



# DETERMINACIÓN DE FULLERENO C<sub>60</sub> EN EL AEROSOL ATMOSFÉRICO

**Autores: Zuriñe Gómez de Balugera<sup>1</sup>, Dolores Encinas<sup>1</sup>, Carmen Sampedro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente. E.U. Ingeniería de Vitoria-Gasteiz. Universidad del País Vasco. 01006 Vitoria-Gasteiz, España  
<sup>2</sup>Servicio Central de Análisis de Álava, SGiker, Centro de Investigación Lascazaray, 01006 Vitoria-Gasteiz, España.

## INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas en general, y los fullerenos en particular, están incluidos en la categoría de contaminantes emergentes, es decir, contaminantes no regulados cuyo comportamiento ambiental es desconocido y cuyo estudio se encuentra entre las líneas de investigación prioritarias de los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medioambiental, tales como la OMS y la EPA. El fullereno C<sub>60</sub> es la nanopartícula de carbono más común y abundante conocida. Es una molécula grande y esférica formada por 60 átomos de carbono, dispuestos en forma de 12 pentágonos y 20 hexágonos, lo cual le da una alta simetría y, sobre todo, una elevada estabilidad. Se origina tanto de forma natural como antropogénica, y es de esperar que se encuentre presente en muchos de los entornos ambientales, incluido el aire atmosférico.

A día de hoy, la investigación ambiental del fullereno C<sub>60</sub> ha experimentado avances en lo concerniente a su determinación analítica en muestras ambientales y a su ecotoxicidad. Así, se han determinado concentraciones ambientales del fullereno C<sub>60</sub> en muestras acuáticas, en sedimentos, en suelos y en matrices biológicas. Sin embargo, el número de trabajos de investigación relativos a la concentración del fullereno C<sub>60</sub> en el aire ambiente es muy escaso.

En este trabajo se presenta una metodología para la determinación cuantitativa del fullereno C<sub>60</sub> presente en muestras de aerosol atmosférico recogidas sobre filtros de fibra de cuarzo. La técnica analítica empleada es la cromatografía líquida acoplada a un detector de Diodo-Array en línea con un espectrómetro de masas de cuadrupolo sencillo (LC-DAD-MS), para la cual se han optimizado las variables propias del método y se ha realizado la validación analítica mediante el estudio de la linealidad, sensibilidad y repetibilidad del mismo. En función de los resultados analíticos obtenidos, se ha diseñado un sistema de muestreo capaz de captar grandes cantidades de aire que permita alcanzar límites de cuantificación bajos. El proceso de extracción del fullereno C<sub>60</sub> a partir de los filtros de cuarzo se ha puesto a punto ensayando, para ello, diferentes variables como son el volumen de tolueno, tiempo de sonicación, estabilidad de las muestras, etc.

## METODOLOGÍA

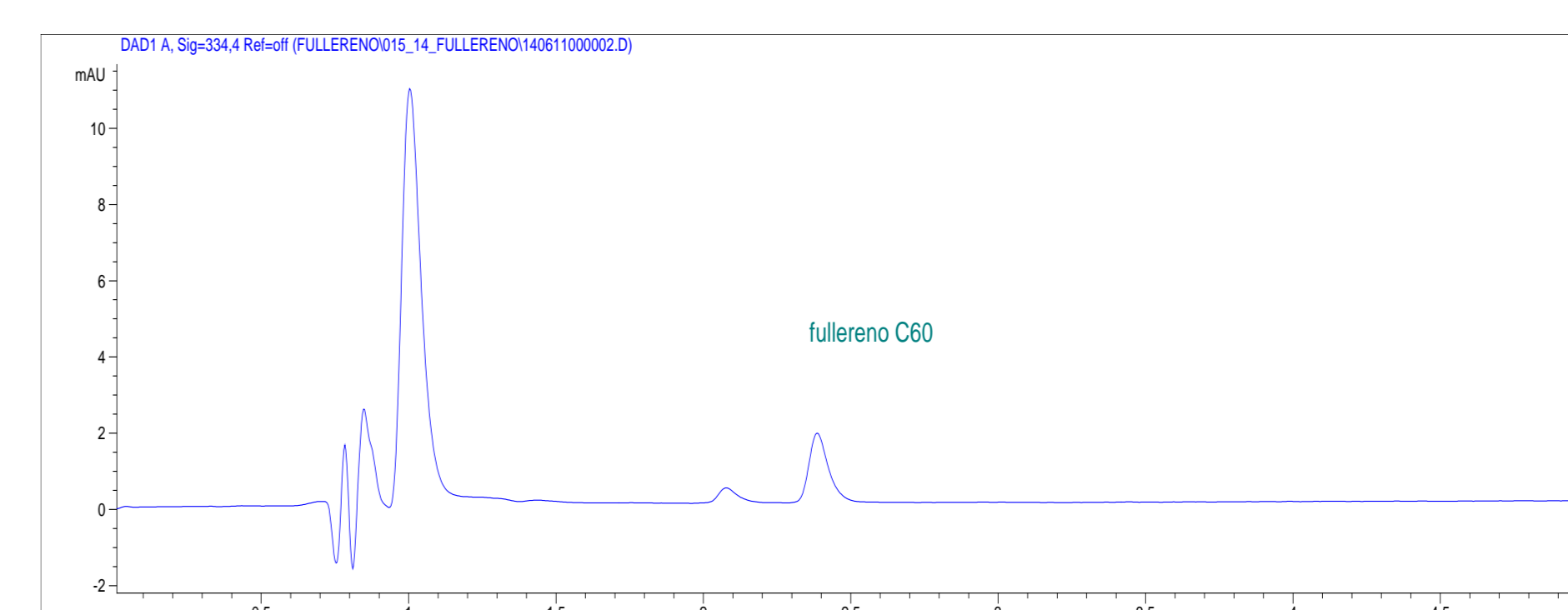
### MÉTODO LC-DAD-MS

- Condiciones de cromatógrafo de líquidos:**
- Columna: Luna 2.5µm C18 (2)-HST 100x2mm
  - Fase móvil: ACN/Tol (45:55), isocrático
  - Flujo de fase móvil: 0.3 ml/min
  - Tª de columna: 30°C
  - Vol. Inyección: 5 µl

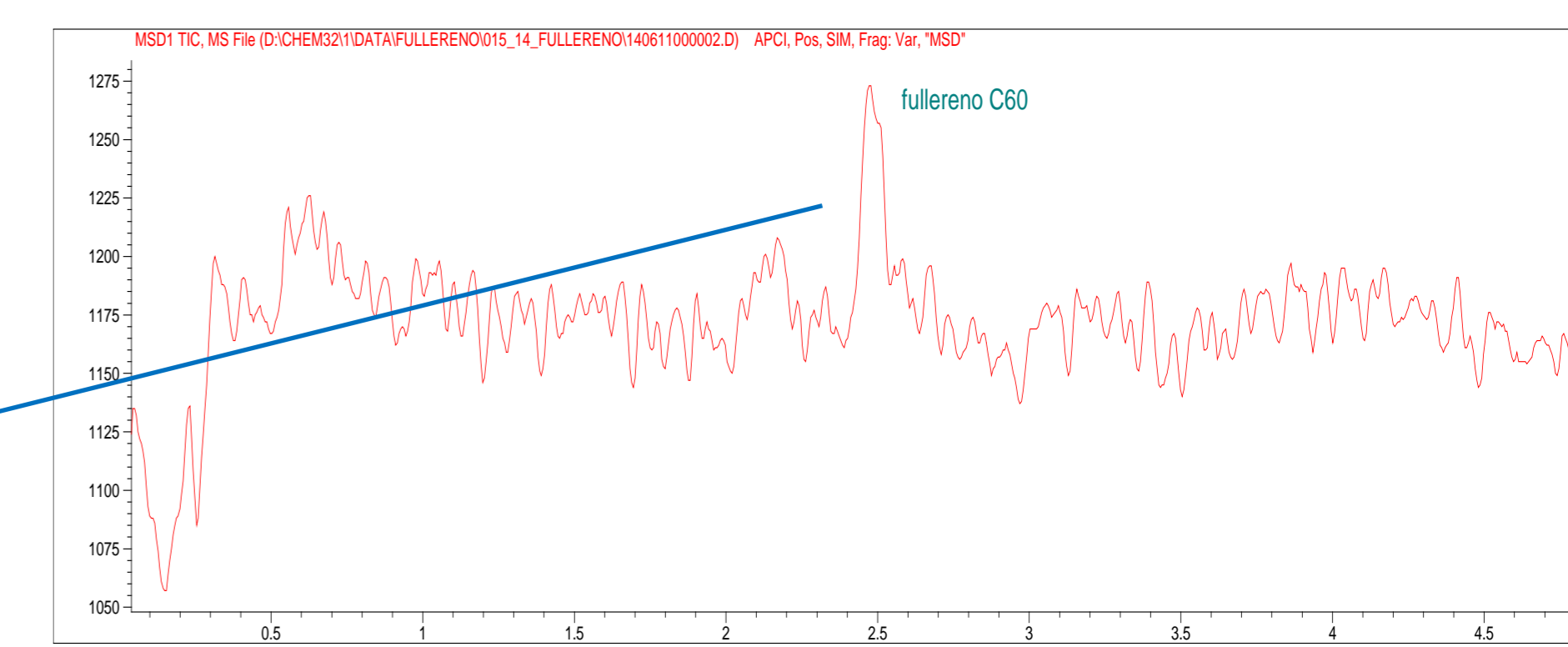
- Condiciones de DAD:**
- Longitud de onda: 3340nm
  - Ancho de banda: 4 nm
  - Ancho de pico: 0.05 min

- Fuente de ionización APCI:**
- Ionización: modo positivo
  - Voltaje de corona: 4 µA
  - Gas de nebulización: Nitrógeno
  - Flujo de gas: 5 L/min
  - Presión de gas: 60 psig
  - Tª de gas: 350°C
  - Tª vaporización: 475°C

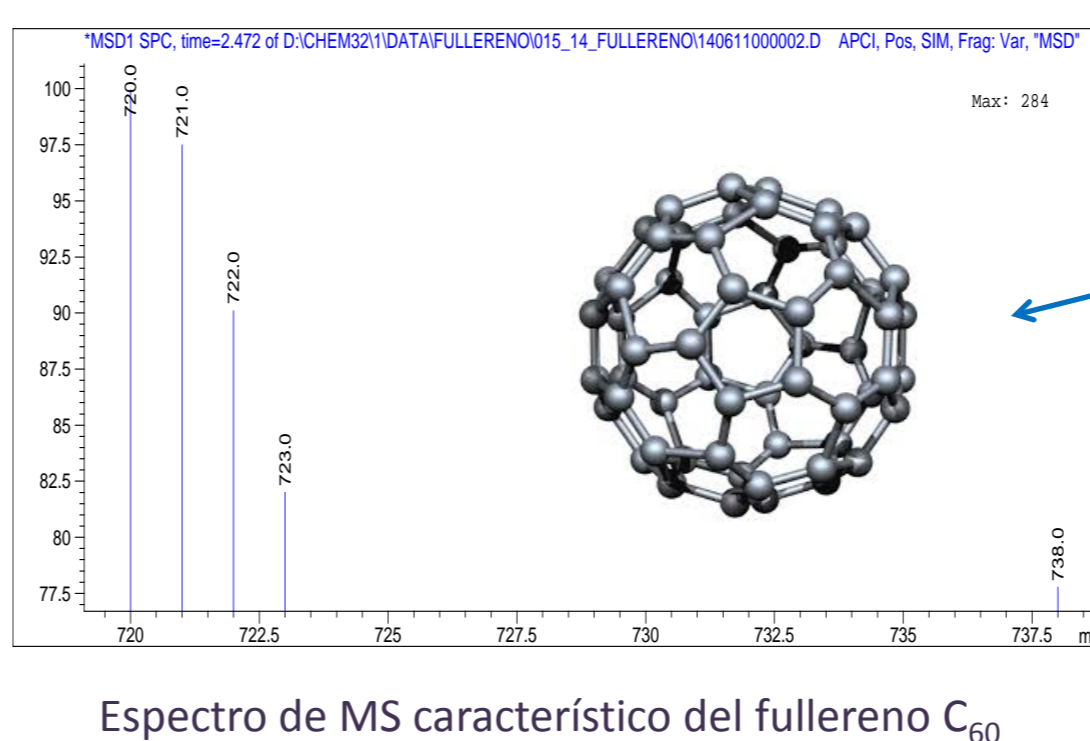
- Analizador de masas:**
- Cuadrupolo
  - Modo adquisición: SIM
  - m/z: 720, 721, 722, 723



Cromatograma LC-DAD para un patrón de 35 ppb de fullereno C<sub>60</sub> en tolueno



Cromatograma LC-SIM para un patrón de 35 ppb de fullereno C<sub>60</sub> en tolueno



Espectro de MS característico del fullereno C<sub>60</sub>



**Estándares:**  
En tolueno

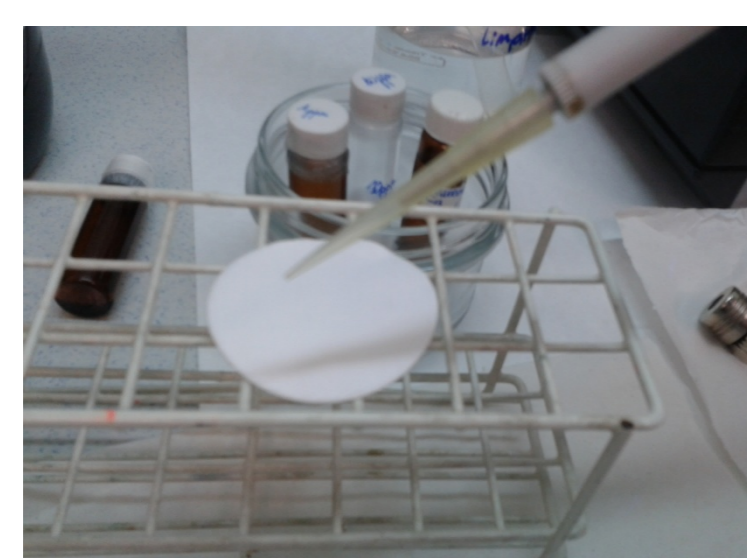
OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS LC-DAD-MS



### FORTIFICACIÓN DE FILTROS



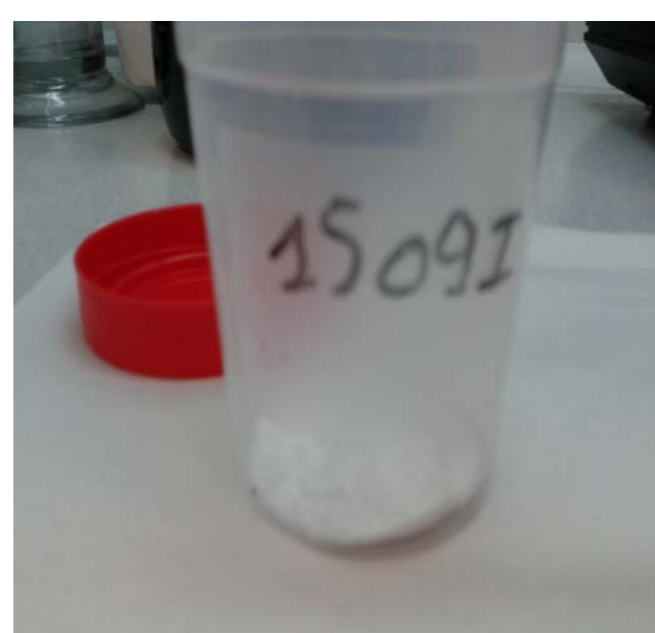
El filtro se fortifica a partir de los patrones de fullereno en tolueno, para conseguir la cantidad de fullereno C<sub>60</sub> deseada (ng)



Se deja estabilizar el filtro en la campana durante 30 minutos

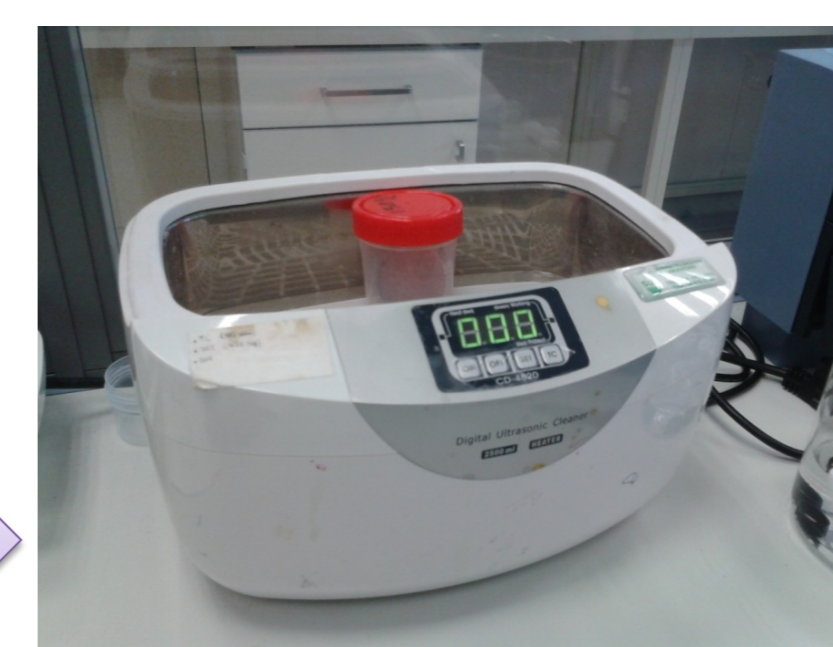
Extracción con tolueno

### PRE-TRATAMIENTO



El filtro fortificado se introduce en un bote de PE y se almacena en congelación (-42°C) hasta su análisis

Extracción con tolueno, dos etapas de 10 ml cada una



**Sonicación** 16 min en cada etapa y los dos extractos juntos se **evaporan** a sequedad con nitrógeno

**Reconstituir:**  
1 mL fase móvil (ACN/Tol, 45:55)



**Centrifugación**  
5 min a 10000 r.p.m.

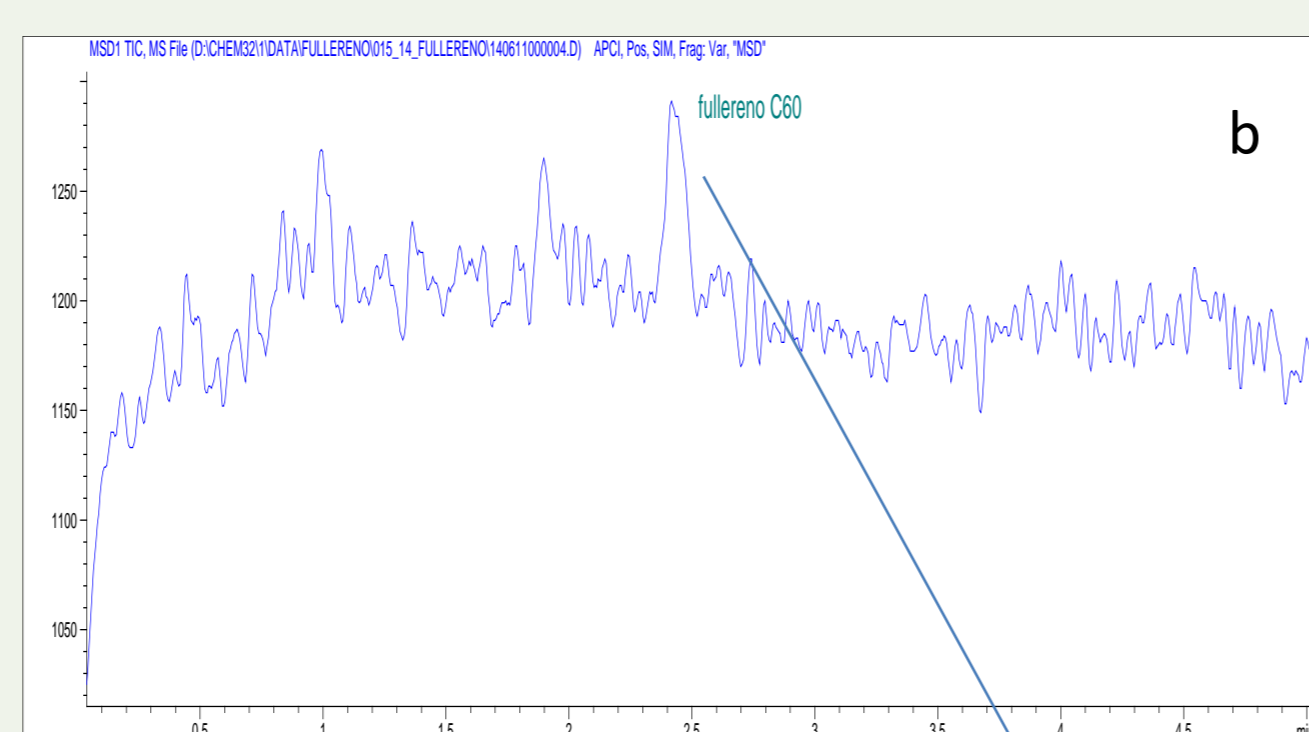
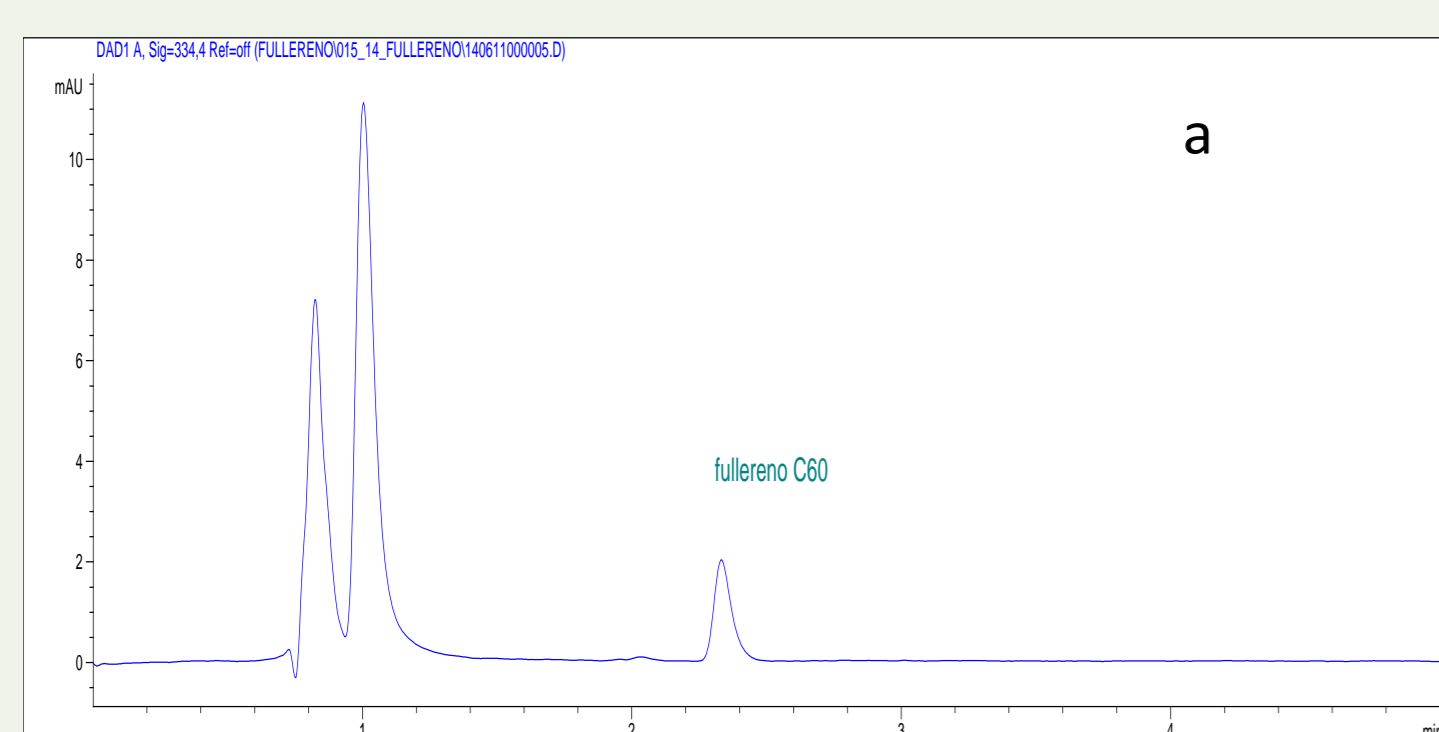
## VALIDACIÓN DEL MÉTODO EN FILTROS FORTIFICADOS

El límite de cuantificación (LOQ) fue estimado experimentalmente, inyectando extractos obtenidos a partir de filtros fortificados con concentraciones decrecientes de fullereno C<sub>60</sub> en tolueno. Para LC-DAD y LC-MS, los LOQs fueron estimados en 7 ng y 35 ng de fullereno C<sub>60</sub> en filtro, respectivamente.

**Parámetros de validación analítica del método desarrollado por LC-DAD para el Fullereno C<sub>60</sub>**

- La **Linealidad** en matriz filtro fue evaluada entre concentraciones comprendidas 10-1000 ng/mL
- **Precisión:** Fue evaluada en filtros fortificados al nivel del LOQ. Se realizaron seis réplicas procesadas durante seis días distintos (*precisión intermedia*).
- **Recuperación en filtros dopados:** El porcentaje de recuperación fue calculado en filtros dopados con 50 ng de fullereno C<sub>60</sub>.
- **Estabilidad:** Se comprobó que el fullereno C<sub>60</sub> en los filtros almacenados a -42°C, permanece estable al menos durante tres semanas.

Fullereno C <sub>60</sub>	Coefficiente de Correlación (r)	Precisión Intermedia (RSD)	Recuperación % (50 ng en filtro)
	0.999	6.6	92

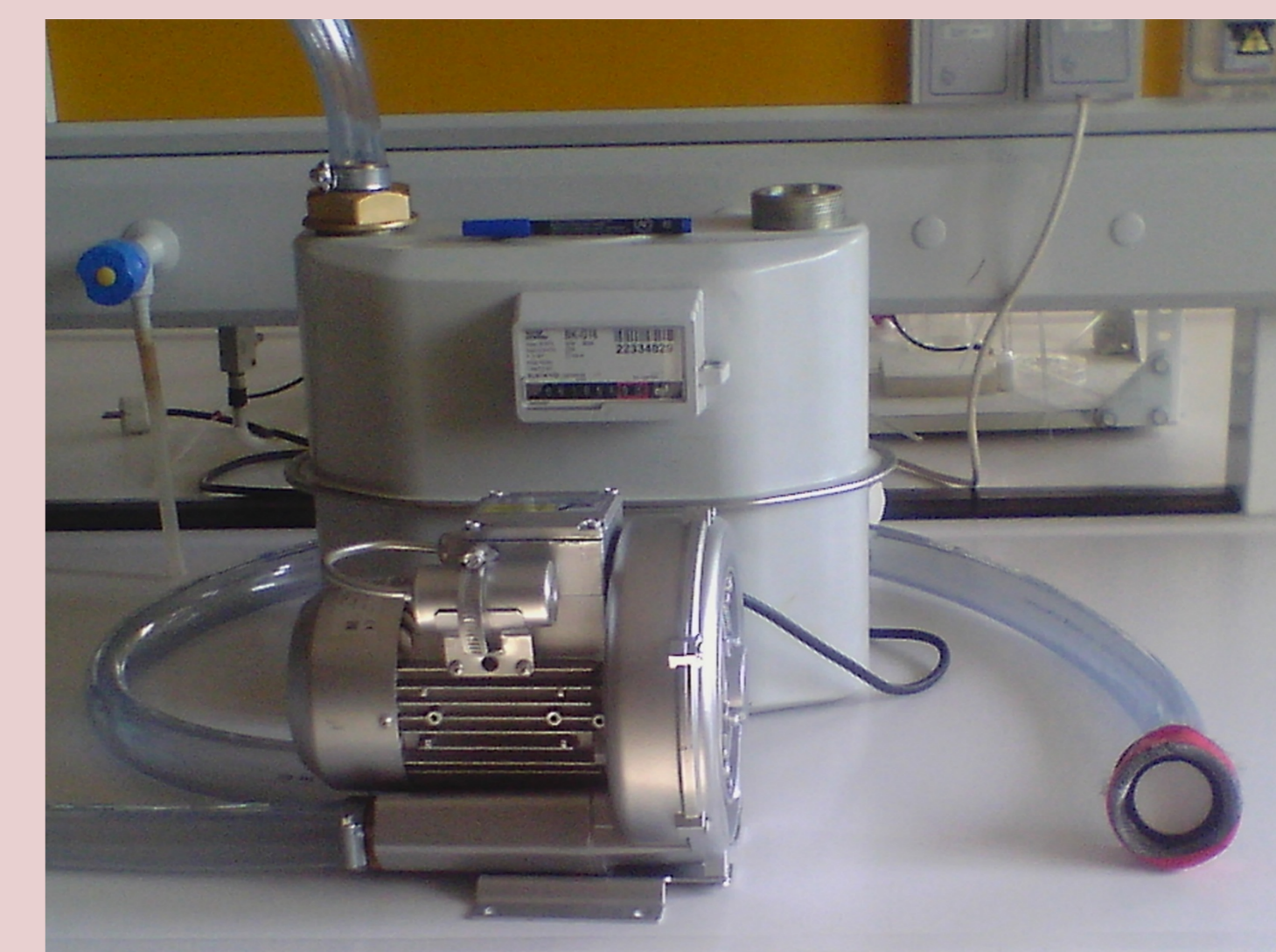


Cromatogramas típicos para un extracto obtenido a partir de filtros fortificados con 50 ng de fullereno C<sub>60</sub>.  
(a) detector DAD  
(b) detector de espectrometría de masas

## APLICACIÓN A MUESTRAS REALES

### Componentes del sistema de muestreo:

- Turbina de canal lateral de simple etapa (MVTB0055-1MA200-1), con caudal nominal máximo de 55 m<sup>3</sup>/h y un vacío máximo de -60 mbar.
- Sistema de tubos de PVC de 30 mm de diámetro.
- Portafiltro de 50 mm de diámetro, provisto de un sistema de rejillas para la sujeción del filtro.
- Filtro para la captación de las partículas presentes en el aerosol atmosférico.
- Contador de alto volumen modelo G-16 para medir el caudal de aire.



### Condiciones de muestreo:

- Caudal de captación de aire: 34 m<sup>3</sup>/h.
- Filtro de fibra de cuarzo de 47 mm de diámetro, con una eficacia de retención (para partículas de 0.3 µm) del 99.999%.

Este sistema de muestreo está siendo aplicado en diferentes condiciones reales para la determinación de la concentración de fullereno C<sub>60</sub> en: aire atmosférico de la ciudad de Vitoria-Gasteiz, salidas de tubos de escape de diversos medios de locomoción, garajes, zonas de gran actividad industrial, etc. cuyos resultados serán presentados en un futuro próximo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos el soporte económico de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea y la colaboración de la empresa EDP que ha cedido gratuitamente el contador de aire de alto volumen. Asimismo agradecemos el soporte técnico y humano del Servicio Central de Análisis, SGiker (Álava) de la UPV-EHU.

