

Acumulación de metabolitos tóxicos en ensayos normalizados de biodegradabilidad aeróbica inherente

Luppi, L. I.⁽ⁱ⁾; Hardmeier, I.⁽ⁱⁱ⁾; Itria, R. F.⁽ⁱ⁾

⁽ⁱ⁾INTI-Ingeniería Ambiental

⁽ⁱⁱ⁾INTI-Química y Petroquímica

Introducción

El método de Zahn-Wellens^[1,2] es uno de los métodos normalizados más solicitados por los clientes de INTI-Ingeniería Ambiental para la determinación de la biodegradabilidad aeróbica de sustancias orgánicas. El mismo brinda las condiciones óptimas para lograr la máxima degradación de los compuestos estudiados. Valores de biodegradación superiores o iguales al 70 % son considerados como evidencia de biodegradabilidad inherente última^[3].

El objetivo del presente trabajo es analizar si el método de Zahn-Wellens puede ser utilizado como único criterio, para evaluar si un compuesto es ambientalmente amigable.

Para llevar a cabo este estudio se utilizó nonil fenol etoxilado con 10 moles de óxido de etileno (NPEO₁₀), detergente no iónico de gran importancia comercial y ampliamente utilizado en diversos procesos industriales, presente en más del 60 % de las formulaciones comerciales analizadas en nuestro laboratorio. La degradación biológica del mismo fue analizada mediante el método de Zahn-Wellens (norma ISO 9888/OECD 302 B).

La identificación de los productos de degradación fue llevada a cabo mediante resonancia magnética nuclear protónica (RMN ¹H) con la que es posible obtener la relación molar entre los grupos nonil fenol (NP) y etoxilato (EO).

Metodología / Descripción Experimental

Los ensayos de biodegradabilidad fueron llevados a cabo según se describe en la norma^[1,2], consistente en utilizar el compuesto bajo estudio como única fuente de carbono y energía en presencia de medio mineral y un inóculo proveniente de una planta de barros activados a escala de laboratorio funcionando con un régimen de alimentación semi continua^[4].

Se colectaron muestras a distintos tiempos, que fueron luego centrifugadas. El sobrenadante obtenido se

utilizó para medir la demanda química de oxígeno (DQO). El porcentaje de biodegradabilidad fue calculado según la ecuación (1), donde:

D_t = porcentaje de degradación a tiempo t ;

C_A = concentración (mg/l) de DQO medida luego de 3 h \pm 30 min de incubación;

C_t = concentración promedio (mg/l) de DQO a tiempo t ;

C_{BA} = concentración promedio (mg/l) de DQO el control endógeno luego de 3 h \pm 30 min de incubación

C_B = concentración promedio (mg/l) de DQO en el blanco a tiempo t .

$$D_t = \left[1 - \frac{C_t - C_B}{C_D - C_{BA}} \right] \quad (1)$$

Para el análisis de RMN ¹H los sobrenadantes fueron preconcentrados con columnas de fase reversa C18. Los analitos así concentrados fueron eluidos de las columnas con acetato de etilo, colectándose los eluatos en tubos de polipropileno, dejándose evaporar el solvente a temperatura ambiente.

Las muestras obtenidas de esta manera fueron disueltas con 1 ml de cloroformo 99 % deuterado (Merck, Alemania) y se colocaron en tubos de RMN de 5 mm, registrándose los espectros de resonancia magnética nuclear de protón con un equipo Bruker Avance modelo DPX400, a 400 Mhz para protón. La asignación de los picos se hizo mediante el software de predicción de RMN "ChemNMR H-1 Estimation" incluido en el paquete ChemOffice 7.0 (CambridgeSoft Corporation, UK).

Resultados

El análisis de la biodegradación mostró que el NPEO₁₀ bajo las condiciones de ensayo alcanza el máximo de degradación al cabo de 7 días, el cual resultó ser de un

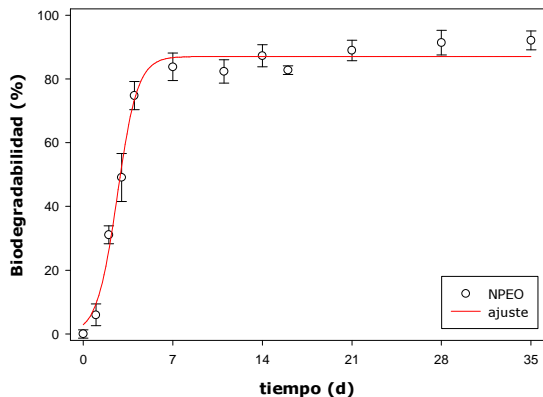


Fig. 1: Determinación de la biodegradabilidad aeróbica inherente del NPEO₁₀.

El análisis de RMN mostró que a la semana se alcanzó el máximo nivel de desetoxicación, observándose la formación de NPEO's de cadena corta, de 3 EO's en promedio, lo que persistió hasta el final del ensayo (ver Fig. 2).

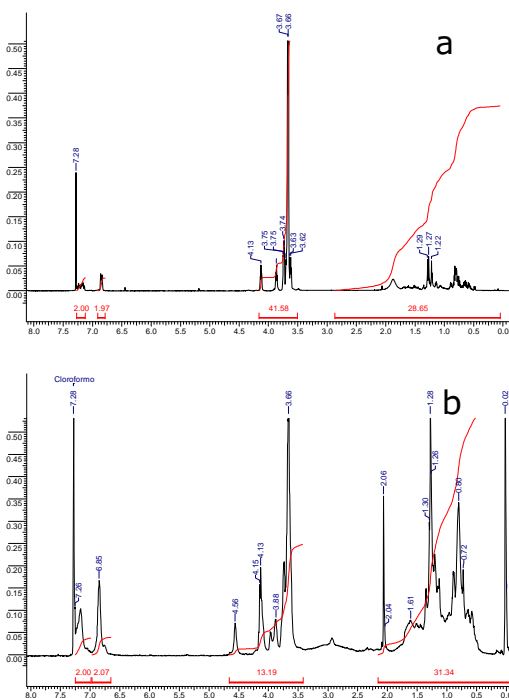


Fig. 2: RMN ¹H al inicio del ensayo de biodegradabilidad (a) y a los 35 días (b).

Conclusiones

Si bien en nuestro país no existe una legislación al respecto, se toma como base el porcentaje de biodegradabilidad para decidir el uso de un producto en un proceso industrial o como estrategia de mercado.

En este caso, utilizando NPEO₁₀ se demostró que con el método de Zahn-Wellens se alcanzó un porcentaje de biodegradación superior al 70 %, sin embargo, con análisis químicos de mayor resolución se observó la formación de intermediarios de degradación persistentes que resultan más tóxicos que el

87 % (ver Fig. 1).

compuesto parental ^[5], bioacumulables ^[6] y que actúan como disruptores hormonales causando impactos sobre la salud y la reproducción de distintos organismos debido a similitudes de estructura química con la hormona sexual femenina estradiol ^[7].

Una alta tasa de degradación no trae aparejada necesariamente una disminución en la potencialidad de agresión ambiental ya que el remanente sin degradar puede persistir en el ambiente por períodos prolongados de tiempo, ocasionando efectos adversos sobre la biota.

Es deseable realizar este tipo de estudios a la hora de tomar decisiones tendientes a la protección de los recursos naturales.

Referencias

- [1] ISO, "ISO 9888 - Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium - Static test (Zahn-Wellens method)." International Organization for Standardization. Switzerland, 1999.
- [2] OECD, " OECD Guideline for Testing of Chemicals 302 B - Inherent Biodegradability: Zahn- Wellens/EMPA Test" Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, 1992.
- [3] OECD, "Introduction to the OECD Guidelines for Testing of Chemicals Section 3, part 1" (<http://www.oecd.org/dataoecd/38/2/5598432.pdf>), July 2003.
- [4] M. Lozada, R. F. Itria, et al. "Bacterial community shifts in nonylphenol polyethoxylates-enriched activated sludge." Water Research 38(8): 2077-2086, April 2004.
- [5] M. R. Servos, "Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates." Water Quality Research Journal of Canada 34(1): 123-177, 1999.
- [6] D. M. John, W. A. House, et al., "Environmental fate of nonylphenol ethoxylates: Differential adsorption of homologs to components of river sediment." Environmental Toxicology & Chemistry 19(2): 293-300, February 2000.
- [7] Y.Tabira, M. Nakai, et al., "Structural requirements of para-alkylphenols to bind to estrogen receptor." European Journal of Biochemistry 262(1): 240-245, May 1999.

Para mayor información contactarse con:
Lic. Raúl Fabio Itria - rfitria@inti.gov.ar