ISÓTOPOS DE ^{13}C, ^{35}Cl Y ^{2}H EN COMPUESTOS ORGÁNICOS

Soler, A.; Otero, N; Rosell, M.; Carrey, R.; Domènech, C.; Palau, J.
Grup de Mineralogia Aplicada i Geoquímica de Fluids
Dep. Cristal·lografia, Mineralogia i Dipòsits Minerals, Facultat de Geologia, Universitat de Barcelona

El desarrollo en los últimos años de las técnicas de análisis en flujo continuo mediante el acoplamiento de un cromatógrafo de gases a un espectrómetro de masas (GC-IRMS o GC-MS) así como multitud de técnicas de preconcentración (Zwank et al. 2003), ha permitido determinar la composición isotópica ($\delta^{13}C$, $\delta^{35}Cl$ y $\delta^{2}H$) de compuestos orgánicos disueltos en las aguas. En la atenuación natural de los compuestos orgánicos volátiles (VOCs), intervienen varios procesos abióticos, tales como: volatilización, dilución, sorción, dispersión…. No obstante, bajo determinadas condiciones redox, intervienen también procesos bióticos como la degradación microbiana, llegando a ser en algunos casos el proceso más importante. Según los primeros estudios realizados a finales de los 90 con algunos compuestos etenoclorados (TCE, PCE, DCE, etc) y BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) como el de Sherwood Lollar et al., 1999 o Hunkeler et al., 1999 se demostró que la degradación microbiana de estos compuestos produce un fraccionamiento isotópico significativo del carbono dando lugar a que el valor $\delta^{13}C$ correspondiente a cada uno de ellos tienda a valores más enriquecidos a medida que son degradados. Además, éste fraccionamiento por biodegradación, demostró ser más grande que otros procesos que podían contribuir a la reducción de concentración del compuesto en el medio ambiente tales como el equilibrio de fases, evaporación, volatilización, adsorción, etc. y que producen un fraccionamiento prácticamente menospreciable (Huang et al. (1999), Hunkeler et al. (1999) y para más detalles sobre compuestos clorados ver Palau et al. 2004a). Esta innovadora idea se extendió rápidamente y dos artículos de revisión de gran impacto en 2004 recogerían los primeros resultados de laboratorio y campo sobre fraccionamiento del carbono en distintos VOCs (Meckenstock et al. 2004; Schmidt et al., 2004) consolidando así el uso del CSIA para los compuestos orgánicos.

Otros contaminantes orgánicos presentes en la gasolina como los éteres oxigenados: metil y etil tert-butil éter (MTBE y ETBE respectivamente) también se empezaron a estudiar en profundidad. Los gráficos bi-isotópicos (2D-CSIA) carbono versus hidrógeno permitieron diferenciar biodegradación aeróbica versus anaeróbica (Zwank et al. 2005) en el campo. Aunque estudios posteriores han observado una gran variedad de fraccionamientos isotópicos relacionados posiblemente con el uso de diferentes enzimas por parte de los microorganismos degradadores que a veces no hacen tan obvia esta diferencia (Rosell et al. 2012). Por lo que se refiere a hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), sólo existe un estudio sobre biodegradación anaerobia de naftaleno pero éste mostró el gran potencial del fraccionamiento del hidrógeno para detectar estos procesos (Bergmann et al., 2011).

A pesar de que CSIA es una técnica que está ya establecida para los compuestos orgánicos previamente mencionados, su aplicación en pesticidas está menos extendida, debido principalmente a los retos analíticos que conlleva su detección. Estos compuestos normalmente se encuentran en concentraciones muy bajas, lo que

hace que se requieran técnicas de preconcentración más intensas para poder obtener la cantidad de sustancia requerida para CSIA (e.g. Ivdra et al. 2014). Además, algunos de estos compuestos son muy polares, por lo que puede ser necesaria la derivatización de los compuestos previamente al análisis isotópico. Pese a las dificultades analíticas que conlleva, ya se ha aplicado CSIA a algunos pesticidas como: atracina (Meyer et al., 2009 and 2013), metolacloro, acetocloro y alacloro (Elsayed et al., 2014), glifosato (Kujawinski et al., 2013), lindano o hexaclorociclohexanos (HCH) (Badea et al., 2009; Bashir et al., 2013), isoproturon (Penning et al., 2010), entre otros, principalmente a escala de laboratorio.

También existen estudios sobre otros compuestos orgánicos de interés tales como el RDX (Ciclotrimetilentrinitramina, un explosivo altamente contaminante de las aguas subterráneas cercanas a campos militares) tanto a escala de laboratorio (Bernstein et al. 2008) como en campo (Bernstein et al. 2010).

En general, a pesar del enorme potencial y amplia variedad de aplicaciones que tiene esta técnica, hay que destacar que existen algunas limitaciones a su aplicación: (i) dilución por número de átomos del elemento (>12 C-átomos), (ii) concentraciones en campo demasiado bajas para ser medidas isotópicamente, (iii) que exista una metodología analítica disponible, ya que para su medida isotópica es necesario que exista una metodología de extracción del contaminante de la muestra de agua o suelo para su análisis (http://www.ub.edu/minegeo/images/IL3/Tema1_Link5_Muestreo.pdf). No obstante, los recientes desarrollos de cromatografía de líquidos acoplados a IRMS (LC-IRMS) abren nuevas posibilidades para trabajar con compuestos polares/no volátiles: Gilevska et al. 2014).

Además, la constante optimización de nuevas metodologías analíticas y técnicas online para el cloro y el hidrógeno (Chartrand et al., 2007, Shouakar-Stash and Drimmie, 2013), así como su estandarización y validación para compuestos orgánicos clorados (Bernstein et al., 2011), ha supuesto y supone aún un gran desafío técnico y que además requiere del esfuerzo conjunto de varios grupos para ser ampliado con éxito a nuevos compuestos (Palau et al., 2014a), pero que ya ha permitido la interpretación de los primeros artículos con 3D-CSIA (Kuder et al., 2013).

Así pues, la composición isotópica ($\delta^{13}C$, $\delta^{35}Cl$ y $\delta^{2}H$) en compuestos orgánicos permite discriminar distintas plumas de contaminación, distinguir mecanismos de degradación que atacan distintos enlaces de la misma molécula y, por tanto, discriminar procesos de degradación simultáneos a escala de campo, calcular la eficiencia de estos procesos de degradación tanto natural como inducida (bioestimulación, bioaumentación, oxidación química in situ (ISCO), BRP, ERP, ANM, etc.). Es decir, que lo que se puede esperar de los isótopos estables aplicado a compuestos orgánicos es:

1. **Discriminar fuentes**.

Para identificar el origen del contaminante en el medio ambiente, es previamente necesario comprobar que las posibles fuentes son isotópicamente

distintas. En emplazamientos complejos con diversos compuestos orgánicos, este prerrequisito generalmente se cumple al menos para algunos de los contaminantes.

2. **Detectar procesos de transformación/degradación**.

Los isótopos aportan una información adicional distinta a la concentración del contaminante, ya que la composición isotópica no varia por procesos de dispersión por transporte, dilución, etc., y solo los procesos de atenuación relacionados con la degradación del compuesto comportan una variación de esta (Fig. 6.1). Por ello los isótopos no solo son muy útiles en la determinación de la fuente de contaminación, sino también en la determinación de la existencia de procesos de degradación de los contaminantes (Fig. 6.2) y su cuantificación en procesos de atenuación tanto naturales como inducidos, tales como Atenuación Natural Monitorizada; Oxidación Química Avanzada; Barreras Reactivas Permeables, Bioestimulación, etc. (Fig. 6.3).

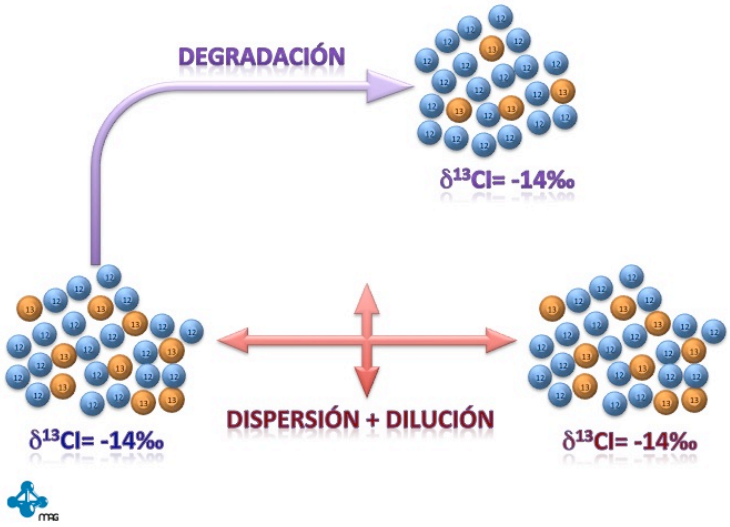

Fig. 6.1 Fraccionamiento isotópico, al ser la fuerza covalente del enlace proporcional a la masa del isótopo, a lo largo de una reacción química, la velocidad de esta es más rápida para el isótopo de menor masa que para el de masa mayor. Por ello en el equilibrio la composición isotópica de reactante y producto serán distintas. Este proceso generalmente no afecta a procesos de dilución, dispersión por transporte, sorción, etc.

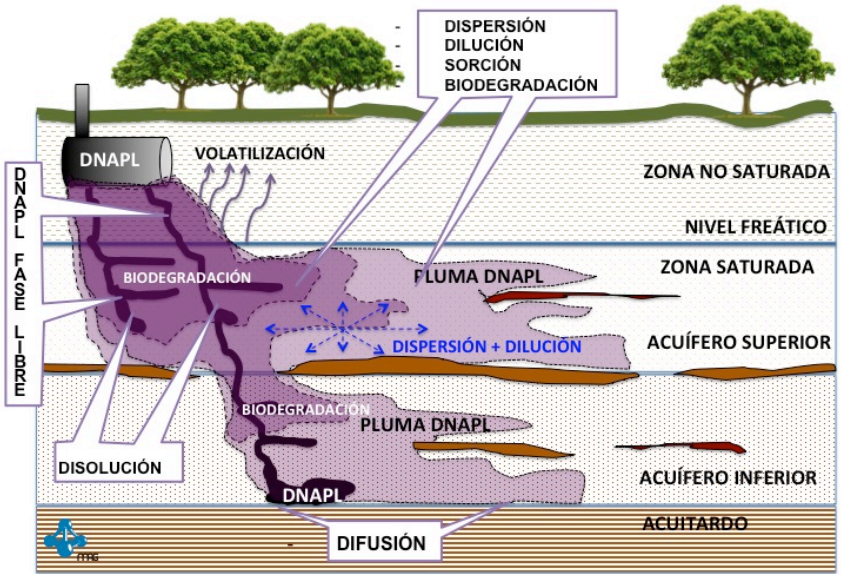

Fig. 6.2. En un emplazamiento contaminado, el contaminante suele tener una historia compleja desde su penetración en el suelo con la presencia de procesos de volatilización en función del compuesto. Al llegar al nivel freático en función de su densidad penetrara o quedará en la superficie y sufrirá procesos de disolución en el agua, dispersión por transporte y en ocasiones si las condiciones son favorables degradación.

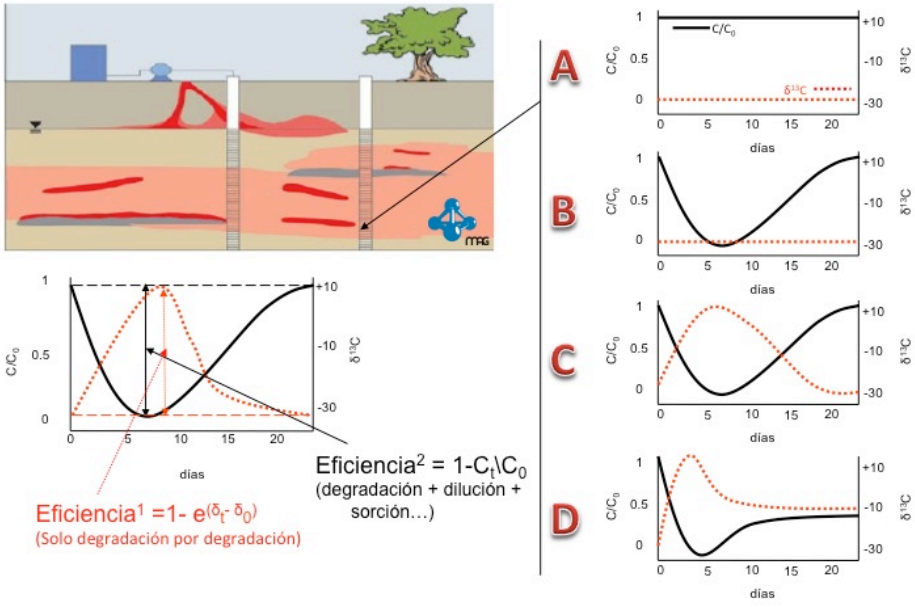

Fig. 6.3. Ejemplo de evolución química e isotópica en una actuación de oxidación química avanzada (ver explicación en el texto).

En actuaciones inducidas como por ejemplo “Oxidación Química Avanzada, la información que se obtiene del calculo de la eficiencia son muy distintas en función de que se utilicen solo datos químicos, o también se utilicen datos isotópicos. Los datos

químicos no son capaces de discriminar la disminución de la concentración por dispersión o dilución, de los de degradación por oxidación, mientras que los datos isotópicos aportan información exclusivamente de la degradación, por lo que junto a la química permite conocer la eficiencia del tratamiento de oxidación realizado, y de la dispersión y dilución producidas durante la remediación. En la figura la línea negra representa la evolución de la concentración del contaminante y la roja la evolución de la composición isotópica del mismo contaminante, a lo largo de una actuación de oxidación química. Así, en la figura A se puede observar el comportamiento de estas variables durante una actuación sin procesos de dilución, dispersión o degradación, es decir que no se ha actuado sobre el sistema. La figura B, muestra una actuación en la cual, si bien la concentración ha disminuido por dilución o dispersión del contaminante, la composición isotópica de este no varia por lo que el oxidante no ha sido eficaz de degradarlo (quizás el oxidante ha sido consumido por otros compuestos oxidables del suelo como materia orgánica). La figura C muestra una actuación en la cual la concentración ha disminuido y al mismo tiempo la composición isotópica ha aumentado, indicando que parte del contaminante ha sido oxidado, si bien se observa un rebote de este que debe ser interpretado como la reincorporación de nuevo contaminante existente en fase libre o sorbido en la matriz del acuífero (en este caso queda claro que el proceso ha funcionado y que solo necesita de mayor tiempo de tratamiento). La figura D muestra un caso en el que la concentración disminuye y la delta aumenta, por lo que se puede concluir que el oxidante ha sido eficaz, y ha alcanzado el objetivo de degradar parte del contaminante. Al no recuperar la composición isotópica el valor inicial, indica que no queda contaminante sorbido o en fase libre, y por tanto que con algunas actuaciones más, se alcanzara un nivel optimo de remediación.

Para el uso de los datos isotópicos con este propósito son necesarios dos prerrequisitos:

a. La previa realización de experimentos de laboratorio que demuestren un fraccionamiento isotópico significativo del proceso de transformación a estudiar en campo y determinación del fraccionamiento isotópico en el emplazamiento a estudiar. En este sentido, Torrento et al. (2013) y en concreto en la tabla IV (pág 20) realiza un estudio de qué reacciones de oxidación química son mejores para un seguimiento cuantitativo de la actuación de descontaminación inducida.

http://residus.gencat.cat/web/.content/home/lagencia/publicacions/sols_contaminats/solucions_de_descontaminacio_daigues.pdf

b. Que las diferencias entre valores encontrados en el campo sean significativos. Ejemplo: en la medida de $\delta^{13}C$, teniendo en cuenta que 0,5‰ es el error total analítico, la EPA (Hunkeler et al., 2009) recomienda un enriquecimiento de al menos 2‰ para considerarlo significativo en campo.

http://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?dirEntryId=202171&CFID=12071441&CFTOKEN=46474245

3. Identificar vías metabólicas o mecanismos de transformación (biodegradación aeróbica versus anaeróbica o biodegradación versus ISCO aplicada, etc.) a través del 2D-CSIA (Fig. 6.4 y Fig. 6.5). Como prerrequisito requiere tener una buena compilación de datos de laboratorio previos (ε y pendientes Λ) de todas las vías de degradación posibles, tanto de la literatura, como de experimentos en *batch*/microcosmos realizados con material del propio del emplazamiento contaminado imitando las condiciones ambientales del acuífero.

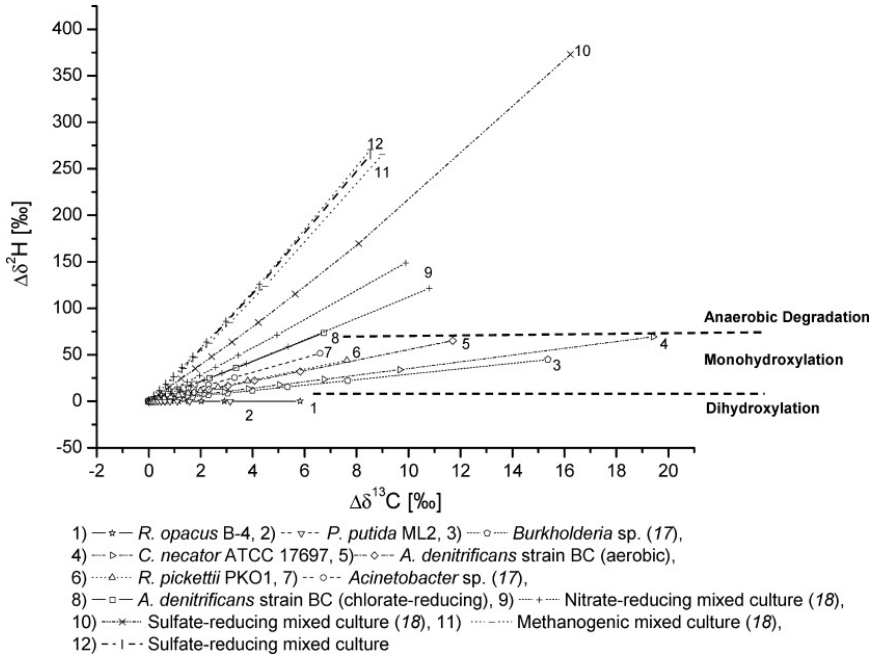

Fig. 6.4. Ejemplo de vías potenciales de biodegradación del benceno descritas laboratorio: Fischer et al., (2008) Environ. Sci. Technol., 42, 4356– (http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es702468f)

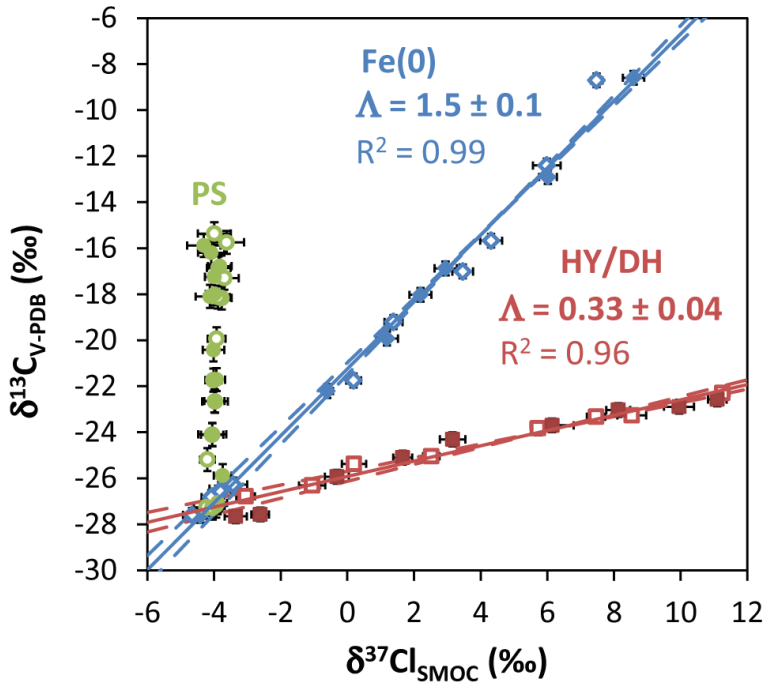

Fig. 6.5. Ejemplo de diferentes reacciones abióticas de degradación del 1,1,1-tricloroetanodel descritas en el laboratorio: Palau et al., (2014b) Environ. Sci. Technol., 48, 14400−14408. (http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es504252z)

4. Cuantificar la eficiencia de los procesos de degradación detectados en el campo. En estudios de campo, el grado de degradación (*D* [%]) de un compuesto orgánico a lo largo de la pluma de contaminación puede ser calculado mediante la siguiente ecuación de Rayleigh modificada:

$$D[\%] = \left[1 - \left(\frac{\delta_t + 1000}{\delta_0 + 1000}\right)^{\left(\frac{1000}{\varepsilon}\right)}\right] \times 100$$

Donde la composición isotópica del compuesto de estudio se mide en diferentes puntos de muestreo (pozos o profundidades) a lo largo de la pluma (δ_t), y a falta de un valor de la fuente original, se asume comúnmente que el valor inicial (δ_0) es aquel que presenta el valor más negativo o con una concentración mayor cerca de la fuente. El valor del fraccionamiento isotópico elegido (ε) debe ser en base a lo visto en el punto anterior, ya sea en la literatura o por estudios propios de laboratorio y debe reflejar en lo posible las condiciones de campo.

Ver citas bibliográficas en:

http://www.ub.edu/minegeo/images/IL3/BIBLIOGRAFIA_Tema_2.pdf