

DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE ESTRÓGENOS MEDIANTE FLUORESCENCIA Y CALIBRACIÓN MULTIVARIADA

Silva, Amanda¹; Insausti, Matías^{2}; Grünhut, Marcos²; Ugulino de Araújo, Mario C¹; Fernández Band, Beatriz S²*

1. Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica/Quimiometria (LAQA), Universidade Federal da Paraíba (Campus I), João Pessoa, PB, Brasil.
2. Instituto de Química del Sur (CONICET) – Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Bs. As. Arg. Av. Alem 1253(B8000CPB).

*matiasi@conicet.gov.ar

Los estrógenos se introducen al medio ambiente a través de los efluentes de aguas residuales de las plantas de tratamiento donde no son eliminados completamente, y actúan como disruptores endocrinos. La contaminación se debe a la estabilidad, resistencia a la degradación microbiana y biodisponibilidad de los compuestos hormonales. Se producen naturalmente en células específicas en los ovarios y la placenta, como así también existen hormonas sintéticas de amplio uso, entre las que se incluyen las píldoras anticonceptivas.

Los estrógenos son un grupo de compuestos esteroides, llamados así por su importancia en el ciclo de celo y en la función primaria de la hormona sexual femenina, siendo un compuesto muy abundante y excretado constantemente por las mujeres. Entre los más utilizados y estudiados en el presente trabajo están los estrógenos naturales estrona (E1), estradiol (E2) y estriol (E3); y estrógenos sintéticos como el 17- α -etinilestradiol (EE2); por su presencia en aguas superficiales y subterráneas. Estas drogas se han detectado recientemente con lo que los efectos tóxicos que pueden ocasionar en los diferentes ecosistemas aún no se están investigado. Las dosis requeridas para producir efectos fisiológicos o psicológicos en el hombre son en general bajas, de ahí que la presencia de estos compuestos en el medioambiente, aunque sea en concentraciones muy bajas, pueda resultar peligrosa para los organismos acuáticos que se encuentran expuestos desde los primeros estadios de desarrollo. Estrógenos se han detectado valores muy por encima de los que marca la bibliografía para el EE2 que es un estrógeno sintético, lo habitual, es encontrar niveles por debajo de los 100 ng/L y sólo ocasionalmente lo superan. Existen estudios donde se indica que niveles de tan sólo 1 ng/L de compuestos como el EE2 pueden llegar a ser suficientes para causar fenómenos de feminización y hermafroditismo en peces [1], disminución de la reproducción de peces, y cambios de niveles de vitelogenina en organismos marinos [2].

Actualmente existen varios métodos cromatográficos para la determinación de estos compuestos incluyendo HPLC, HPLC-MS, GC, GC-MS. Aunque estas técnicas

separativas otorgan excelentes resultados, precisan un instrumental costoso y extensos tiempos de análisis. Además se deben realizar tediosos pretratamientos de muestra, uso de grandes volúmenes de solventes orgánicos, y usualmente requieren de micro-extracción en fase sólida. Por lo que una alternativa son los métodos espectroscópicos, que gracias a la ayuda de herramientas estadísticas están tomando creciente importancia para ser usados como métodos de referencia por su simplicidad y bajo costo. El uso de fluorescencia resulta en métodos selectivos y sensibles de especies orgánicas o algunas pocas inorgánicas.

El uso de técnicas de regresión multivariada y estrategias de procesamiento de datos como MLR, PLS, PARAFAC, U-PLS/RBL, MCR-ALS entre otros, son comúnmente empleados para calibrar datos espectrales complejos. El uso de matrices de excitación – emisión de fluorescencia aplicado en soporte sólido de C-18 o membranas de nylon proveen una correcta cuantificación de algunos de estas hormonas en muestras de pescado y pollo contaminado [3].

Teniendo en cuenta que las estructuras de los estrógenos a analizar son muy similares y los espectros fluorescentes poseen gran superposición, para la cuantificación se utilizó la técnica de fluorescencia sincrónica total. Esta última consiste en determinar la intensidad de fluorescencia entre 220 y 700 nm de emisión a diferentes delta lambda (entre 10 y 50 nm, en incrementos de 5nm). Pudiendo así obtener información diferenciada para cada uno de los analitos. Una vez obtenidos los diferentes espectros se modelaron con algoritmos de calibración multivariada como lo son SPA-MLR (Algoritmo de las Proyecciones Sucesivas y Regresión Lineal Múltiple) y PLS (Mínimos Cuadrados Parciales). En muestras de aguas naturales se encontraron límites de detección de 0,15 ng L⁻¹ para E1, 0,13 ng L⁻¹ para E2, 0,04 ng L⁻¹ para E3, 0,22 ng L⁻¹ para EE2.

Referencias

- [1] Chemical Engineering Journal 262 (2015) 417–426. S. Ben Fredj, J. Nobbs, C. Tizaoui, L. Monser.
- [2] Talanta 152(2016)401–409. LaQuana N. Hordge, Kiara L. McDaniel, Derick D. Jones, Jr., Sayo O. Fakayode.
- [3] Microchemical Journal 118 (2015) 141–149. Rocío L. Pérez, Graciela M. Escandar.