter molecular.
- Alaclor: moderadament hidrofòbic ($\log K_{ow} = 2.80$) i de caràcter iònic ($pK_a = 0.62$)
- 2,4-D: moderadament hidrofòbic ($\log K_{ow} = 2.81$) i de caràcter iònic ($pK_a = 2.64$)
- Clorpirifos: molt hidrofòbic ($\log K_{ow} = 4.92$) i de caràcter molecular.

El material adsorbent procedeix de llesques de suro perforades originàries de Catalunya (Girona, Cassà de la Selva) després d'haver-ne obtingut els taps de suro, per tant correspon a un subproducte de baix cost de la indústria surera.

Les mostres emprades es van triturar d'entre 0.5 i 0.7 mm de mida de partícula provinents del ventre i l'esquena de les llesques.

L'abast del treball ha estat centrat en:

1) Aïllar sis fraccions del suro:

- a) Sotmetre el suro a successives extraccions amb dissolvents de diferent polaritat (diclormetà, etanol i aigua) per tal d'obtenir-ne quatre fraccions diferenciades: (1) suro, (2) suro lliure d'extractius alifàtics, (3) suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics i (4) suro lliure d'extractius totals.
- b) Extreure per hidròlisi alcalina la suberina de la mostra de suro lliure d'extractius totals i obtenir així dos sòlids diferenciats: (1) suro lliure d'extractius i suberina i (2) suberina.
- c) Analitzar la composició de les fraccions de suro:
 - i) Anàlisi elemental (Serveis tècnics de recerca de la UdG).
 - ii) Piròlisi de la suberina (Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, CSIC, Sevilla).

2) Realitzar assajos de sorció per:

- a) Determinar el rati òptim de sorbent/solució (5mg suro/20mL solució pel metamitron, alaclor i 2,4-D i 0,1g suro/15mL solució pel clorpirifos)
- b) Investigar la influència dels diferents components químics del suro en el procés de sorció de cada pesticida posant cada fracció en contacte amb cadascun dels pesticides (2µg/mL pel metamitron i el 2,4-D; 5µg/mL per l'alaclor i 40µg/mL pel clorpirifos). (analitzant els líquids residuals abans i després de la sorció per cromatografia líquida HPLC.

3) Analitzar per cromatografia líquida HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) les fases líquides residuals abans i després de la sorció per tal de determinar-ne l'eficiència de sorció.

4) Analitzar per espectroscòpia FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) les fraccions sòlides de suro residuals després de la sorció per tal d'identificar els grups funcionals involucrats en el procés de sorció.

Els experiments realitzats mostren que cada pesticida presenta diferent afinitat a ser adsorbit pel suro:

- El suro només pot adsorbir el 16% del metamitron present en la dissolució ($C_i=2\mu\text{g/mL}$). S'observa un lleugera disminució de la sorció després d'haver eliminat tots els extractius (14%) i un lleuger augment després d'haver extret la suberina (18%). La suberina posada en contacte directe amb el metamitron és capaç d'adsorbir el 13% del pesticida present en la dissolució.
- En el cas de l'alaclor es quantifica una sorció amb el suro del 18% ($C_i=5\mu\text{g/mL}$). Els resultats indiquen que els extractius inhibeixen aquesta sorció donat que sense ells el percentatge de pesticida adsorbit augmenta fins a un 23%, en canvi en extreure la suberina disminueix fins a un 12%. La suberina per sí sola pot adsorbir el 18% de l'alaclor dissolt.
- Tot i el caràcter hidrofòbic del pesticida, ni el suro ni cap de les seves fraccions mostra afinitat per adsorbir el 2,4-D ($< 0,1\%$). Aquesta baixa sorció s'explicaria per la repulsió de les interaccions electrostàtiques entre la superfície del suro que es troba carregada negativament i el 2,4-D que es troba ionitzat negativament al pH de treball (pH entre 3 i 5), predominantment per la desprotonació dels àcids carboxílics ($-\text{COO}^-$).
- El clorpirifos és el pesticida que més afinitat demostra a ser adsorbit pel suro (72%) a una $C_i=40\mu\text{g/mL}$. L'eliminació de tots els extractius fa que augmenti el percentatge de sorció al 77% mentre que, en extreure la suberina, l'eficiència de l'adsorció augmenta fins a un 89%.
- En tots els casos en els que s'ha donat adsorció (metamitron, alaclor i clorpirifos), s'ha constatat per FTIR que un dels principals responsables d'aquesta interacció és la lignina, essent les interaccions predominants les $\pi-\pi$ entre anells aromàtics de la lignina i del pesticida.

1 INTRODUCCIÓ.

1.1 QUERCUS SUBER L.

El *Quercus Suber L.*, també anomenat Alzina Surera, és un arbre de fulla perenne utilitzat com a font principal de suro en la fabricació de taps de suro per ampolles de vi, cava i altres aplicacions.

El suro destinat a taps d'ampolla consisteix el 70% del seu mercat, la qual cosa significa que la indústria del vi i el cava juga un paper molt important en el suport del valor econòmic d'aquest material.

Des de fa uns anys, l'ús del suro per a taps de vi ha disminuït. Diversos vinicultors asseguraven que el seu vi es veia afectat pel tricloroanisol, TCA, present en el suro. Degut a això, la indústria del suro sintètic, taps de rosca i taps de corona va començar a créixer.

Com a conseqüència d'aquest creixement, el valor econòmic de les suredes s'ha vist reduït, fet que ha conduït al seu abandonament i respectiva degradació, disminució de valors mediambientals i augment del risc d'incendis i desforestació.

1.1.1 Distribució forestal del *Quercus Suber* L.

La surera és una espècie originària de la Mediterrània occidental i actualment es pot trobar a la Península Ibèrica, el sud de França, Còrsega, la Península Itàlica, Tunísia, Algèria i Marroc. Es calcula que les suredes ocupen en aquests territoris un total de 2,5 milions d'hectàrees, més de la meitat de les quals es troben a Portugal.

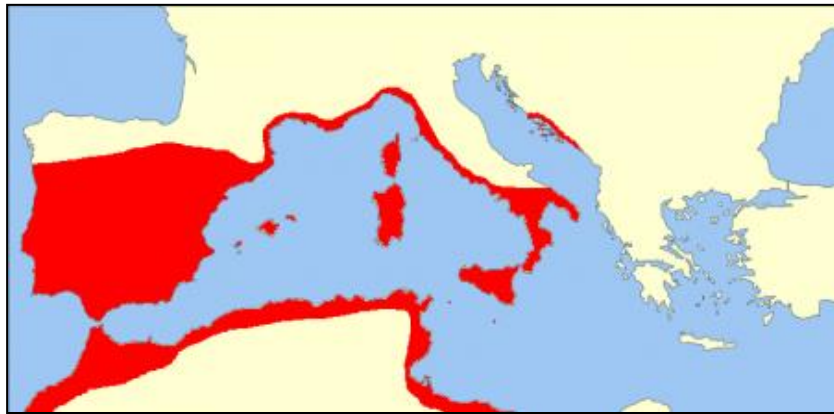


Figura 1: Distribució geogràfica aproximada de l'alzina surera.

_(ca.wikipedia.org, 2008)

1.1.2 Morfologia.

1.1.2.1 *Morfologia macroscòpica.*

La producció de suro és possible gràcies a la capacitat que té l'alzina surera de regenerar-se formant una nova capa molt fina i homogènia després d'haver estat pelada. L'extracció del suro de l'alzina surera és el que s'anomena "escorçada". Aquesta escorçada es fa sobretot durant el mes de juliol, que és el mes òptim per separar el suro de l'arbre sense danyar-lo . En aquesta època els anomenats surers extreuen l'escorça de l'alzina surera tallant amb una destrat les vetes verticals del suro. Així es retiren el que s'anomenen les planxes de suro.

Les alzines sureres són escorçades per primera vegada quan l'arbre té aproximadament 25 anys i posteriorment cada vegada que el gruix de la planxa és d'uns 25 mil·límetres, cosa que té lloc entre 5 i 10 anys, segons la naturalesa del sòl, la latitud i les condicions meteorològiques.

Existeix una gran diferència entre la qualitat de la planxes de la primera, segona i posteriors escorçades. El pelegrí o suro verge, obtingut en la primera pelada, és aspre, fràgil i té una estructura, espessor i densitat irregulars, per la qual cosa tan sols s'utilitza en l'elaboració de conglomerats . La primera reproducció de l'escorça és més regular que el pelegrí, però no té la qualitat suficient com per ser utilitzada en l'elaboració de taps de suro. No és fins la segona i subsegüents regeneracions (que seran extretes a partir de la tercera escorçada de l'arbre) que les planxes no assoleixen els requeriments adequats que les fan aptes com a matèria primera per la indústria de taps de suro.

La qualitat i espessor de les planxes varia en funció de les condicions del medi durant el creixement de l'arbre. L'alzina surera requereix gran quantitat de llum, poques pluges i molta humitat.



Figura 2: Alzina surera pelada

(digitalnatura.org, 2007)

1.1.2.2 Morfologia microscòpica.

El suro és un teixit homogeni format per una quantitat variable (depenent del tipus de suro) de cel·les de parets molt fines, col·locades sense espais intercel·lulars, que poden ser descrites com a prismes rectangulars compactats entre ells pels laterals en columnes paral·leles a la direcció radial de l'arbre.

L'estructura alveolar del suro és assimilable a un rusc d'abelles. La seva secció radial mostra les cel·les com a polígons regulars d'entre 4 i 9 costats (essent els heptàgons, hexàgons i pentàgons els estadísticament més freqüents) mentre que la secció tangencial revela una imatge comparable a una paret de maons (**Figura 3**).

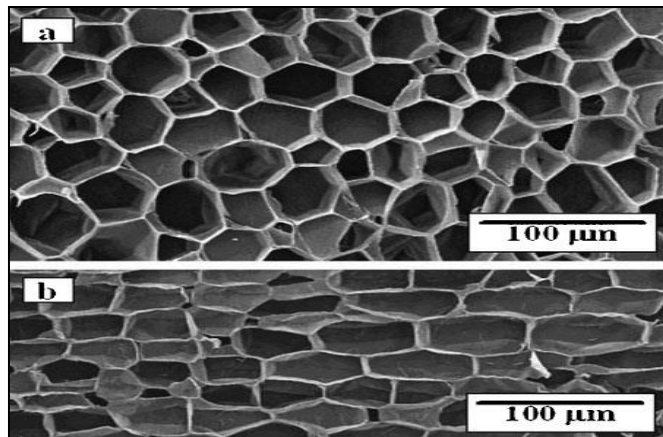


Figura 3: Secció radial (a) i secció tangencial (b) de les cel·les del suro

(Silva et al. 2005)

Una característica important de les cel·les del suro és la rugositat de les seves cares laterals (**Figura 4**). Es considera que les seves bases, si bé no són rugoses, sí que estan lleugerament ondulades.

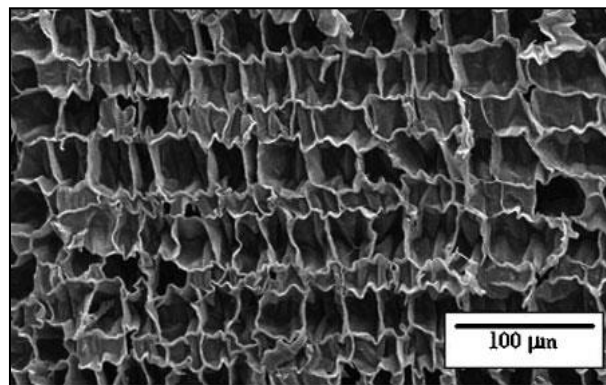


Figura 4: secció tangencial de les cel·les de suro que mostra la seva rugositat.

(Silva et al. 2005)

Les cel·les del suro estan molt pròximes entre elles i plenes d'aire, cosa que juga un paper molt important en les seves propietats. Durant el procés de sorció de contaminants, aquests només es poden trobar en les parets de les cel·les i no dins d'elles.

Les parets cel·lulars estan formades de lignina, suberina i polisacàrids. La matriu de lignina de la lamel·la intermèdia enganxa les cel·les entre elles i enforteix la seva estructura. La lignina també es troba present entre la lamel·la de suberina, donant així rigidesa a les parets cel·lulars. La paret cel·lulòsica terciària forma una barrera entre els canals de les cel·les (lumen) i les seves parets.

L'estructura cel·lular del suro (**Figura 5**) consisteix en una lamel·la intermèdia (ML) prima i rica en lignina, una capa primària formada per lignina i polisacàrids, una segona capa gruixuda (S) constituïda alternadament per suberina i lignina i ceres (també anomenades extractius alifàtics) i una fina capa terciària (T) formada per polisacàrids (caràcter hidrofílic).

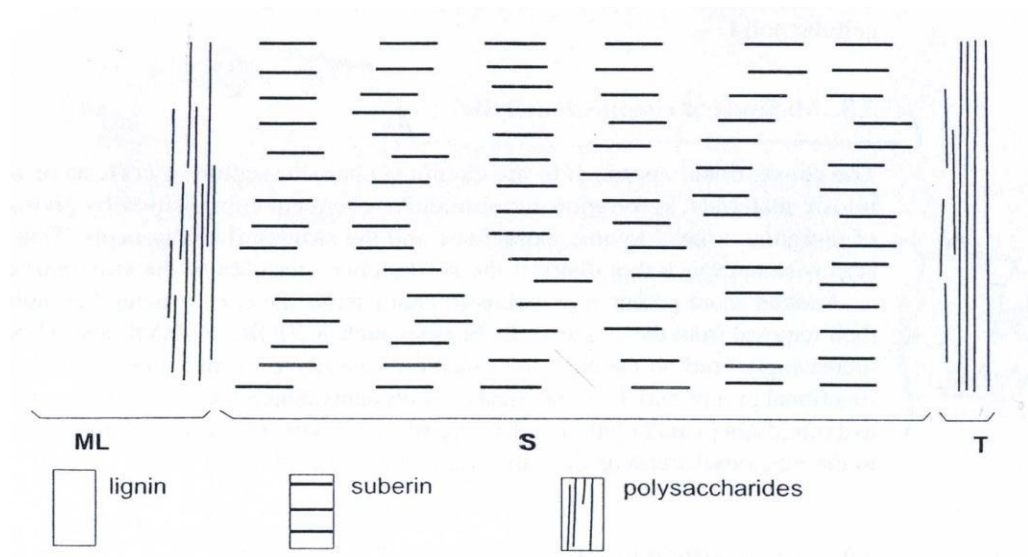


Figura 5: Representació esquemàtica de l'estructura de la paret cel·lular del suro.

(Pereira, 2007)

Informació sobre les dimensions de les cel·les del suro:

- Espessor: 1- 3 μ m.
- Àrea mitjana: (4-6) $\times 10^{-6}$ cm²
- Nombre de cel·les/cm³: (7-10) $\times 10^7$

1.1.3 Histologia i citologia.

El suro és una capa protectora constituïda per cel·les suberitzades procedents del teixit de fel·logen. Aquest fel·logen és un meristema secundari, és a dir, que té capacitat de generació cel·lular per mitosi, responsable del creixement en diàmetre de l'arbre. Després de la divisió cel·lular, les noves cel·les encara no han assolit la seva dimensió final per la qual cosa creixen en el protoplasma (interior de la cèl·lula); d'aquesta manera el teixit de fel·logen continua guanyant espessor i el perímetre de l'arbre augmenta.

El període de creixement del fel·logen és entre abril i octubre. La parada de l'hivern es reflexa en forma de visibles zones fosques, diferenciant així el fel·logen produït cada any.

L'increment anual de capes de fel·logen juga un paper molt rellevant en la formació de canals lenticulars, importants per ser on té lloc l'oxigenació del teixit meristemàtic i per facilitar la transferència de matèria d'aigua i gasos.

Quan el suro és extret de l'arbre, aquest pateix una disminució de la seva activitat biològica que té com a conseqüència la formació d'una capa protectora secundària feta de cèl·lules mortes que apareix aproximadament 30 dies després de l'extracció.

1.1.4 Composició química.

Les parets cel·lulars de les plantes estan formades per dos tipus de components: els estructurals i els no estructurals. Els components estructurals construeixen la paret de la cel·la i no poden ser extrets de les parets sense que es vegi afectada la seva estructura. Els components no estructurals poden ser solubilitzats mitjançant un dissolvent adequat.

La composició química del suro és diferent d'aquestes altres plantes. En el suro, els components estructurals de la paret cel·lular són polímers hidrofòbics: suberina (35-50%), lignina (15-20%) i polisacàrids hidrofílics (10-20%): cel·lulosa i hemicel·lulosa. Els components no estructurals, extractius (10-15%), són majoritàriament alifàtics i fenòlics.

En la fusta de l'alzina surera, els components estructurals són la lignina i els polisacàrids, essent la quantitat d'aquests últims molt superior que en el suro. Els components no estructurals són idèntics que els del suro, però estan en menor proporció.

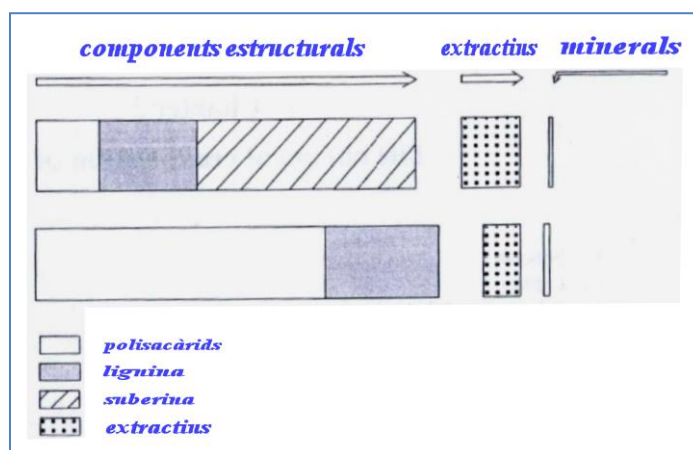


Figura 6: Representació esquemàtica de la composició química del suro i de l'alzina surera.

(Pereira, 2007)

1.1.4.1 Suberina.

La suberina és el compost químic principal de les cèl·lules suberitzades de l'alzina surera. En els teixits més externs de la planta, té com a funció principal actuar com a barrera protectora contra les agressions del medi, així com controlar la temperatura i la pèrdua d'aigua.

És un biopolímer alifàtic constituït per una complexa barreja de monòmers amb grups funcionals hidroxil i àcid carboxílic. Els monòmers principals de la suberina són els àcids grassos de cadena llarga (~1,0%), els α - ω àcids dicarboxílics (~45,5%) i els ω àcids grassos hidròxids (~26,3%).

La suberina és, *in situ*, un polímer insoluble i la seva obtenció a partir de teixits suberitzats s'assoleix mitjançant reaccions de despolimerització. Aquesta despolimerització es realitza per qualsevol reacció que trenqui enllaços èster, com la hidròlisi, l'alcohòlisi i la hidrogenòlisi.

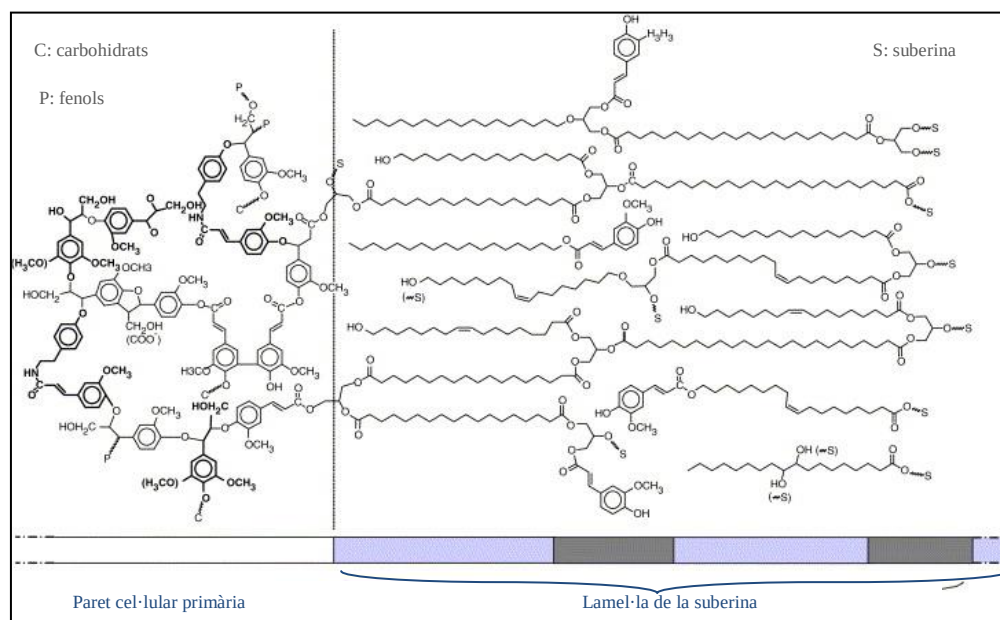


Figura 7: macromolècula de suberina. Model proposat per Bernards

[ScienceDirect.com, 2006]

1.1.4.2 Lignina.

La lignina és un polímer hidrofòbic amb baixa capacitat d'absorció d'aigua, unit per forts enllaços covalents i distribuït com una malla tridimensional. És la responsable de donar suport mecànic i rigidesa a les parets cel·lulars.

És una macromolècula formada per la unió de diversos àcids i alcohols fenil propílics (cumarílic, coniferílic y sinapílic). La proporció de monòmers present en les cèl·lules depèn del tipus d'espècie i de la localització en la paret cel·lular. Els arbres de fulla caduca contenen lignina composta per alcohols coniferílics i sinapílics). Les fustes coníferes tansols estan fetes d'alcohols coniferílics.

La lignina del suro conté un 95% d'alcohol coniferílic, un 2% d'alcohol cumarílic i un 3% d'alcohol sinapílic.

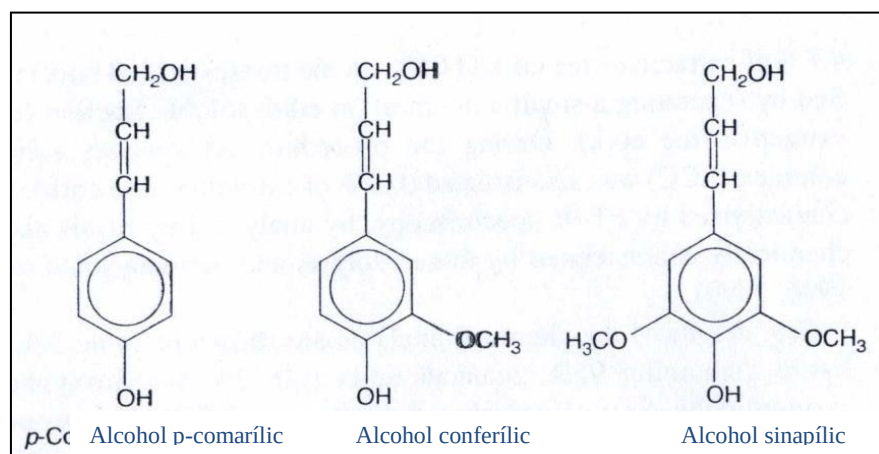


Figura 8: Estructura dels monòmers precursors de la síntesi enzimàtica de la lignina.

(Pereira, 2007)

1.1.4.3 *Polisacàrids.*

Els polisacàrids donen rigidesa estructural a les cel·les del suro i les prevenen del col·lapse. Els polisacàrids estructurals de les parets cel·lulars de les plantes són la cel·lulosa i la hemicel·lulosa. En el suro, la quantitat total de polisacàrids representa aproximadament el 20% de la seva composició, xifra molt inferior en front de la proporció de cel·lulosa i hemicel·lulosa present en de les parets cel·lulars de la fusta, la qual és del 70-80% del total dels components estructurals.

La cel·lulosa és el component principal de la fusta. Representa aproximadament la meitat de la matèria de la paret cel·lular i les seves propietats químiques i estructura supramolecular són les responsables de les propietats de la fusta. La cel·lulosa és un polímer lineal format per molècules de β -glucosa unides entre sí amb enllaços (1-4)-glicosídics.

La hemicel·lulosa és un polisacàrid format per una mescla de diferents sucres residuals, principalment xilosa, glucosa, galactosa i fructosa.

1.1.4.4 *Extractius.*

Els extractius representen una part molt petita de la composició del suro que ha de ser extreta mitjançant solvents extractius. Aquesta extracció té lloc utilitzant successivament solvents cada vegada més polars: diclorometà seguit d'etanol i finalment aigua.

Els extractius del suro es poden classificar en dos grups:

- Extractius alifàtics: triterpens, n-alcans, n-alcanols i àcids grassos. Poden ser extrets amb solvents de baixa polaritat (diclorometà).
- Extractius fenòlics: fenols, fenols polimèrics. Poden ser extrets amb solvents polars (etanol, aigua).

1.1.5 PROPIETATS DEL SURO.

1.1.5.1 *Propietats mecàniques.*

La flexibilitat del suro ve donada per tres mecanismes diferenciats:

- La torsió elàstica de les parets cel·lulars.
- La deformació progressiva de les parets cel·lulars.
- El xoc de les parets cel·lulars i complet col·lapse.

L'espessor de l'escorça del suro juga un paper molt important en les seves propietats mecàniques. Les escorces més fines presenten resistència i mòduls de Young superiors, probablement degut a la gran proporció de cel·les formades en l'última etapa que, en ser més gruixudes i presentar menys rugositats, ofereixen més resistència mecànica. Les diferències entre les dimensions de les cel·les i en el patró de rugositat expliquen que es detecti una resistència inferior i un mòdul més baix en suros de més calibre.

Les propietats de mecàniques del suro poden ser modificades mitjançant tractaments amb calor. Sotmetre el material a aire calent a 100-150°C durant un dia fa augmentar la seva resistència com a resultat de la pèrdua d'aigua; tractaments de més durada (1-14 dies) a aquesta temperatura o per sobre dels 200°C comporten una brusca disminució del mòdul de Young. Sotmetre el suro a tractaments amb aigua calenta (ebullició) ocasiona una reducció de la resistència, menys anisotropia, és a dir, menys diferències en les propietats segons la direcció (sobretot en la regió elàstica) i l'aparició d'un límit elàstic brusc durant la compressió en direcció radial.

1.1.5.2 Propietats físiques.

El suro té caràcter amfòter, és a dir, que pot actuar com a àcid o com a base, per la qual cosa pot reaccionar amb ambdós grups funcionals indistintament.

La seva baixa densitat, deguda a la gran quantitat de gas contingut en les seves cel·les, fa que no sigui un bon conductor de la calor.

Les propietats de fricció del suro depenen de l'adherència (en relació a l'àrea de contacte i el coeficient de fricció de les parets cel·les trencades) i de la deformació per torsió de les parets de les cel·les.

Taula 1: Propietats generals del suro (Silva et al, 2005)

Propietat	Valor
Coeficient de fricció	0,35 - 0,76 suro/gel
Densitat	120 - 240 Kg·m ⁻³
Conductivitat tèrmica	0,045 W·m ⁻¹ ·K ⁻¹
Resistivitat acústica	1,2x10 ⁵ Kg·m ⁻² ·s ⁻¹
Difusió tèrmica	1x10 ⁻⁶ m ² ·s ⁻¹
Coeficient de difusió de l'aigua	4x10 ⁻¹⁰ - 1x10 ⁻¹¹ m ² ·s ⁻¹

1.1.6 APLICACIONES DEL SURO.

1.1.6.1 *Taps de suro.*

Actualment els taps de suro són el tancament més afectiu per les ampolles de vi i cava. Protegeixen la qualitat del producte i permeten que el vi evolucioni i millori amb el pas del anys sense interaccionar amb contaminants. Els taps de suro són ideals per tapar ampolles gràcies a la seva impermeabilitat als líquids i gasos. Cap altre tap combina la naturalesa inerta, impermeabilitat, flexibilitat, hermeticitat i elasticitat que ofereix el suro.

Les alternatives als taps de suro són materials sintètics com els taps de rosca. Aquests taps són fàcils d'elaborar, econòmics i eviten la contaminació del vi deguda als components del suro, tanmateix, durant l'emmagatzematge, poden ser alliberats compostos provinents de la síntesi. Els taps de rosca són fàcils de treure i resulten útils quan els obridors no són convenients; tot i així, l'alumini no és un material inert i pot alliberar ions metàl·lics en el vi.

1.1.6.2 *Altres aplicacions.*

A més a més de les propietats que el converteixen en un material adequat per a la producció de taps, el suro posseeix altres propietats (físiques, químiques i mecàniques) que li ofereixen un elevat potencial per a ser utilitzat en noves aplicacions.

1.1.6.2.1 *Panells aïllants.*

Els panells aïllants tenen tres aplicacions fonamentals: aïllament tèrmic, absorció acústica i amortiguació de vibracions. Aquests panells són adequats per diversos usos en la construcció, com per exemple parets interiors o exteriors, edificis i sostres per tal proporcionar aïllament acústic i tèrmic.

1.1.6.2.2 Soles de calçat.

L'elevat coeficient de fricció (especialment en direcció tangencial) i la capacitat contra la humitat del suro, el converteixen en un material excel·lent per sabates.

1.1.6.2.3 Taulons d'anuncis.

L'ús dels taulers d'anuncis treu profit del plegament de les parets de les cel·les durant la compressió (tan sols és necessària una força molt petita per tal de perforar el material) i de la seva capacitat de recuperar-se totalment després d'extreure l'agulla.

1.1.6.2.4 Innovacions tecnològiques.

El suro ha estat escollit com a material per determinades aplicacions en la indústria aèria, militar i automobilística gràcies a les seves propietats tèrmiques, la seva baixa velocitat en cremar i la seva capacitat d'absorbir xocs.

1.1.7 Futures tendències.

Durant la producció dels taps de suro, es desaprofita una gran quantitat de material. Només el 30% de les planxes s'utilitza pels taps. Actualment, moltes companyies sureres consideren el residu del suro com una font d'energia. El seu baix cost i bon rendiment el converteixen en un material per formar complexos molt atractiu de cares a ser utilitzat com a biosorbent per extreure contaminants tals com metalls pesants i pesticides.

A dia d'avui les qualitats del suro com a biosorbent de contaminants orgànics han estat molt poc investigades: Domingues et al. (2005, 2007) va investigar l'afinitat del suro amb pesticides piretroides (cipermetrina i bifentrina) i Olivella et al. (2011^{a,b}) l'afinitat del suro amb contaminants orgànics policíclics. Malgrat tot, el coneixement científic dels efectes de la composició química del suro sobre la sorció dels contaminants orgànics és escàs i incomplet.

S'espera que en un futur la tècnica de sorció de contaminants a partir de sorbents d'origen natural es desenvolupi, ja que ofereix una elevada rentabilitat.

La legislació mediambiental cada vegada és més important i les solucions efectives escassegen.

1.2 PESTICIDES

1.2.1 Metamitron.(AgChemAccess)

El metamitron és un herbicida del grup de les triazinones utilitzat en el control de males herbes principalment en conreus de remolatxa i tomàquets.

S'aplica com a aerosol i és absorbit a través de la superfícies de les fulles i les arrels.

Pot ser utilitzat en estat pur o en combinació amb altres productes protectors de la remolatxa.

1.2.2 Alaclor. (EPA, desembre 1998)

L'alaclor és un herbicida utilitzat en el control de les males herbes en conreus principalment de blat, soja, melca, cacauets i mongetes. Està classificat com a substància prioritària en la Directiva Marc de les Aigües (WFD, 2000).

Es comercialitza en estat líquid, en microcàpsules, en forma granular o com a aerosol.

Els mètodes d'aplicació d'aquest pesticida són a través del sòl, per medi aeri o amb equips de quimigació (a través del reg). També pot ser mesclat amb grans masses de fertilitzant sec.

1.2.3 2,4-D. (EPA, juny 2005)

El 2,4-D és un herbicida de la família dels fenils o àcids fenil-acètics utilitzat principalment en el control de males herbes.

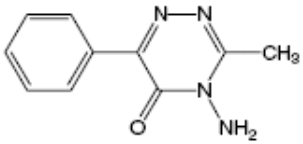
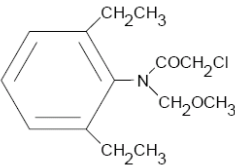
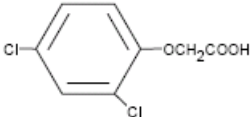
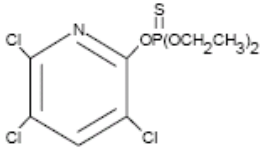
S'utilitza com a pesticida tant en àmbit agrícola (en un 66%) per exemple conreus, horts de fruites i verdures... com en aplicacions no agrícoles (en un 34%) per exemple en gespa, vies de pas, jardins, zones aquàtiques i forestals... També pot ser utilitzat com a regulador del creixement de plantes cítriques.

1.2.4 Clorpirifos. (EPA, febrer 2002)

El clorpirifos és un insecticida de la família dels organofosfats i un acaricida utilitzat en el control de plagues en sòls i fullatges en conreus alimentaris, entre ells el blat, que avarca aproximadament el 50% del mercat d'aquest pesticida. Està classificat com a substància prioritària en la Directiva Marc de les Aigües (WFD, 2000).

1.2.5 Propietats químiques dels pesticides.

Taula 2: Propietats químiques dels pesticides

PESTICIDA	<i>Metamitron</i> ^(a)	<i>Alaclor</i> ^(b)	<i>2,4-D</i> ^(b)	<i>Clorpirifos</i> ^(b)
Grup	Herbicida	Herbicida	Herbicida	Insecticida
nº registre CAS	41394-05-2	15972-60-8	94-75-7	2921-88-2
Fórmula molecular	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Massa molecular (g/mol)	202.2	269.77	221.04	350.6
Estructura química				
Solubilitat (g/m ³)	1700	240	400	0.73
logKow	0.83	2.80	2.81	4.92
pKa	—	0.62	2.64	—

(a) E. Barriuso, 2005

(b) Mackay, 2004

1.3 PRINCIPALS TÈCNIQUES D'ANÀLISI UTILITZADES.

1.3.1 Cromatografia líquida d'alt rendiment (HPLC: High Performance Liquid Chromatography)

1.3.1.1 *Fonaments teòrics.*

L'HPLC és una tècnica de separació que consisteix en la injecció d'un volum conegut de mostra líquida dins una columna plena de partícules (aquest replè s'anomena fase estacionària). Els components individuals presents en la mostra passen a través de la columna arrossegats per un líquid (fase mòbil) que és bombejat a la columna a elevada pressió. Els components de la mostra es retarden diferencialment depenent de les interaccions físiques i químiques que pateixen amb les partícules del replè a mesura que avancen per la columna. El temps que tarda cada compost a ser eluït de la columna s'anomena temps de retenció i es considera una propietat identificativa d'un compost en una determinada fase mòbil i estacionària.

A continuació, els components són detectats a la sortida de la columna per un detector que en mesura la quantitat. Els temps de separació i les quantitats presents es descriuen en el cromatograma.

1.3.1.2 *Aparell.*

HPLC Agilent 1200 series

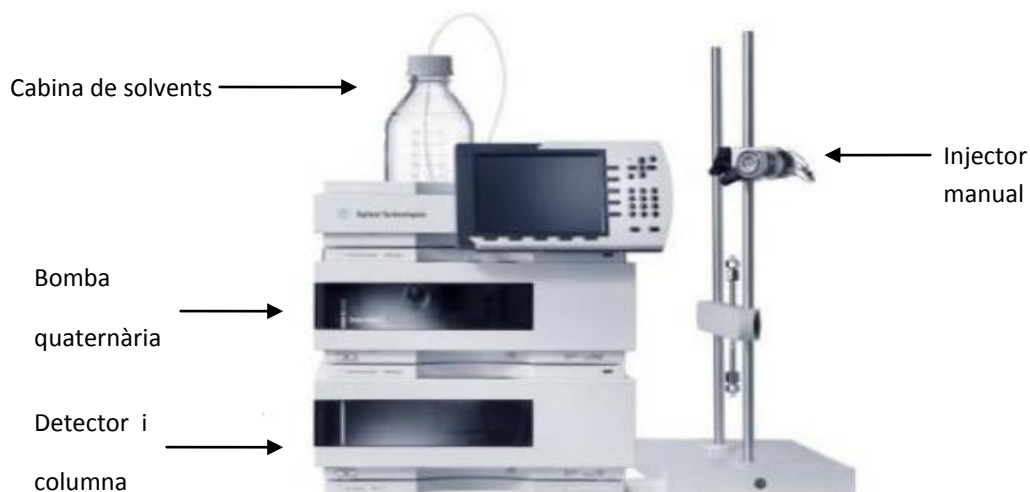


Figura 9: Aparell HPLC (Agilent technologies, 2012)

1.3.1.2.1 Cabina de solvents.

Zona on en troben les ampolles que contenen la fase mòbil, amb la opció de fer

servir fins a 4 solvents alhora per una anàlisi.

L'ampolla conté un dispositiu per on s'agafa el solvent, es filtra per tal d'evitar el malbaratament de la columna ocasionat per possibles partícules sòlides presents en el dissolvent i entra dins del mòdul del desgasificador.

La barreja del dissolvent es genera en la zona de baixa pressió per una vàlvula de repartició de velocitat.

1.3.1.2.2 Desgasificador de membrana de buit.

Prèviament a l'inici del procés, es duu a terme una desgasificació del sistema per tal d'evitar que la presència de bombolles gasoses malmetin la bomba d'alta pressió.

1.3.1.2.3 Bomba quaternària.

La bomba s'anomena quaternària ja que consta d'un gradient de quatre canals, amb una vàlvula de partició d'alta velocitat i un dispositiu de bomba.

La bomba d'alta pressió s'utilitza per tal de superar la resistència contra el flux continu de líquid en circular a través de la columna. La velocitat normal del flux en columnes HPLC és d'entre 1 i 2 ml/min i una bomba típica pot assolir una pressió de 400-600 bar.

Durant el procés, la bomba pot proporcionar un flux de fase mòbil de concentració constant (isocràtic) o de concentració gradualment superior (gradient).

1.3.1.2.4 Injector manual.

L'injector manual de l'HPLC no està dins del mòdul. És la part on s'injecten les mostres líquides. Està connectat a un "loop" de 20µL.

1.3.1.2.5 Columna.

El tipus de columna utilitzada és **ZORBAX Eclipse XDB-C18 de 4,6x150 nm**, amb un volum d'injector de 20µL i una velocitat lineal de 0,172 cm/s.

La columna està repleta de la fase estacionària, la missió de la qual és separar els diferents components de la mostra. Les minúscules partícules del replè són les responsables de l'elevada resistència que ofereix la columna a la velocitat normal del flux.

1.3.1.2.6 Detector.

En la part inferior de l'aparell hi ha situat el detector el qual consta d'una làmpada de UV-VIS de longitud d'ona de 190 a 600 nm.

El detector capta les molècules individuals que surten de la columna i a continuació proporciona un *output* a l'ordinador que dona com a resultat un cromatograma líquid.

1.3.1.2.7 Ordinador.

L'equip *HPLC Agilent 1200* controla els seu funcionament a través d'un ordinador amb el programa "*Agilent Technologies Chem Station*", i consta també d'una impressora per poder imprimir els cromatogrames juntament amb la informació de les anàlisis realitzades. El control de l'equip per establir condicions de treball, recollir les dades i processar-les es fa amb el programa. Únicament la part d'injecció de les mostres es fa manualment.

1.3.1.3 Avantatges de l'HPLC en front d'una columna normal de cromatografia.

- El replè de la columna es consumeix més lentament.
- La columna s'utilitza diverses vegades, per la qual cosa la tècnica resulta més rentable.
- L'eficiència de les columnes amb partícules més grans és superior i permet temps d'anàlisi més curts.

1.3.2 Cromatografia infraroja FTIR.

1.3.2.1 Fonaments teòrics.

Durant l'anàlisi per FTIR, la mostra és travessada per radiació IR, absorbint-ne part de la llum i transmetent-ne la resta. L'espectre resultant mostra aquesta absorció o transmissió per part de les molècules, plasman el que vindria a ser una empremta digital de la mostra.

L'espectre IR consisteix en una seqüència de pics que representen la quantitat de llum absorbida a diferents freqüències, corresponents a les freqüències de vibració entre es enllaços dels àtoms que componen la mostra.

L'espectroscòpia IR és una bona tècnica d'identificació molecular, ja que cada compost té la seva pròpia combinació atòmica i no hi ha dos compostos que emetin un espectre infraroig idèntic.

1.3.2.2 Aparell.

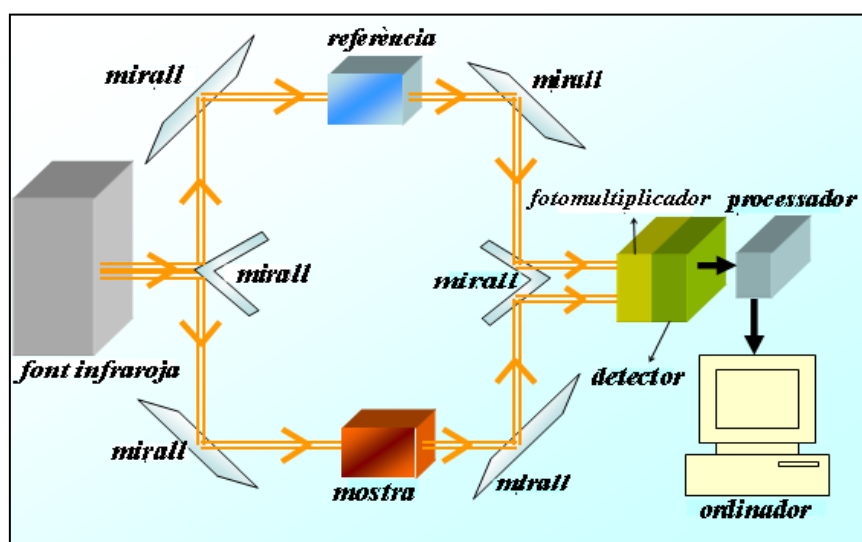


Figura 10: Esquema d'un espectròmetre IR.

[_experimentacio.liure.wordpress.com](http://experimentacio.liure.wordpress.com)

1.3.2.2.1 Font infraroja.

En la tècnica de FTIR la font lluminosa emet un raig que conté diverses freqüències de llum alhora. Aquest raig serà desviat per múltiples miralls a fi i efecte d'anar-ne variant l'espectre.

1.3.2.2.2 Mostra.

Quan el raig travessa la mostra, aquesta absorbeix l'energia a determinades freqüències de vibració, depenent dels enllaços atòmics que la caracteritzin.

1.3.2.2.3 Detector.

El raig de llum final, després d'haver travessat la mostra, és mesurat pel detector, el qual emetrà les senyals corresponents a l'ordinador.

1.3.2.2.4 Ordinador.

Totes les dades generades durant l'anàlisi són recollides per l'ordinador, el qual, mitjançant l'aplicació d'un algorisme matemàtic anomenat Transformada de Fourier, definirà quines absorcions hi ha hagut i a quines longituds d'ona han tingut lloc. El resultat final serà l'espectre d'infraroig.

1.3.2.3 *Avantatges de l'espectròmetre FTIR en front d'altres tècniques dispersives.*

- Totes les freqüències són mesurades simultàniament en un període de temps curt que va des de segons a pocs minuts.
- Els detectors són més sensibles i el rendiment òptic més elevat, per la qual cosa es genera menys soroll.
- Un làser orienta el mirall mòbil per tal d'obtenir la freqüència adequada.

2 REREFONS.

Els pesticides són compostos o barreja de compostos que s'apliquen sobre un terreny agrícola per tal de destruir els organismes que podrien afectar els productes alimentaris conreats.

Encara que els beneficis que s'obtenen amb el seu ús són nombrosos, els pesticides s'han creat per destruir algunes formes de vida i els efectes secundaris que poden provocar sobre el medi ambient i la salut humana són perillosos, fet que, en alguns casos, converteix en necessària la seva eliminació.

Un dels mètodes utilitzats per dur a terme aquesta eliminació és la sorció de contaminants sobre materials adsorbents.

Per tal de fer d'aquest mètode un procés sostenible cal investigar nous materials capaços de retenir els contaminants.

El suro és la part més externa de l'escorça de l'alzina surera: *Quercus Suber L.* És un material natural, renovable i biodegradable que s'extreu cada 5 - 10 anys. Està constituït per components estructurals i no estructurals. Els components estructurals consisteixen principalment en polímers hidrofòbics com la lignina (15-25%) i la suberina (35-50%) i en polisacàrids hidrofílics (10-20%). Els components no estructurals són els anomenats extractius (10-15%) que es classifiquen en extractius alifàtics i extractius fenòlics.

El seu ús principal és l'elaboració de taps per ampolles de vi i cava (aproximadament el 70% del mercat surer). Tanmateix, durant la seva producció es desaprofita una gran quantitat de material (només s'utilitza el 30% de les planxes), per aquest motiu, degut al seu baix cost i heterogènia composició s'ha convertit en un material per formar complexes molt atractiu de cares a ser utilitzat com a biosorbent per eliminar contaminants.

Tot i així, a dia d'avui s'han realitzat molt pocs estudis que investiguin les qualitats del suro com a biosorbent de contaminants orgànics: Domingues et al. (2005, 2007) va investigar l'afinitat del suro amb pesticides piretroides (cipermetrina i bifentrina) i Olivella et al. (2011^{a,b}) l'afinitat del suro amb contaminants orgànics policíclics.

Malgrat tot, el coneixement científic dels efectes de la composició química del suro sobre la sorció dels contaminants orgànics és escàs i incomplet. Val a dir que aquest estudi s'integrarà en una base de dades no existent fins el moment on hi ha incloses totes les característiques de les diferents parts anatòmiques del suro i la seva afinitat pels contaminants orgànics.

3 OBJECTIUS.

En aquest context, l'objecte principal d'aquest estudi és avaluar la capacitat del suro com a material adsorbent de quatre pesticides de diferent estructura química i hidrofobicitat (metamitron; alaclor; 2,4-D i clorpirifos) i investigar la influència dels components químics principals del suro en aquest procés de sorció.

Per tal d'assolir aquest objectiu es determinarà, en primer lloc, la concentració de treball de cada pesticida. A continuació es determinarà la proporció òptima de suro/solució duent a terme, per cada pesticida, assajos a diferents masses de sorbent i a diferents volums de solució. Seguidament es sotmetrà el suro a un procés d'extracció dels seus components químics principals amb diferents dissolvents per tal d'obtenir-ne cinc fraccions sòlides aïllades per part del suro: (1) suro lliure d'extractius alifàtics, (2) suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics, (3) suro lliure d'extractius totals, (4) suro lliure d'extractius i suberina i (5) la suberina que, posteriorment, es posaran en contacte amb cadascun dels quatre pesticides a fi i efecte d'observar les possibles variacions existents en el procés de sorció. En tots els assajos, les anàlisis de les concentracions dels pesticides en la fase aquosa es duran a terme per cromatografia HPLC. Per acabar, s'analitzaran per FTIR cadascuna de les fraccions sòlides (abans i després de la sorció) per tal de determinar els grups funcionals que intervenen en la sorció de cada pesticida.

4 PART EXPERIMENTAL.

4.1 METODOLOGIA.

4.1.1 Aïllament dels extractius del suro.

4.1.1.1 Objectiu.

Extreure els compostos de baix pes molecular que no formen part pròpiament de l'estructura macromolecular del suro mitjançant dissolvents de polaritat creixent, per tal d'obtenir diferents fraccions sòlides de *Quercus Suber* lliures d'extractius.

4.1.1.2 Resum.

Els components extractius que conté el suro es classifiquen en dos grups:

- Extractius alifàtics: són extractius de caràcter apolar (alcans, alcanols i àcids grassos). La seva solubilització es duu a terme a mitjançant dissolvents de baixa polaritat; en aquest cas diclorometà.
- Extractius fenòlics: són extractius de caràcter apolar (fenols, àcids benzoics, àcids cinàmics i tanins). La seva solubilització es duu a terme amb dissolvents polars i té lloc en dues etapes: una primera amb etanol i una segona amb aigua.

Durant el procés el suro està sotmès a tres extraccions diferenciades: una primera amb diclorometà (en la qual s'extreuen els extractius alifàtics), una segona amb etanol (en la qual s'extreuen els extractius fenòlics) i una última amb aigua (per tal d'eliminar els extractius fenòlics residuals de caràcter més polar)

4.1.1.3 *Material.*

- Didal “thimble”.
- Sistema d’extracció Soxhlet:
 - Baló de 500 mL
 - Tub d’extracció (diàmetre intern 30 – 40 mm)
 - Condensador
 - Sifó de capacitat 100 mL
- Filtres de fibra de vidre.
- Manta calefactora.
- Placa calefactora i agitadora.
- Estufa i dessecador.

4.1.1.4 *Mostra*

Suro: CAT-1 (esquena i ventre) 0,5 – 0,7 mm de mida de partícula

4.1.1.5 *Reactius.*

- Diclormetà 98% (Peb = 40°C)
- Etanol 99,8% (Peb = 78,45°C)
- Aigua mili-Q

4.1.1.6 *Procediment.*

El procés fou dut a terme segons el procediment estàndard “Preparació de la mostra per a l’anàlisi química lliure d’extractius” (**Annex 1**).

En primer lloc es pesen 7g de mostra de *Quercus Suber* i es posen dins el didal “thimble”. Per tal d’evitar la pèrdua de mostra durant l’extracció, es tapa el didal amb filtres de fibra de vidre.

La **primera extracció** té lloc introduint 300mL de diclorometà (35 mL dissolvent/g de mostra) en el baló amb trossos de porcellana porosa a dins i adaptant-lo al Soxhlet tal com s’indica en la **Figura 11**. Un cop finalitzat el muntatge sota la campana, es posa en marxa el sistema de circulació d’aigua refrigerant i s’engega la manta calefactora posicionada en el nivell 8.

Es deixa el sistema en funcionament durant 6 hores per tal que tinguin lloc les 24 extraccions que són necessàries per eliminar tots els extractius alifàtics de la mostra (4 extraccions/hora).

Un cop finalitzada l’extracció, es para l’equip, es treu el didal i es deixa refredar el sistema durant tota la nit.

Abans de continuar amb la segona extracció, es pren una mostra de 2 g de suro sense extractius alifàtics, es neteja amb aigua i es posa a assecar dins l’estufa a 80°C fins a assolir un pes constant. S’etiqueta la mostra sota el nom de “ALIF” i es guarda en el dessecador per al seu posterior ús.

La mostra restant es sotmet a la **segona extracció**. Aquesta té lloc de forma anàloga a la primera però utilitzant etanol com a dissolvent. L’etanol té un punt d’evaporació superior al diclorometà, per aquest motiu el procés es duu a terme posicionant la manta calefactora al nivell 10 i deixant-lo en funcionament durant 8 hores.

Nota: el temps d’extracció es comença a contar a partir del primer cicle de dissolvent

Un cop finalitzada, es pren una mostra de 1 g de suro sense extractius fenòlics, es neteja amb aigua i es posa a assecar a 80°C fins a assolir un pes constant. S'etiqueta la mostra sota el nom de "FEN" i es guarda en el dessecador per al seu posterior ús.

Per tal de prosseguir amb la **tercera extracció**, s'introdueix la mostra restant dins un erlenmeier de 500 mL amb trossos de porcellana porosa i una mosca en el seu interior i s'omple d'aigua mili-Q. Es col·loca el recipient en la placa calefactora i agitadora a nivell 5 i es duu a ebullició durant 12 hores, afegint-hi aigua de forma periòdica per tal d'evitar que aquesta s'evapori completament.

Un cop finalitzada l'última extracció es filtra la mescla, es neteja el sòlid amb aigua i es posa a assecar a 80°C fins a assolir un pes constant. S'etiqueta la mostra sota el nom de "EXT" i es guarda en el dessecador per al seu posterior ús.

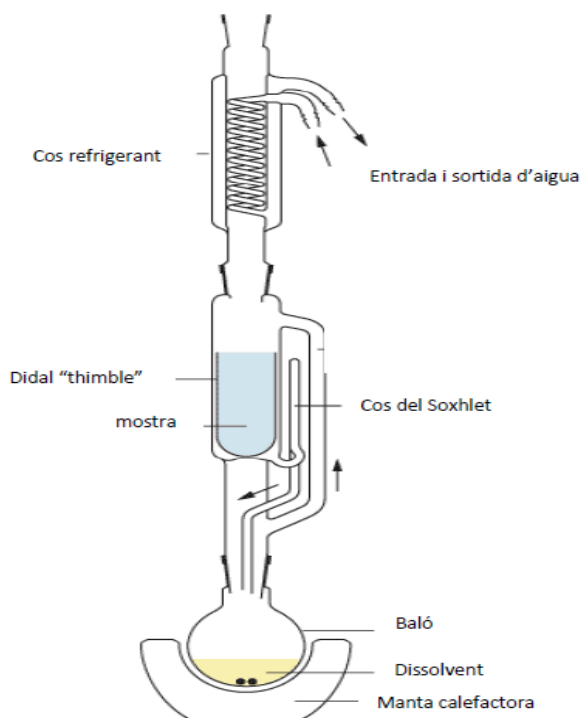


Figura 11: Sistema d'extracció Soxhlet

(chemie.unibas.com)

4.1.2 Aïllament de la suberina.

4.1.2.1 Objectiu.

Extreure la suberina de la mostra de suro lliure d'extractius i obtenir així dos sòlids diferenciats:

- Suberina sòlida
- Suro lliure d'extractius i suberina (suro desuberitzat).

4.1.2.2 Resum.

La suberina com a tal és un polímer insoluble en qualsevol dissolvent, però pot ser des-reticulada mitjançant processos químics. Els dos mètodes més utilitzats (Pinto et al., 2009) per aïllar la suberina són la *metanòlisi*, que consisteix en esterificar els àcids de la suberina quedant modificada la seva estructura, i la *hidròlisi alcalina* que manté els grups àcids com a tals i preserva els grups epòxid, mantenint, per tant, la seva estructura més intacte.

En aquest treball s'ha dut a terme l'aïllament de la suberina per hidròlisi alcalina descrita per Ekman i Eckerman, 1985.

4.1.2.3 Material.

- pH-metre (Crison, basic 20)
- Reflux
 - Baló de 500 mL
 - Tub de reflux
 - Refrigerador
 - Termòmetre
- Manta calefactora.
- Estufa.

- Dessecador.
- Embut decantador.
- Evaporador rotatori.

4.1.2.4 *Mostra.*

Suro: CAT-1 (esquena i ventre) 0,5 – 0,7 mm de mida de partícula.

4.1.2.5 *Reactius.*

- KOH 0,5M dissolt en etanol:aigua (9:1)
- Àcid sulfúric diluït 0,1M
- Metil-t-butil èter

4.1.2.6 *Procediment.*

El procés fou dut a terme segons el procediment estàndard “Isolació de la suberina” (**Annex 2**).

En primer lloc es pesen 1,5 g de la mostra “EXT” (mostra de suro lliure d’extractius), s’introdueixen en el baló amb trossos de porcellana porosa a dins i s’hi afegeixen 250 mL de la solució d’hidròxid de potassi 0,5M. S’adapta el recipient a la columna de reflux tal com s’indica en la **Figura 12(A)**.

Un cop finalitzat el muntatge sota la campana, es posa en marxa el sistema de circulació d’aigua refrigerant i s’enrega la manta calefactora fins que s’assoleixi una temperatura de 70°C. A partir d’aquest moment, i controlant que la temperatura es mantingui constant, es deixa el sistema en funcionament durant 2 hores. Passat aquest temps, es para el sistema i quan s’hagi refredat a temperatura ambient es filtra la mescla.

La fracció sòlida és una mostra de suro desuberitzada que es posa a assecar a 60°C fins a assolir un pes constant. S'etiqueta la mostra sota el nom de “DESUB” i es guarda en el dessecador per al seu posterior ús.

El líquid residual conté els monòmers de suberina extrets del suro.

Per tal de fer precipitar la suberina, s'acidifica el líquid amb àcid sulfúric diluït assegurant-ne una completa agitació i controlant el pH fins a assolir-ne un valor de 3 – 3,5.

Per acabar d'obtenir la suberina pura, es realitzen tres neteges consecutives en un embut decantador utilitzant metil-t-butil èter com a dissolvent. La fracció viscosa, que conté els monòmers de suberina, s'introdueix en un baló de 250 mL i, mitjançant un evaporador rotatori (**Figura 12(B)**), s'eliminen les restes de dissolvent donant com a producte la suberina en estat sòlid que s'etiqueta sota el nom de “SUB” i es guarda en el dessecador per al seu posterior ús.

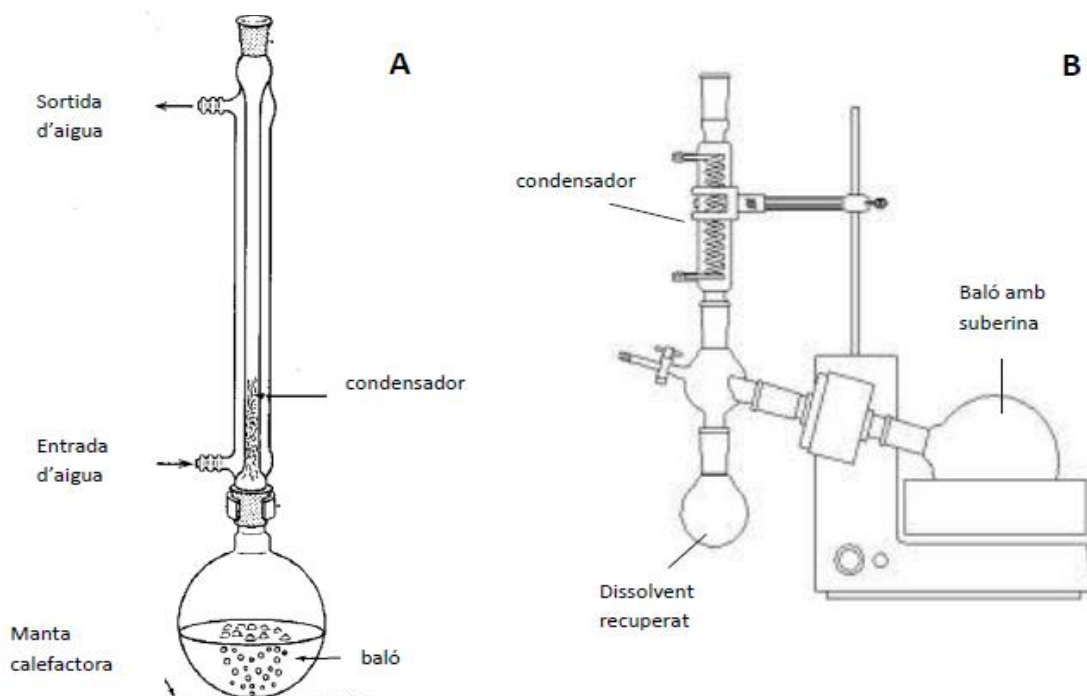


Figura 12: (A) Reflux [\[what-when-how.com\]](http://what-when-how.com) ; (B) Evaporador rotatori [\[faidherbe.org, 2012\]](http://faidherbe.org)

4.1.3 Caracterització del suro i les seves fraccions.

4.1.3.1 *Objectius.*

Determinar l'índex de polaritat suro i de cadascuna de les seves fraccions coneixent-ne la seva composició (N, C, H) per anàlisi elemental orgànica.

Determinar els monòmers principals que formen la suberina per piròlisi en presència d'hidròxid de tetra-metil-amoni (TMAH) .

Identificar els grups funcionals del suro i de cadascuna de les seves fraccions mitjançant l'obtenció dels seus espectres d'infraroig per FTIR.

4.1.3.2 *Resum.*

La capacitat de sorció (K_{oc}) d'un pesticida orgànic hidrofòbic està inversament relacionada amb la polaritat del sòlid utilitzat com a sorbent (Wang and Xing, 2007). D'aquesta manera si l'índex de polaritat $\left(\frac{O+N}{C}\right)$ del sòlid és elevat, aquest presenta una capacitat per adsorbir pesticides hidrofòbics de caràcter aromàtic baixa.

L'anàlisi per piròlisi en presència de TMAH de la suberina consisteix en metilar els seus grups funcionals per tal de poder ser detectats i identificats posteriorment per cromatografia de gasos/espectroscòpia de masses.

La tècnica FTIR és utilitzada per identificar els principals grups funcionals del suro i de cadascuna de les seves fraccions així com les possibles diferències existents entre els espectres de cada mostra.

4.1.3.3 *Mostres.*

- Suro: CAT-1 (esquena i ventre) 0,5 – 0,7 mm de mida de partícula.
- Suro lliure d'extractius alifàtics. ("ALIF")
- Suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics. ("FEN")
- Suro lliure de tots els extractius. ("EXT")
- Suberina. ("SUB")

4.1.3.4 *Anàlisi elemental orgànica.*

Es van enviar mostres de suro i de cadascuna de les seves fraccions als Serveis Tècnics de Recerca per tal que en realitzessin l'anàlisi elemental orgànica i obtenir-ne un informe amb el contingut de carboni, nitrogen i hidrogen de cada mostra.

4.1.3.5 *Piròlisi de la suberina en presència de TMAH.*

Es va enviar una mostra de suberina al "Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla – Consejo Superior de Investigaciones Científicas" (IRNAS – CSIC) per tal que n'identifiquessin els monòmers principals que la componen.

Aquesta anàlisi fou duta a terme mesclant aproximadament 1,0mg de mostra amb aproximadament 5µL de TMAH (25% p/v en metanol) i escalfant la mescla en un forn pirolític fins a 500°C. (Olivella and del Rio, 2011) Un cabal d'heli arrossega la mostra gasosa amb els seus grups ja metilats fins a l'aparell de cromatografia de gasos seguit d'un espectròmetre de masses.

4.1.3.6 *Anàlisi espectroscòpica.*

4.1.3.6.1 Materials i equips.

- Làmpada de llum vermella.
- Morter.
- Balança analítica (A&D instruments, sèrie HM).
- Disc d'acer.
- Pistó.
- Motlle.
- Aparell de pressió (Speac).
- Anell de metacrilat.
- Placa per la pastilla.
- Espectròmetre (Galaxy 5000 FTIR spectrometer (Mattson Instrument Co., Madison WI))

4.1.3.6.2 Procediment.

Les anàlisis per FTIR de les mostres foren dutes a terme segons els protocols “Elaboració de la pastilla de bromur de potassi” (**Annex 3**) i “Anàlisi per FTIR” (**Annex 4**)

En primer lloc s’elabora la pastilla de bromur de potassi a partir de 2 mg de mostra a analitzar i 200 mg de KBr. A continuació s’introdueix la pastilla en l’espectrofotòmetre i s’inicia l’anàlisi.

Els espectres es mesuren en un rang de longitud d’ona entre 3500 i 400 cm^{-1} amb l’addició de 32 scans i amb una resolució de 2 cm^{-1} .

Els espectres es guarden per duplicat en format “.RAS” i en format “.TBL”.

4.1.4 Estudi previ dels pesticides per HPLC.

4.1.4.1 *Objectius.*

Identificar la senyal cromatogràfica característica de cada pesticida, així com comprovar la linealitat que segueix l'àrea d'aquesta en funció de la concentració.

Determinar la concentració de treball del pesticida pels posteriors assajos.

4.1.4.2 *Resum.*

La tècnica cromatogràfica HPLC és utilitzada per quantificar la quantitat de pesticida present en la fase líquida analitzada.

Durant l'anàlisi, el líquid injectat és arrossegat per la fase mòbil a través de la columna de l'aparell. El pesticida interacciona amb els components químics de la columna al llarg del seu recorregut i, depenent d'aquestes interaccions, tarda més o menys temps en sortir-ne fora i ser detectat. L'aparell dona com informe un cromatograma on s'especifica el temps de detecció del pesticida i la intensitat de la senyal d'aquesta detecció.

4.1.4.3 *Equips.*

HPLC AGILENT 1200 series amb una columna ZORBAX Eclipse XDB-C18 de 4,6x150 nm, amb un volum d'injector de 20µL i una velocitat lineal de 0,172 cm/s.

4.1.4.4 *Reactius*

4.1.4.4.1 Soluts.

- Metamitron (*Sigma-Aldrich*)
- Alaclor (*Sigma-Aldrich*)
- 2,4 - D (*Sigma-Aldrich*)
- Clorpirifos (*Sigma-Aldrich*)

4.1.4.4.2 Dissolvents.

- Acetonitril
- Aigua mili-Q
- Acetat d'amoni
- Àcid fosfòric

4.1.4.5 *Procediment.*

Es preparen, per a cada pesticida, dues dilucions a partir d'una solució patró inicial les característiques de les quals s'especifiquen en la **Taula 3**.

S'analitzen les dissolucions per HPLC seguint les pautes especificades en el procediment estàndard "Determinació de pesticides mitjançant la tècnica HPLC". (**Annex 5**)

En la **Taula 4** es mostren les condicions d'anàlisi per HPLC de cada pesticida.

Taula 3: Característiques de les dissolucions de pesticida pel seu estudi previ per HPLC.

Solut	Metamitron (Sigma-Aldrich)	Alaclor (Sigma-Aldrich)	2,4 - D (Sigma-Aldrich)	Clorpirifos (Sigma-Aldrich)
Dissolvent	30% acetonitril 70% aigua + 1mmol CH ₃ COONH ₄	90% acetonitril 10% aigua	50% acetonitril 50% aigua (0,1% H ₃ PO ₄)	80% acetonitril 20% aigua
Concentració patró	10 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL
Dilucions	1:5	1:2	1:5	1:5

Taula 4: Condicions d'anàlisi per HPLC

PESTICIDA	<i>Metamitron</i>	<i>Alaclor</i>			<i>2,4 - D</i>	<i>Clorpirifos</i>
F. mòbil	30% ACN 70% aigua + 1 mmol acetat d'amoni	Gradient:			50% ACN 50% Aigua + 0.1% àc. Fosfòric	80% ACN 20% Aigua
			ACN	Aigua		
		5 min:	50%	50%		
		15min:	90%	10%		
		25min:	STOP			
flux	1 mL/min	1 mL/min			1 mL/min	1 mL/min
Long. d'ona	225 nm	225 nm			225 nm	225 nm

4.1.5 Assajos de sorció.

4.1.5.1 *Determinació del rati òptim sorbent/solució*

4.1.5.1.1 Objectiu.

Determinar la proporció entre la massa de sorbent i el volum de solució a utilitzar per tal d'obtenir uns resultats òptims en el procés de sorció.

4.1.5.1.2 Resum.

Es realitzen dos tipus d'assajos: **1)** assajos a volum constant de solució i diferents masses de sorbent i **2)** assajos a massa de sorbent constant modificant el volum de solució per tal d'observar la influència d'aquests dos factors en l'eficiència del procés de sorció.

En ambdós assajos, es realitzen com a mínim dues rèpliques de cada mostra per tal d'assegurar la reproductibilitat dels resultats i verificar-ne la repetibilitat. Els resultats que es reflecteixen en el treball per a cada pesticida són el resultat de la mitjana aritmètica de les rèpliques realitzades.

Els líquids residuals després de l'adsorció són analitzats amb caràcter posterior mitjançant cromatografia HPLC per tal de poder quantificar l'eficiència del suro a l'hora d'adsorbir cada pesticida.

El pH de la dissolució té una enorme influència sobre les propietats tant del sorbent com del pesticida (Sheng, 2004) Per aquest motiu, es mesuraran també els pH's de les fases líquides abans i després del procés de sorció per tal de justificar els resultats obtinguts.

4.1.5.1.3 Efecte de la massa en el procés de sorció.

Els assajos foren duts a terme de forma anàloga per a cada pesticida.

4.1.5.1.3.1 Material.

- Agitador rotatori (Stuart scientific, STR4)
- Placa agitadora
- pH-metre (Crison, basic 20)

4.1.5.1.3.2 Mostra.

Suro: CAT-1 (esquena i ventre) 0,5 – 0,7 mm de mida de partícula

4.1.5.1.3.3 Reactius/dissolucions.

Taula 5: Característiques de les solucions patró dels pesticides en els assajos de sorció per a l'efecte de la massa.

Solut	Dissolvent	Concentració
Metamitron (<i>Sigma-Aldrich</i>)	30% acetonitril 70% aigua + 1mmol CH ₃ COONH ₄	2 µg/mL
Alaclor (<i>Sigma-Aldrich</i>)	90% acetonitril 10% aigua	5 µg/mL
2,4 - D (<i>Sigma-Aldrich</i>)	50% acetonitril 50% aigua (0,1% H ₃ PO ₄)	2 µg/mL
Clorpirifos (<i>Sigma-Aldrich</i>)	80% acetonitril 20% aigua	2 µg/mL

4.1.5.1.3.4 *Procediment.*

Per cada rèplica realitzada, es pesen en tres tubs roscats, 1, 2 i 5 mg de suro respectivament i en dos erlenmeyers, 10 i 40 mg de suro.

S'afegeixen 20mL de dissolució de pesticida a cada tub en la proporció que s'indica a la **Taula 5** i 42mL als erlenmeyers, es tapa i es sotmet a agitació: els tubs en un agitador rotatori i els erlenmeyers en la placa agitadora a 400rpm i 20°C. (Es realitzen dues rèpliques per a cada pesticida)

Passades 72 hores es separen les fases per filtració, s'analitzen els pHs i es guarden les fases líquides a la nevera per ser analitzades posteriorment per HPLC.

4.1.5.1.4 *Efecte del volum en el procés de sorció.*

4.1.5.1.4.1 *Material.*

- Agitador rotatori (Stuart scientific, STR4)
- pH-metre (Crison, basic 20)

4.1.5.1.4.2 *Mostra.*

Suro: CAT-1 (esquena i ventre) 0,5 – 0,7 mm de mida de partícula.

4.1.5.1.4.3 Reactius/dissolucions.

Taula 6: Característiques de les solucions patró dels pesticides en els assajos de sorció per a l'efecte del volum.

Solut	Dissolvent	Concentració
Metamitron (<i>Sigma-Aldrich</i>)	30% acetonitril 70% aigua + 1mmol CH ₃ COONH ₄	200 µg/mL
Alaclor (<i>Sigma-Aldrich</i>)	90% acetonitril 10% aigua	500 µg/mL
2,4 - D (<i>Sigma-Aldrich</i>)	50% acetonitril 50% aigua (0,1% H ₃ PO ₄)	200 µg/mL
Clorpirifos (<i>Sigma-Aldrich</i>)	80% acetonitril 20% aigua	200 µg/mL

Taula 7: Característiques de les dissolucions de pesticides sotmeses a sorció per a l'efecte del volum.

Solut	Dissolvent	Concentració
Metamitron (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,3% acetonitril 0,7% aigua + 1mmol CH ₃ COONH ₄ Aigua	2 µg/mL
Alaclor (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,9% acetonitril Aigua	5 µg/mL
2,4 - D (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,5% acetonitril 0,5% aigua (0,1% H ₃ PO ₄) Aigua	2 µg/mL
Clorpirifos (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,9% acetonitril Aigua	2 µg/mL

4.1.5.1.4.4 *Procediment.*

Aquest assaig es realitza a partir de dissolucions a l' 1% v/v de solució patró (**Taula 6**) de pesticida en aigua. D'aquesta manera obtenim una solució aquosa amb una concentració de pesticida anàloga a l'assaig anterior i amb un contingut inferior a l'1% de dissolvent la qual s'aproxima, de forma més fidedigna, a les condicions d'una aigua contaminada que podria ser trobada en el medi natural.

Les característiques de les dissolucions resultants que seran sotmeses a sorció es mostren en la **Taula 7**.

Nota: Les dissolucions d'alaclor i de metamitron foren preparades amb caràcter previ a ser posades en contacte amb el sorbent, pel contrari i degut a la seva elevada hidrofobicitat, les dissolucions aquoses de clorpirifos i de 2,4-D hagueren de ser preparades "in situ" dins els tubs d'assaig.

Per cada rèplica realitzada, el procés de sorció té lloc pesant en tres tubs roscats 5 mg de suro i afegint-hi respectivament 5, 10 i 20 mL de la solució aquosa. Es tapa i es sotmeten a agitació en un agitador rotatori a 40rpm i 20°C. (Es realitzen dues rèpliques per a cada pesticida)

Passades 72 hores es separen les fases per filtració, s'analitzen els pHs i es guarden les fases líquides a la nevera per ser analitzades posteriorment per HPLC.

4.1.5.2 *Estudi de la influència dels components químics del suro en el procés de sorció.*

4.1.5.2.1 Objectiu.

Determinar la rellevància dels diferents components químics del suro en l'adsorció de cada pesticida.

4.1.5.2.2 Resum.

Es posen en contacte dissolucions aquoses de cada pesticida amb les diferents fraccions del suro obtingudes en el procés d'isolació (*suro, suro lliure d'extractius alifàtics, suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics, suro lliure d'extractius, suro lliure d'extractius i de suberina, suberina*) per tal d'observar les possibles variacions existents en la sorció a partir de posteriors anàlisis tan de la fase líquida residual per cromatografia HPLC, com del residu sòlid per espectroscòpia FTIR.

Es realitzen com a mínim dues rèpliques de cada mostra per tal d'assegurar la reproductibilitat dels resultats i verificar-ne la repetibilitat. Els resultats que es reflecteixen en el treball per a cada pesticida són el resultat de la mitjana aritmètica de les rèpliques realitzades.

Degut a la elevada hidrofobicitat del clorpirifos ($\log k_{ow} = 4.92$) i a la seva conseqüent tendència a repel·lir l'aigua, aquest pesticida és tractat de manera diferent als altres tres.

4.1.5.2.3 Material.

- Agitador rotatori (Stuart scientific, STR4)
- pH-metre (Crison, basic 20)

4.1.5.2.4 Mostra.

- Suro: CAT-1 (esquena i ventre) 0,5 – 0,7 mm de mida de partícula.
- Suro (CAT -1) lliure d'extractius alifàtics. ("ALIF")
- Suro (CAT -1) lliure d'extractius alifàtics i fenòlics. ("FEN")
- Suro (CAT -1) lliure de tots els extractius. ("EXT")
- Suro (CAT-1) lliure d'extractius i de suberina ("DESUB")
- Suberina (CAT -1). ("SUB")
- Suro: EXT-6 (ventre) 0,425 mm de mida de partícula.
- Suro (EXT-6) lliure de tots els extractius. ("EXT-ext")
- Suro (EXT-6) lliure d'extractius i de suberina ("DESUB-ext")
- Suberina (EXT-6) ("SUB-ext")

4.1.5.2.5 Reactius/dissolucions.

Taula 8: Característiques de les dissolucions de pesticides sotmeses a sorció en els assajos amb les fraccions de suro.

Solut	Dissolvent	Concentració
Metamitron (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,3% acetonitril	2 µg/mL
	0,7% aigua + 1mmol CH ₃ COONH ₄	
	Aigua	
Alaclor (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,9% acetonitril	5 µg/mL
	Aigua	
2,4 - D (<i>Sigma-Aldrich</i>)	0,5% acetonitril	2 µg/mL
	0,5% aigua (0,1% H ₃ PO ₄)	
	Aigua	
Clorpirifos (<i>Sigma-Aldrich</i>)	16% acetonitril	40 µg/mL
	Aigua	

4.1.5.2.6 Procediment.

Les dissolucions de **metamitron**, **alaclor** i **2,4-D** emprades en aquest assaig foren preparades a partir d'un 1% v/v en aigua de les solucions patró de la **Taula 6**, de manera anàloga a com s'especifica en el procediment de l'assaig 4.1.3.1.4. *Efecte del volum en el procés de sorció*

La dissolució de **clorpirifos**, degut a la seva elevada hidrofobicitat, ($\log k_{ow}=4.92$), fou preparada a partir d'un 20% de la seva corresponent solució patró (**Taula 6**). D'aquesta manera s'aconsegueix disminuir la polaritat de la solució final augmentant la concentració d'acetonitril fins a un 16% a fi i efecte d'afavorir que el pesticida romanguí en la solució i evitar-ne nombroses pèrdues en les parets de vidre dels tubs d'assaig.

Les característiques de les solucions resultants que seran dutes a sorció es mostren en la **Taula 8**.

El procés de sorció té lloc posant en contacte, en tubs roscats diferents, cadascuna de les sis fraccions obtingudes del suro CAT-1 amb les dissolucions de metamitron, alaclor i 2,4-D, i les quatre fraccions disponibles de suro EXT-6 amb la dissolució de clorpirifos, cadascuna d'elles en la proporció determinada en l'assaig 4.1.3.1 *Determinació del rati òptim sorbent/solució*, respectivament. Es tapa i es sotmet a agitació en un agitador rotatori a 40 rpm i 20°C. (Es realitzen dues rèpliques per cada pesticida)

Les mostres de **metamitron**, **alaclor** i **2,4-D** són enretirades passades 72 hores des de l'inici de l'agitació. Es separen les fases per filtració i s'analitzen els pHs. Les fases líquides es guarden a la nevera per a ser analitzades posteriorment per HPLC i les fases sòlides es posen a assecar a l'estufa a 60°C fins a assolir un pes constant i es guarden en el dessecador per a ser analitzades posteriorment per FTIR.

En el cas del **clorpirifos**, dues hores en agitació és suficient perquè tingui lloc la màxima adsorció. La fase líquida és analitzada per HPLC immediatament després d'enretirar el tub de

l'agitador (sense ser prèviament filtrada per tal de no perdre traces de pesticida que puguin quedar adherides en les parets dels diferents recipients utilitzats). A continuació, es filtren les fases, es posen a assecar les fraccions sòlides a 60°C fins a assolir un pes constant i es guarden en el dessecador per a ser analitzades posteriorment per FTIR.

4.1.6 Anàlisis cromatogràfiques per HPLC de les fases líquides obtingudes en els assajos de sorció.

4.1.6.1 *Objectiu.*

Determinar la quantitat de pesticida que ha estat adsorbida per cada fracció de suro sotmesa a sorció.

4.1.6.2 *Resum.*

La tècnica cromatogràfica HPLC és utilitzada per quantificar la quantitat de pesticida present en la fase líquida residual després d'haver estat en contacte amb les fraccions de suro.

La quantitat adsorbida per la fracció sòlida es calcula per diferència entre la quantitat total i la detectada per HPLC en la fase líquida.

Per tal de poder quantificar la concentració de pesticida en la fase líquida, és necessari haver efectuat amb caràcter previ una corba de calibració, a partir de patrons, que cobreixi el rang de concentracions esperades.

4.1.6.3 *Equips.*

HPLC AGILENT 1200 series amb una columna ZORBAX Eclipse XDB-C18 de 4,6x150 mm, amb un volum d'injector de 20µL i una velocitat lineal de 0,172 cm/s.

4.1.6.4 *Reactius*

4.1.6.4.1 Soluts.

- Metamitron (*Sigma-Aldrich*)
- Alaclor (*Sigma-Aldrich*)
- 2,4 - D (*Sigma-Aldrich*)
- Clorpirifos (*Sigma-Aldrich*)

4.1.6.4.2 Dissolvents.

- Acetonitril
- Aigua mili-Q
- Acetat d'amoni
- Àcid fosfòric

4.1.6.4.3 Mostres.

Fases líquides resultants dels assajos de sorció.

4.1.6.5 *Procediment.*

Es preparen, per a cada pesticida, i en funció de les concentracions esperades en cada cas, les solucions patró que seran injectades per obtenir la recta de calibració adient.

Per tal de realitzar les mesures per HPLC de les mostres líquides residuals obtingudes durant els assajos de sorció, es segueixen les pautes determinades en el procediment estàndard “Determinació de pesticides per HPLC-UV” (**Annex 5**)

El **2,4-D** és un pesticida de caràcter iònic ($pK_a = 2.64$). La solubilitat en aigua d’aquest pesticida varia segons el pH, per aquest motiu, abans de ser analitzades per HPLC, les mostres resultants dels assajos de sorció amb el 2,4-D de pH superior a 2.64 caldran ser acidificades addicionant un 0.1% d’àcid fosfòric per tal d’homogeneïtzar la solució.

El **clorpirifos** és un pesticida d’elevada hidrofobicitat ($\log k_{ow} = 4.92$). En solució aquosa tendeix a repel·lir l’aigua i aferrar-se a les parets de vidre del recipient que el conté. Per aquest motiu, un cop analitzada la fase líquida residual després de la sorció, es realitzaran successives neteges del recipient amb 15 mL d’acetonitril per tal de dissoldre les restes de pesticida adherides a les parets. Les mostres de dissolvent seran també analitzades després de cada neteja per tal de quantificar la quantitat de pesticida dissolta en cadascuna.

Les condicions d’anàlisi per HPLC de cada pesticida són les indicades en la **Taula 4**.

4.1.7 Anàlisis espectroscòpiques per FTIR de les fases sòlides obtingudes després dels assajos de sorció.

4.1.7.1 *Objectiu.*

Determinar els grups funcionals que intervenen en la sorció de cada pesticida.

4.1.7.2 *Resum.*

La tècnica FTIR és utilitzada per observar els canvis en la freqüència de vibració dels enllaços dels àtoms que componen les mostres sòlides de sorbent analitzades com a conseqüència de l'adsorció dels pesticides.

4.1.7.3 *Materials i equips.*

- Làmpada de llum vermella.
- Morter.
- Balança analítica (A&D instruments, sèrie HM).
- Disc d'acer.
- Pistó.
- Motlle.
- Aparell de pressió (Speac).
- Anell de metacrilat.
- Placa per la pastilla.
- Espectròmetre (Galaxy 5000 FTIR spectrometer (Mattson Instrument Co., Madison WI))

4.1.7.4 *Mostres.*

- Fases sòlides obtingudes després dels assajos de sorció.

4.1.7.5 *Reactius.*

- Bromur de potassi (FT-IR grade, Acros Organics)

4.1.7.6 *Procediment.*

Les anàlisi per FTIR de les mostres sòlides han estat dutes a terme segons els protocols “Elaboració de la pastilla de bromur de potassi” (**Annex 3**) i “Anàlisi per FTIR” (**Annex 4**)

Nota: Només han estat analitzades aquelles mostres que, en els assajos de sorció, adsorbiren el pesticida.

En primer lloc s’elabora la pastilla de bromur de potassi a partir de 2 mg de mostra a analitzar i 200 mg de KBr. A continuació s’introdueix la pastilla en l’espectrofotòmetre i s’inicia l’anàlisi.

Els espectres es mesuren en un rang de longitud d’ona entre 3500 i 400 cm^{-1} amb l’addició de 32 scans i amb una resolució de 2 cm^{-1} .

Els espectres es guarden per duplicat en format “.RAS” i en format “.TBL”.

4.2 RESULTATS I DISCUSSIÓ.

4.2.1 Caracterització del suro i les seves fraccions.

4.2.1.1 Anàlisi elemental orgànica.

Els resultats de l'anàlisi elemental orgànica de cadascuna de les mostres enviades, emesos pels Serveis Tècnics de Recerca, es reflecteixen en la **Taula 9**. L'informe complet rebut s'adjunta en **l'Annex 6**.

A partir d'aquestes dades es calculen els ratis atòmics següents:

- Rati:
$$\frac{H}{C} = \frac{(\% H)/1}{(\% C)/12}$$
 (Eq. 1) (*) indica el caràcter alifàtic de la mostra.

- Rati:
$$\frac{O}{C} = \frac{(\% O)/16}{(\% C)/12}$$
 (Eq. 2)

- Rati:
$$\frac{O+N}{C} = \frac{(\% O)/16 + (\% N)/14}{(\% C)/12}$$
 (Eq. 3) (*) Índex de polaritat

On el contingut en % d'oxigen es calcula per diferència de masses

Taula 9: Composició elemental del suro i les seves fraccions i ratis atòmics.

Mostra	Composició elemental (% massa)			Ratis atòmics		
	C	H	N	H/C	O/C	(O+N)/C
SURO	62,740	8,505	-	1,627	0,344	0,344
ALIF	62,555	8,325	-	1,597	0,349	0,349
FEN	62,770	8,510	-	1,627	0,343	0,343
EXT	63,835	8,610	-	1,619	0,324	0,324
SUB	-	-	-	-	-	-

(-) valors inferiors al límit de detecció

Segons els resultats obtinguts, la polaritat $((O + N)/C)$ de les fraccions de suro analitzades, tot i ser molt similar, segueix el següent ordre: ALIF (0,349) < SURO(0,344) < FEN (0,343) < EXT (0,324).

L'índex de polaritat de la lignina (de caràcter aromàtic) oscil·la entre 0.33 i 0.45 i l'índex de la cel·lulosa està entre 0.84-0.98.

L'índex de polaritat és un paràmetre que es fa servir com a indicador per predir la capacitat de sorció de contaminants orgànics. En estudis previs s'han observat correlacions inverses entre la capacitat de sorció i l'índex de polaritat. És a dir, un índex de polaritat baix, indicaria que el material tindrà una afinitat per adsorbir pesticides hidrofòbics elevada.

Es pot observar com un cop s'han extret tots els extractius la polaritat de la mostra disminueix de 0,344 a 0,324.

4.2.1.2 Piròlisi de la suberina en presència de TMAH.

En la **Figura 13** es mostra el cromatograma de gasos realitzat després de la piròlisi i en la **Taula 10** la relació dels productes detectats i la seva abundància (%), rebuts des de l'IRNASE com a resultats de l'anàlisi.

Segons aquests resultats, la mostra de suberina extreta del suro CAT-1 està composta principalment per àcids essent els més abundants l'àcid 9,10,18-trihidroxiocadecanoic (12,8%), l'àcid 22-hidroxidocosanoic (12,7%), l'àcid octadecanedioic (12,5%) i l'àcid docosanedioic (12,4%) que constitueixen el 50,4% del total de la mostra.

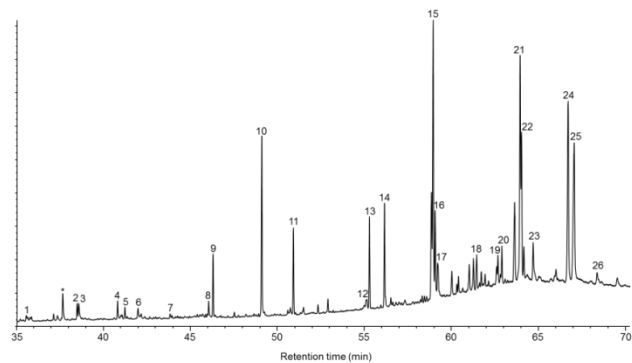


Figura 13: Cromatograma de gasos de la suberina després de la piròlisi en presència de TMAH.(IRNAS-CSIC, Sevilla)

Taula 10: Composició (%) de la suberina extreta de la mostra de suro CAT-1(IRNAS-CSIC, Sevilla)

Peak #		Ret Time	Area	Percentatge
1	dodecanoic acid	35.590	2797078	0,3
2	nonanedioic acid	38.486	7813715	0,7
3	3,4-dimethoxybenzaldehyde	38.581	11444539	1,0
4	3,4-dimethoxybenzenecarboxylic acid	40.818	8869098	0,8
5	tetradecanoic acid	41.236	5696408	0,5
6	3,4-dimethoxybenzeneacetic acid	41.989	6445628	0,6
7	pentadecanoic acid	43.834	2847396	0,3
8	cis-ferulic acid	46.050	8985100	0,8
9	hexadecanoic acid	46.303	27706839	2,5
10	trans-ferulic acid	49.103	88851274	8,0
11	octadecanoic acid	50.922	39358349	3,6
12	eicosanoic acid	55.140	8755609	0,8
13	hexadecanedioic acid	55.293	38886207	3,5
14	18-hydroxy-octadec-9-enoic acid	56.159	52655297	4,8
15	octadec-9-enedioic acid	58.951	138481592	12,5
16	docosanoic acid	59.068	39207623	3,5
17	octadecanedioic acid	59.213	22215677	2,0
18	9,10-epoxyoctadecanoic acid	61.454	21614421	2,0
19	tetracosanoic acid	62.678	18462837	1,7
20	eicosanedioic acid	62.907	19771650	1,8
21	22-hydroxydocosanoic acid	63.957	140313276	12,7
22	9,10-dihydroxyoctadecanedioic acid	64.035	72555419	6,6
23	9,10-epoxyoctadecanedioic acid	64.706	29895258	2,7
24	9,10,18-trihydroxyoctadecanoic acid	66.722	141581909	12,8
25	docosanedioic acid	67.070	137435050	12,4
26	24-hydroxytetracosanoic acid	68.387	13994503	1,3
			1106641752	100

4.2.1.3 Anàlisi espectroscòpica.

En la **Taula 11** figuren els principals grups funcionals del suro, les longituds d'ona en les que apareixen i els compostos als que se'ls atribueixen aquests grups segons Pereira, 2007.

Taula 11: Longituds d'ona (cm^{-1}) dels principals grups funcionals del suro (Pereira, 2007).

Longitud d'ona (cm^{-1})	Grup funcional	Component químic atribuït
3425	OH	aigua, polisacàrids, extractius
2927	CH alifàtic	suberina
2854	CH alifàtic	suberina
1740	C=O (àcids i èsters)	suberina, extractius
1666	C=O, deformació HOH	lignina / aigua
1511	vibracions anell aromàtic	lignina, extractius
1466	deformació CH	lignina
1435	vibracions anell aromàtic	lignina
1330	CH	extractius
1263	C-O	suberina, polisacàrids, lignina
1162	vibració COC	suberina
1035	C-O	polisacàrids
810	deformacions CH anell aromàtic	lignina
720	C=C	suberina, extractius

A partir dels espectres obtinguts per FTIR (**Figures 14 i 15**) i usant com a referent les dades de la **Taula 11**, es classifiquen els principals grups funcionals del suro i les seves fraccions que es mostren en la **Taula 12**.

Taula 12: Longituds d'ona (cm^{-1}) dels principals grups funcionals del suro i les seves fraccions.

Component químic	Grup funcional	Longituds d'ona (cm^{-1})				
		SURO	ALIF	FEN	EXT	SUB
aigua, polisacàrids, extractius	OH	3464,98	3464,96	3464,79	3465,11	3463,43
		3430,58	3428,90	3428,97	3429,28	
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2921,85	2922,82	2919,72	2919,39	2923,64
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2852,57	2853,52	2851,21	2851,80	2854,95
suberina, extractius	C=O èster	-	-	1752,31	1752,35	1752,26
suberina, extractius	C=O àcids	1734,65	1734,33	-	-	
		-	-	1719,09	1719,11	1719,08
lignina / aigua	C=O ("stretching"), deformació HOH	1665,47	1665,93	1665,87	1666,11	1665,55
		1600,74	1595,64	1594,58	1594,63	1601,40
lignina, extractius	vibracions anell aromàtic	1502,00	1523,38	1523,53	1523,58	
lignina	deformació CH	-	-	1474,28	1474,53	
lignina	vibracions anell aromàtic	1439,58	1439,51	1438,52	1438,60	
extractius	CH	1376,82	1376,90	-	-	
suberina, polisacàrids, lignina	C-O ("stretching")	1261,80	1260,80	1262,28	1260,95	
suberina	vibració COC	1158,13	1155,92	1157,01	1155,92	
polisacàrids	C-O ("stretching")	1035,91	1026,54	1025,97	1025,91	
lignina	deformacions CH anell aromàtic	815,48	814,44	814,44	817,49	
suberina, extractius	C=C	722,32	724,16	726,88	726,78	713,53

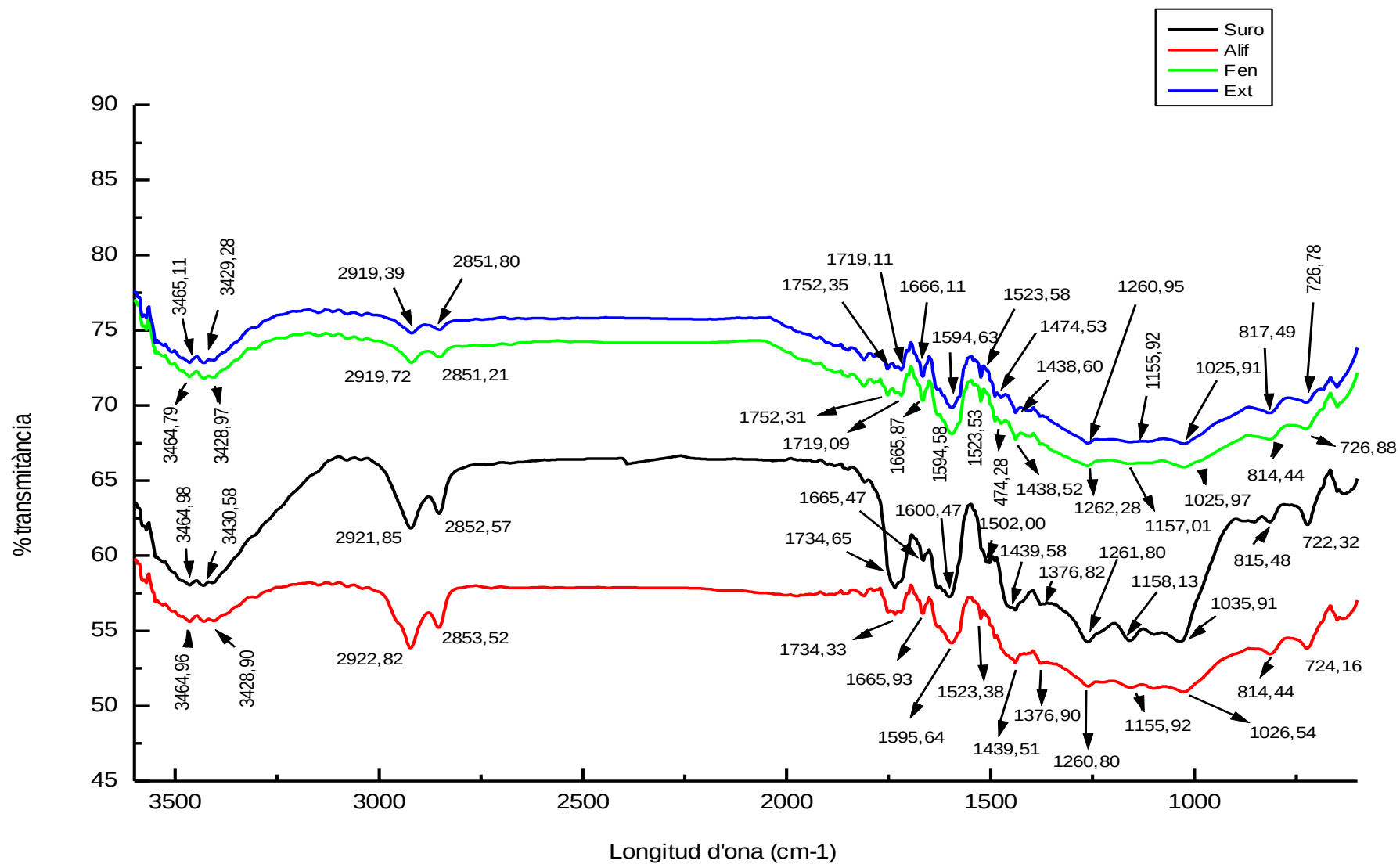


Figura 14: espectre d'infraroig del suro (suro), suro lliure d'extractius alifàtics (alif), suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics (fen) i suro lliure de tots els extractius (ext)

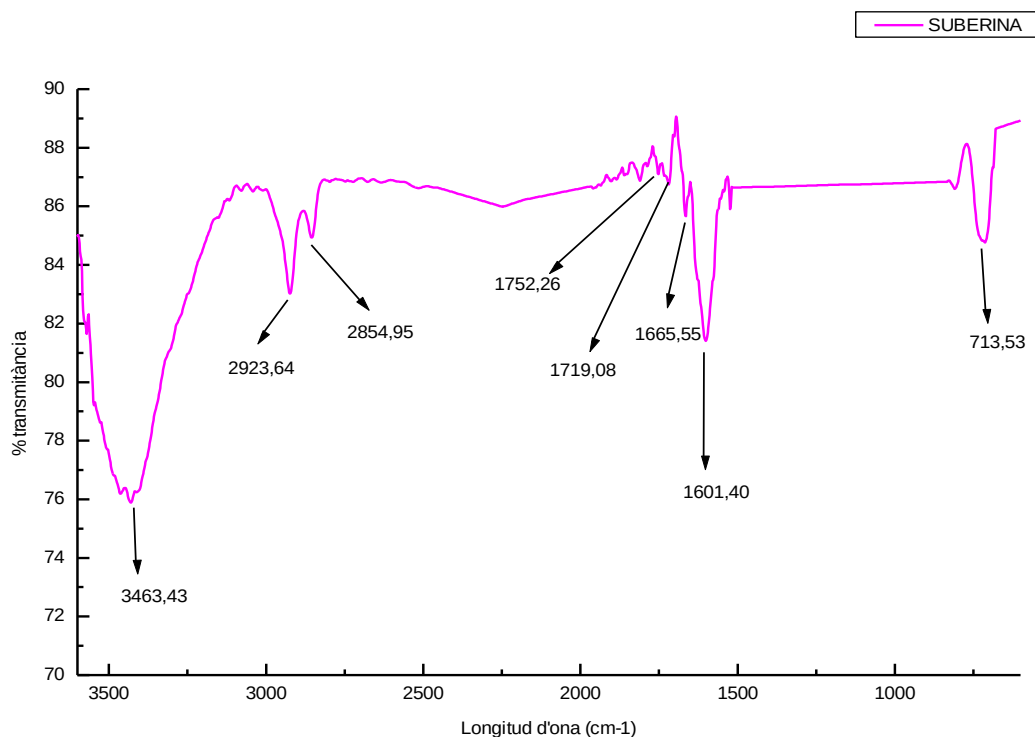


Figura 15: Espectre d'infraroig de la suberina

Tal com es pot observar en la **Figura 14**, després de l'eliminació dels extractius alifàtics hi ha una notable disminució en la intensitat dels pics a 3464cm^{-1} (atribuït a grups hidroxil) i a 1734cm^{-1} (atribuït a grups carbonil) possiblement degut a la pèrdua d'alcohols alifàtics i d'àcids grassos respectivament.

D'altra banda, el pic característic de la lignina es veu modificat de 1600 a 1595cm^{-1} possiblement degut a que l'eliminació d'extractius fa que les unitats de lignina també es vegin modificades i vibrin de manera diferent.

En l'espectre on s'han eliminat tots els extractius es veu com el pic atribuït al grup hidroxil (OH) a 3464cm^{-1} torna a disminuir possiblement degut, aquesta vegada, a la pèrdua de polifenols i com el pic a 1734cm^{-1} desapareix. En canvi el pic característic de la lignina a 1594cm^{-1} segueix present en tots els espectres.

4.2.2 Estudi previ dels pesticides per HPLC.

4.2.2.1 Identificació del pic característic dels pesticides.

En les **Figures 16** (*metamitron*), **17** (*alaclor*), **18** (*2,4-D*) i **19** (*clorpirifos*) es mostren els cromatogrames corresponents a una concentració de 10µg/mL dels quatre pesticides analitzats on es pot observar el pic característic de cadascun i el seu temps de retenció.

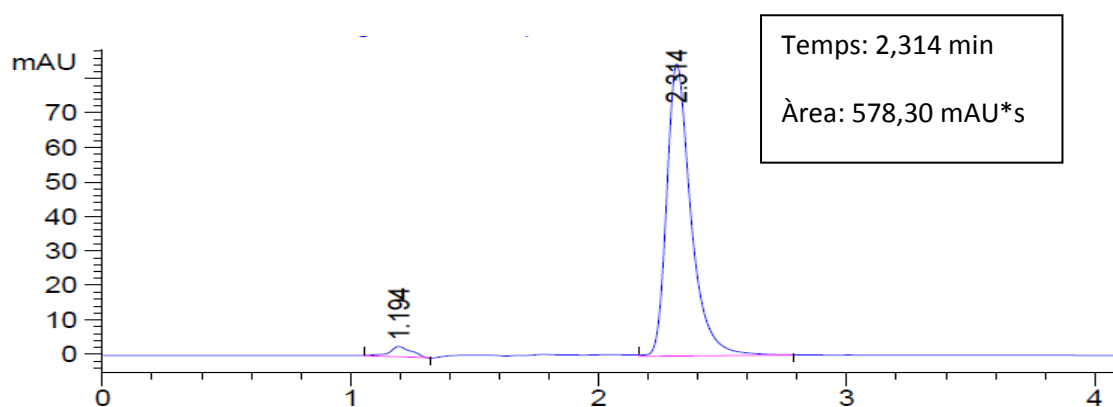


Figura 16: Cromatograma corresponent a la solució de metamitron 10 µg/mL

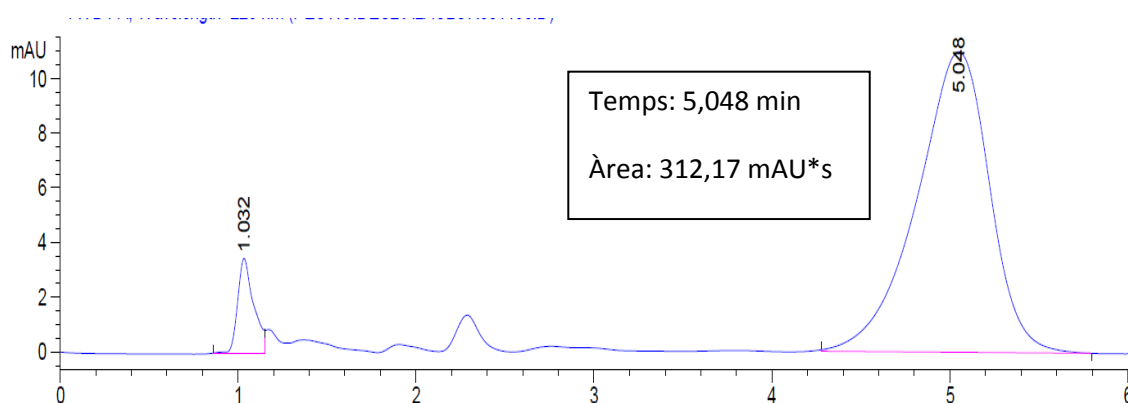


Figura 17: Cromatograma corresponent a la solució d'alaclor 10 µg/mL

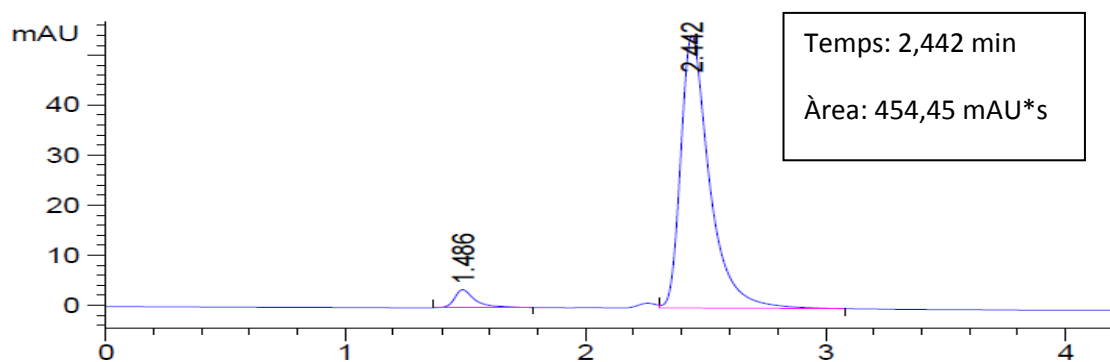


Figura 18: Cromatograma corresponent a la solució de 2,4-D 10 µg/mL

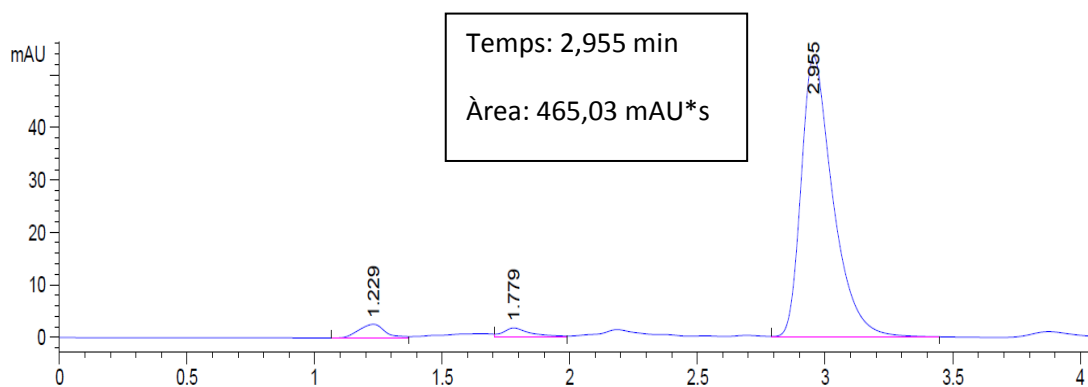


Figura 19: Cromatograma corresponent a la solució de clorpirifos 10 µg/mL

Taula 13: Temps de retenció dels pesticides en l'anàlisi per HPLC.

Pesticida	Metamitron	Alaclor	2,4-D	Clorpirifos
Temps de retenció (min)	2,3 ± 0,2	5,0 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,9 ± 0,2

4.2.2.2 Corbes de calibració.

A partir de les dades obtingudes en les anàlisis cromatogràfiques de les solucions de metamitron, alaclor, 2,4-D i clorpirifos a diferents concentracions s'obtenen les corbes de calibració (**Figura 20**: metamitron, **Figura 21**: alaclor, **Figura 22**: 2,4-D i **Figura 23**: clorpirifos)) on es reflecteix l'existència de linealitat entre l'àrea del pic característic de cada pesticida en funció de la seva concentració. En tots els casos s'ha aconseguit una linealitat de $r^2 > 0,99$.

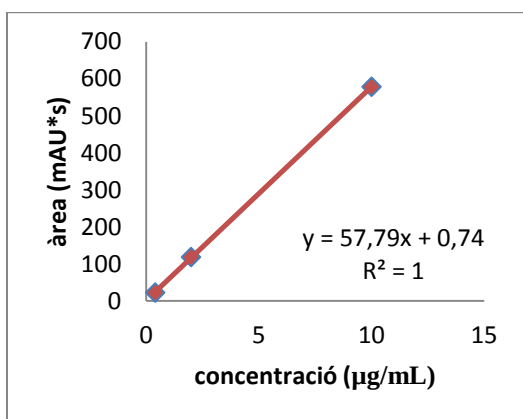


Figura 20: corba de calibració del metamitron.

(rang de concentracions: 0,4-10µg/mL)

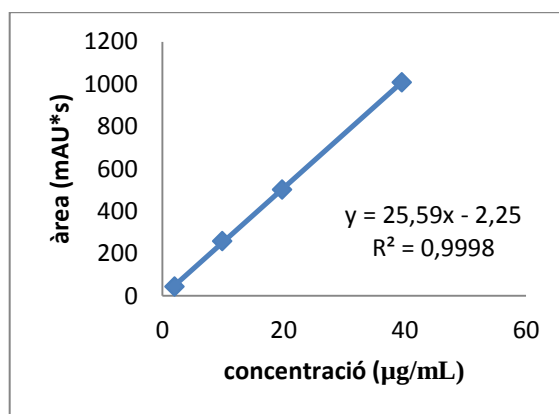


Figura 21: corba de calibració de l'alaclor.

(rang de concentracions: 2-40µg/mL)

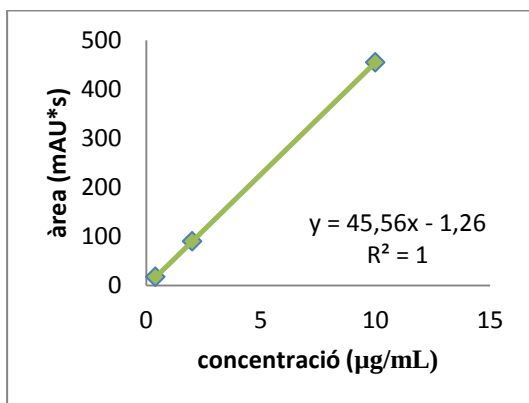


Figura 22: corba de calibració del 2,4-D.

(rang de concentracions: 0,4-10µg/mL)

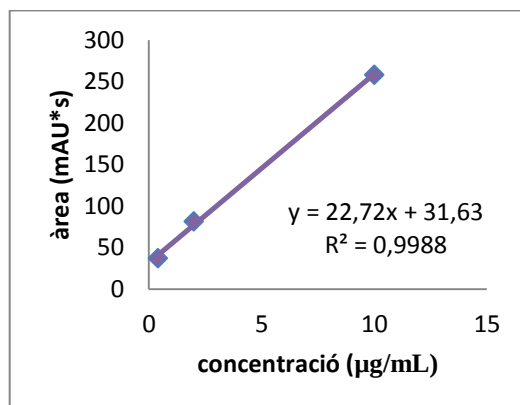


Figura 23: corba de calibració del clorpirifos.

(rang de concentracions: 0,4-10µg/mL)

4.2.2.3 Determinació de les concentracions de treball.

Un pic cromatogràfic es considera que té un límit de detecció acceptable quan la seva alçada és tres vegades l'alçada de la línia base. Tenint en compte aquesta limitació analítica, i per tal de treballar amb concentracions el més baixes possibles (de l'ordre de µg/mL), es determinen, en el cas de cada pesticida, com a concentracions de treball pels següents assajos les especificades en la **Taula 14**.

Taula 14: Concentracions de treball per als assajos inicials de sorció.

Pesticida	Metamitron	Alaclor	2,4-D	Clorpirifos
Concentració de treball (µg/mL)	2	5	2	2

4.2.3 Determinació del rati òptim sorbent/solució.

A partir de les dades obtingudes en les anàlisis cromatogràfiques de les fases líquides residuals després dels assajos de sorció, es calcula la intensitat de sorció (µg pesticida adsorbit/g sorbent) i l'eficiència d'adsorció (% de pesticida adsorbit) mitjançant les **equacions 4 i 5**, respectivament, que es mostren a continuació:

- Càlcul de la intensitat de sorció:

$$C_s = \frac{(C_i - C_f) * V}{m} \quad (\text{Eq. 4})$$

- Càlcul de l'eficiència d'adsorció:

$$\% \text{ adsorció} = \frac{C_i - C_f}{C_i} * 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

On C_i i C_f són les concentracions inicials i finals de pesticida abans i després de la sorció expressades en µg/mL, V és el volum de la dissolució de pesticida sotmès a sorció en mL i m és la massa de la fracció sòlida utilitzada com a sorbent en g.

4.2.3.1 Efecte de la massa.

En la **Taula 16** es mostren els resultats dels càlculs realitzats segons les **equacions 4 i 5** per als assajos de sorció a volum de solució de 20mL per a les masses de 1, 2 i 5 mg i de 42mL per a les masses de 10 i 40 mg.

Taula 15: pH de les solucions dels pesticides en els assajos sobre l'efecte de la massa.

pH				
Pesticida:	Metamitron	Alaclor	2,4-D	Clorpirifos
Massa de sorbent (mg)				
1	6,86	4,27	2,42	6,3
2	6,9	4,5	2,37	6,31
5	6,83	4,73	2,44	6,23
10	6,8	4,99	2,41	6,25
40	6,72	5,26	2,47	5,81

Taula 16: Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció en funció de la massa de sorbent.

Pesticida:	Metamitron		Alaclor		2,4-D		Clorpirifos	
Massa de sorbent (mg)	Cs (µg/g)	% adsorció	Cs (µg/g)	% adsorció	Cs (µg/g)	% adsorció	Cs (µg/g)	% adsorció
1	8473,91	23,15	7641,77	7,64	11477,54	28,69	1389,24	3,47
2	4273,39	23,35	1557,81	3,12	5082,71	25,41	359,27	1,80
5	1520,00	20,77	987,37	4,94	2260,79	28,26	124,91	1,56
10	1119,65	5,28	359,93	3,60	1002,22	25,06	0,00	0,00
40	183,98	0,29	0,00	0,00	65,98	3,14	0,00	0,00

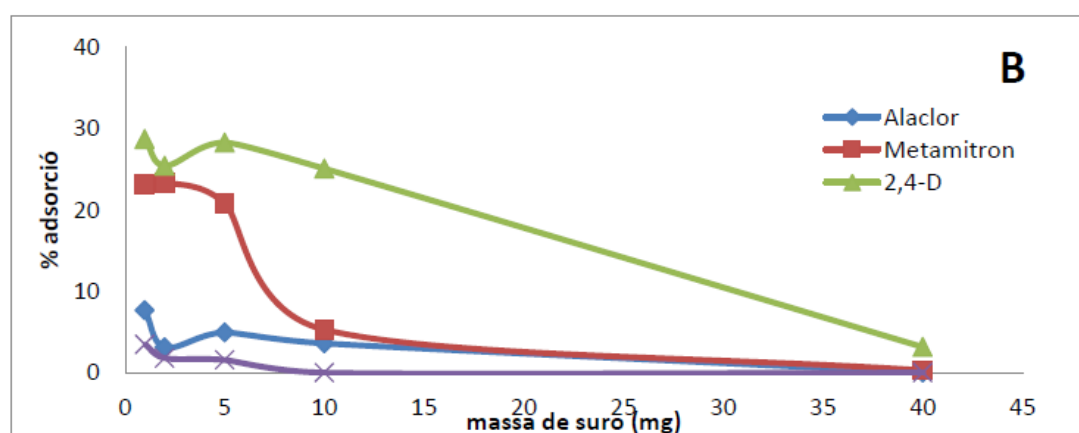
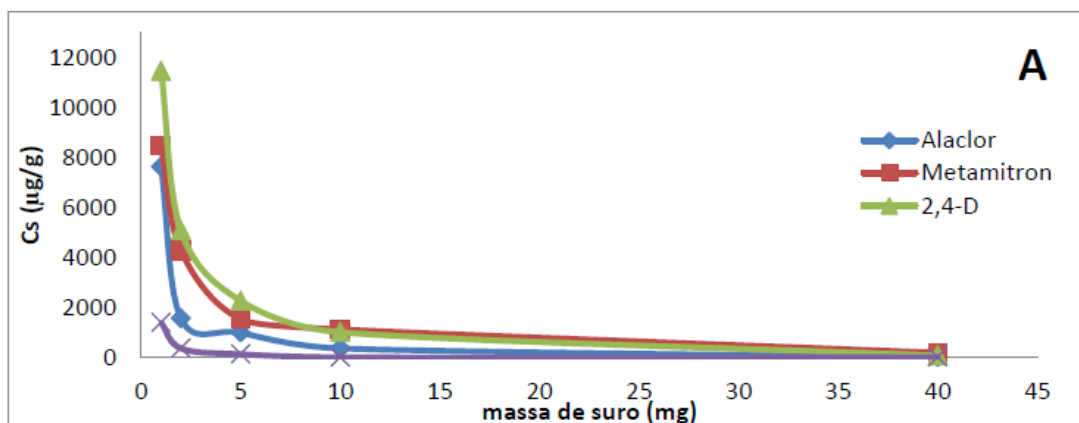


Figura 24: variació de la quantitat de pesticida adsorbit en funció de la massa de sorbent utilitzada expressada en **(A)** µg de pesticida/g de sorbent (Cs) i **(B)** com a percentatge de la quantitat inicial.

4.2.3.2 Efecte del volum.

En la **Taula 18** es mostren els resultats dels càlculs realitzats segons les **equacions 4 i 5** per als assajos de sorció amb una massa de sorbent constant de 5mg i volums de solució variables (5, 10 i 20mL).

Taula 17: pH de les solucions dels pesticides en els assajos sobre l'efecte del volum.

pH				
Pesticida:	Metamitron	Alaclor	2,4-D	Clorpirifos
Volum de solució (mL)				
5	6,74	7,13	6,64	6,57
10	6,55	7,09	6,66	7,17
20	6,19	6,78	6,66	7,74

Taula 18: Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció en funció del volum de solució.

Pesticida:	Metamitron		Alaclor		2,4-D	
Volum de solució (mL)	Cs (µg/g)	% adsorció	Cs (µg/g)	% adsorció	Cs (µg/g)	% adsorció
5	636,01	33,13	1769,03	35,52	< 0,10	< 0,10
10	1463,72	38,13	1502,85	15,09	< 0,10	< 0,10
20	2699,57	39,95	2256,88	11,33	< 0,10	< 0,10

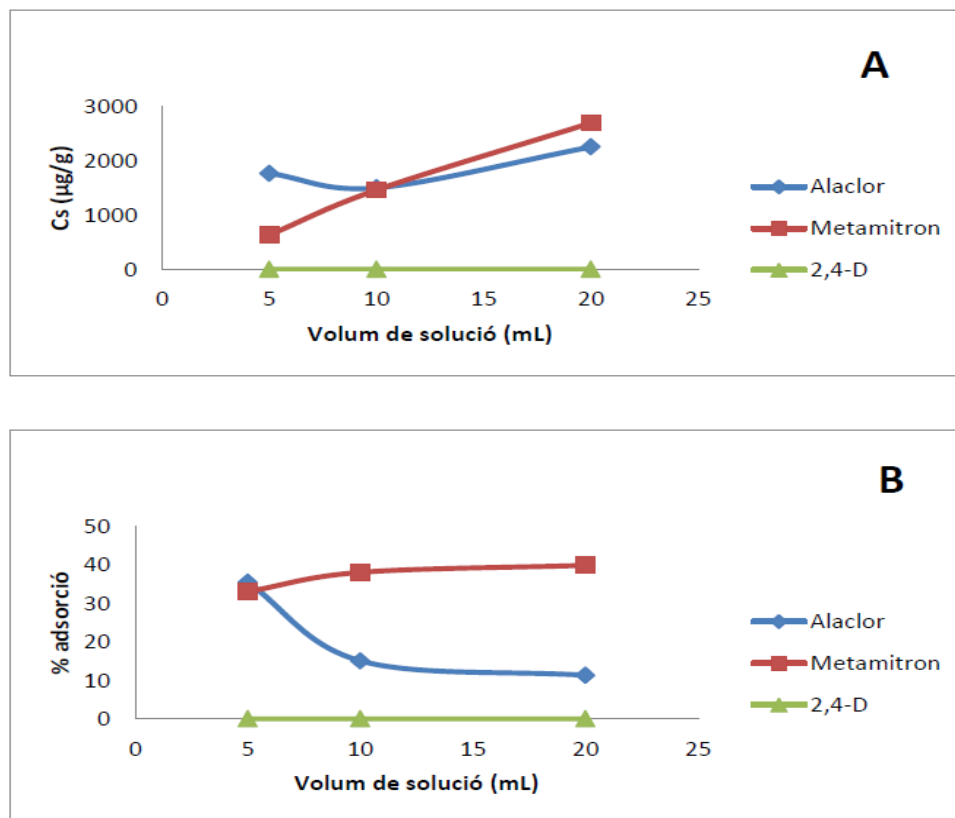


Figura 25: variació de la quantitat de pesticida adsorbit en funció del volum de solució utilitzat expressada en **(A)** µg de pesticida/g de sorbent (Cs) i **(B)** com a percentatge de la quantitat inicial.

4.2.3.3 Discussió.

En la **Figura 24** es representa la variació de la quantitat de pesticida adsorbit en funció de la massa de sorbent utilitzada, expressada en **(A)** µg de pesticida/g de sorbent (Cs) i **(B)** com a percentatge de la quantitat inicial. En augmentar la massa de sorbent en contacte amb el líquid té lloc una disminució tant de l'eficiència com de la intensitat de l'adsorció. Aquest fet pot ser degut a l'agregació de partícules de suro (Rodríguez-Cruz, 2008). L'agregació de les partícules causaria una disminució de l'àrea superficial en contacte amb el pesticida, i augmentaria els camins dins el cos del líquid a través dels quals el pesticida es pot difondre.

La **Figura 25** mostra la variació de la quantitat de pesticida adsorbit en funció del volum de solució utilitzat, expressada en **(A)** μg de pesticida/g de sorbent (Cs) i **(B)** com a percentatge de la quantitat inicial. En aquesta es pot observar com, en el cas del **metamitron**, un augment del volum de solució afavoreix tant l'eficiència d'adsorció (d'un 33 a un 40%) com la intensitat de la sorció (de 636 a 2699,5 $\mu\text{g/g}$), en canvi, en augmentar el volum de solució d'**alaclor** posat en contacte amb el suro, augmenta també la intensitat de la sorció (de 1769 a 2257 $\mu\text{g/g}$) mentre que disminueix l'eficiència de dita sorció (d'un 35,5 a un 11%)

D'aquesta manera, s'ha comprovat que com menys massa de suro hi hagi en contacte amb el líquid, l'adsorció resulta ser més favorable i que, si s'augmenta el volum, tot i que el rendiment del procés no sempre es vegi afavorit, és possible, amb una mateixa massa de sorbent, seguir adsorbint cada vegada més quantitat de pesticida.

Tanmateix, per motius de viabilitat analítica, com serien escollir una massa de sorbent que permeti ser mesurada sense dificultat (donades les complicacions de pesada que presenta el suro degudes a la seva càrrega electrostàtica) i que sigui suficient per poder ser analitzada per FTIR (ja que es necessiten 2mg de mostra per aquesta anàlisi), s'escull (tot i no ser l'òptima en tots els casos) com a proporció òptima sorbent/solució la corresponent a **5mg/20mL** pels assajos amb **metamitron**, **alaclor** i **2,4-D** i una proporció de **0,1g/15mL** pels assajos amb **clorpirifos**.

4.2.4 Estudi de la influència dels components químics del suro en el procés de sorció de cada pesticida.

Per interpretar els resultats de sorció obtinguts i predir les interaccions que intervenen en el procés, cal tenir en compte diferents factors:

- 1) La distribució dels components químics del suro en la paret cel·lular (1-3 μm de gruix).
- 2) La càrrega superficial del suro en les condicions de treball.
- 3) En quin estat es troba el pesticida (molecular o iònic) al pH de treball.

Pel que fa al primer factor, prenem com a model la proposta de Pereira 2007 (**Figura 5, pàg. 16** de la introducció) en la que es descriu una lamel·la prima composta de polisacàrids , una segona capa gruixuda constituïda alternadament per suberina, lignina i ceres (entre elles extractius alifàtics) i una fina capa terciària formada per polisacàrids (caràcter hidrofílic).

Pel que fa al segon factor, el suro té un punt de càrrega zero aproximadament de 3,6 (Fiol,2008). El pH de treball de les solucions analitzades és superior a aquest valor (pHs entre 3,6 i 8 aproximadament) , per tant, com que $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$ la càrrega superficial del suro serà negativa. Aquesta càrrega negativa vindrà principalment donada per la desprotonació dels grups carboxílics ($-\text{COO}^-$) ($\text{pK}_a=3-5$).

Pel que fa al tercer factor, cal tenir en compte el caràcter iònic o molecular dels pesticides estudiats. El metamitron i el clorpirifos són pesticides de caràcter molecular, mentre que l'alaclor i el 2,4-D són de caràcter iònic ($\text{pK}_a = 0.62$ i $\text{pK}_a = 2.64$, respectivament)

4.2.4.1 Metamitron.

4.2.4.1.1 pH de les fases líquides.

Es mesuren els pHs de les fases líquides abans i després del procés de sorció per tal de determinar la influència d'aquest paràmetre en dit procés.

Taula 19: pH de les dissolucions de metamitron abans i després de la sorció amb cada fracció.

abans de la sorció		després de la sorció	
Solució	pH	Solució	pH
metamitron	7,29	"Suro"	6,49
		"Alif."	6,68
		"Fen."	6,66
		"Ext."	6,67
		"Desub."	6,63
		"Sub."	6,55

4.2.4.1.2 Corba de calibració del metamitron.

Per tal de calcular la concentració de metamitron restant en la solució després d'estar en contacte amb cadascuna de les fraccions del suro, es determina una corba de calibració a partir de 4 solucions estàndard de pesticida (0,2µg/mL ; 0,5µg/mL; 1,0µg/mL i 2,0 µg/mL) que cobreixen el rang de concentracions esperades.

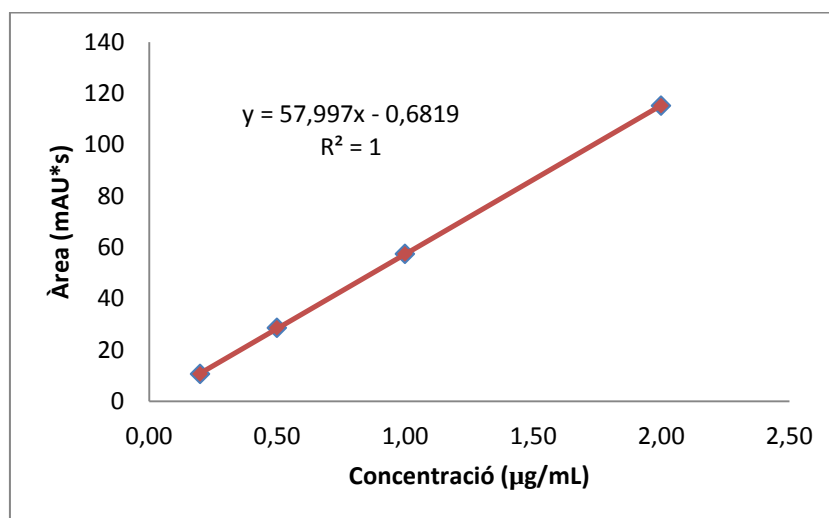


Figura 26: corba de calibració del metamitron.

(rang de concentracions: 0,2-2µg/mL)

4.2.4.1.3 Anàlisi cromatogràfica per HPLC de les fases líquides.

Les **Figures 27 i 28** corresponen als cromatogrames obtinguts en les anàlisis per HPLC de les solucions de metamitron abans i després de la sorció amb suro.

Les concentracions, calculades a partir de la corba de calibració, corresponents a aquests cromatogrames i als obtinguts per la resta de fraccions es resumeixen en la **Taula 20**.

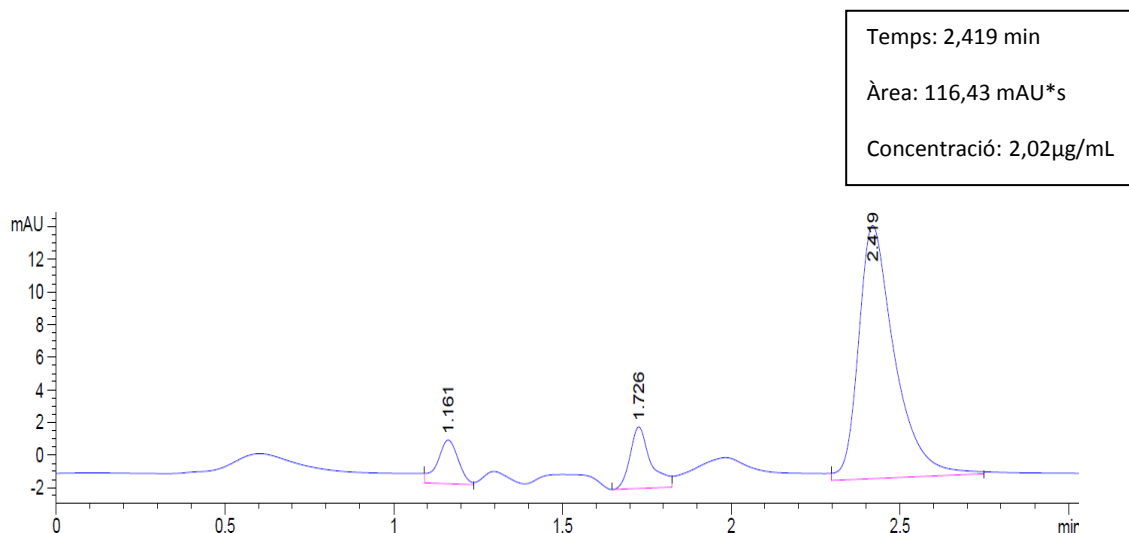


Figura 27: Cromatograma de la solució de metamitron abans de la sorció.

(Ci)

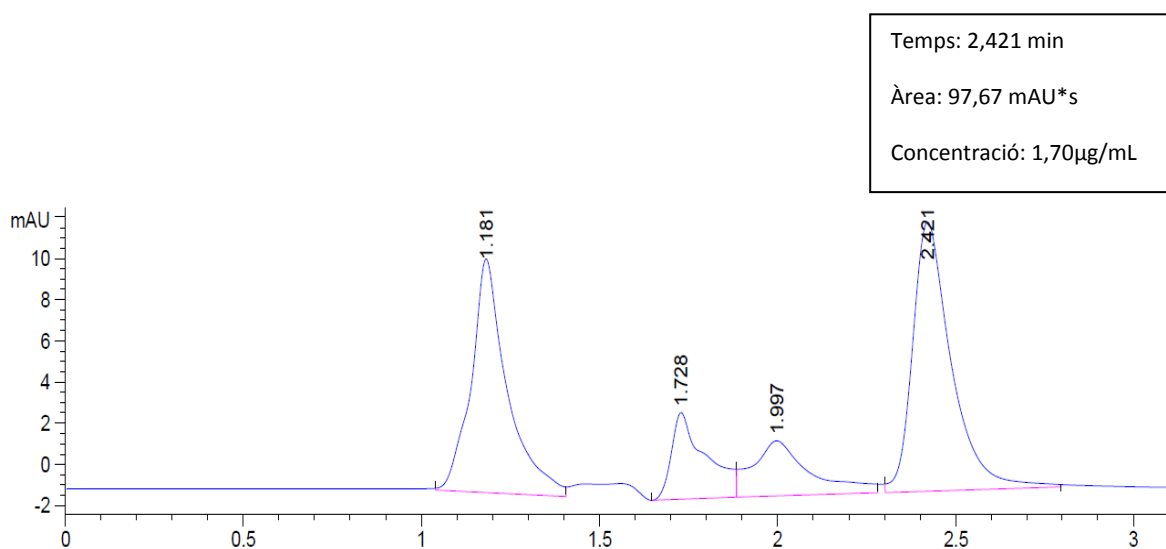


Figura 28: Cromatograma de la solució de metamitron després de la sorció amb suro (CAT-1).

(suro)

4.2.4.1.4 Intensitat i eficiència de sorció.

En la **Taula 20** es mostren els resultats dels càlculs realitzats segons les **equacions 4 i 5** corresponents a la intensitat de sorció (μg pesticida adsorbit/g sorbent) i l'eficiència d'adsorció (% de pesticida adsorbit) del metamitron amb cadascuna de les fraccions de suro utilitzades com a sorbent.

Taula 20: Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció del metamitron (concentració teòrica inicial: $2\mu\text{g/mL}$) segons la fracció de suro utilitzada.

Mostra	Concentració ($\mu\text{g/mL}$)	Cs ($\mu\text{g/g}$)	% adsorció
Ci (en solució)	2,02		
suro	1,7	1293,75	16,02
alif	1,7	1285,52	15,92
fen	1,69	1297,7	16,07
ext	1,74	1109,66	13,74
desub	1,66	1440,21	17,82
sub	1,75	1086,1	13,45

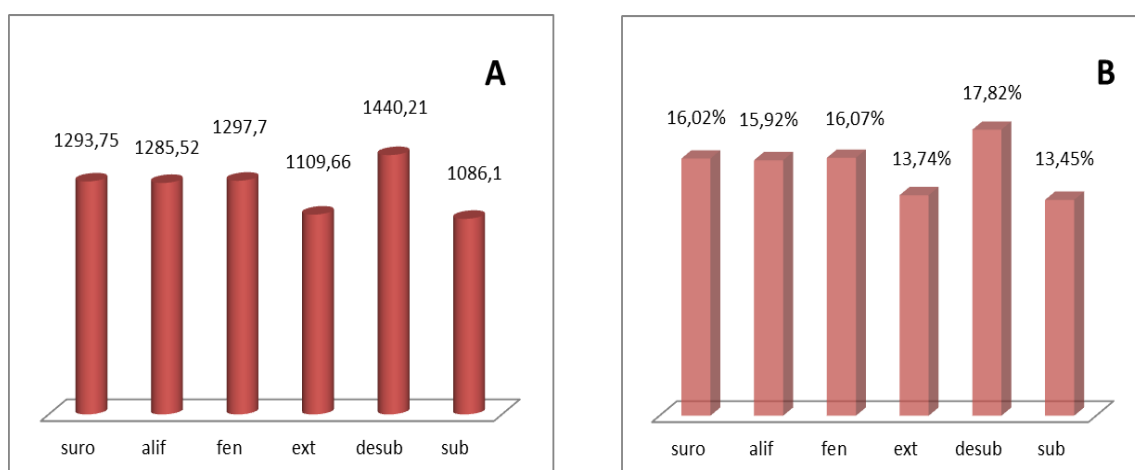


Figura 29: Intensitat d'adsorció (A) (μg de pesticida/g de sorbent) i eficiència de sorció (B)(%) del metamitron segons la fracció de suro utilitzada com a sorbent.

4.2.4.1.5 Anàlisi espectroscòpica per FTIR de les fraccions sòlides.

Els canvis en la freqüència de vibració dels enllaços dels àtoms que componen les mostres sòlides de sorbent analitzades com a conseqüència de l'adsorció del metamitron s'indiquen en la **Taula 21**. En la **Figura 30** es pot observar l'espectre obtingut per la mostra de suro comparat amb els seu respectiu blanc.

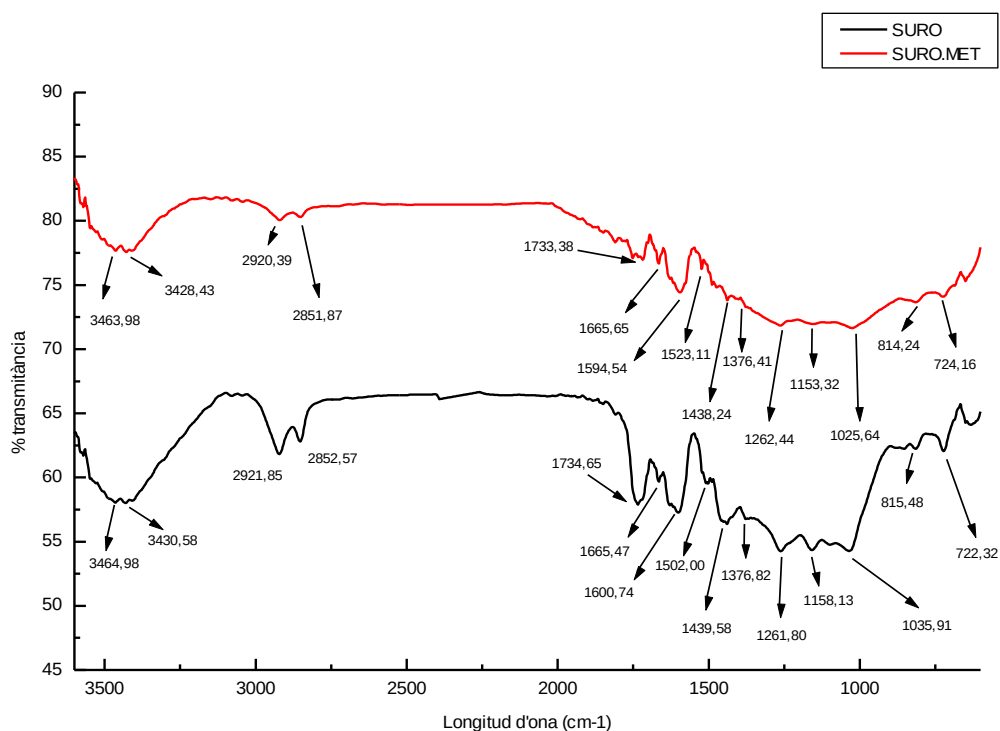


Figura 30: Espectre d'infraroig del suro abans i després de l'adsorció de metamitron

Taula 21: Variació de les vibracions dels àtoms del suro deguda a l'adsorció del metamitron.

		Longituds d'ona (cm-1)							
Component químic	Grup funcional	Suro	Suro + metamitron	Alif	Alif. + metamitron	Fen	Fen. + metamitron	Ext	Ext. + metamitron
aigua, polisacàrids, extractius	OH	3464,98	3463,78	3464,96	3464,75	3464,79	3464,71	3465,11	3465,35
		3430,58	3428,43	3428,90	3428,74	3428,97	3429,23	3429,28	3430,45
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2921,85	2920,39	2922,82	2919,13	2919,72	2916,15	2919,39	2918,97
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2852,57	2851,87	2853,52	2851,85	2851,21	2848,25	2851,80	2851,65
suberina, extractius	C=O (èsters)	-	-	-	1751,42	1752,31	1752,45	1752,35	1750,67
suberina, extractius	C=O (àcids)	1734,65	1733,38	1734,33	1733,55	-	-	-	-
		-	-	-	1718,15	1719,09	1718,70	1719,11	1719,37
lignina / aigua	C=O ("stretching"), deformació HOH	1665,47	1665,65	1665,93	1666,75	1665,87	1665,94	1666,11	1665,90
		1600,74	1594,54	1595,64	1596,47	1594,58	1594,60	1594,63	1597,22
lignina, extractius	vibracions anell aromàtic	1502,00	1523,11	1523,38	1523,08	1523,53	1523,40	1523,58	1523,02
lignina	deformació CH	-	-	-	1473,95	1474,28	1474,73	1474,53	1489,29
lignina	vibracions anell aromàtic	1439,58	1438,24	1439,51	1438,18	1438,52	1438,36	1438,60	1438,54
extractius	CH	1376,82	1376,41	1376,90	-	-	-	-	-
suberina, polisacàrids, lignina	C-O ("stretching")	1261,80	1262,44	1260,80	1261,51	1262,28	1263,99	1260,95	1262,79
suberina	vibració COC	1158,13	1153,32	1155,92	1156,00	1157,01	1163,80	1155,92	1160,37
polisacàrids	C-O ("stretching")	1035,91	1025,64	1026,54	1029,74	1025,97	1025,24	1025,91	1033,62
lignina	deformacions CH anell aromàtic	815,48	814,24	814,44	819,23	814,44	820,48	817,49	819,18
suberina, extractius	C=C	722,32	724,16	724,16	726,70	726,88	728,14	726,78	720,75
	Pic atribuït a l'adsorció del pesticida								

4.2.4.1.6 Discussió.

El metamitron és un pesticida de caràcter molecular, per tant la seva càrrega és neutra a qualsevol pH.

Tenint en compte l'estructura molecular del metamitron (**Taula 2, pàgina 29**), la càrrega superficial negativa del suro ($\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$) i la distribució dels seus components químics en la paret cel·lular, les interaccions que poden tenir lloc són (Keiluweit and Kleber, 2009):

- Interacció π - π entre els anells benzènics dels components químics del suro (principalment lignina) i del metamitron.
- Interacció catió- π entre els hidrògens del grup amino ($-\text{NH}_2$) del metamitron i els anells benzènics dels components químics del suro.
- Interacció n - π entre els electrons lliures dels grups carboxil desprotonats ($-\text{COO}^-$) dels components químics del suro (principalment lignina) i els anells benzènics del metamitron.

En la **Figura 29** es pot observar com:

- La quantitat de metamitron adsorbida pel suro pràcticament no varia quan a aquest se li extreuen els extractius alifàtics i els extractius fenòlics de caràcter més apolar.

Això pot ser degut a que existeixi algun impediment estèric que dificulti l'accés del pesticida a la matriu del suro.

- La capacitat del suro per adsorbir el pesticida disminueix (d'un 16 a un 13%) en absència dels polifenols.

Aquesta disminució podria venir donada per la pèrdua d'anells benzènics (partícips en les interaccions π - π i catió- π) i de grups hidroxil (partícips en les interaccions n - π).

- En absència de suberina el percentatge d'adsorció augmenta d'un 13 a un 18%.

Aquest augment podria ser degut a que en extreure la suberina disminueix la resistència al pas del metamitron per infiltrar-se a través de la matriu del suro i poder interaccionar de forma més directa amb la lignina ubicada en la segona capa cel·lular.

La **Taula 21** reflexa les variacions en les longituds d'ona de les vibracions dels àtoms del suro i de les seves fraccions degudes a l'adsorció del pesticida. Fixant-nos en aquesta taula i en la **Figura 30** on es poden veure les variacions en les intensitats de les bandes de transmissió de l'espectre del suro, les diferències més destacables entre abans i després de la sorció del metamitron en el cas del suro són:

- La disminució de la intensitat dels pics a 2920 i 2851 cm^{-1} atribuïts als enllaços C-H de cadenes alifàtiques.
- La disminució de la intensitat i el desplaçament del pic atribuït als enllaços C=O de la lignina que passa de 1600 a 1594 cm^{-1} .
- El desplaçament del pic atribuït a les vibracions d'anells aromàtics que passa de 1502 a 1523 cm^{-1} .
- El desplaçament del pic atribuït al "stretch" dels enllaços C-O que passa de 1035 a 1025 cm^{-1} .

Tant en eliminar els extractius alifàtics com posteriorment els extractius fenòlics amb etanol, s'observa una nova variació d'entre 5 i 6 unitats en la longitud d'ona del pic corresponent a la deformació dels enllaços C-H d'anells aromàtics atribuïts a la lignina que passa de 814 a $819\text{--}820\text{ cm}^{-1}$.

En absència de tots els extractius, la lignina segueix essent el compost que veu més modificades les longituds d'ona de vibració dels seus enllaços amb una diferència de 15 unitats (de 1474 cm^{-1} passa a 1489 cm^{-1}) en la banda del pic corresponent a la deformació d'enllaços C-H.

Així doncs, a partir dels resultats obtinguts es pot determinar que la lignina desenvolupa un important paper en la interacció amb el metamitron, podent suposar que d'entre les possibles interaccions abans esmentades, les més influents són amb els anells benzènics de la lignina i dels extractius fenòlics.

4.2.4.2 Alaclor

4.2.4.2.1 pH de les fases líquides.

Es mesuren els pHs de les fases líquides abans i després del procés de sorció per tal de determinar la influència d'aquest paràmetre en dit procés.

Taula 22: pH de les dissolucions d'alaclor abans i després de la sorció amb cada fracció.

abans de la sorció		després de la sorció	
Solució	pH	Solució	pH
alaclor	8,19	"Suro"	7,88
		"Alif."	7,65
		"Fen."	7,45
		"Ext."	7,47
		"Desub."	7,58
		"Sub."	8,14

4.2.4.2.2 Corba de calibració de l'alaclor.

Per tal de calcular la concentració d'alaclor restant en la solució després d'estar en contacte amb cadascuna de les fraccions del suro, es determina una corba de calibració a partir de 7 solucions estàndard de pesticida (0,25µg/mL; 1,25µg/mL; 2,00µg/mL; 2,50 µg/mL; 3,0 µg/mL; 4,0 µg/mL i 5,0 µg/mL) que cobreixen el rang de concentracions esperades.

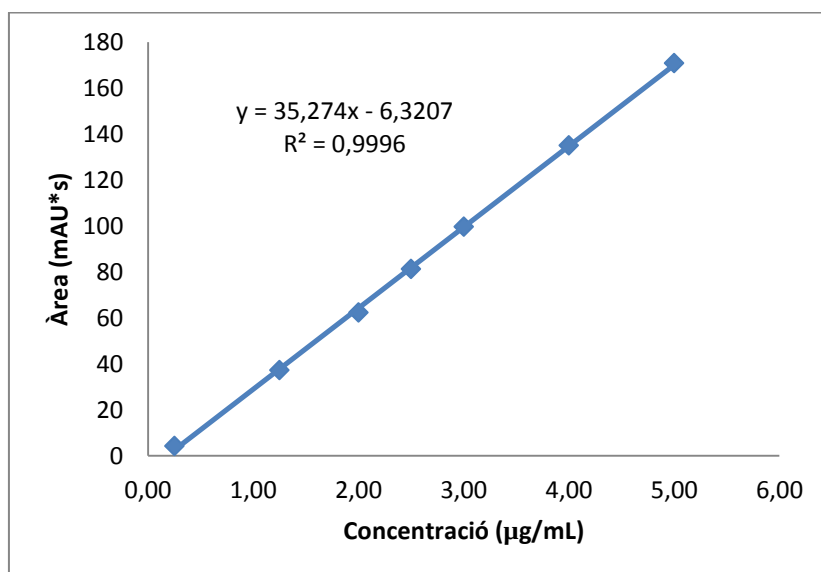


Figura 31: corba de calibració de l'alaclor.

(rang de concentracions: 0,25-5,0µg/mL)

4.2.4.2.3 Anàlisi cromatogràfica per HPLC de les fases líquides

Les **Figures 32 i 33** corresponen als cromatogrames obtinguts en les anàlisis per HPLC de les solucions d'alaclor abans i després de la sorció amb suro.

Les concentracions, calculades a partir de la corba de calibració, corresponents a aquests cromatogrames i als obtinguts per la resta de fraccions es resumeixen en la **Taula 23**.

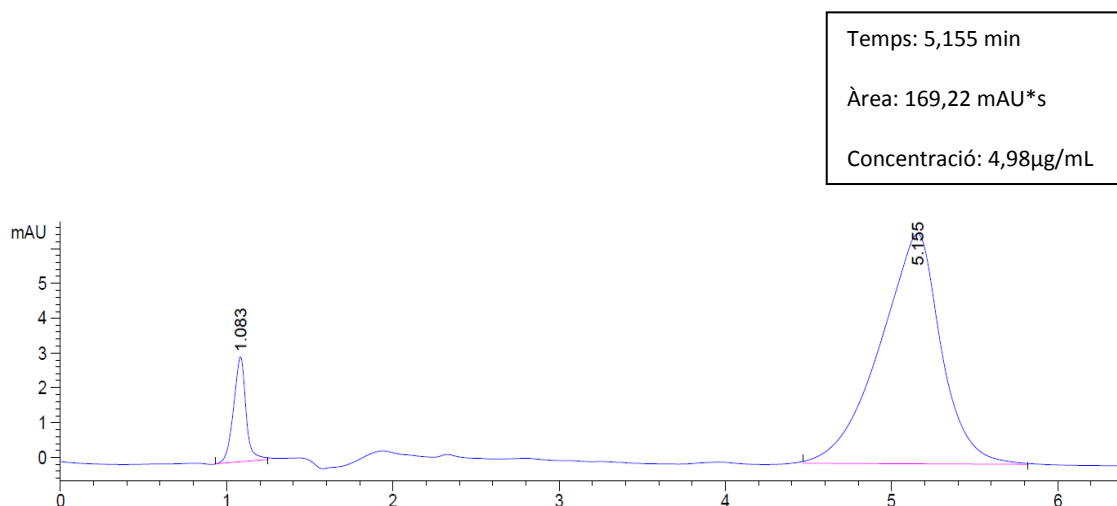


Figura 32: Cromatograma de la solució d'alaclor abans de la sorció.

(Ci)

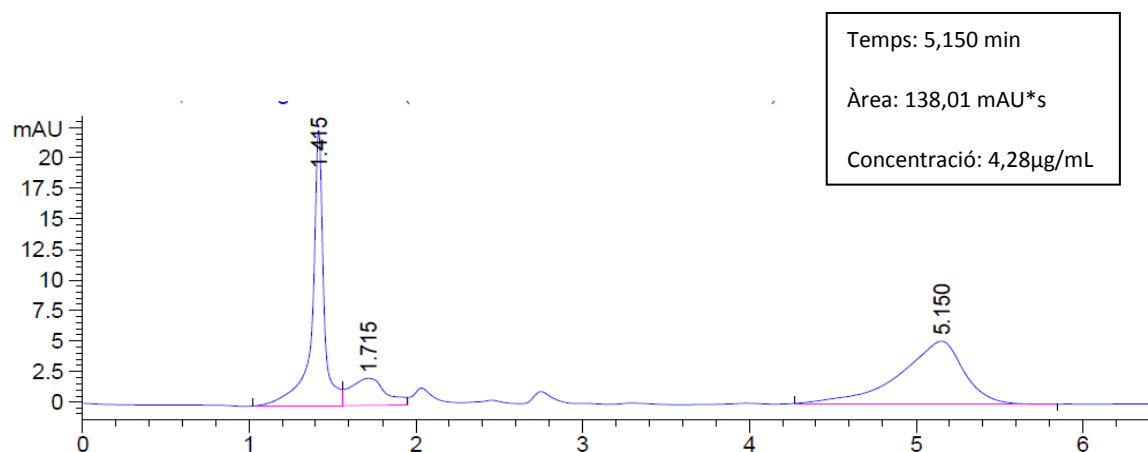


Figura 33: Cromatograma de la solució d'alaclor després de la sorció amb suro CAT-1.

(suro)

4.2.4.2.4 Intensitat i eficiència de sorció.

En la **Taula 23** es mostren els resultats dels càlculs realitzats segons les **equacions 4 i 5** corresponents a la intensitat de sorció (μg pesticida adsorbit/g sorbent) i l'eficiència d'adsorció (% de pesticida adsorbit) de l'alaclor amb cadascuna de les fraccions de suro utilitzades com a sorbent.

Taula 23: Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció de l'alaclor (concentració teòrica inicial: $5\mu\text{g/mL}$) segons la fracció de suro utilitzada.

Mostra	Concentració ($\mu\text{g/mL}$)	Cs ($\mu\text{g/g}$)	% adsorció
Ci	4,98		
suro	4,28	2768,04	13,91
alif	4,09	3539,15	17,78
fen	3,83	4599,42	23,11
ext	4,24	2958,55	14,86
desub	4,38	2367,75	11,89
sub	4,08	3587,91	18,02

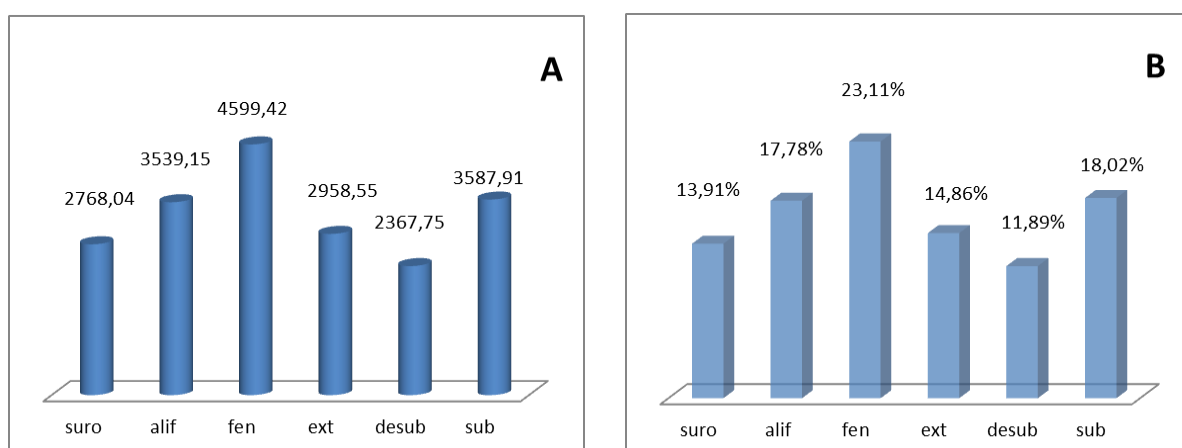


Figura 34: Intensitat d'adsorció (A) (μg de pesticida/g de sorbent) i eficiència de sorció (B)(%) de l'alaclor segons la fracció de suro utilitzada com a sorbent.

4.2.4.2.5 Anàlisi espectroscòpica per FTIR de les fraccions sòlides.

Els canvis en la freqüència de vibració dels enllaços dels àtoms que componen les mostres sòlides de sorbent analitzades com a conseqüència de l'adsorció de l'alaclor s'indiquen en la

Taula 24. En la **Figura 35** es pot observar l'espectre obtingut per la mostra de suro comparat amb els seu respectiu blanc.

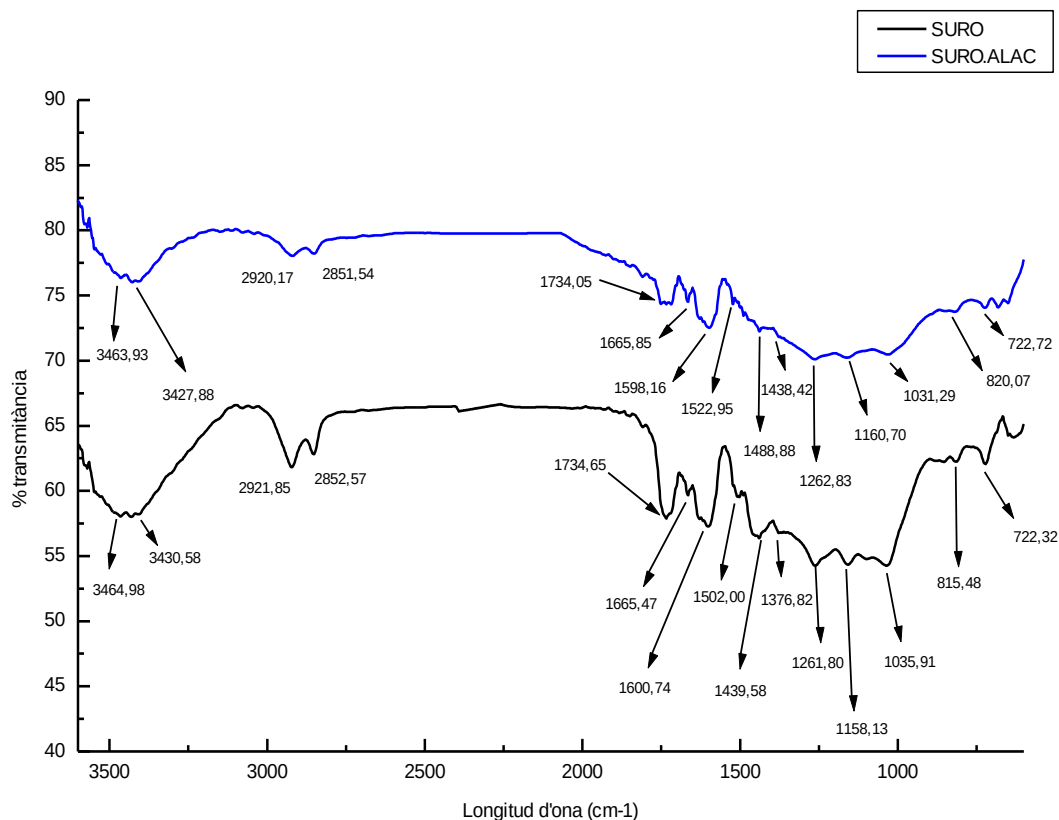


Figura 35: Espectre d'infraroig del suro abans i després de l'adsorció d'alaclor

Taula 24: Variació de les vibracions dels àtoms del suro deguda a l'adsorció de l'alacor.

		Longituds d'ona (cm-1)							
Component químic	Grup funcional	Suro	Suro + alaclor	Alif.	Alif. + alaclor	Fen.	Fen. + alaclor	Ext.	Ext. + alaclor
aigua, polisacàrids, extractius	OH	3464,98	3463,93	3464,96	3464,36	3464,79	3464,45	3465,11	3464,20
		3430,58	3427,88	3428,90	3428,85	3428,97	3428,79	3429,28	3428,78
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2921,85	2920,17	2922,82	2917,66	2919,72	2915,76	2919,39	2915,89
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2852,57	2851,54	2853,52	2850,34	2851,21	2845,84	2851,80	2850,18
suberina, extractius	C=O (èsters)	-	-	-	-	1752,31	1752,67	1752,35	1752,16
	C=O (àcids)	1734,65	1734,05	1734,33	1733,75	-	-	-	-
		-	-	-	-	1719,09	1718,34	1719,11	1718,53
lignina / aigua	C=O ("stretching"), deformació HOH	1665,47	1665,85	1665,93	1665,87	1665,87	1665,94	1666,11	1665,85
		1600,74	1598,16	1595,64	1596,66	1594,58	1594,45	1594,63	1595,87
lignina, extractius	vibracions anell aromàtic	1502,00	1522,95	1523,38	1522,91	1523,53	1523,43	1523,58	1523,20
lignina	deformació CH	-	1488,88	-	-	1474,28	1488,70	1474,53	1474,44
lignina	vibracions anell aromàtic	1439,58	1438,42	1439,51	1438,29	1438,52	1438,25	1438,60	1438,27
extractius	CH	1376,82	-	1376,90	-	-	-	-	-
suberina, polisacàrids, lignina	C-O ("stretching")	1261,80	1262,83	1260,80	1264,33	1262,28	1263,95	1260,95	1266,32
suberina	vibració COC	1158,13	1160,70	1155,92	1154,27	1157,01	-	-	-
polisacàrids	C-O ("stretching")	1035,91	1031,29	1026,54	1032,88	1025,97	1025,39	1025,91	1028,35
lignina	deformacions CH anell aromàtic	815,48	820,07	814,44	818,88	814,44	821,50	817,49	819,92
suberina, extractius	C=C	722,32	722,72	724,16	722,33	726,88	730,17	726,78	721,64
	Pic atribuït a l'adsorció del pesticida								

4.2.4.2.6 Discussió.

L'alaclor és un pesticida de caràcter iònic ($pK_a=0,62$) que en dissolució aquosa actua com a base. A pHs pròxims a 8, la major part de les seves molècules estan en forma molecular i només un 9%, aproximadament, estaran carregades positivament.

Tenint en compte l'estructura molecular de l'alaclor (**Taula 2, pàgina 29**), la forma en la que es troba, la càrrega superficial negativa del suro i la distribució dels seus components químics en la paret cel·lular, les interaccions que poden tenir lloc són (Keiluweit and Kleber, 2009):

- Interacció π - π entre els anells benzènics dels components químics del suro i de l'alaclor.
- Interacció n - π entre els electrons lliures dels grups carboxil i hidroxil desprotonats ($-COO^-$, $-OH$) dels components químics del suro i els anells benzènics de l'alaclor.
- Interacció catió- π entre el grup amino protonat ($-N^+(R)_2$) de l'alaclor ($pK_a = 0,62$) i els anells benzènics de la lignina.

En la **Figura 34** es pot observar com:

- El suro presenta més afinitat per adsorbir l'alaclor a mesura que es va quedant sense extractius (d'un 14 a un 18% quan se li extreuen els components alifàtics i d'un 18 a un 23% quan es queda sense els extractius fenòlics de caràcter més apolar).

Per tant sembla indicar que aquests extractius inhibeixen la interacció entre l'alaclor i els compostos químics del suro, dificultant la penetració a la matriu de suro.

- Quan s'han extret tots els polifenols la seva capacitat per retenir el pesticida disminueix d'un 23 a un 15%.

Aquesta disminució podria ser deguda, a la pèrdua d'anells benzènics i de grups hidroxil presents en els extractius.

La **Taula 24** reflexa les variacions en les longituds d'ona de les vibracions dels àtoms del suro i de les seves fraccions degudes a l'adsorció del pesticida. Fixant-nos en aquesta taula i en la **Figura 35** on es poden veure les variacions en les intensitats de les bandes de transmissió de l'espectre del suro, les diferències més destacables entre abans i després de la sorció de l'alaclor en el cas del suro són:

- La disminució de la intensitat dels pics a 2921 i 2852 cm^{-1} atribuïts als enllaços C-H de cadenes alifàtiques, principalment de la suberina.
- El desplaçament del pic atribuït a les vibracions d'anells aromàtics que passa de 1502 a 1522 cm^{-1} .
- El desplaçament del pic atribuït al "stretch" d'enllaços C-O que passa de 1035 a 1031 cm^{-1} .
- El desplaçament del pic atribuït als enllaços C-H d'anells aromàtics, principalment de la lignina, que passa de 815 a 820 cm^{-1} .

A mesura que s'eliminen els extractius, s'observa com les vibracions dels grups principals de la lignina segueixen veient-se modificades mentre que pics característics de la suberina prenen rellevància:

- En extreure els extractius alifàtics, els pics atribuïts a la suberina a 2922 i 2853 cm^{-1} passen a 2917 i 2850 cm^{-1} respectivament, el pic atribuït al "stretch" d'enllaços C-O passa de 1260 a 1264 cm^{-1} i el pic de la lignina a 814 cm^{-1} passa a 818 cm^{-1} .
- En extreure els extractius fenòlics amb etanol els pics atribuïts a la suberina a 2919 , 2851 i 726 cm^{-1} passen a 2915 , 2845 i 730 cm^{-1} respectivament i els pics de la lignina a 1474 i 814 cm^{-1} passen a 1488 i 821 cm^{-1} respectivament.
- En absència de tots els extractius, els pics atribuïts a la suberina a 2919 i 726 cm^{-1} passen a 2915 i 721 cm^{-1} respectivament, el pic atribuït al "stretch" d'enllaços C-O passa de 1260 a 1266 cm^{-1} i el pic de la lignina a 817 cm^{-1} passa a 819 cm^{-1} .

Així doncs, a partir dels resultats obtinguts es pot concloure que la lignina i la suberina intervenen en el procés de sorció amb l'alaclor. Per tant, d'entre les possibles interaccions abans esmentades, les més influents són les $n-\pi$ i les $\pi-\pi$ relacionades principalment amb els anells benzènics de la lignina i del pesticida, essent la interacció catió- π la menys influent en la sorció, donat que la major part del pesticida (aproximadament el 91%) es troba en la seva forma molecular estable a $\text{pH} > \text{pK}_a$.

4.2.4.3 2,4-D

4.2.4.3.1 pH de les fases líquides.

Es mesuren els pHs de les fases líquides abans i després del procés de sorció per tal de determinar la influència d'aquest paràmetre en dit procés.

Taula 25: pH de les dissolucions de 2,4-D abans i després de la sorció amb cada fracció.

abans de la sorció		després de la sorció	
Solució	pH	Solució	pH
2,4-D	3,63	"Suro"	2,79
		"Alif."	3,53
		"Fen."	5,58
		"Ext."	5,39
		"Desub."	5,42
		"Sub."	5,31

4.2.4.3.2 Corba de calibració del 2,4-D.

Per tal de calcular la concentració de 2,4-D restant en la solució després d'estar en contacte amb cadascuna de les fraccions del suro, es determina una corba de calibració a partir de 4 solucions estàndard de pesticida (0,2µg/mL ; 0,5µg/mL; 1,0µg/mL i 2,0 µg/mL) que cobreixen el rang de concentracions esperades.

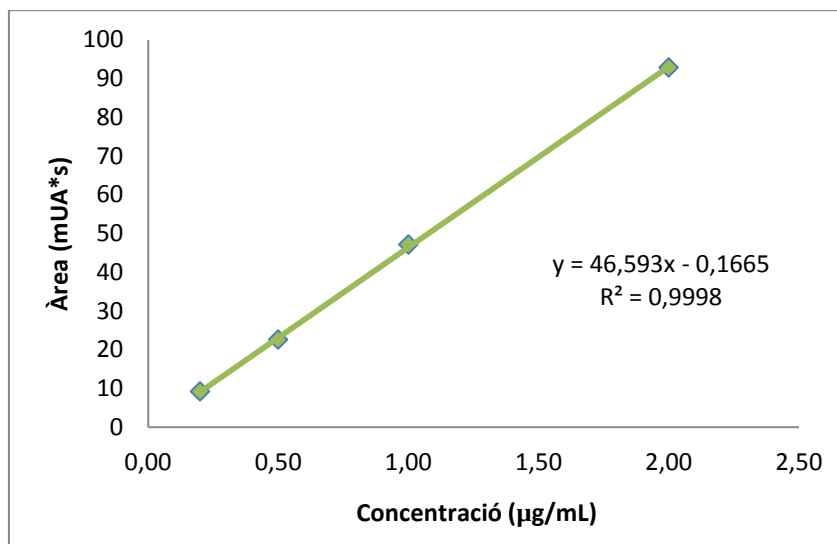


Figura 36: corba de calibració del 2,4-D.

(rang de concentracions: 0,2-2µg/mL)

4.2.4.3.3 Anàlisi cromatogràfica per HPLC de les fases líquides

Les **Figures 37 i 38** corresponen als cromatogrames obtinguts en les anàlisis per HPLC de les solucions de 2,4-D abans i després de la sorció amb suro.

Les concentracions, calculades a partir de la corba de calibració, corresponents a aquests cromatogrames i als obtinguts per la resta de fraccions es resumeixen en la **Taula 26**.

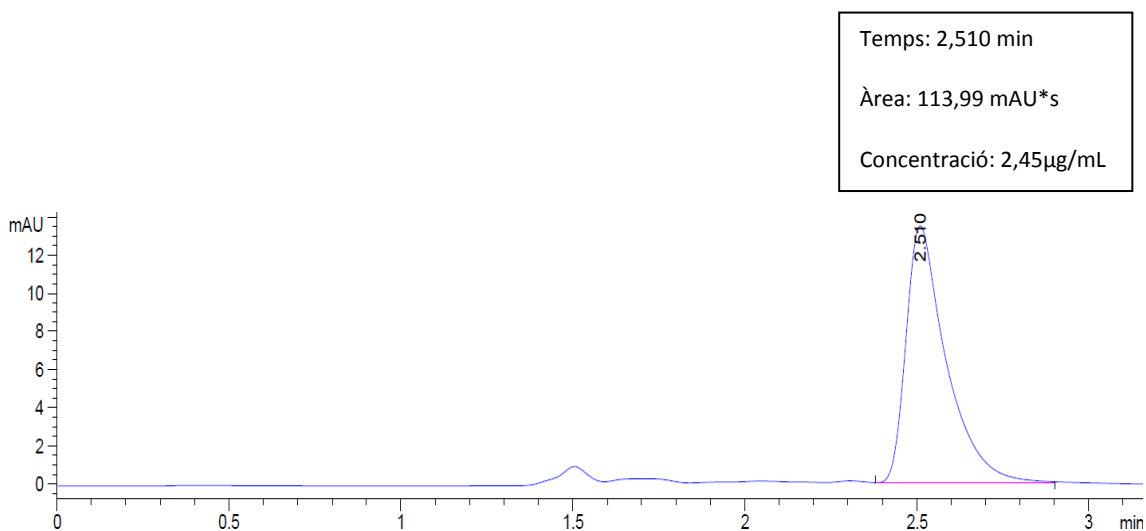


Figura 37: Cromatograma de la solució de 2,4-D abans de la sorció.

(Ci)

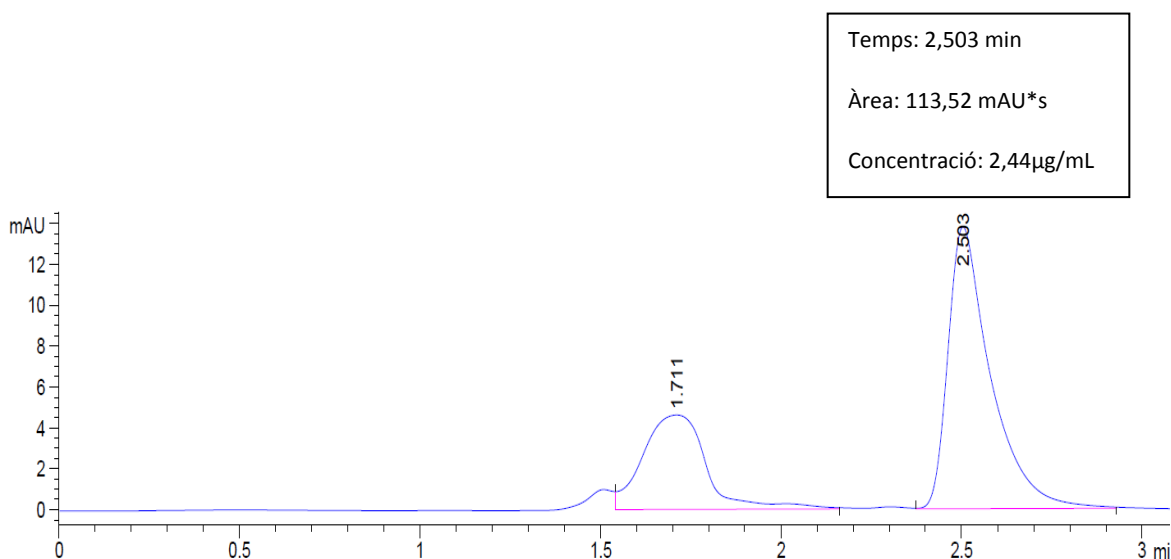


Figura 38: Cromatograma de la solució de 2,4-D després de la sorció amb suro (CAT-1).

(suro)

4.2.4.3.4 Intensitat i eficiència de sorció.

En la **Taula 26** es mostren els resultats dels càlculs realitzats segons les **equacions 4 i 5** corresponents a la intensitat de sorció (μg pesticida adsorbit/g sorbent) i l'eficiència d'adsorció (% de pesticida adsorbit) del 2,4-D amb cadascuna de les fraccions de suro utilitzades com a sorbent.

Taula 26: Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció del 2,4-D (concentració teòrica inicial: $2\mu\text{g/mL}$) segons la fracció de suro utilitzada.

Mostra	Concentració ($\mu\text{g/mL}$)	Cs ($\mu\text{g/g}$)	% adsorció
Ci	2,45		
suro	2,44	36,14	0,37
alif	2,50	< 1,00	< 0,10
fen	2,43	101,30	1,03
ext	2,44	39,63	0,40
sub	2,53	< 1,00	< 0,10

4.2.4.3.5 Discussió.

Tal com s'ha pogut observar a partir de les dades obtingudes en els assajos de sorció amb cadascuna de les fraccions, el 2,4-D no mostra afinitat a ser adsorbit per cap de les mostres sòlides utilitzades (un 1% d'adsorció en el cas més favorable).

Per interpretar aquests resultats cal tenir en compte que el 2,4-D és un pesticida de caràcter iònic ($pK_a=2,64$) que en dissolució aquosa actua com a àcid. A $pH > pK_a$ els seus grups carboxílics es desprotonen ($-COO^-$) quedant aquest carregat negativament.

Així doncs, considerant també la càrrega superficial negativa del suro i la distribució dels seus components químics en la paret cel·lular, cal suposar que s'origina una repulsió electrostàtica que impedeix l'adsorció del pesticida.

El fet que amb les altres fraccions la sorció sigui igualment baixa fa pensar que la superfície d'aquestes fraccions també està carregada negativament.

4.2.4.4 Clorpirifos.

4.2.4.4.1 Corba de calibració del clorpirifos.

Per tal de calcular la concentració de clorpirifos restant en la solució després d'estar en contacte amb cadascuna de les fraccions del suro, es determina una corba de calibració a partir de 5 solucions estàndard de pesticida (1,0µg/mL ; 5,0µg/mL; 10,0µg/mL; 20,0 µg/mL i 40µg/mL) que cobreixen el rang de concentracions esperades.

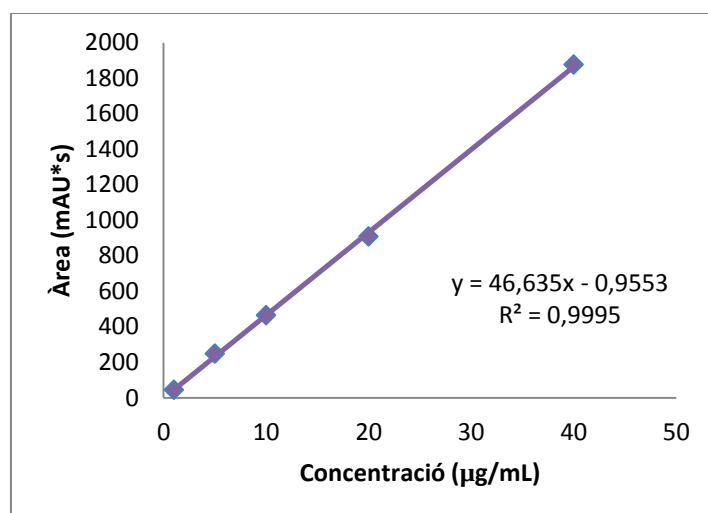


Figura 39: corba de calibració del clorpirifos.

(rang de concentracions: 1 - 40µg/mL)

4.2.4.4.2 Anàlisi cromatogràfica per HPLC de les fases líquides

Les **Figures 40 i 41** corresponen als cromatogrames obtinguts en les anàlisis per HPLC de les solucions de clorpirifos abans i després de la sorció amb suro.

Les concentracions, calculades a partir de la corba de calibració, corresponents a aquests cromatogrames i als obtinguts per la resta de fraccions es resumeixen en la **Taula 27**.

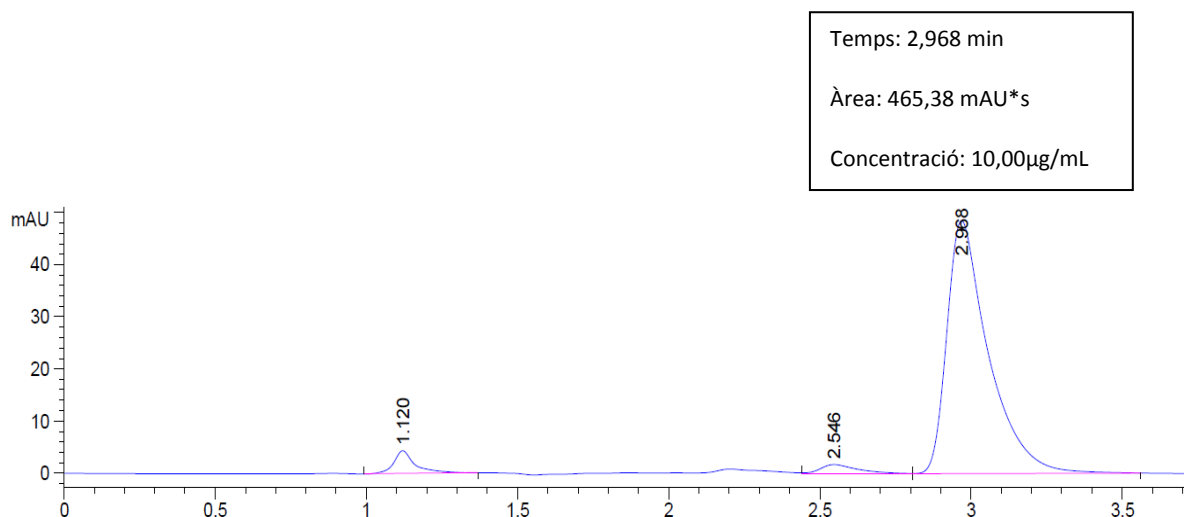


Figura 40: Cromatograma de la solució de clorpirifos abans de la sorció.

(Ci)

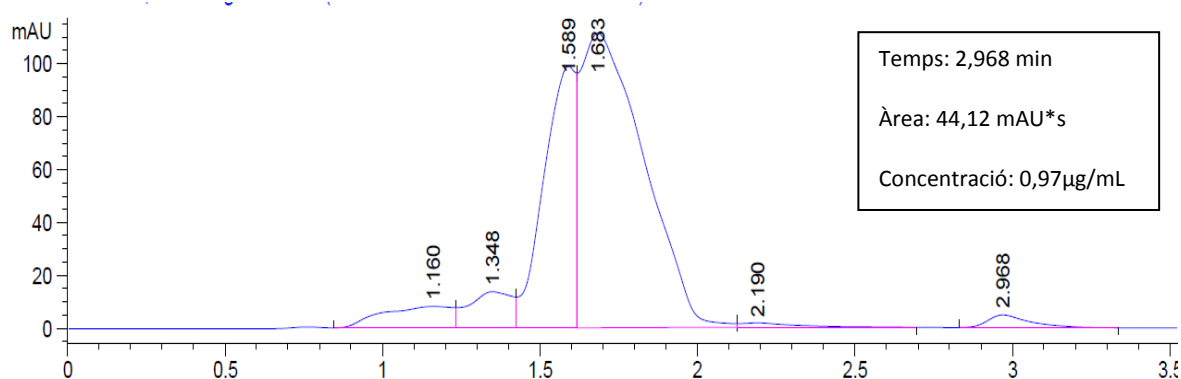


Figura 41: Cromatograma de la solució de clorpirifos després de la sorció amb suro (EXT-6).

(suro - ext)

Taula 27: Concentració de les solucions de clorpirifos (concentració teòrica inicial: 40µg/mL) abans i després de la sorció amb cada fracció i concentració de les neteges amb acetonitril corresponents a cada recipient.

Mostra	Concentració (µg/mL)							
	concentració en solució	neteja1	neteja2	neteja3	neteja4	neteja5	neteja6	sumatori
Ci	10,00	15,30	1,30	1,16	1,10	1,27	0,95	31,09
suro -ext	0,97	1,74	1,42	0,92	1,06	1,14	1,44	8,68
ext-ext	1,08	2,00	1,65	2,26	< 0,10			6,98
desub-ext	1,14	0,70	0,63	0,92	< 0,10			3,39
sub-ext	12,19	2,37	1,03	< 0,10				15,59

4.2.4.4.3 Intensitat i eficiència de sorció.

En la **Taula 28** es mostren els resultats dels càlculs realitzats segons les **equacions 4 i 5** corresponents a la intensitat de sorció (µg pesticida adsorbit/g sorbent) i l'eficiència d'adsorció (% de pesticida adsorbit) del clorpirifos amb cadascuna de les fraccions de suro utilitzades com a sorbent.

Les concentracions finals utilitzades en el càlculs es determinen com a sumatori de les concentracions de pesticida detectades en les solucions i en cadascuna de les neteges corresponents als seus respectius recipients.

Taula 28: Eficiència (%) i intensitat (Cs) d'adsorció del clorpirifos (concentració teòrica inicial: 40µg/mL) segons la fracció de suro utilitzada.

Mostra	Concentració (µg/mL)	Cs (µg/g)	% adsorció
Ci	31,09		
suro -ext	8,68	3360,75	72,08
ext-ext	6,98	3615,40	77,54
desub-ext	3,39	4154,91	89,11
sub-ext	15,59	2324,13	49,84

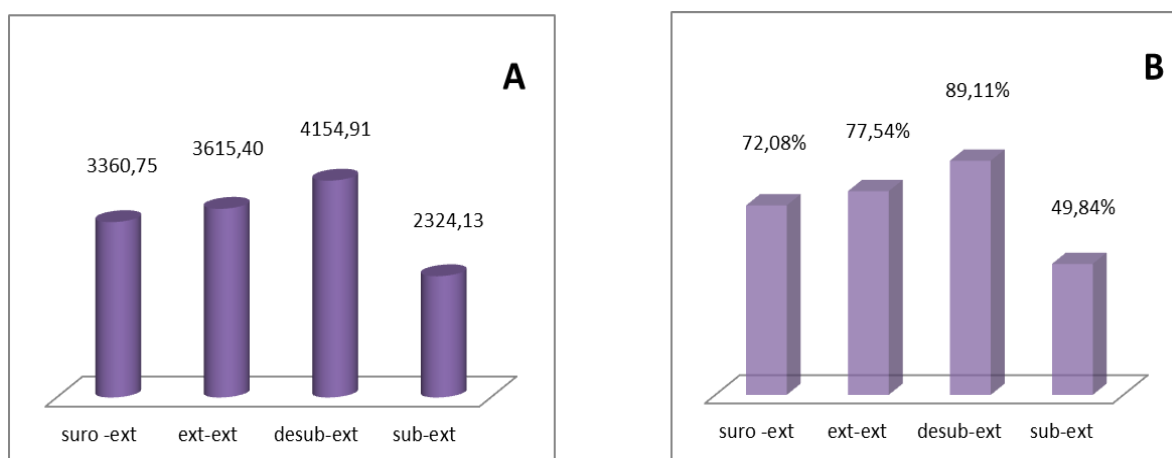


Figura 42: Intensitat d'adsorció **(A)** (µg de pesticida/g de sorbent) i eficiència de sorció **(B)**(%) del clorpirifos segons la fracció de suro utilitzada com a sorbent.

4.2.4.4.4 Anàlisi espectroscòpica per FTIR de les fraccions sòlides.

Els canvis en la freqüència de vibració dels enllaços dels àtoms que componen les mostres sòlides de sorbent analitzades com a conseqüència de l'adsorció del clorpirifos s'indiquen en la **Taula 29**. En la **Figura 43** es pot observar l'espectre obtingut per la mostra de suro comparat amb els seu respectiu blanc.

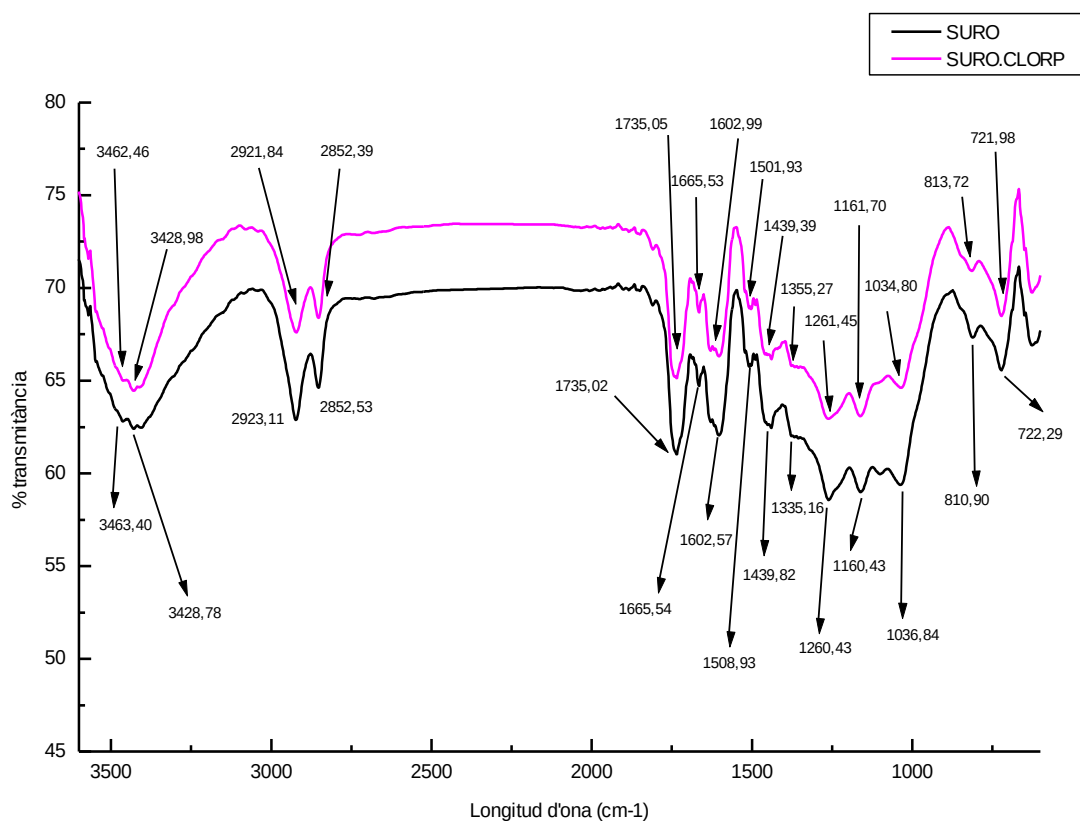


Figura 43: Espectre d'infraroig del suro abans i després de l'adsorció de clorpirifos

Taula 29: Variació de les vibracions dels àtoms del suro deguda a l'adsorció del clorpirifos.

Component químic	Grup funcional	Longituds d'ona (cm ⁻¹)					
		Suro	Suro + clorpirifos	Ext.	Ext. + clorpirifos	Desub.	Desub. + clorpirifos
aigua, polisacàrids, extractius	OH	3463,40	3462,46	3464,01	3463,66	3463,61	3463,41
		3428,78	3428,98	3428,94	3430,09	3428,78	3430,45
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2923,11	2921,84	2922,39	2917,72	2921,27	2917,75
suberina	CH alifàtic ("stretching")	2852,53	2852,39	2853,31	2851,70	2852,27	2851,21
suberina, extractius	C=O (èsters)	-	-	1752,33	1750,87	1751,67	1751,36
suberina, extractius	C=O (àcids)	1735,02	1735,05	1733,36	1733,66	1733,64	1734,19
lignina / aigua	C=O ("stretching"), deformació HOH	1665,54	1665,53	1665,63	1665,50	1665,65	1665,70
		1602,57	1602,99	1596,1	1599,90	1598,19	1599,54
lignina, extractius	vibracions anell aromàtic	1508,93	1501,93	1523,46	1522,89	1523,17	1523,04
lignina	deformació CH	-	-	1473,96	1489,07	1489,10	1489,26
lignina	vibracions anell aromàtic	1439,82	1439,39	1438,56	1438,43	1438,67	1438,69
extractius	CH	1335,16	1355,27	-	-	-	-
suberina, polisacàrids, lignina	C-O ("stretching")	1260,43	1261,45	1261,82	1262,14	1260,71	1261,05
suberina	vibració COC	1160,43	1161,70	1152,82	1158,42	1157,27	1160,01
polisacàrids	C-O ("stretching")	1036,84	1034,80	1026,95	1031,12	1029,07	1030,69
lignina	deformacions CH anell aromàtic	810,90	813,72	816,66	823,25	814,69	822,32
suberina, extractius	C=C	722,29	721,98	735,43	724,29	724,99	724,24
	Pic atribuït a l'adsorció del pesticida						

4.2.4.4.5 Discussió

El clorpirifos és un pesticida de caràcter molecular, per tant la seva càrrega és neutra a qualsevol pH.

Tenint en compte l'estructura molecular del clorpirifos (**Taula 2, pàgina 29**), la càrrega superficial negativa del suro i la distribució dels seus components químics en la paret cel·lular, les interaccions que poden tenir lloc són (Keiluweit and Kleber, 2009):

- Efecte hidrofòbic ($\log K_{ow} = 4,92$)
- Interacció π - π entre els anells benzènics dels components químics del suro (principalment lignina) i del clorpirifos.
- Interacció n - π entre els electrons lliures dels grups carboxil desprotonats ($-\text{COO}^-$) dels components químics del suro (principalment lignina) i els anells benzènics del clorpirifos.

En la **Figura 42** s'observa com:

- La quantitat de clorpirifos adsorbida pel suro varia de d'un 72 a un 77% en absència d'extractius.
- En extreure la suberina el percentatge d'adsorció augmenta fins a un 89%.

Aquests augments poden ser deguts a que, sense els extractius i sobretot sense la suberina, l'estructura cel·lular del sòlid ofereix menys resistència al pas del pesticida per infiltrar-se a través de la matriu i poder interaccionar amb la lignina de la segona capa.

La **Taula 29** reflexa les variacions en les longituds d'ona de les vibracions dels àtoms del suro i de les seves fraccions degudes a l'adsorció del pesticida. Fixant-nos en aquesta taula i el la **Figura 43** on es poden veure les variacions en les intensitats de les bandes de transmissió de l'espectre del suro, les diferències més destacables entre abans i després de la sorció del clorpirifos en el cas del suro són:

- El desplaçament del pic atribuït a les vibracions d'anells aromàtics que passa de 1508 a 1501 cm^{-1} .
- El desplaçament del pic atribuït als enllaços C-H principalment dels extractius que passa de 1335 a 1355 cm^{-1} .
- El desplaçament del pic atribuït als enllaços C-H d'anells aromàtics principalment de la lignina que en l'espectre del suro varia de 810 a 813 cm^{-1} , i que es veu modificat també en tots i cadascun dels espectres de les diferents fraccions.

En eliminar els extractius totals s'observen variacions en alguns pics atribuïts a la suberina (de 2922, 1152 i 735 cm^{-1} passen a 2917, 1158 i 724 cm^{-1} respectivament) i una variació de fins a 15 unitats en la longitud d'ona de vibració corresponent a la deformació dels enllaços C-H d'anells aromàtics atribuïts a la lignina, que passa de 816 cm^{-1} a 823 cm^{-1} i que segueix essent el pic més destacable en l'espectre de la mostra lliure d'extractius totals i de suberina amb una diferència de 6 unitats (de 814 a 822 cm^{-1}).

Així doncs, a partir dels resultats obtinguts es pot determinar que els factors més influents en l'adsorció del clorpirifos són la seva elevada hidrofobicitat que el conduiria a repel·lir l'aigua i a dirigir-se cap a les partícules del suro amb les quals interaccionaria principalment amb la lignina a través d'interaccions $\pi - \pi$ entre anells benzènics.

5 CONCLUSIONS.

En aquest estudi s'ha avaluat la capacitat del suro com a material adsorbent de quatre pesticides aromàtics amb diferents propietats químiques i s'ha investigat la influència dels seus compostos químics principals en aquest procés de sorció.

Els pesticides sotmesos a sorció han estat:

- Metamitron: poc hidrofòbic ($\log K_{ow} = 0.83$) i de caràcter molecular.
- Alaclor: moderadament hidrofòbic ($\log K_{ow} = 2.80$) i de caràcter iònic ($pK_a = 0.62$)
- 2,4-D: moderadament hidrofòbic ($\log K_{ow} = 2.81$) i de caràcter iònic ($pK_a = 2.64$)
- Clorpirifos: molt hidrofòbic ($\log K_{ow} = 4.92$) i de caràcter molecular.

Els components químics principals del suro són la suberina (35-50%), la lignina (15-25%), els polisacàrids (10-20%) constituïts principalment per cel·lulosa i hemicel·lulosa i els extractius (10-15%) que es diferencien en extractius alifàtics i extractius fenòlics.

Per tal d'avaluar la influència d'aquests compostos químics en la sorció de pesticides, s'han aïllat sis fraccions diferents d'aquest material:

- Suro
- Suro lliure d'extractius alifàtics.
- Suro lliure d'extractius alifàtics i fenòlics.
- Suro lliure de tots els extractius.
- Suro lliure d'extractius i de suberina.
- Suberina.

S'ha obtingut l'anàlisi elemental d'aquestes fraccions i s'observa que l'índex de polaritat disminueix de 0,344 (mostra de suro) a 0,324 (mostra lliure de tots els extractius).

Mitjançant la tècnica de piròlisi metilació amb TMAH, s'han identificat els monòmers de la suberina, d'entre els quals predominen els àcids dioics (25%) i els àcids hidroxicarboxílics (25%).

A través de l'anàlisi de les fases líquides per HPLC abans i després dels assajos de sorció amb el suro, s'ha determinat que per les concentracions inicials de metamitron ($2\mu\text{g/mL}$), alaclor ($5\mu\text{g/mL}$), 2,4-D ($2\mu\text{g/mL}$) i clorpirifos ($40\mu\text{g/mL}$) els percentatges de sorció han estat de l'ordre del 16%, 14%, 0,3% i 72%, respectivament; per tant podem dir que, amb més o menys mesura, el suro resulta ser un material apte per adsorbir tots els pesticides analitzats excepte el 2,4-D, degut a la repulsió electrostàtica que es genera entre la superfície del suro i el pesticida.

Un cop s'extreuen els extractius de la matriu de suro, s'observa que aquests ofereixen resistència a l'accés del pesticida a la matriu i que per tant inhibeixen la seva sorció. Això ho constatem ja que després de la seva eliminació la capacitat de sorció augmenta:

- En el cas del clorpirifos, el percentatge d'eliminació respecte la concentració inicial augmenta d'un 72% (suro) a un 77% (suro lliure d'extractius).
- En el cas de l'alaclor, en eliminar els extractius alifàtics, el rendiment de la sorció augmenta d'un 14 a un 18% i en eliminar posteriorment els extractius fenòlics augmenta fins a un 23%. Tanmateix, cal destacar que els extractius fenòlics de caràcter més apolar juguen un paper important en la retenció d'aquest pesticida, ja que després de la seva eliminació la sorció disminueix del 23 al 15%.
- En canvi en el cas del metamitron, en eliminar els extractius alifàtics i fenòlics no s'observa una variació significant (de 16,02% a 16,07%). Això pot ser degut a algun impediment estèric que dificultaria la penetració del metamitron dins la matriu de suro.

Pel que fa al paper de la suberina en la sorció d'aquests pesticides, s'observa un lleuger augment de la capacitat de sorció de la mostra desuberitzada respecte la mostra lliure d'extractius (d'un 14 a un 18% en el cas del metamitron i d'un 77 a un 89% en el cas del clorpirifos).

Així doncs, dels compostos químics principals del suro, la màxima responsable de la sorció és la lignina, fet que es corrobora per FTIR.

La suberina, posada en contacte directe amb cada pesticida, presenta un percentatge de sorció que va des del 13% pel metamitron fins el 50% pel clorpirifos.

Gràcies a l'anàlisi espectroscòpica per FTIR de les fraccions sòlides abans i després de la sorció amb els pesticides s'ha pogut observar que, en general, els grups funcionals que es veuen més alterats són els relacionats amb la lignina: els grups C-O ("stretching") a aproximadament 1035 cm^{-1} , la vibració dels anells aromàtics de la lignina a aproximadament 1500 cm^{-1} i la deformació dels enllaços C-H relacionats amb aquests anells a aproximadament 814 cm^{-1} ; fet que corrobora la rellevància de la lignina en la sorció dels pesticides.

Finalment, les interaccions que hi poden intervenir en el procés de sorció entre el pesticida i el suro són:

- Interaccions $\pi - \pi$ entre els anells aromàtics de la lignina i dels pesticides.
- Interaccions $n - \pi$ entre els grups carboxílics desprotonats (COO^-) del suro i els anells aromàtics dels pesticides.

Tanmateix, per tal de saber quina és la interacció predominant, serien necessaris estudis amb tècniques de modelització molecular que determinen l'estabilitat energètica de l'adducte.

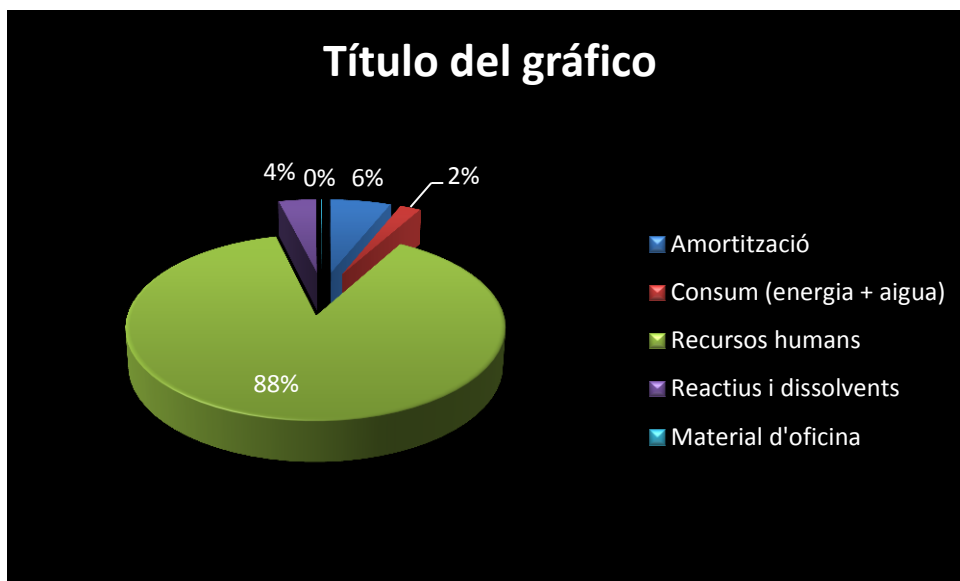
6 PRESSUPOST.

El cost d'aquest estudi ve donat com a la suma de les despeses generades durant la seva realització.

Així doncs, s'ha tingut en compte:

- El cost d'inversió inicial dels aparells i material de laboratori utilitzats en les anàlisis.
Aquesta despesa es quantifica com a l'amortització pel seu ús.
- El cost de recursos humans fa referència en el sou del treballador pel desenvolupament de l'estudi. Aquesta despesa es detalla segons hores de treball experimental (a 20€/hora) i hores d'oficina (a 10€/hora)
- El cost dels reactius i dissolvents emprats (pesticides, dissolvents orgànics, dissolvents inorgànics, etc.)
- Consum d'aigua i energia i material d'oficina. (valors aproximats dels recursos)

Concepte	hores	preu/hora (€)	Cost (€)	
Amortització	800	1,83	1.465,56	
Consum (energia + aigua)			500,00	
Recursos humans	800	20,00	16.000,00	
	500	10,00	5.000,00	
Reactius i dissolvents			900,00	
Material d'oficina			30,00	
		Total:	23.895,56 €	



Com es pot observar, el cost principal de l'estudi (88%) recau en el sou dels treballadors que el desenvolupen.

Cal destacar que el cost corresponent als equips necessaris per dur a terme l'estudi (Amortització) seria molt superior a un 6% del cost total si aquest tingués lloc en laboratoris aliens a la universitat, ja que aleshores caldria comptabilitzar-se com a preu de lloguer dels equips per hores d'ús en comptes de com a amortització per hores.

7 PLANIFICACIÓ.

Nom de projecte			Estudi de la capacitat del suro com a material adsorbent de pesticides. Influència dels components químics del suro en la sorció. (1)											
Tasca			set-12				oct-12				nov-12			
			1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.		DEFINICIÓ DEL PROJECTE												
	1.1.	Recerca i estudi d'informació												
	1.2.	Redacció de la introducció i els objectius												
2.		PART EXPERIMENTAL												
	2.1.	Estudi dels pesticides												
	2.2.	Determinació del rati òptim sorbent/solució												
	2.2.1.	Estudi sobre l'efecte de la massa												
	2.2.2.	Estudi sobre l'efecte del volum												
	2.3.	Obtenció de les fraccions del suro												
	2.3.1.	Extracció dels extractius alifàtics												
	2.3.2.	Extracció dels extractius fenòlics amb etanol												
	2.3.3.	Extracció dels extractius fenòlics amb aigua												
	2.3.4.	Isolació de la suberina												
	2.4.	Assajos de sorció amb les fraccions i anàlisis per HPLC												
	2.5.	Anàlisis per FTIR												
3.		REDACCIÓ DE LA MEMÒRIA												
		Reunió amb la tutora												

Nom de projecte			Estudi de la capacitat del suro com a material adsorbent de pesticides. Influència dels components químics del suro en la sorció. (2)											
Tasca			dec-12				gen-13				feb-13			
			1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.		DEFINICIÓ DEL PROJECTE												
	1.1.	Recerca i estudi d'informació												
	1.2.	Redacció de la introducció i els objectius												
2.		PART EXPERIMENTAL												
	2.1.	Estudi dels pesticides												
	2.2.	Determinació del rati òptim sorbent/solució												
	2.2.1.	<i>Estudi sobre l'efecte de la massa</i>												
	2.2.2.	<i>Estudi sobre l'efecte del volum</i>												
	2.3.	Obtenció de les fraccions del suro												
	2.3.1.	<i>Extracció dels extractius alifàtics</i>												
	2.3.2.	<i>Extracció dels extractius fenòlics amb etanol</i>												
	2.3.3.	<i>Extracció dels extractius fenòlics amb aigua</i>												
	2.3.4.	<i>Isolació de la suberina</i>												
	2.4.	Assajos de sorció amb les fraccions i anàlisi per HPLC												
	2.5.	Anàlisi per FTIR												
3.		REDACCIÓ DE LA MEMÒRIA												
		Reunió amb la tutora												

Nom de projecte			Estudi de la capacitat del suro com a material adsorbent de pesticides. Influència dels components químics del suro en la sorció. (3)											
Tasca			mar-13				abr-13				mai-13			
			1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.		DEFINICIÓ DEL PROJECTE												
1.1.		Recerca i estudi d'informació												
1.2.		Redacció de la introducció i els objectius												
2.		PART EXPERIMENTAL												
2.1.		Estudi dels pesticides												
2.2.		Determinació del rati òptim sorbent/solució												
		2.2.1. Estudi sobre l'efecte de la massa												
		2.2.2. Estudi sobre l'efecte del volum												
2.3.		Obtenció de les fraccions del suro												
		2.3.1. Extracció dels extractius alifàtics												
		2.3.2. Extracció dels extractius fenòlics amb etanol												
		2.3.3. Extracció dels extractius fenòlics amb aigua												
		2.3.4. Isolació de la suberina												
2.4.		Assajos de sorció amb les fraccions i anàlisi per HPLC												
2.5.		Anàlisi per FTIR												
3.		REDACCIÓ DE LA MEMÒRIA												
		Reunió amb la tutora												

ANNEXES

<u>Annex 1:</u> Preparació de la mostra per a l'anàlisi química lliure d'extractius	125
<u>Annex 2:</u> Isolació de la suberina	129
<u>Annex 3:</u> Elaboració de la pastilla de bromur de potassi	131
<u>Annex 4:</u> Anàlisi per FTIR	135
<u>Annex 5:</u> Determinació de pesticides mitjançant la tècnica HPLC	139
<u>Annex 6:</u> Informe de resultats de l'anàlisi elemental orgànica del suro i les seves fraccions...	143



1 Preparació mostra, % humitat i
% extractius *Quercus suber*



PROTOCOL 3. Preparació de la mostra per a l'anàlisi química lliure d'extractius.

Objectius.- Preparar les mostres de *Quercus Suber* lliure d'extractius per les anàlisis químiques posteriors i calcular el percentatge d'extractius. El protocol també descriu un procediment per calcular el percentatge d'humitat. Segons literatura el promig d'extractius en mostres de *Quercus suber* s'estima entre 14-17% (diclorometà: 5-8%; etanol: 4-6%; aigua: 3-4%).

Resum.- S'extreu la mostra amb dissolvents de polaritat creixent (diclorometà, etanol i aigua) amb la finalitat d'extraure els compostos de baix pes molecular que no formen part pròpiament de l'estructura macromolecular de la fusta i que poden interferir en les anàlisis posteriors.

Material i equipament

Didal "thimble"

Sistema d'extracció Soxhlet:

Recipient de 500 ml

Tub d'extracció (diàmetre intern 30-40 mm)

Condensador

Capacitat sífó 100 ml

Filtres de fibra de vidre

Manta calefactora

Bomba de buit

Embut Büchner i filtre

Matrau kitasato

Bany d'aigua

Erlenmeyer de 1000 ml

Gresols

Estufa i dessecador

Balança analítica

Reactius

diclorometà 98% ($P_{eb} = 40^{\circ}\text{C}$)

etanol 99,8% ($P_{eb} = 78.45^{\circ}\text{C}$)

aigua destil·lada

Precaucions de seguretat

Evitar contacte i inhalació del diclorometà. Utilitzar guants, ulleres i treballar amb mascareta i sota la campana de extractora de fums (24.4 m/min per garantir unes bones condicions de seguretat). Col·locar la manta calefactora de forma que en cas de sobreescalfament es pugui retirar. Evitar que el matràs quedi sense dissolvent ja que el matràs escalfat en contacte amb el líquid del sífó podria produir una explosió. **ATENCIÓ!!!**: Un reflux s'ha de controlar de forma constant degut a la perillositat dels dissolvents. També hi pot haver pujades de pressió de l'aigua i que es deixin anar els tubs.

Preparació de la mostra

1. Netejar i secar el material d'extracció
2. Pesar un baló de 500ml net i sec amb trossos de porcellana porosa (o gresols trencats) dins (per evitar el sobreescalfament i controlar la temperatura). Es realitzaran 2 rèpliques.
3. Pesar aproximadament uns 7 grs de mostra de *Quercus Suber* prèviament tamissada entre diàmetre de partícula 0.25-0.45 mm i posar-la en un didal.
Nota: Es necessiten uns 25 ml dissolvent/g de mostra (Castola et al., 2005). Segons TAPPI 204, 150 ml dissolvent per 4 g mostra (37.5 ml/g). Nota: Conde et al., 1999: The powdered cork (2 g, 0.5–1mm particle size) was successively and exhaustively extracted in Soxhlet with CHCl₃ (8 h), MeOH (8h). Nosaltres treballam amb un tamany de partícula més petit i per tant s'extraurà més bé.
4. Tapar el didal amb dos filtres de fibra de vidre per evitar pèrdues de mostra i col·locar-lo el cartutx en el cos d'extracció. Controlar que els dos filtres tanquin perfectament el didal, no s'ha de veure mostra de suro.
5. **1^{ERA} EXTRACCIÓ DCM**: Omplir amb 300 ml de diclorometà el baló pesat inicialment i adaptar-ho al Soxhlet (FIGURA 1): posar el baló dins la manta, afegir el cos mig, posar dins el cos el didal amb la mostra i encaixar el condensador. Posar en marxa el condensador i després la manta calefactora.
6. Ajustar la manta calefactora de manera que es portin a terme unes 24 extraccions: posició al màxim i nivell 8 (no menys de 4 sifonades per hora, segons norma), es necessiten 6 hores.
7. Un cop passades les 6 hores, parar l'equip d'extracció. Treure el didal amb unes pinces (amb compte per a que no es trenqui el didal) i posar-lo dins un vas de precipitats etiquetat amb el codi de la mostra i deixar el matràs en la manta freda tota la nit.

En tot cas el matràs s'ha de mantenir sota campana.

Nota: són necessàries unes 2-3 pesades per a obtenir pes constant.

8. Determinar el percentatge d'extractius de didormetà segons fórmula (1).

9. **2^{ONA} EXTRACCIÓ EtOH:** Pesar un baló de 500ml net i sec amb trossos de porcellana porosa dins.

Es realitzaran 2 rèpliques.

10. Canviar els filtres de fibra de vidre que tapen el didal per dos de nous.

11. Omplir amb 300 ml de etanol un baló de 500ml i muntar el soxhlet (FIGURA 1).

12. Ajustar la manta calefactora de manera que es portin a terme unes 24 extraccions: posició al màxim i nivell 10 (no menys de 4 sifonades per hora, segons norma), es necessiten 8 hores.

13. Un cop passades les 8 hores parar l'equip d'extracció. Treure el didal amb unes pinces (amb compte per a que no es trenqui el didal) i posar-lo dins un vas de precipitats etiquetat amb el codi de la mostra i deixar el matràs en la manta freda tota la nit.

14. L'endemà evaporar el dissolvent del baló deixant-lo dins la manta calefactora durant uns minuts fins que s'hagi evaporat tot:

15. **3^{RA} EXTRACCIÓ H₂O:** Pesar unes 5 plaques de petri de vidre i posar el contingut del didal dins (en cada placa es posen uns 8-9 g de mostra humida). Pesar en contingut de mostra que posem en cada placa. Posar les plaques dins l'estufa a 80°C durant tota la nit.

16. Treure les plaques de vidre de l'estufa i deixar-les reposar 30 minuts abans de pesar-les.

17. Transferir la mostra seca a un baló de 500 ml, pesar el contingut de mostra que hi posem. Posar el baló dins la manta i anar afegint aigua destil·lada calenta. El baló ha de quedar totalment ple d'aigua. Adaptar-ho tot en l'aparell de reflux (igual que el soxhlet però amb un cos mig diferent).

18. Anar controlant la temperatura de la manta per a que la mostra no ascendeixi per al cos mig.

19. Deixar-ho unes 22 hores.

20. Després de l'extracció, retallar paper de filtre a la mida d'un embut Büchner i filtrar la mostra amb aquest embut de Büchner mitjançant succió. Al final, rentar el baló amb uns 200 ml d'aigua destil·lada calenta.

21. Recuperar el líquid, posar-lo dins una ampolla de plàstic, etiquetar-la i posar-la dins el congelador. • extractius en aigua.

FIGURA 1. Muntatge del Soxhlet al laboratori del ICSuro



Referències

- Vincent Castola, Bruno Marongiu, Ange Bighelli, Constantino Floris, Adolfo Laí, Joseph Casanova. Extractives of cork (*Quercus suber* L.): chemical composition of dichloromethane and supercritical CO₂ extracts. *Industrial Crops and Products* 21 (2005) 65-69
- E. Conde, M. C. García-Vallejo and E. Cadahía. Variability of Suberin Composition of Reproduction Cork from *Quercus suber* Throughout Industrial Processing. *Holzforschung* 53 (1999) 56-62.



PROTOCOL 5. Isolation suberin

Objective.

Isolation of suberin from free extractive cork using an alkaline hydrolysis in which epoxides are preserved and a total depolymerization occurs in a half an hour.

Material

- Reflux
 - Recipient of 500 ml
 - Reflux tube
 - Refrigerator
- Heating system
- Heating blanket
- Oven
- Glass pipette
- Dessicator
- Decanting funnel

Reagent

- 0,5 M KOH solved in ethanol:water (9:1)
- 0,1 M dilute sulphuric acid
- Methyl-t-butyl ether

Preparació solució H_2SO_4 0.1 M

To prepare a bottle of 500 ml of 0,1 M sulfuric acid, take 27,17 ml of 1,84 M sulfuric acid. Add slowly to a volumetric flask in which already 472,83 ml milli Q water was added. Mix well.

Safety precautions

Use gloves, safety glasses and work under a hood.

Set up of the equipment

Apply 1,5 g free extractive cork in 250 ml 0,5 M KOH solution. Set the process to work until a temperature of 70° is reached. Keep the temperature at 70° for 2 hours. Let cool off to room temperature. Now the cork free of suberin is separated from the liquid that obtains suberin monomers. Acidify the solvent with diluted sulphuric acid until a PH of 3 – 3.5 is reached and use a methyl-t-butyl ether solution and decanting funnel to extracted the suberin monomers. Remove the suberin monomers using a rotary evaporater. Dry the sample at 80 degrees.

 Departament EQATA	PNT	EDICIÓ:
	PREPARACIÓ DE PASTILLES	PÀGINA: Pàgina 1 de 4
	DE KBr	DATA: 16/07/08
	FTIR Galaxy 5000	REVISIÓ: 2

PREPARACIÓ DE PASTILLES DE KBr FTIR Galaxy 5000

1. Introducció

Per poder analitzar sòlids (en forma de pols) per Espectroscòpia Infraroja és molt convenient preparar la mostra en forma d'una pastilla transparent de bromur de potassi.

2. Descripció del motlle per a la realització de pastilles

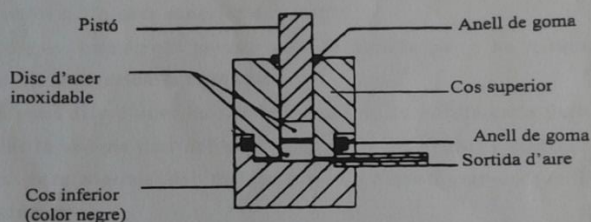


Figura 1

Precaució: Els discs d'acer inoxidable tenen dues cares que no són iguals, la cara més polida és la que ha d'estar en contacte amb la mostra a comprimir.

3. Preparació de la pastilla de bromur de potassi amb la mostra a analitzar

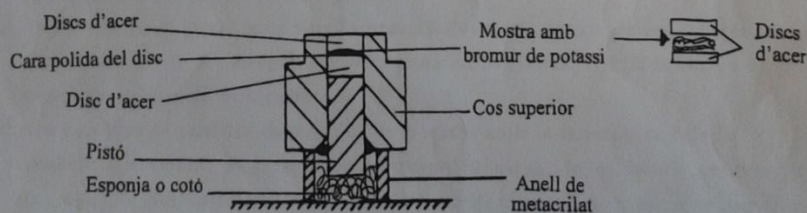


Figura 2

- 3.1. Es trituren, conjuntament en un morter, 2 mg de mostra a analitzar i 200 mg de KBr.
- 3.2. El motlle es col·loca invertit (veure figura 2) procedint al seu muntatge en el següent ordre:
 - Anell de metacrilat amb una esponja o cotó.
 - Part superior del motlle amb el pistó incorporat.
 - Petit disc d'acer inoxidable amb la cara polida en la part superior. Pressionar suaument amb una espàtula fins que quedi aproximadament a un centímetre de la part superior del motlle.
 - Introduir el bromur de potassi amb la mostra que s'ha triturat, procurant que quedi uniformement repartit.
 - Segon petit disc d'acer inoxidable amb la cara polida en la part inferior.
 - Acoblar la segona part del motlle (la de color negre) i efectuar una rotació de les dues meitats del motlle per tal d'assegurar-se que han encaixat perfectament.
- 3.3. Col·locar tot el conjunt del motlle en posició normal (veure figura 1).
4. **Col·locar el motlle en la premsa** (veure figura 3)
 - 4.1. Col·locar el motlle en la premsa centrat i ajustar-lo girant el cargol que hi ha a la part superior (cargol 1)
 - 4.2. Girar en sentit de les agulles del rellotge el cargol que es troba a la part inferior dreta (cargol 2) i cargolar-lo.
 - 4.3. Bombejar amb la palanca fins la pressió desitjada (normalment es treballa a una pressió de 8 Tm/cm^2 i es recomana no sobrepassar 10 Tm/cm^2) i es deixa un mínim de dos minuts.
 - 4.4. Un cop feta la pastilla de bromur de potassi amb la mostra, reduir la pressió lentament, descargolant el cargol 2 girant-lo en sentit contrari a les agulles del rellotge. Això s'ha de fer lentament per tal d'evitar que una descompressió brusca esquerdi la pastilla obtinguda.
 - 4.5. Treure el motlle de la premsa girant cap a l'esquerra el cargol 1.

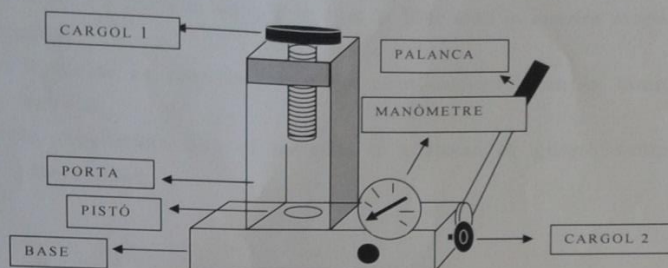


Figura 3. Esquema de la premsa

5. Desemmotllament i obtenció de la pastilla

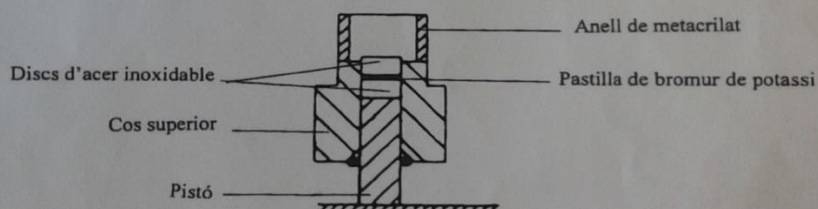


Figura 4

- Retirar la part inferior del motlle (la de color negre)
- Col·locar el motlle en la premsa invertit i amb l'anell de metacrilat tal com s'observa en la figura 4.
- Pressionar suaument amb la premsa girant cap a la dreta el cargol que hi ha en la seva part superior (cargol 1, figura 3) fins que apareix la pastilla que s'ha format.
- Col·locar la pastilla de bromur de potassi en el portamostres i ja es pot procedir a enregistrar el seu espectre d'infraroig.

* Per evitar traces d'humitat en la pastillas de KBr amb la mostra preparada s'ha de fer el següent:

- a) Preparar la pastilla treballant continuament amb la làmpada d'IR encesa.
- b) Es recomana que el material a utilitzar es guardi sempre en el dessecador.

usman
FTIR

 Departament EQATA	PNT	EDICIÓ:
	FTIR GALAXY 5000	PÀGINA: Pàgina 1 de 4
		DATA: 9/11/09
		REVISIÓ: 2

FTIR GALAXY 5000

1. Posar en marxa l'aparell prement **STANDBY**
2. Inicialitzar l'ordinador a C:\
 - Seleccionar programa **FTIR**
 - SYSTEM
 - Data AquisitionSeguidament:
 - SCAN
 - Collection Menu
 - Initialize (ALT-1)
 - Enter
3. Definir els paràmetres de mesura:
 - METHOD
 - Change directory
 - Seleccionar el directori en el qual es volen guardar els espectres.Seguidament:
 - SPEC (indica els paràmetres de mesura)
 - Data type
 - Seleccionar si es vol treballar amb l'espectre d'absorbància (abs) o transmittància (ras)

4. Fer un background: Fa l'espectre de referència (sense mostra) i després el resta a tot els espectres que es realitzen.

4.1. Posar el nom al background:

- OPTIONS
- File name
- Posar "bck"

4.2. Es procedeix:

- SCAN
- Collection Menu
- Background (ALT-TB)

5. Fer l'espectre de la mostra

5.1. Posar el nom a la mostra:

- OPTIONS
- File name

5.2. Fer l'espectre de la mostra (per preparar la mostra , consultar el PNT de preparació de pastilles de bromur de potassi):

- SCAN
- Collection Menu
- Sample (ALT-S)

6. Guardar l'espectre de la mostra en el disc dur:

- SYSTEM
- First

- Data
- Save results

7. **Tractament de dades:** S'ha d'exportar l'espectre al programa **ASCii** i es procedeix:

- SYSTEM
- First
- Data
- Translations
- ASCii table i posar directori B:\ nom.tbl i així es guarda l'espectre en el disquette.

8. **Imprimir l'espectre de la mostra:**

- Prémer **IMPR PANT**
- Obrir un programa de gràfics (power point, paint....)
- Edición/Pegar
- Imprimir

9. **Sortir del programa del PC:**

- SYSTEM
- Quit

10. **Apagar l'ordinador**

11. **Tancar l'aparell** prement uns segons **STANDBY** fins que el mirall quedi parat ("mirror stopped).

* Per evitar traces d'humitat en la pastilla de KBr amb la mostra preparada s'ha de fer el següent:

- a) Preparar la pastilla treballant amb la làmpada d'IR encesa, contínuament.
- b) Es recomana que el material a utilitzar es guardi sempre en el dessecador.

PROCEDIMENT ESTÀNDARD PER A LA DETERMINACIÓ PER HPLC DELS PESTICIDES: metamitron, alaclor, 2,4-D i clorpirifos.

Enggada.

1. Enggar l'ordinador.
2. Iniciar el programa *Instrument1 Online*.
3. *Select Configuration: OK*
4. Omplir les ampolles de dissolvents si és necessari: C: Acetonitril; D: Aigua.
5. Enggar l'HPLC. (interruptor del darrere)
6. Enggar els 3 mòduls del davant.
7. Seleccionar *Method Run and Control*.
 - a. Enggar la bomba: 
 - b. Enggar el detector: *Instrument > more VWD > control > lamp on*.

Purga. (aproximadament 15 minuts)

1. Seleccionar la icona de la bomba: *set up pump*.
 - a. *Maxim flow: 1ml/min.*
2. Obrir la vàlvula de purga girant en el sentit contrari a les agulles del rellotge.
3. Incrementar el flux unitat per unitat fins a 5ml/min. (*set up pump*)
4. Disminuir el flux unitat per unitat fins a 1 ml/min.
5. Tancar la vàlvula de la purga girant en el sentit de les agulles del rellotge.

Crear un mètode per l'Alaclor.

1. *Select Method: Edit Entire Method.* Apareixen a la pantalla 4 seccions (*method information, Instrument Adquisition, Data analysis, Run time Checklist*) prémer OK.
2. Apareix una pantalla amb el nom de *Method Comments*: Posta a punt mètode pesticides.
3. Apareix una pantalla amb el nom de *Set Up Pump*:

*Flow: 1ml/min

*Stop time: 23 min

*Pastime: 5 min

*Solvents: seleccionar *Insert to add the values*. El gradient és:

Time	% C	%D
0	50	50
5	50	50
15	90	10
25	stop	

4. Apareix una pantalla amb els següents paràmetres:

*Wavelength: 225nm

*Peak width: >0.1min

5. Apareix una pantalla amb els següents paràmetres:

*Area reject: 100

*Height reject: 1.7

*Wavelength: 225 nm

6. Apareix una pantalla nova en la que es recomana no modificar res: OK.
7. *Select Curves to overlay*: seleccionar "UV and high pressure"
8. Apareix una pantalla *Run Time Checklist*: seleccionar "Data Acquisition" i "Standard data Analysis".
9. Per salvar el mètode anar a *Method* del menú principal i seleccionar *Save method as Pesticides*.

Crear un mètode pel Metamitron, 2,4-D i Clorpirifos.

1. *Select Method: Edit Entire Method.* Apareixen a la pantalla 4 seccions (*method information, Instrument Adquisition, Data analysis, Run time Checklist*) prémer OK.
2. Apareix una pantalla amb el nom de *Method Comments*: Posta a punt mètode pesticides.
3. Apareix una pantalla amb el nom de *Set Up Pump*:

*Flow: 1ml/min

*Stop time: 23 min

*Pastime: 5 min

*Solvents: seleccionar *Cut* per borrar els valors.

4. Apareix una pantalla amb els següents paràmetres:

*Wavelength: 225nm

*Peak width: >0.1min

5. Apareix una pantalla amb els següents paràmetres:

*Area reject: 100

*Height reject: 1.7

*Wavelength: 225 nm

6. Apareix una pantalla nova en la que es recomana no modificar res: OK.
7. *Select Curves to overlay*: seleccionar "UV and high pressure"
8. Apareix una pantalla *Run Time Checklist*: seleccionar "Data Acquisition" i "Standard data Analysis".
9. Per salvar el mètode anar a *Method* del menú principal i seleccionar *Save method as Pesticides*.

Carregar un mètode existent.

File > load method

Injectar la mostra

Abans d'injectar és necessari haver carregat el mètode desitjat.

1. Menu run and control: seleccionar la icona  situada a baix a l'esquerra de la pantalla activa. Apareix una pantalla ampliada amb les senyals.
2. És important que tan la senyal de la pressió com de l'absorbància siguin estables. Seleccionar "Balance".
3. *Run control > sample information*. Indicar el nom de la mostra i els comentaris que siguin necessaris.
4. Es prepara una xeringa i es neteja 3 vegades amb acetonitril, 3 vegades amb aigua i 2 vegades amb la mostra. Carreguem la mostra dins la xeringa i posem un filtre de niló a la punta (entre la xeringa i l'agulla) abans d'injectar per tal d'evitar el pas de partícules sòlides dins la columna.
5. Posem l'injector en la posició LOAD i injectem la mostra fins que el "loop" estigui ple (es veu com el líquid surt pel final del tub . ATENCIÓ: posar un vas de precipitats a final del tub).
6. Girem amb un cop sec la palanca de l'injector.
7. Quan l'anàlisi ha finalitzat apareix una pantalla amb tota la informació (cromatograma, pics, àrees de pic...).
8. Per tal d'injectar una nova mostra és necessari que la pressió i l'absorbància siguin estables.

Tancar l'aparell.

1. Netejar l'injector amb mitja xeringa d'acetonitril. (no introduir dins la columna)
2. Disminuir el flux primer fins a 0.5 ml/min i després fins a 0.
3. Anar a la icona de la bomba i prémer *switch off*.
4. Apagar els 3 mòduls davanters del HPLC.
5. Tanca l'aplicació.



UAQIE - SERVEIS TÈCNICS DE RECERCA

Informe de resultats

Informe nº: inf18_aolivella_0213.xlsx

Date: 19/02/2013

Version:2

page 1 /2

Objectiu Principal

Determinació de la composició d'una mostra (N, C, H) per anàlisi elemental orgànica.

Nom i adreça del client

Àngels Olivella

Departament EQATA

Grup de Metalls i Mediambient

Identificació de les mostres a analitzar

Lot de 5 mostres

Data de recepció de la mostra

12/02/2013

Data d'execució de l'experiment

12-19/02/2013

Expressió de resultats

Els resultats s'expressen en percentatge en pes

Limit de Detecció	
Carboni	0,72%
Hidrogen	0,20%
Nitrogen	1,20%

Taula 1.1 LOD



Universitat de Girona

Serveis Tècnics de Recerca
edifici Jaume Casademont accés E,
Carrer Pic de Peguera Nº15 17003 Girona

RE-09-01 UAQ Versió del
format de l'informe N° 1

aplicable del 03/05/2010

Run Details		Results %		
Sample	Weight (mg)	Carbon	Hydrogen	Nitrogen
Suberina	1,015	-	-	-
	1,182	-	-	-
Guro sense ext. alif. ni fen. (EtOH)	1,188	62,540	8,580	-
	2,644	63,000	8,440	-
Guro sense ext. H2O	2,388	63,640	8,560	-
	2,953	64,030	8,660	-
Guro sense ext. Alif.	2,714	62,520	8,360	-
	1,940	62,590	8,290	-
Blanc SUR	2,500	62,930	8,560	-
	2,468	62,550	8,450	-

(-) Valors inferiors al LOD

Taula 1.2 Resultats en percentatge

Run	% Carbon	% Hydrogen	% Nitrogen	sd C	sd H	sd N	resd C	resd H	resd N
Suberina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Guro sense ext. alif. ni fen. (EtOH)	62,77	8,51	-	0,33	0,10	-	0,52	1,16	-
Guro sense ext. H2O	63,84	8,61	-	0,28	0,07	-	0,43	0,82	-
Guro sense ext. Alif.	62,56	8,33	-	0,05	0,05	-	0,08	0,59	-
Blanc SUR	62,74	8,51	-	0,27	0,08	-	0,43	0,91	-

(-) Valors inferiors al LOD

Taula 1.3 Promtjos i desviacions

CPISR-1 C Maria Lluïsa Matas

Jordi

2013.02.19 13:24:51 +01'00'

signat

Lluïsa Matas

Cap de la Unitat d'Anàlisi Química

Aquest informe només es pot reproduir en la seva totalitat.

Fi de l'informe



Universitat de Girona

Serveis Tècnics de Recerca
edifici Jaume Casademont accés E,
Carrer Pic de Peguera Nº15 17003 Girona

RE-09-01 UAQ Versió del
format de l'informe N° 1

aplicable del 03/05/2010

BIBLIOGRAFIA

- BARRIUSO, E., MAMY, L. "Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops" *Chemosphere*, 61: 844-855 (2005)
- CORDEIRO, N., BELGACEM, M.N., SILVESTRE, A.J.D., NETO, C.P., GANDINI, A. "Cork suberin as a new source of chemicals. Isolation and chemical characterization of its composition." *International Journal of Biological Macromolecules*, 22 (2): 71-80. (1998)
- EKMAN, R., ECKERMAN, C. "Aliphatic carboxylic acids from suberin in birch outer bark by hydrolysis, methanolysis, and alkali fusion." *Paperi Ja Puu* 67(4): 255-273. (1985)
- DOMINGUES, V., ALVES, A., CABRAL, M., DELEURE-MATOS, C. "Sorption of behaviour of bifenthrin on cork". *Journal of Chromatography A*, 1069: 127-132. (2005)
- DOMINGUES, V., PRIOLO, G., ALVES, A., CABRAL, M., DELEURE-MATOS, C. "Adsorption behaviour of α -cypermethrin on cork and activated carbon". *Journal of Environmental Science and Health*, 42 (6): 649-654. (2007)
- FIOL, N., VILLAESCUSA, I., "Determination of sorbent point zero charge: usefulness in sorption studies", *Environmental Chemistry Letters*, 5: 321-327. Doi: 10.1007/s10311-008-0139-0 (2008)
- GANDINI, A., NETO, C.P., SILVESTRE, A.J.D., "Suberin: a promising renewable resource for novel macromolecular materials", *Progress in Polymer Science*, 31(10): 878-892. (2006)
- JOVE, P., OLIVELLA, M.A. CANO, L., "Study of the variability in chemical composition of bark layers of *Quercus suber* L. from different production areas", *Bio Resources*, 6(2): 1806-1815. (2011)
- KEILUWEIT, M., KLEBER, M., "Molecular-level interactions in soils and sediments: the role of aromatic π -systems", *Environmental Science & Technology*, 43: 3421-3429. (2009)
- LOPES, M.H., BARROS, A.S., NETO, C.P., RUTLEDGE, D., DELGADILLO, I., GIL, A.M., "Variability of cork from Portuguese *Quercus suber* studies by solid-state C- NMR and FTIR spectroscopies", *Biopolymer*, 62(5): 268-77. (2001)
- MACHAY, D., SHIU, W.Y., MA, K.C., LEE, S.C., *Handbook of physical- chemical properties and environmental fate for organic chemicals*, cd-rom, 2004.
- OLIVELLA, M.A. JOVE, P., OLIVERAS, A., "The use of cork waste as a biosorbent for persistent organic pollutants- Study of adsorption/desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Bioresources*, 6(3): 3363-3375. (2011)
- OLIVELLA, M.A., JOVE, P., POCH, J., "Filtro para descontaminación de aguas". Model d'utilitat. (2013) N° registre: U201330061.

OLIVELLA, M.A., DEL RIO, J.C., "Suberin composition form different bark layers of quercus suber l. by PY-GC/ MS in the presence of tetramethylammonium hydroxide (TMAH)", Bioresources, 6(3): 4936-4941. (2011)

OLIVELLA, M.A., FERNANDEZ, I., CANO, L., JOVE, P., OLIVERAS, A. "Role of Chemical Components of cork on Sorption of Aqueous Polycyclic Aromatic Hydrocarbons", Int. J. Environ. Res.,7(1): 225-234. (2013)

OLIVELLA, M.A., JOVE, P., OLIVERAS, A., "The use of cork waste as a biosorbent for persistent organic pollutants- Study of adsorption/ desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons", Bioresources, 6 (3): 3363-3375. (2011a)

OLIVELLA, M.A., JOVE,P., PEREIRA,H., VILLAESCUSA, I., FIOL, N., "Sorption performance of Quercus Cerris cork with polycyclic aromatic hydrocarbons and toxicity testing" Bioresources, 6(3): 3363-3375. (2011b)

PEREIRA,H., "Chemical composition and variability of raw cork from Quercus Suber L.", Wood science and technology, 22(3): 211- 218. (1988)

PEREIRA, H., "The chemical composition of cork. In Cork: Biology, Production and Uses", Elsevier, Amsterdam, 2007, 55-101 pag.

PINTO, P.C.R.O., SOUSA, A.F., SILVESTRE, A.J.D., NETO, C.P., GANDINI, A., ECKERMAN, C., HOLMBOM, B., "Quercus suber and Betula pendula outer barks as renewable sources of oleochemicals: a comparative study", Industrial Crops and Products, 29: 126- 132. (2009)

PINTOR, A., FERREIRA, I.A., PEREIRA, J.C., CORREIA, P., SILVA, S.P., VILAR, V.J.P., BOTELHP, C.M.S., BOAVENTURA, R.A.R., "Use of cork powder and granules for the adsorption of pollutants: a review", Water research, 46(10): 3152 – 3166. (2012)

RODRIGUEZ-CRUZ, M.S., ANDRADES, M.S., PARADA, A.M., SANCHEZ-MARTIN, M.J. "Effect of Different Wood Pretreatments on the Sorption-Desorption of Linuron and Metalaxyl by Woods" J. Agric. Food Chem., 56: 7339-7346 (2008)

SILVA,S.P., SABINO, M.A., FERNANDES, E.M., CORRELO, V.M., BOESEL, L.F., REIS, R.L., "Cork: properties, capabilities ans Applications", Int. Mater. Rev., 50(6): 345- 365. (2005)

S.N., "About cork", internet, WE cork, 2012, (<http://www.wecork.com/about-cork/>).

S.N., "Alzina Surera", imatge. Internet: wikipedia (http://ca.wikipedia.org/wiki/Alzina_surera)

S.N., "Sistema d'extracció Soxhlet", imatge. Internet: chemie (http://www.chemie.unibas.ch/~nachwuchs/chemie/modul_4.html)

S.N., "L'alzina surera", imatge. Internet: digitalnatura.org. (2007)
(http://www.digitalnatura.org/v1.0/details.php?image_id=4905&sessionid=25d6540d968c1fd12f386bd2a5611b9e)

S.N., "Fonaments de l'espectroscòpia infraroja". Internet: experimentacioliure
(<http://experimentacioliure.wordpress.com/altres-materials/introduccio-a-lanalisi-espectroscopica-al-batxillerat/espectroscopia-infraroja/>)

S.N., "Ethers acycliques et époxydes". Internet: faidherbe.org.
(<http://www.faidherbe.org/site/cours/dupuis/ethe2.htm>)

S.N., "Suberine: a promising renewable resource for novel macromolecular materials", imatge.
Internet: ScienceDirect. (2006).
(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670006000682>)

S.N., "Reflux", imatge. Internet: what-when-how.com. (<http://what-when-how.com/organic-chemistry-laboratory-survival-manual/reflux-laboratory-manual/>)

S.N., "HPLC" internet: Agilent technologies (2012)
(<http://www.chem.agilent.com>)

S.N., "Metamitron" internet: AgChemAccess (<http://www.agchemaccess.com/Metamitron>)

S.N., "Alaclor, R.E.D. facts" internet: U.S. Environmental Protection Agency (EPA, 1998)
(<http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/0063fact.pdf>)

S.N., "2,4-D, R.E.D. facts", internet: Environmental Protection Agency (EPA, 2005)
(http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/24d_fs.htm)

S.N., "Chlorpyrifos, R.E.D. facts", internet: Environmental Protection Agency (EPA, 2002)
(http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/chlorpyrifos_fs.htm)

S.N., "Priority Substances and Certain Other Pollutant", internet: W.F.D.: Water Framework Directive
(http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/priority_substances.htm)

S.N., "Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry", internet: Thermo Nicolet corporation, 2001 (mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf).

WANG, X., COOK, R., TAO, S., XING, B. "Sorption of organic contaminants by biopolymers: Role of polarity, structure and domain spatial arrangement" Chemosphere, 66: 1476-1484 (2007)

YANG, Y., CHUN, Y., SHENG, G., HUANG, M. "pH-Dependence of pesticide Adsorption by Wheat-Residue-Derived Black Carbon". Langmuir, 20(16): 6736-6741. (2004).