

INVESTIGACIÓ DE CONTAMINANTS ORGÀNICS EN AIGÜES DE CATALUNYA

per

J. RIVERA, J. CAIXACH *, F. VENTURA, I. ESPADALER,
M. DE TORRES I A. FIGUERAS

Laboratori d'Espectrometria de Masses
Centre d'Investigació i Desenvolupament del CSIC de Barcelona

SUMMARY

Analysis of the non volatile organic fraction of Barcelona's raw water, that amounting at least 80 % of the total organic extract, have been performed using HPLC fractionation and FAB-CID-MIKES characterisation. LC/MS also has been evaluated. The results obtained show a promising way to the identification of components in organic complex mixtures. Among identified non volatile compounds there are no-ionic and anionic surfactants and polyglycols. FAB and FAB-CID-MIKES are becoming new and complementary techniques to routinely employed GC/MS in our laboratory. Moreover, mutagenicity tests, such as SOS chromtest and Ames, are being performed with different HPLC fractions in order to know the potential genotoxicity of water.

RESUM

Les anàlisis de la fracció orgànica no volàtil de l'aigua de Barcelona, que representa almenys el 80 % de l'extret orgànic total, han estat realitzades mitjançant fraccionament per HPLC i caracterització per FAB-CID-MIKES. Hom ha assajat també l'acoblament HPLC/EM. Els resultats obtinguts marquen un camí adient per a la identificació de compostos en barreges complexes. Entre els compostos no volàtils identificats han estat trobats detergents no iònics, aniònics i poliglicols. FAB i FAB-CID-MIKES representa una tècnica nova i complementària a l'acoblament CG/EM rutinàriament emprada al nostre laboratori. A més a més, hom duu a terme els diferents tests de genotoxicitat com el SOS-chromtest i Ames de les diverses fraccions obtingudes per HPLC, a fi i efecte de conèixer la genotoxicitat potencial de l'aigua.

Introducció

El problema de la vigilància analítica de l'aigua ha adquirit en els darrers anys una importància sempre creixent a causa de nombrosos episodis de conta-

* Autor de la Ponència.

minació per substàncies orgàniques d'aigües superficials i profundes, destinades als usos més diversos: potabilització, consum per a la indústria, ús agrícola, etc.

La presència en l'aigua de microcontaminants orgànics, entesos com a productes químics capaços de crear-hi una situació de perill real o potencial, constitueix sempre una degradació del bé natural (i ací, escàs) i pot arribar a impedir-ne l'ús previst, obligar a costosos sistemes de tractament i a més constituir una amenaça per a la salut humana o per a l'estructura i organització dels ecosistemes aquàtics.

El problema és molt complex a causa del nombre de composts naturals i antropogènics que són presents en l'aigua així com per la seva baixa concentració (ppm, ppb, ppt). Són nombroses les vies de penetració d'aquests composts a la hidrosfera: aigües de pluja, municipals, industrials, agrícoles, etc.

Les anàlisis més habituals a casa nostra són encara els anomenats tests no específics (DBO 5, DQO,...), que són els que té en compte la legislació vigent, i aquests no permeten la individualització ni la caracterització d'una contaminació específica, que és la tendència en els països desenvolupats. En aquest context cal recordar que el nombre de substàncies orgàniques identificades i quantificades en aigües és nombrosa i creix ràpidament a mesura que les tècniques analítiques es desenvolupen. La Comissió de la C.E.E., a través de l'Acció Concertada COST (64b, 64b-bis i 641), en la qual el nostre laboratori participa, ha publicat un llistat complet de les substàncies contaminants identificades a Europa en diferents aigües i que han estat classificades en 31 grups.¹

Així mateix s'han publicat dues llistes, negra i grisa,² de substàncies tòxiques i potencialment tòxiques. Pel que fa als EUA, cal esmentar el llistat dels anomenats contaminants prioritaris, «Priority Pollutants», publicat per l'EPA (Environment Protection Agency).³

El tractament del problema dels microcontaminants orgànics en aigües té necessàriament el seu inici en el fet de posar a punt les metodologies analítiques necessàries per a la determinació quantitativa i qualitativa d'aquests composts. Com és conegut, la tècnica més emprada en aquest camp és la cromatografia de gasos (CG), o millor el seu ús amb columnes capilars i el seu acoblament a l'Espectrometria de Masses, CG-EM. L'anàlisi per CG-EM està actualment molt desenvolupada i al nostre laboratori és aplicada generalment i rutinària a extrems del riu Llobregat⁵ i ocasionalment a contaminacions accidentals.⁶ La combinació

1. «Inquinamento delle Acque Sotterranie de Composte Organo-clorurati di Origine Industriale», pp. 411. Monduzzi ed. 1983.

2. «Liste I de la directive 76/464/CEE du Conseil», Journal officiel des Communautés européennes, núm. C176/10; 14.7.82.

3. U.S.E.P.A. (1979) Fed. Reg. Dec. 3, 69464-6957.

4. GARBARINO, J. R.; STEINHEIMER, T. R.; TAYLOR, H. E. *Anal. Chem.*, 1985, 57 46R-88R.

5. VENTURA, F.; RIVERA, J. Resultats no publicats.

6. a) RIVERA, J.; CAIXACH, J.; VENTURA, F.; ESPADALER, I. *Chemosphere*, 14, 395-402,

CG-EM-Tractament de Dades representa avui la tècnica més potent per a l'anàlisi qualitativa i quantitativa d'extrets orgànics d'aigües; tanmateix hom accepta d'una manera general⁷ que la matèria orgànica cromatografiada no supera el 20 % del total del material orgànic present en una mostra aquosa, essent el 80 % que resta allò que hom anomena «fracció no volàtil».

Encara que la composició d'aquesta fracció no volàtil és desconeguda, se suposa que majoritàriament consisteix en material húmich i la resta és formada per composts d'alt pes molecular, polars i/o termolàbils i altres barreges complexes. Resta per determinar, i això és funció de l'origen de l'aigua i de les variacions estacionals, el percentatge relatiu de composts biogènics i antropogènics.

Actualment la fracció no volàtil dels extrets orgànics d'aigües està essent molt estudiada, i cal remarcar que no sempre es tracta de substàncies poc significatives sota un perfil ecològic o toxicològic.^{7, 8} En aquest sentit i a part de la presumpta toxicitat, els resultats dels tests de mutagenicitat/genotoxicitat de fraccions tant d'aigua superficial com de beguda, palesen la necessitat urgent de posar a punt els mètodes analítics que permetin d'abordar-les.

Els objectius globals són encaminats a determinar els composts potencialment perillosos d'aquestes barreges orgàniques complexes dels extrets d'aigua, principalment en termes de freqüència, concentració, estructura química, origen, mecanismes de degradació i efectes biològics.

Les diferents hipòtesis sobre els efectes biològics, i en conseqüència en relació amb les implicacions potencials sobre la salut humana, oscil·len sobre els efectes directes dels composts antropogènics i altres que suposen que aquests poden ésser deguts als composts originats per transformació de material biogènic durant els processos de tractament de l'aigua (cloració, ozonització, etc.).^{7, 8, 9}

El desenvolupament de les metodologies analítiques per tal d'abordar l'estudi de la fracció no volàtil, impliquen l'ús de la cromatografia líquida d'alta eficàcia (HPLC) i de l'espectrometria de masses.

La HPLC (o simplement CL) és la tècnica adient per al fraccionament analític de les fraccions orgàniques.^{7, 10} La identificació dels components d'aquesta fracció pot ésser duta a terme emprant la combinació HPLC-EM.

Ara bé, els problemes principals que porta associats aquesta combinació són la poca eficàcia de les columnes cromatogràfiques de HPLC per a separar barreges orgàniques complexes i la poca sensibilitat del sistema amb les interfases usuals («moving belt», «termspray»), que requereixen alts nivells de cada com-

1985. b) RIVERA, J.; VENTURA, F.; CAIXACH, J.; DE TORRES, M. *Int. J. Env. Anal. Chem.* 24, 1986, 183-191.

7. CRATHORNE, B.; FIELDING, M.; STEEL, C. P.; WATTS, C. D. *Environ. Sci. Tech.* 18, 797-802. 1984.

8. TABOR, M. W.; LOPER, J. C. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 1985, 19, 281-318.

9. KRONBERG, L.; HOLMBON, B.; TIKKANEN, L. *Vatten* 41, 106-109, 1985.

10. CRATHORNE, B.; WATTS, C. D.; FIELDING, M. J. *Chromatogr.* 185, 671-690, 1979.

post per a ésser detectats, coses ambdues que fan que aquesta tècnica no pugui ésser encara emprada amb mostres reals d'aigua,¹¹ recentment, però, l'acoblament HPLC-EM.FAB ha obert un camí prometedor per a identificar els components en aquestes barreges complexes.¹²

Pel que fa a l'espectrometria de masses, les noves tècniques d'ionització com la ionització química directa (DCI), la desorció de camp (FD) o el bombardeig amb àtoms ràpids accelerats (FAB), i la combinació de FD o FAB amb la tècnica anomenada Collision-induced dissociation, Mass Ion Kinetic Energy Spectra (CID-MIKES), han estat emprats amb èxit per a la caracterització de composts orgànics no volàtils, com poliglicols,¹³ tensioactius,¹⁴ additius,¹⁵ colorants,¹⁶ i ha estat posteriorment aplicada l'anàlisi dels composts orgànics en aigües superficials.^{17, 18}

La present ponència descriu l'aplicació de la HPLC, l'EM-FAB i la FAB-CID-MIKES a l'anàlisi dels composts orgànics retinguts per filtres de carbó actiu d'aigua de riu i de beguda del riu Llobregat que abasteix la ciutat de Barcelona. Paral·lelament aquesta metodologia es combina amb l'aplicació de test de genotoxicitat «SOS Cromotest» * en les diferents etapes de l'esquema metodològic que és representat a la figura 1.

Tècniques d'aïllament

Els extrems orgànics provenen dels filtres de carbó (Pittsburg F-200) de la Central Depuradora de Sant Joan Despí (SGAB), i són equivalents a 1.000-2.000 litres d'aigua de riu o depurada.

El procés normal d'extracció és l'elució mitjançant Soxhlet (CH₂Cl₂, 48 h.), evaporació a sequedat i redissolució en èter; la fracció soluble és assignada a la fracció cromatografiable per gasos i la no soluble és assignada provisionalment a la fracció no volàtil.

11. SCHAUENBURG, H.; SCHILL, H.; KNÖPPELL, H. «Analysis of Organic Micropollutants in Water». D. Reidel, 1984; pp. 120-131.

12. RINEHART, K. L., Jr. *et al. Anal. Chem.* 1985, 57, 985-991.

13. LATTIMER, R. P. *Int. J. Mass Spectrom. and Ion Processes* 1983/1984, 55 221-232.

14. WEBER, R.; LEVSEN, K.; LOUTER, G. R.; BOERBOOM, J. H.; HOVERKAMP, J. *Anal. Chem.* 1982, 54, 1458-1466.

15. LATTIMER, R. P. *et al. Rubber Chem. Technol.*, 1984, 57, 1013-1022.

16. BROWN, R. M.; CREASER, C. S.; WRIGHT, H. J. *Organic Mass Spectrom.* 1984, 19, 311-314.

17. YASUHAR, A. *et al. Environ. Sci & Techn.* 1981, 15, 570-573.

18. RIVERA, J.; VENTURA, F.; CAIXACH, J.; FIGUERAS, A.; FRAISSE, D., i BLONDOT, V. «4th European Symposium on Organic Micropollutants in the Aquatic Environment», Viena 1985.

* Aquesta part del treball és duta a terme en col·laboració amb el Departament de Microbiologia de la Universitat Autònoma de Barcelona; vegeu la ponència de Montserrat Llagostera en aquest mateix volum.

Un altre procés que ha estat assajat és l'extracció amb ultrasons. El carbó és liofilitzat i extret amb MeOH amb ultrasons durant 20 minuts. Aquest correspon a un extret total.

En el sentit de l'optimització dels processos de concentració dels microcontaminants orgànics en aigua i donats els resultats més recents de la bibliografia, hom ha endegat un treball de recerca sobre concentració de microcontaminants orgànics en aigua mitjançant l'ús d'adsorbents sintètics.

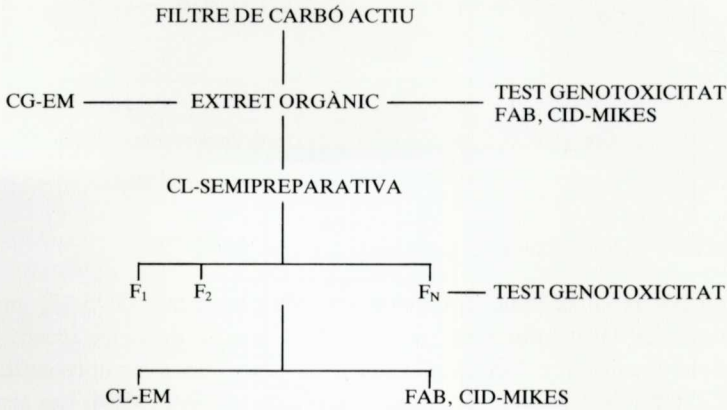


Fig. 1. - Esquema emprat per a la concentració, el fraccionament i l'anàlisi de microcontaminants orgànics en aigua.

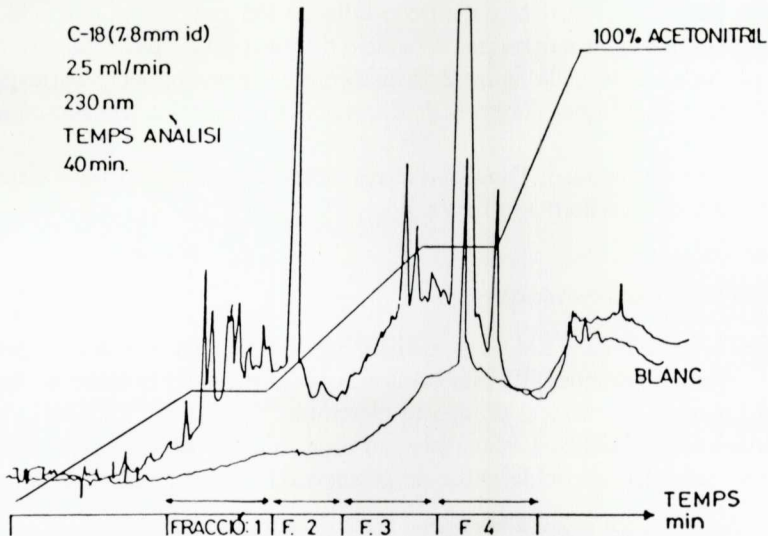


Fig. 3. - Perfil cromatogràfic d'un extret total. Hom n'indica el fraccionament.

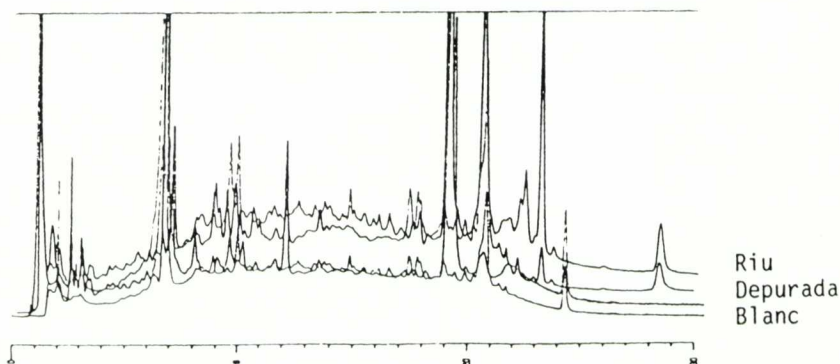


Fig. 2. - Comparació de perfils HPLC d'extrets de procedència diferent. Longitud d'ona 230 nm.

Separació i fraccionament dels extrets per HPLC

Hom ha treballat fonamentalment en columnes tipus ODS-18, amb mides de partícula de 10 i 7 μm i en columnes de 4 mm de diàmetre intern per a les separacions analítiques, i de 8 mm per a les separacions semipreparatives, així com de 2 mm i de 1 mm en els assaigs d'acoblament HPLC-EM. Les separacions són efectuades gairebé sempre emprant gradients totals, vegeu figura 3.

Tal com es desprèn de l'esquema de la figura 1, els extrets són separats per HPLC semipreparativa en diverses fraccions que són analitzades o bé per l'acoblament de línia HPLC-EM on un cop aïllades són analitzades per E.M.

A la figura 3 hom mostra una separació d'aquest tipus, així com el fraccionament portat a terme. A la figura 2 hi ha diferents cromatogrames corresponents a separacions analítiques d'extrets de diferents orígens; cal assenyalar-ne la complexitat.

Resultats obtinguts de l'anàlisi d'altres mostres reals procedents d'altres fraccionaments, es presenten a la figura 5.

Espectrometria de masses

Acoblament HPLC-EM: Les anàlisis han estat dutes a terme emprant columnes cromatogràfiques d'1 mm («microbore»), interfase de corretja («moving belt») i tècnica d'ionització d'impacte electrònic.

FAB i CID-MIKES: Les anàlisis han estat dutes a terme emprant un espectròmetre magnètic de doble enfoc de geometria invertida.* Hom hi ha emprat

* Aquest treball és dut a terme amb la col·laboració, i amb el suport instrumental pel que fa a HPLC-EM i CID-MIKES, del Centre de Spectrométrie de Masse de Lyon (C.N.R.S. & Université Claude Bernard).

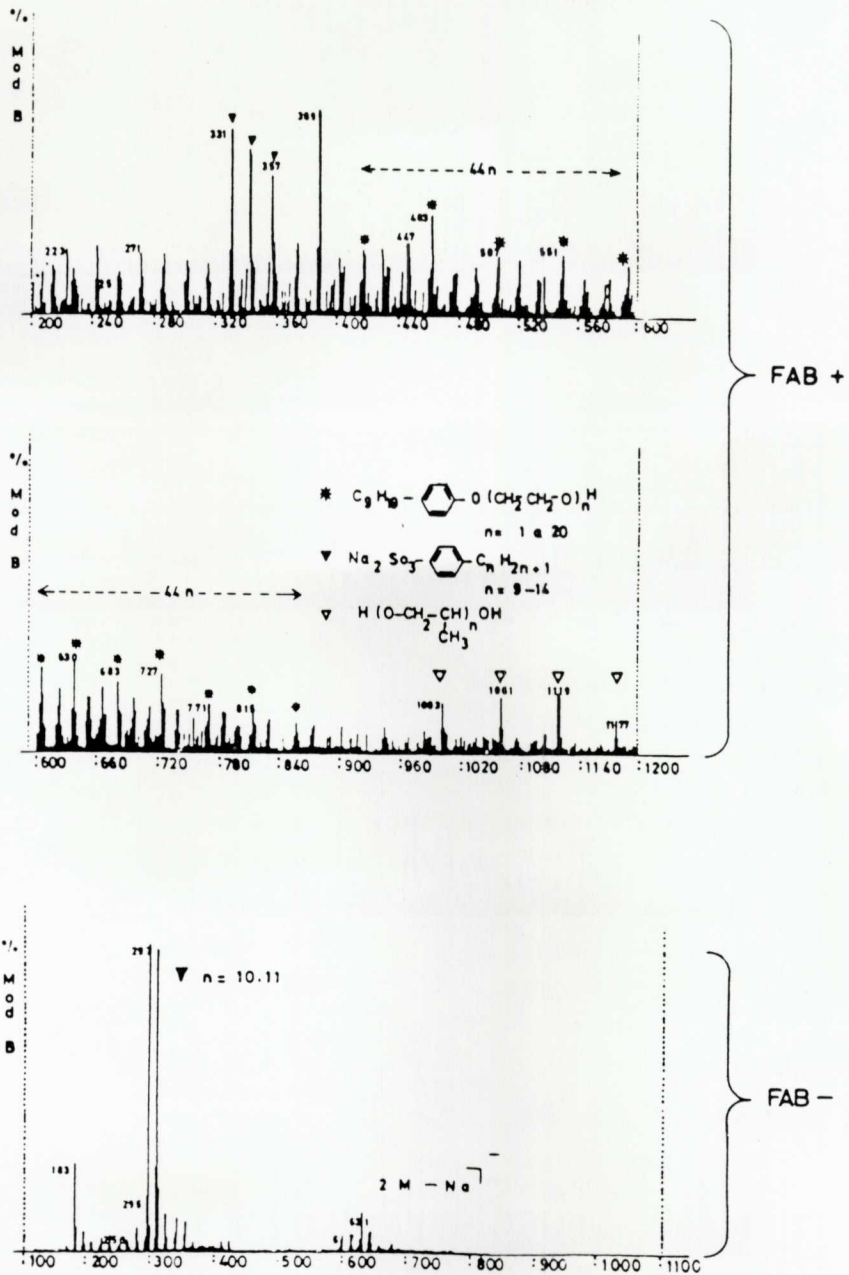


Fig. 4. - Espectres FAB positius i negatius de la fracció 2. Vegeu fig. 2.

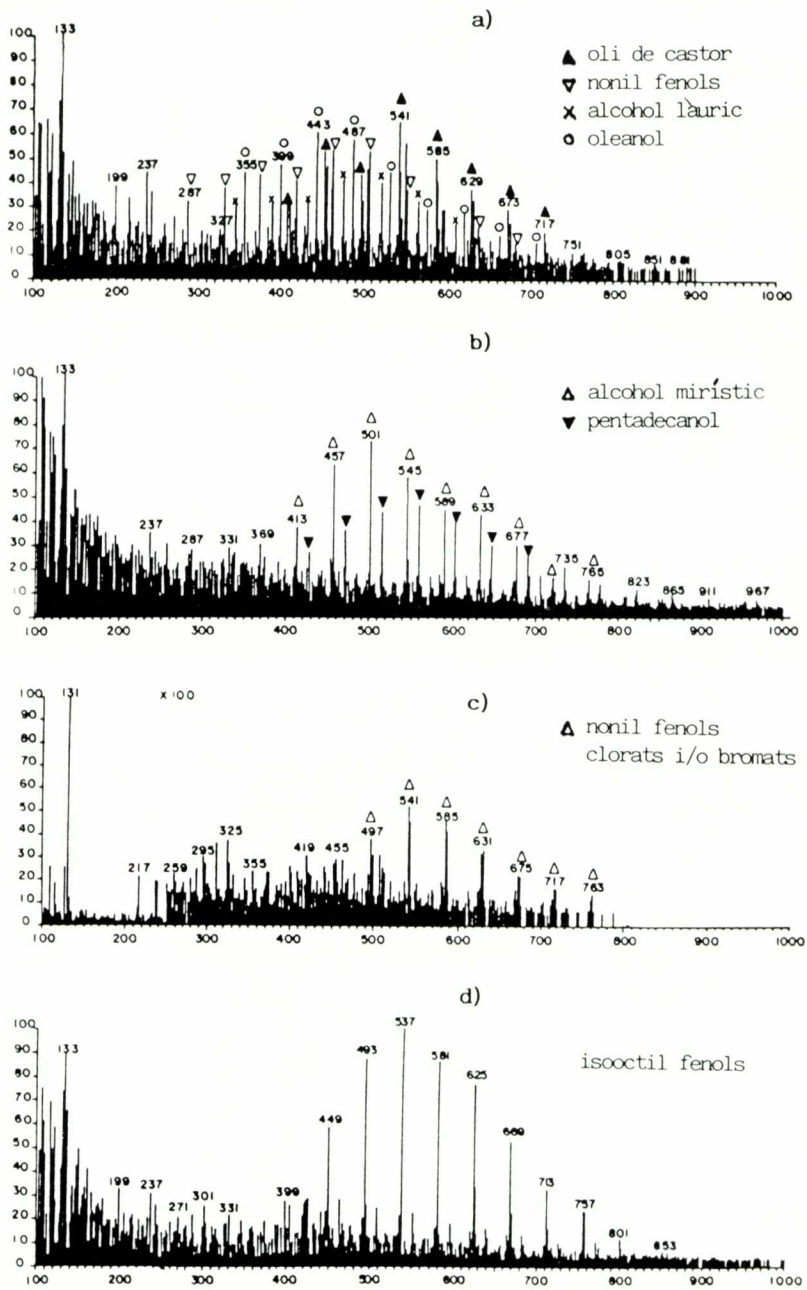


Fig. 5. - Espectres FAB (+) de fraccions HPLC: a, b) aigua superficial, c, d) aigua de beguda.

un sistema d'introducció directa i, com a matriu per als espectres FAB, tioglicerol.

En el cas del fraccionament de la fig. 2 foren duts a terme acoblaments HPLC i espectres FAB de les fraccions separades. Del contrast dels resultats d'ambdues tècniques sembla que l'EM-FAB és la que permet d'obtenir més informació d'aquestes mostres reals amb un alt contingut de composts polars, termolàbils i/o aït pes molecular.

La figura 4 mostra els espectres FAB (+) i FAB (—) de la fracció 2. Hi han estat observats tres grups principals de components, alquilbenzensulfonats, alquilfenols polietoxilats i una barreja/copolímer de propilen i polietilenglicol.

L'espectre FAB (+) mostra la presència d'alquilbenzensulfonats amb un marge de $n = 9-14$, donant pics quasi-moleculars formats per unió amb àtoms de sodi ($M + Na^+$) amb la sèrie $m/z = 329, 357, 371, 385$.

L'espectre FAB (—) mostra clarament la presència de $M-Na^-$ i $2M-Na^-$ dels alquilbenzensulfonats corresponents a $n = 10$ i 11 .

Els nonilfenols polietoxilats mostren sèries d'ions separats de 44 amu. Aquestes sèries són característiques dels tensioactius no iònics amb cadenes d'òxid d'etilè. La sèrie principal ($m/z: 287, 331, 375, 419...$) pot ésser assignada a la unió del sodi amb nonilfenols polietoxilats amb $n = 0-21$.

La tècnica CID-MIKES selecciona una massa determinada sobre la qual hom indueix fragmentació (CID), l'anàlisi posterior de l'energia dels fragments dona lloc a un espectre característic, no solament de la massa inicial sinó també de la seva estructura, cosa que la fa especialment indicada per a l'anàlisi de barreges complexes sense necessitat de separació prèvia. Hom en mostra un exemple a la figura 6.

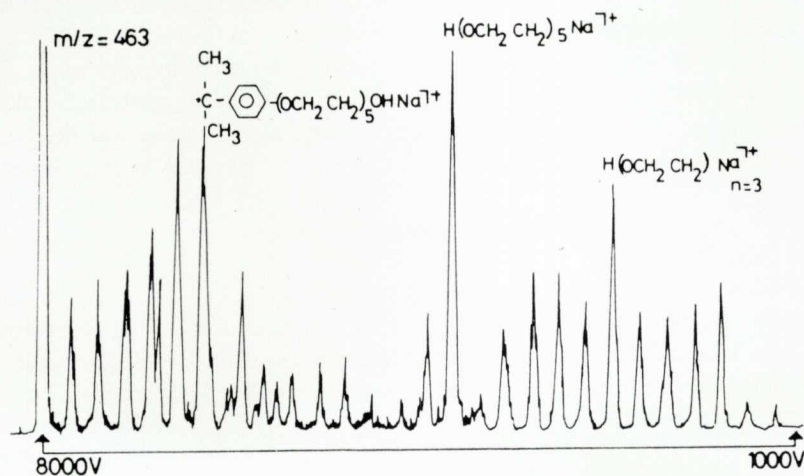


Fig. 6. - Espectre CID-MIKES de la massa 463 corresponent a l'espectre FAB de la fig. 5 a. El compost ha estat identificat com a un nonilfenol pentaetoxilat.

Taula 1

AIGUA DE RIU

- Alquilfenols polietoxilats (i-C₈, C₉ i C₁₀)
- Alcohols polietoxilats (C₁₂, i-C₁₃, C₁₄ i C₁₅)
- Alquilfenols polietoxipropoxilats (C₉)
- Àcids grassos polietoxilats (oli de ricí)
- Sulfats d'èters alquilics (i-C₈ i C₉)
- Poliglicols (PEG 200, 400 i 600)
- Copolímers d'òxid d'etilè i propilè

AIGUA DE BEGUDA

- Alquilfenols polietoxilats (i-C₈, C₁₂, C₉ clorats i/o bromats)
- Alcohols polietoxilats (C₁₄)
- Alquilfenols polietoxipropoxilats (possible diCl-C₉)
- Sulfats d'èters alquilics (C₉)
- Polietilenglicols (PEG 200)
- Copolímers d'òxid d'etilè i propilè

Conclusions

L'ús de l'espectrometria de masses FAB i la combinació FAB-CID-MIKES han estat adients com a tècniques per a la identificació dels composts orgànics no volàtils dels extrems d'aigües.

Malgrat que l'ús de l'EM-FAB s'ha incrementat notablement, hom encara no disposa d'una bibliografia completa i és per això que el treball futur es dirigeix a obtenir el nostre propi arxiu d'espectres FAB dels productes usualment i susceptibles d'ésser presents en les aigües del riu.

Finalment cal assenyalar que la combinació de les metodologies analítiques descrites i els tests biològics es preveu prometedora per tal de contribuir a determinar la natura dels agents químics presents en l'aigua, la ingestió dels quals pot comportar una perillositat potencial a llarg termini per a la salut humana.

AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat realitzat parcialment gràcies a una beca postdoctoral (J. C.) de la C.I.R.I.T. (Comissió Interdepartamental de Recerca i Innovació Tecnològica de la Generalitat de Catalunya), i una Acció Integrada Hispano-Francesa (núm. 151/84).