



MICROEXTRACCIÓN DISPERSIVA LÍQUIDO-LÍQUIDO ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE TBTS EN AGUAS DE MAR

ULTRASOUND ASSISTED DISPERSIVE LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION OF TBTS IN SEAWATERS

Gomez, Natalia A¹; Marcovecchio Jorge E.^{2,3}; Garrido, Mariano E¹; Domini, Claudia E¹

¹Universidad Nacional del Sur, Departamento de Química/INQUISUR, ²Instituto Argentino de Oceanografía (IADO; UNS-CONICET), ³Universidad Tecnológica Nacional (UTN)/FRBB

natalia.gomez@uns.edu.ar

Resumen

En este trabajo, se desarrolló un método rápido para la determinación de tributilestaño (TBT, por sus siglas en inglés) y sus compuestos de degradación dibutilestaño (DBT) y monobutilestaño (MBT) en aguas naturales. Este nuevo procedimiento se basa en una microextracción dispersiva líquido-líquido empleando una mezcla de un líquido iónico y un surfactante como agentes extractantes en lugar de solventes orgánicos. Además, se utilizó una sonda de ultrasonido para acelerar la extracción. La detección se realizó por fluorescencia molecular al formar un complejo entre los TBTs y la morina. Se optimizaron las variables más importantes de la microextracción, como la concentración y el volumen de la solución de morina, dos líquidos iónicos diferentes, el volumen de líquido iónico y surfactante, el pH y el tiempo de centrifugación. El método fue aplicado a muestras de aguas naturales.

Palabras clave: tributilestaño, microextracción, fluorescencia, ultrasonido.

Introducción

El tributilestaño (TBT, por sus siglas en inglés) fue utilizado por mucho tiempo en pinturas anti-incrustantes en barcos. Desde 2008, el TBT está prohibido en gran parte del mundo (Lagerström, et al., 2017) ya que causa graves efectos en ambientes marinos, sin embargo, este aún permanece presente en sedimentos y ambientes acuáticos (Sabah, et al., 2016). Este compuesto es un disruptor endocrino que altera los niveles normales de las hormonas sexuales, dando lugar a efectos biológicos como el fenómeno de imposex en gasterópodos, entre otros, aún en bajas concentraciones (Mattos, et al., 2017). El TBT es considerado uno de los contaminantes más tóxicos para los ambientes marinos y está incluido entre los contaminantes prioritarios de legislaciones y convenios internacionales (European Directives).

Los compuestos orgánicos de estaño se pueden degradar en los ecosistemas acuáticos a estaño inorgánico (Furdek, et al., 2016). El TBT puede degradarse a dibutilestaño (DBT) y luego, a MBT (monobutilestaño). Estos compuestos son utilizados como aditivos estabilizantes contra los efectos de la luz y el calor en PVC (cloruro de polivinilo) (Quintas, et al., 2016).

Para la determinación de estos la cromatografía gaseosa es la técnica más utilizada (Bravo, et al., 2017), aunque también se utiliza la fluorescencia molecular (Bravo, et al., 2013), siendo una técnica más económica y disponible en muchos laboratorios de rutina. A pesar de que los compuestos orgánicos de estaño no son fluorescentes, forman un complejo fluorescente con flavonoides, como la morina (Bravo, et al., 2013). Aunque la fluorescencia es una técnica sensible, por la complejidad de las muestras y las bajas concentraciones de los compuestos organoestánicos es necesario realizar una preconcentración (Bravo, et al., 2017). Las microextracciones son utilizadas con este propósito y tienen la ventaja de utilizar pequeños volúmenes de solventes (Bravo, et al., 2017). Dentro de estas, la microextracción dispersiva líquido-líquido se basa en la adición de un solvente extractante y un solvente dispersivo a la muestra para formar un sistema turbio (conocido como punto nube o *cloud point*). En ese momento, el analito puede transferirse de la muestra al extractante a través de finas gotas y, luego, precipitar por la acción de una centrifuga (Lemos, et al., 2012). Generalmente, se utilizan solventes orgánicos, como metanol, cloroformo, acetonitrilo, etc. Sin embargo, pueden reemplazarse por solventes considerados verdes como surfactantes y líquidos iónicos (Bağda y Tüzen, 2015). Recientemente, la energía de ultrasonido se comenzó a aplicar al proceso de

dispersión debido a que la sonicación genera una emulsión de finas gotas entre líquidos inmiscibles y favorece la extracción (Cortada, et al., 2011).

En este trabajo, se desarrolló y optimizó un método para la determinación de TBT, DBT y MBT en agua de mar utilizando una microextracción dispersiva líquido-líquido asistida por ultrasonido, con un líquido iónico y un surfactante como solventes de extracción, y fluorescencia para la detección.

Materiales y métodos

Todas las soluciones fueron preparadas usando reactivos de grado analítico y agua ultrapura (18.0 MΩ) producida por un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, USA).

Soluciones de TBT, DBT y MBT ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) fueron preparadas disolviendo las cantidades apropiadas de TBTCl, DBTCl₂ y MBTCl₃ en metanol. Las soluciones de trabajo se prepararon diluyendo la solución en agua ultrapura.

Etanol, Tritón X-100, hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]PF₆), tetrafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]BF₄) y morina fueron comprados a Merck (Darmstadt, Germany). La morina fue preparada en el día en metanol.

Las soluciones tampón fueron preparadas usando acetato de amonio ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) y ácido acético en cantidades apropiadas, ambos adquiridos de Fluka (Bush, Switzerland).

Las extracciones asistidas por ultrasonido fueron llevadas a cabo usando un Sonics Vibra cell, VCX130 con una sonda de titanio (9.5 mm de diámetro, 130 W de poder nominal y 20 kHz de frecuencia). Un espectrofluorómetro Jasco FP6500, con una fuente de luz de descarga de xenón (150 W), y una celda de cuarzo de flujo de 150 μL fueron utilizados para obtener los espectros. Se realizó un espectro de emisión fijando la longitud de onda de excitación en 425 nm y la longitud de onda de emisión entre 440 y 650 nm. Una centrífuga Rolco 2036, un pH-metro Orion 710A y un agitador magnético con una placa caliente Cole Parmer model 4803-02 fueron utilizados.

10 mL de muestra o estándar se colocaron en un tubo de centrifuga seguido por 100 μL de la solución tampón, 300 μL de la solución de morina ($3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) y 500 μL de una mezcla de 4,75% (m/v) de líquido iónico y 6,90% (m/v) de surfactante en agua. El tubo se sumergió en un baño de agua caliente a 90°C y se le introdujo la sonda de ultrasonido. Se sonicó por 80s (59s cada ciclo) a 117 W de potencia. Luego, el tubo se centrifugó a 1400 G por dos minutos. Finalmente, se separaron las dos fases y a 50 μL de la fase rica en surfactante y líquido iónico se mezclaron con 60 μL de etanol. Esta solución, se colocó en la celda de flujo con ayuda de una jeringa y se midió la fluorescencia.

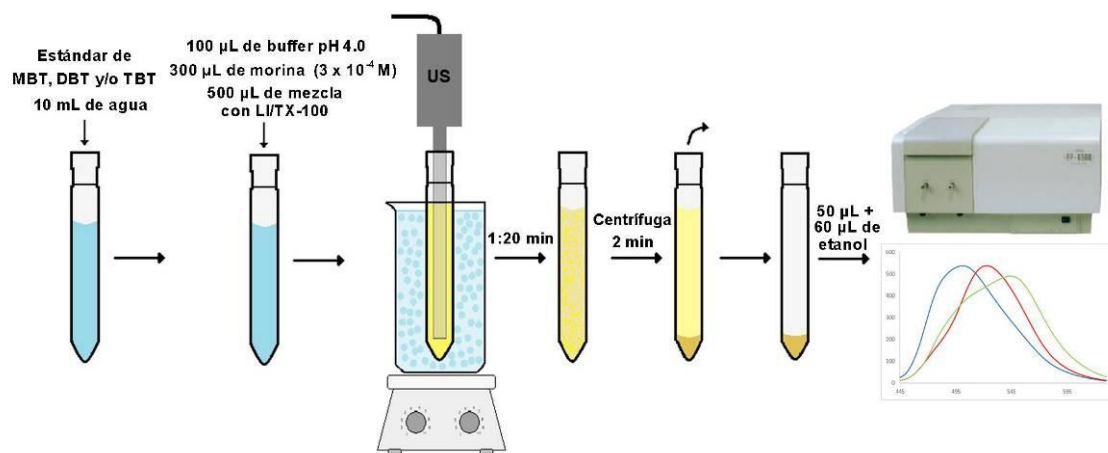


Figura 1: Procedimiento de la microextracción dispersiva líquida-líquida asistida por ultrasonido

Resultados

Para maximizar la eficacia de la extracción, se estudiaron los parámetros que podrían afectar este proceso. Debido a que el método se aplicó en agua de mar, las pruebas se realizaron con una solución de cloruro de sodio de 3.5%. Primeramente, se evaluó el solvente para la disolución de morina, su concentración y el volumen necesario. La morina es un flavonoide que forma un complejo fluorescente con los TBTs (Bravo, et al., 2013). Como solventes se evaluaron agua, etanol y metanol con concentraciones entre 3×10^{-4} y $0,25 \text{ mol L}^{-1}$. Se utilizó una solución metanólica con concentración $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ para los experimentos siguientes. Se agregaron entre 200 y 500 μL de estas soluciones a 10 mL de muestra, escogiendo 300 μL como valor óptimo.

Otro de los parámetros más significativos, como se establece en la literatura (Arain, et al., 2015), es el pH, que cumple un rol muy importante tanto en la formación del complejo como en el proceso de extracción y en la señal fluorescente (Bravo, et al., 2013). El pH fue evaluado entre 3,0 y 5,0, siendo 4,0 el pH óptimo para la microextracción.

Como extractante se utilizó Tritón X-100 y se evaluaron dos líquidos iónicos que diferían en el anión. El [Bmim][BF₄] demostró mejores extracciones que el [Bmim][PF₆]. Además, se evaluó las concentraciones del líquido iónico y el surfactante en la mezcla con agua y la cantidad que se debía agregar para realizar la microextracción. Los valores óptimos fueron 4,75 y 6,90 % (m/v) para el líquido iónico y el surfactante, respectivamente, y se agregaron 500 μL .

También se evaluó el tiempo necesario de centrifugación para separar la fase acuosa de la fase rica en surfactante. Aunque en muchos trabajos se evalúa entre 5 y 10 minutos (Paleologos, 2005), en este trabajo, se evaluó entre 2 y 5 minutos. Sólo 2 minutos fueron suficientes, logrando un método más rápido.

Los valores óptimos (Tabla 1) obtenidos fueron agregar 300 μL de una solución metanólica de morina ($3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) y 500 μL de una mezcla de [Bmim][BF₄] y Tritón X-100 (4,75 y 6,90 % (m/v), respectivamente) a un pH de 4,0. El tiempo de centrifugación óptimo fue de 2 minutos.

Tabla 1: Parámetros estudiados en la microextracción y sus valores óptimos.

Parámetro	Intervalo	Óptimo	Unidad
Solvente de la solución	Agua – etanol – metanol	Metanol	
Concentración de morina	3×10^{-4} – 0,25	3×10^{-4}	mol L^{-1}
Volumen de morina	200 – 500	300	μL
pH	3,0 – 5,0	4,0	
Líquido iónico	[Bmim][PF ₆] – [Bmim][BF ₄]	[Bmim][BF ₄]	
Concentración de LI y	4,75 y 6,90 – 2,38 y 3,45	4,75 y 6,90	%(m/v)
Volumen de mezcla	300 – 500	500	μL
Tiempo de centrifugado	2 - 5	2	Minutos

El procedimiento se aplicó con resultados satisfactorios a muestras de agua de mar enriquecidas con $30 \mu\text{g Sn L}^{-1}$ de MBT, DBT y TBT, obteniendo recuperaciones de entre 88-95% con un RSD% menor al 15. El límite de detección para estos compuestos es de $0.9 \mu\text{g Sn L}^{-1}$.

Conclusiones

Se desarrolló un método rápido para la determinación de TBTs en aguas de mar. Se utilizaron solventes verdes y se aplicó una sonda de ultrasonido para acelerar el proceso. Se optimizaron los parámetros más importantes utilizando una solución de cloruro de sodio 3.5%.



Bibliografía

- Arain, M.S., Arain, S.A., Kazi, T.G., Afridi, H.I., Ali, J., Arain, S.S., Naemullah, Brahman, K.D. y Mughal, M.A.**, 2015. Temperature controlled ionic liquid-based dispersive microextraction using two ligands, for determination of aluminium in scalp hair samples of Alzheimer's patients: A multivariate study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 137: 877-885.
- Bağda, E. y Tüzen, M.**, 2015. Determination of zirconium in water, dental materials and artificial saliva after surfactant assisted dispersive ionic liquid based microextraction. *RSC Advances*. 5(130): 107872-107879
- Bravo, M., Aguilar, L.F., Quiroz, W., Olivieri, A.C. y Escandar, G.M.**, 2013. Determination of tributyltin at parts-per-trillion levels in natural waters by second-order multivariate calibration and fluorescence spectroscopy. *Microchemical Journal*. 106: 95-101.
- Bravo, M.A., Parra, S., Vargas, C. y Quiroz, W.**, 2017. Determination of organotin compounds in sediment samples by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography–Pulsed flame photometric detection (DLLME-GC-PFPD). *Microchemical Journal*. 134: 49-53.
- Cortada, C., Vidal, L. y Canals, A.**, 2011. Determination of nitroaromatic explosives in water samples by direct ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*. 85(5): 2546-2552.
- European Directives:** EC European Parliament and Council Directive (2000/60/EC) of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy Off. J. L, 327 (1) (2000) 22/12/2000 y EC European Parliament and Council Directive (2008/105/EC) of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council).
- Furdek, M., Mikac, N., Bueno, M., Tessier, E., Cavalheiro, J. y Monperrus, M.**, 2016. Organotin persistence in contaminated marine sediments and porewaters: In situ degradation study using species-specific stable isotopic tracers. *Journal of hazardous materials*. 307: 263-273.
- Lagerström, M., Strand, J., Eklund, B. y Ytreberg, E.**, 2017. Total tin and organotin speciation in historic layers of antifouling paint on leisure boat hulls. *Environmental pollution*. 220: 1333-1341.
- Lemos, V.A., Santos, L.O. D., Silva, E.D.S. y Vieira, E.V.D.S.**, 2012. Spectrophotometric determination of mercury in water samples after preconcentration using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of AOAC International*. 95(1): 227-231.
- Mattos, Y., Stotz, W.B., Romero, M.S., Bravo, M., Fillmann, G. y Castro, Í.B.**, 2017. Butyltin contamination in Northern Chilean coast: Is there a potential risk for consumers?. *Science of the Total Environment*. 595: 209-217.
- Paleologos, E.K., Giokas, D.L. y Karayannis, M.I.**, 2005. Micelle-mediated separation and cloud-point extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 24(5): 426-436.
- Sabah, A., Bancon-Montigny, C., Rodier, C., Marchand, P., Delpoux, S., Ijjaali, M. y Tournoud, M.G.**, 2016. Occurrence and removal of butyltin compounds in a waste stabilisation pond of a domestic waste water treatment plant of a rural French town. *Chemosphere*. 144: 2497-2506.
- Quintas, P.Y., Oliva, A.L., Arias, A., Domini, C.E., Alvarez, M.B., Garrido, M. y Marcovecchio, J.E.**, 2016. Seasonal changes in organotin compounds in sediments from the Bahía Blanca Estuary. *Environmental Earth Sciences*. 75(8): 659.