

## **DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA ECO-AMIGABLE PARA LA DETERMINACIÓN DE BDE-209 EN TEJIDOS DE CARACOL MANZANA, POMACEA CANALICULATA, POR HPLC-UV**

S.B. Mammana<sup>1,2</sup>, P. Berton<sup>1,2</sup>, E. Koch<sup>1,3</sup>, N. Ciocco<sup>1,3</sup>, R.G. Wuilloud<sup>4,5</sup>, J.C. Altamirano<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto Argentino de Nivología, Glaciología y Ciencias Ambientales (IANIGLA)-CONICET, Mendoza, Av. A. Ruiz Leal s/n, P.O. box 131 (5500), Mendoza, Argentina.

<sup>3</sup> Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas (IADIZA)-CONICET Mendoza.

<sup>4</sup> Laboratorio de Química Analítica para Investigación y Desarrollo (QUIANID), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

<sup>5</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

\* [jaltamirano@mendoza-conicet.gob.ar](mailto:jaltamirano@mendoza-conicet.gob.ar)

Sección: Química Analítica

### 1. INTRODUCCIÓN

Los éteres difenilo polibromados o PBDEs (del inglés, polybrominated diphenyl ethers) son utilizados como retardantes de llama y aplicados como aditivos en textiles, plásticos, circuitos electrónicos y otros materiales [1]. Debido a sus propiedades físico-químicas, estos compuestos pueden persistir y acumularse en el ambiente así como en los humanos y en la vida silvestre, magnificándose a través de la cadena trófica. Los PBDEs provocan efectos adversos sobre el sistema nervioso, reproductivo y endócrino [2]. En consecuencia, se ha prestado especial atención a su bioacumulación y biomagnificación [3]. Entre los congéneres de PBDEs, el BDE decabromado BDE-209 es el principal componente de la única mezcla técnica de PBDEs actualmente utilizada en Europa [4]. En el ambiente, este congénere sufre desbromación, generando congéneres menos bromados [5].

Existen reportes sobre la presencia de BDE-209 en muestras ambientales (hasta 98100  $\mu\text{g kg}^{-1}$  de peso seco en suelos y sedimentos [1]) y biológicas. Entre estas últimas, se incluye al caracol dulciacuícola *Pomacea canaliculata*, un molusco omnívoro, invasor y bioacumulador de PBDEs, que fue propuesto como bioindicador de estos compuestos y objeto de estudio de posibles mecanismos de detoxificación y efectos sobre su supervivencia en presencia de BDE-209 [3]. Sin embargo, la determinación de estos analitos en muestras biológicas representa un gran desafío debido a la complejidad de estas muestras, haciéndose necesario generalmente pasos previos de preparación de muestras antes de la determinación instrumental de estos analitos. En particular, las bajas concentraciones de BDE-209 en muestras biológicas requieren una preparación de muestras para extraer, limpiar y preconcentrar analitos previo al análisis instrumental con equipos altamente sensibles.

La extracción de BDE-209 desde muestras complejas ha sido llevada a cabo usando extracción Soxhlet [6], extracción líquido-líquido [7] y extracción en fase sólida [8], las cuales utilizan grandes volúmenes de solventes tóxicos, requieren varias etapas de limpieza de extracto y acondicionamiento de la muestra y, usualmente, son técnicas intensivas. Luego de la preparación de muestras, la cromatografía gaseosa (CG) es la técnica instrumental de rutina para el análisis de PBDEs. Sin embargo, los congéneres de PBDEs de alto peso molecular como el BDE-209 [1] son termolábiles, por lo que se degradan a lo largo del proceso de análisis con CG. Por esta razón, la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, del inglés High Performance Liquid Chromatography) es comúnmente utilizada para su determinación.

Como alternativa, en este trabajo se propuso la optimización y uso de una metodología de preparación de muestras basada en una extracción rápida, fácil, económica, eficaz, sólida y segura denominada QuEChERS (del inglés, Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) utilizando un mínimo volumen de solvente orgánico para la extracción. Esta metodología se basa en la homogenización de la muestra, extracción del analito con ultrasonido, secado de la muestra (hasta casi sequedad) y redisolución, previo a su determinación instrumental. El objetivo de este trabajo fue estudiar y aplicar la metodología QuEChERS para la extracción y preconcentración de BDE-209 en tejidos de caracol manzana *P. canaliculata* y desarrollar una metodología analítica sensible, selectiva y eco-amigable para su determinación por HPLC-UV.

## 2. RESULTADOS Y CONCLUSIÓN

Las variables experimentales que condicionan la respuesta analítica del BDE-209 fueron estudiadas y optimizadas. Entre ellas se incluyen tipo y volumen de solvente y tiempo y pausas de sonicado. Las condiciones cromatográficas en equipo HPLC con detección UV fueron: columna C<sub>18</sub> a temperatura ambiente, elución isocrática por 21 min con fase móvil MeOH:H<sub>2</sub>O 99:1 a un flujo de 1 mL/min y detección a 235 nm.

Para la validación de la metodología analítica propuesta, QuEChERS-HPLC/UV, se incluyó un blanco de muestra en cada secuencia, el cual fue usado para monitorear los niveles de fondo y posible arrastre entre las muestras. La determinación del BDE-209 se llevó a cabo usando una curva de calibración construida con muestras reales enriquecidas con estándar de BDE-209 a diferentes concentraciones previo al procedimiento de extracción. Los datos de calibración se ajustaron usando una ecuación lineal y se observó una linealidad satisfactoria dentro del rango de 0,103 – 200 µg g<sup>-1</sup> de homogenato con coeficiente de correlación de 0,998. La precisión de la metodología fue evaluada sobre 3 réplicas obteniendo una RSD < 10%. El LOD y el límite de cuantificación obtenidos fueron de 0,049 y 0,103 µg g<sup>-1</sup> de homogenato, respectivamente.

Las cifras analíticas de mérito resultaron comparables con las de las metodologías analíticas convencionales, aunque notoriamente más eco-amigable considerando el pequeño volumen de solvente orgánico utilizado con un mínimo de desecho. La metodología analítica fue aplicada para la determinación de BDE-209 en muestras de caracol manzana *P. canaliculata* para un estudio biológico de ecotoxicidad.

## 3. REFERENCIAS

- [1] E. Eljarrat, D. Barceló, Brominated Flame Retardants, Springer London, Barcelona, Spain, 2011.
- [2] R. Guyot, F. Chatonnet, B. Gillet, S. Hughes, F. Flamant, Toxicology 325 (2014) 125–132.
- [3] P.D. Noyes, H.M. Stapleton, Endocr Disruptors 2 (2014) e29430–1 – e29430–25.

# XXXI Congreso Argentino de Química

25 al 28 de Octubre de 2016 Asociación Química Argentina

Sánchez de Bustamante 1749 – Ciudad de Buenos Aires – Argentina

The Journal of The Argentine Chemical Society Vol. 103 (1-2) January – December 2016 ISSN: 1852 -1207

Anales de la Asociación Química Argentina AAQAE 095 - 196

- [4] A. Covaci, S. Voorspoels, J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci 827 (2005) 216–223.
- [5] M.A. Siddiqi, R.H. Laessig, K.D. Reed, Clin Med Res 1 (2003) 281–90.
- [6] S. Król, B. Zabiegała, J. Namieśnik, J Chromatogr A 1249 (2012) 201–214.
- [7] S. Król, B. Zabiegała, J. Namieśnik, Talanta 93 (2012) 1–17.
- [8] J. Nácher-Mestre, R. Serrano, F. Hernández, L. Benedito-Palos, J. Pérez-Sánchez, Anal Chim Acta 664 (2010) 190–198.