

## LA DETERMINAZIONE DEI POLIBROMODIFENILETERI (PBDE) NELLE ACQUE

*L. Ariati, A. Cresta, F. Feletti*

**Abstract: I polibromodifenileteri (PBDE) possono essere considerati inquinanti chimici emergenti, come testimonia l'attenzione posta su di essi dalla recente normativa in materia di acque sia in Europa, sia negli Stati Uniti. Il presente lavoro mette in evidenza le peculiarità di questi composti, il loro livello di diffusione e descrive l'applicazione delle metodiche più evolute per la loro determinazione al caso di acque di diversa natura prelevate nel Nord Italia.**

**Abstract: The polybrominated diphenylethers (PBDE) are commonly rated as "emerging chemical pollutants", as shown by the latest regulation issued in the European Union as well as in the United States. This work describes their peculiarities and their presence in the environment and gives an example of the application of the most up-to-date analytical methods for the quantification of PBDE in water samples from Northern Italy.**

### 1 Introduzione

I polibromodifenileteri, comunemente indicati con l'acronimo PBDE, possono essere considerati "inquinanti chimici emergenti" delle acque, anche se le prime notizie del loro ritrovamento in matrice acquosa risalgono addirittura agli anni '80. Con il miglioramento dei limiti di rilevabilità strumentale associati alle metodiche utilizzate per la determinazione di tali composti, negli ultimi anni sono notevolmente aumentati i casi accertati di positività ai PBDE nell'ambiente idrico, al punto da arrivare ad individuarne la presenza anche nelle acque destinate al consumo umano. La loro crescente diffusione, in massima parte collegata al loro utilizzo come ritardanti di fiamma, sta subendo un deciso arresto, essendone stata accertata l'attività come interferenti endocrini, la tossicità neurocomportamentale e la potenziale cancerogenicità. Conseguentemente a ciò gli Stati Uniti hanno già messo al bando alcuni PBDE, mentre a livello europeo sono state emanate direttive, poi recepite dai singoli stati membri, per contenerne l'immissione nell'ambiente e per regolamentarne la presenza nelle acque.

### 2 Struttura dei PBDE

La struttura base del difeniletere (fig. 1) consente la presenza di un numero di atomi di bromo compreso tra 1 e 10, grado di sostituzione diverso per i due anelli benzenici e disposizioni diverse di tali atomi all'interno di ciascun anello.

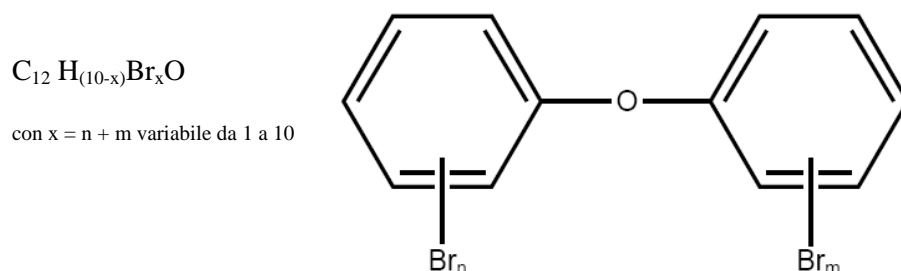


Fig. 1 - Struttura generale dei PBDE

Conseguentemente si possono avere 209 congeneri diversi che, per analogia con quanto avviene per i policlorobifenili (PCB), sono classificati sulla base della nomenclatura IUPAC mediante un numero identificativo, crescente col numero di atomi di bromo presenti nella struttura. Le possibilità che ne derivano sono riassunte in tabella 1.

Tab. 1 - Caratteristiche chimiche dei PBDE

Formula bruta	Nome	Numero isomeri	Numero IUPAC	Massa molecolare	% (m/m) bromo
C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> BrO	Mono-BDE	3	1-3	248,97	32,09
C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Br <sub>2</sub> O	Di-BDE	12	4-15	327,87	48,74
C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Br <sub>3</sub> O	Tri-BDE	24	16-39	406,77	58,93
C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Br <sub>4</sub> O	Tetra-BDE	42	40-81	485,66	65,81
C <sub>12</sub> H <sub>5</sub> Br <sub>5</sub> O	Penta-BDE	46	82-127	564,56	70,77
C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>6</sub> O	Esa-BDE	42	128-169	643,45	74,51
C <sub>12</sub> H <sub>3</sub> Br <sub>7</sub> O	Epta-BDE	24	170-193	722,35	77,43
C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> Br <sub>8</sub> O	Octa-BDE	12	194-205	801,25	79,78
C <sub>12</sub> H <sub>1</sub> Br <sub>9</sub> O	Nona-BDE	3	206-208	880,14	81,71
C <sub>12</sub> Br <sub>10</sub> O	Deca-BDE	1	209	959,04	83,32

### 3 Utilizzo dei PBDE

I PBDE vengono prevalentemente utilizzati come ritardanti di fiamma nelle imbottiture di cuscini e materassi, ma anche per contenitori di televisori e personal computer. La loro bassa infiammabilità e la lentezza nel far propagare le fiamme dovrebbe essere tale da consentire la fuga alle persone in caso d'incendio.

Dal punto di vista commerciale non tutti i 209 congeneri sono significativi: gli unici tre prodotti commerciali degni di nota, denominati DE-71, DE-79 e DE-83R, sono in realtà una miscela di congeneri secondo quanto indicato in tabella 2.

Tab. 2 - Caratteristiche delle principali miscele commerciali di PBDE

Prodotto commerciale	Composizione della miscela com- merciale	Principali utilizzi	Quantità commercializzata in America nel 2001 (tonnellate)	% della produzione mondiale commercializzata in America
DE-71 (pentaBDE)	24-38% tetraBDE 50-60% pentaBDE 4-12% esaBDE 0-1% triBDE 0,5% pentaBDE	Ritardante di fiamma in schiume poliuretatiche per mobili, materassi, sedili auto	7.100	95
DE-79 (octaBDE)	12% esaBDE 45% eptaBDE 33% octaBDE 10% nonaBDE 0,7% decaBDE	Ritardante di fiamma in plastiche ABS (acriloni- trile-butadiene-stirene) per contenitori di televi- sori e PC	1.500	40
DE-83 (decaBDE)	0,3-3% nonaBDE 97-99% decaBDE	Ritardante di fiamma in polistirene ad alto impat- to (HIPS) per televisori e tessuti per rivestimento	24.500	44

La pericolosità accertata dei PBDE nei confronti degli esseri umani, che verrà illustrata con maggior dettaglio nel corso del paragrafo 4, sta progressivamente portando alla messa al bando dei prodotti commerciali derivati. L'Unione Europea ha votato il bando di pentaBDE ed octaBDE già nel 2002,

con effetto a partire dall'agosto 2004; l'entrata in vigore del bando per il decaBDE, prevista per il luglio 2006, è stata rimandata.

In alcuni degli Stati USA il bando nei confronti di produzione e commercializzazione di pentaBDE e octaBDE risale al 2003, mentre per il decaBDE, così come in Europa, non esistono al momento divieti.

#### 4 Tossicologia dei PBDE

Nei mammiferi i PBDE vengono prevalentemente assorbiti dai tessuti grassi (tessuto adiposo, ghiandole surrenali, tratto gastrointestinale, pelle e fegato). Gli studi fino ad ora compiuti sugli effetti dei PBDE nei confronti dei mammiferi hanno per la maggior parte riguardato topi ed altri roditori; i risultati ottenuti possono essere così sintetizzati:

- effetti epatici: si è osservata un'incidenza significativa di casi di ingrossamento epatico, maggiore negli esemplari di sesso maschile. Con riferimento alle miscele commerciali, quelle di pentaBDE e di octaBDE hanno causato danni più gravi rispetto a quelle di decaBDE;
- effetti immunologici: ratti sottoposti a trattamento con miscele commerciali di pentaBDE hanno accusato soppressione della formazione di anticorpi, diminuzione di peso del timo, riduzione del numero di linfociti e splenociti;
- alterazioni neurocomportamentali: si sono osservati fenomeni di iperattività ed incongruità comportamentali di vario tipo;
- effetti sul sistema endocrino: attività di interferenti endocrini è stata osservata nei confronti del sistema della tiroide, con possibili menomazioni neurologiche e ritardi mentali; si sono riscontrate anche inibizioni dell'attività androgena di tipo endogeno, con possibile sviluppo di formazioni tumorali e difficoltà nella riproduzione;
- effetti sul sistema riproduttivo: sono stati riscontrati casi di ritardo nello sviluppo di tale apparato, nonché, nei maschi, diminuzione della produzione di sperma;
- cancerogenicità: è stata provata quella del decaBDE sui ratti, soprattutto a livello epatico. Non sono noti studi sull'eventuale cancerogenicità di pentaBDE e octaBDE.

#### 5 Presenza di PBDE nell'ambiente

E' stata accertata la presenza di PBDE in aria nelle vicinanze di impianti di riciclo di rifiuti, come ci si poteva attendere, ma sorprendentemente anche in luoghi remoti e lontani da fonti di contaminazione. Studi diversi hanno evidenziato la presenza di vari congeneri in fanghi e sedimenti, fluviali e marini, a livelli variabili da nanogrammi a microgrammi per chilogrammo di sostanza secca. La presenza dei PBDE nei sedimenti fa ovviamente presagire il ritrovamento degli stessi nelle acque fluviali e marine, seppur limitata dalla scarsa idrosolubilità di tali sostanze: dati risalenti agli anni '80 fanno riferimento a concentrazioni a livello di microgrammi/litro.

#### 6 Determinazione dei PBDE in matrici acquose

Il D.M. 367/03 fissa al 31 dicembre 2008 il raggiungimento degli standard di qualità per le acque, fornendo peraltro indicazioni sui controlli da eseguire e sulle concentrazioni ammesse, tra le altre, per le sostanze pericolose definite come prioritarie. Tra esse è compreso il pentaBDE, per il quale viene fissato un valore di riferimento di 0,001 µg/L. Il sopraccitato decreto fornisce inoltre indicazioni sui metodi analitici da adottare, informazione fondamentale nel caso di sostanze la cui presenza è significativa per concentrazioni a livello di frazioni di nanogrammi/litro.

La determinazione dei PBDE ha costituito oggetto di studio nel caso di una sperimentazione condotta dal laboratorio Idrocons di Tortona (AL) in collaborazione con l'Università di Pavia. L'attenzione è stata rivolta verso composti a massa molecolare relativamente bassa, vale a dire quelli maggiormente idrosolubili, e più precisamente verso BDE 37 (3,4,4'-tribromodifenil etero), BDE 71 (2,3',4,6-tetrabromodifenil etero), BDE 85 (2,2',3,4,4'-pentabromodifenil etero), BDE 138

(2,2',3,4,4',5'-esabromodifenilietere). La rivelazione e la quantificazione dei quattro composti è stata effettuata mediante un gascromatografo VARIAN CP-3800, collegato ad uno spettrometro di massa VARIAN 320-MS TQ. Per raggiungere i limiti di rilevabilità richiesti è stato necessario preconcentrare i campioni acquosi mediante estrazione in fase solida su colonne VARIAN MEGA BE-C18, procedura automatizzata mediante estrattore SPE GILSON GX-274. Il concentrato, eluito dalla fase solida mediante solvente (n-esano:etilacetato 9:1), è stato iniettato in split/splitless in colonna gascromatografica VARIAN VF5-MS, avente lunghezza 30 metri, diametro interno 0,25 mm e spessore di film 0,25 µm. L'eluizione dei BDE dalla colonna gascromatografica è stata effettuata applicando un programma di temperatura da 120 °C a 340 °C con velocità di riscaldamento di 15 °C/minuto. In figura 2 viene mostrata la separazione ottenuta in tali condizioni per i quattro congeneri, mentre in figura 3 se ne possono osservare gli spettri di massa.

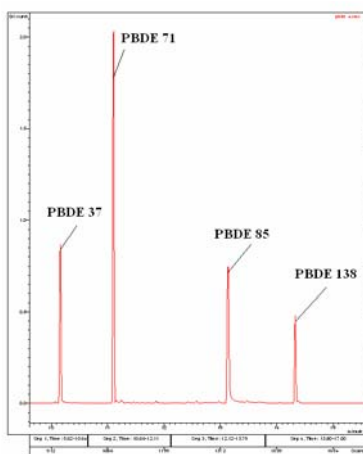


Fig. 2 - Separazione gascromatografica dei congeneri presi in esame

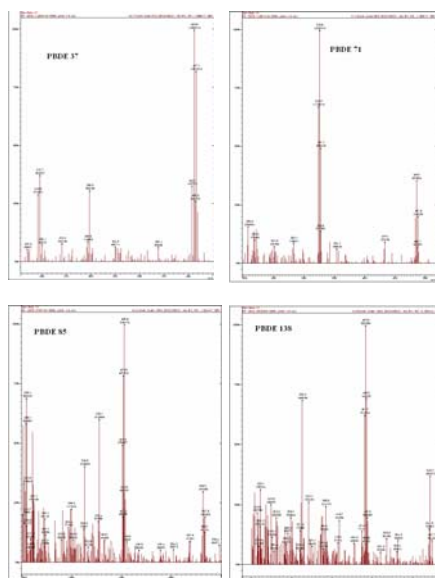


Fig. 3 - Spettri di massa dei congeneri presi in esame

La calibrazione è stata effettuata su quattro livelli di concentrazione e precisamente con valori di 2,50-6,25-12,50-25,00 ng/mL per BDE 37, BDE 71 e BDE 85, mentre per BDE 138 i valori utilizzati sono stati di 5,50-12,50-25,00-50,00 ng/mL. Per lo standard interno è stata utilizzata per tutti i casi una concentrazione pari a 50 ng/mL. In tabella 3 sono riportati per ciascun congenero i dati relativi a tempo di ritenzione, rapporto massa/carica per lo ione precursore e per i principali ioni prodotti, nonché il

valore dell'energia di collisione. Il perilene-D12, utilizzato come standard interno, presentava un tempo di ritenzione pari a 13,111 minuti.

Tab. 3 - Dati GC/MS relativi ai congeneri presi in esame

Congenero	Tempo di ritenzione (minuti)	Ione precursore (m/z)	Principali ioni prodotti (m/z)	Energia di collisione (V)
BDE 37	10,128	407	240÷255	25
BDE 71	11,066	486	320÷335	30
BDE 85	13,093	565	395÷415	30
BDE 138	14,291	644	475÷495	35

Poiché nel caso di campioni reali non è possibile l'iniezione diretta, ma si deve effettuare la pre-concentrazione degli stessi allo scopo di migliorare il limite di rilevabilità del metodo, sono state eseguite prove di recupero su campioni acquosi artificiali, sottoponendoli ad estrazione liquido/solido automatizzata mediante il sistema SPE GILSON GX-274. Nella pratica si sono effettuate tre prove su campioni aventi concentrazione pari allo standard 1 ed altre tre su campioni aventi concentrazione pari allo standard 2, operando secondo il seguente schema:

- ❖ attivazione delle cartucce C18 mediante lavaggi successivi con miscela n-esano:etilacetato (9:1), metanolo ed acqua distillata;
- ❖ estrazione del campione su cartuccia a flusso e pressione costanti;
- ❖ allontanamento dell'acqua dalla cartuccia mediante flusso d'azoto;
- ❖ eluizione con miscela n-esano:etilacetato (9:1);
- ❖ evaporazione dell'estratto in corrente d'azoto fino ad ottenere un volume di 1 mL;
- ❖ trasferimento dell'estratto in vial, introduzione dello stesso in autocampionatore ed analisi con GC/MS.

Nella figura 4 sono riportati in grafico i recuperi percentuali ottenuti per i diversi congeneri nelle due serie di prove.

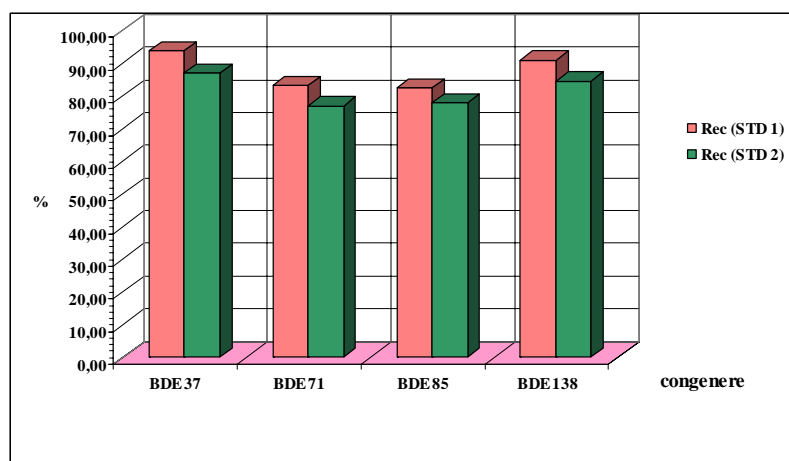


Fig. 4 - Recuperi ottenuti con estrazione liquido/solido

Le procedure analitiche sono state quindi applicate, in via sperimentale, a due campioni di acqua superficiale (denominati campione 1 e campione 2), a due reflui di impianto di depurazione (campione 3 e campione 4) e ad uno di percolato prelevato da una discarica RSU (campione 5). I valori numerici ottenuti sono riportati in tabella 4 e rappresentati in grafico in figura 5.

Tab. 4 - Concentrazioni rilevate in campioni reali

Congenere	Campione 1 (ng/L)	Campione 2 (ng/L)	Campione 3 (ng/L)	Campione 4 (ng/L)	Campione 5 (ng/L)
BDE 37	0,49	0,26	0,38	0,84	1,43
BDE 71	0,36	0,12	0,30	0,88	1,41
BDE 85	< 0,20	< 0,20	0,75	1,04	< 0,20
BDE 138	2,43	0,67	0,42	0,77	1,20

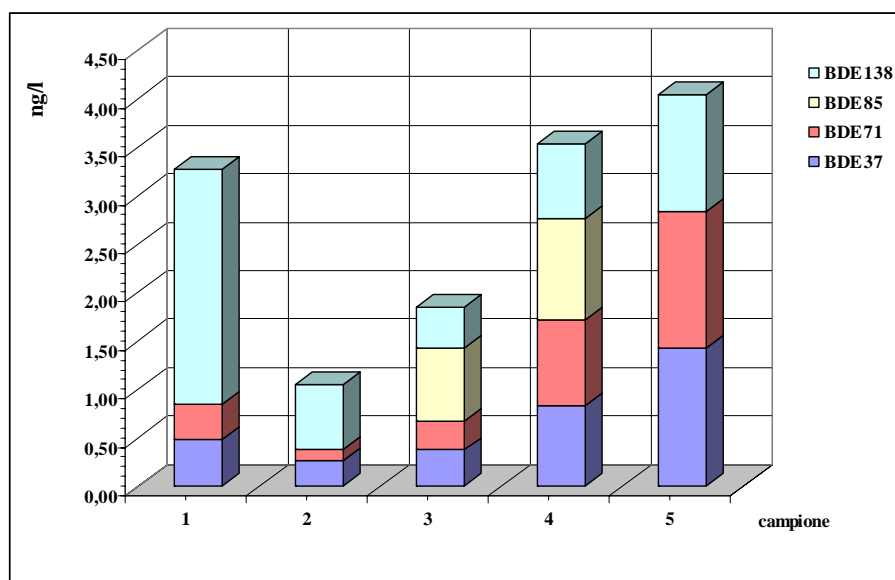


Fig. 5 - Presenza di BDE in campioni reali

## Bibliografia

- Alaee M., Luross J., Sergeant D.B., Muir D.C.G., Whittle D.M., Solomon K. (1999): "Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers in the Canadian Environment", *Organohalogen Compounds* 40:347-350.
- Ariati L., Feletti F., Cresta A. (2007): "La determinazione dei polibromodifenileteri (PBDE) nelle acque", *La Chimica e la Chimica analitica delle sostanze pericolose prioritarie nelle acque - RICH MAC 07*.
- Darnerud P.O., Eriksen G.S., Johannesson T., Larsen P.B., Viluksela M. (2001): "Polybrominated Diphenyl Ethers: Occurrence, Dietary Exposure, and Toxicology", *Environmental Health Perspectives* 109: 49-68.
- de Boer J. (1989): "Organochlorine Compounds and Bromodiphenylethers in Livers of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) from the North Sea", *Chemosphere* 18:2131-2140.
- de Boer J., de Boer K., Boon J.P. (2000): "Polybrominated Biphenyls and Diphenylethers", *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol.3, part K.
- D. M. 367/03: *Regolamento concernente la fissazione di standard di qualità nell'ambiente acquatico per le sostanze pericolose, ai sensi dell'articolo 3, comma 4, del decreto legislativo 11 maggio 1999, n. 152*.
- Jansson B., Asplund L., Olsson M. (1987): "Brominated Flame Retardants - Ubiquitous Environmental Pollutants?", *Chemosphere* 16:2343-2349.
- Nylund K., Asplund L., Jansson B., Jonsson P., Litzen K., Sellström U. (1992): "Analysis of Some Polyhalogenated Organic Pollutants in Sediment and Sewage Sludge", *Chemosphere* 24:1721-1730.

- Sellström U., Kierkegaard A., de Wit C., Jansson B. (1998): “Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Sediment and Fish from a Swedish River”, *Environmental Toxicology and Chemistry* 17:1065-1072.
- Sellström U., Kierkegaard A., Alsberg T., Jonsson P., Wahlberg C., de Wit C. (1999): “Brominated Flame Retardants in Sediments from European Estuaries, the Baltic Sea, and in Sewage Sludge”, *Organohalogen Compounds* 40:383-386.
- US EPA (2006): *Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) Project Plan*.
- Watanabe I., Kashimoto T., Tatsukawa R. (1987) : “ Polybrominated Biphenylethers in Marine Fish, Shellfish and River and Marine Sediments in Japan”, *Chemosphere* 16:2389-2396.

### Curriculum vitae degli autori

**Luigi Ariati:** laureato in Chimica, dal 1985 è Professore Associato di Idrologia Chimica. Svolge attività di docente presso l’ Università degli Studi di Pavia e presso l’Università degli Studi del Piemonte Orientale. Ha maturato esperienza nei vari settori della chimica ambientale, della strumentazione analitica e nella valutazione dei risultati del monitoraggio delle diverse matrici ambientali con particolare attenzione alla valutazione della qualità e compatibilità con la salute umana delle acque di approvvigionamento, allo studio di fenomeni di alterazione delle caratteristiche chimiche delle falde idriche, alla determinazione e all’eliminazione di sostanze tossiche o indesiderate; si occupa inoltre di cessione di sostanze tossiche all’ambiente da parte di acque di scarico e rifiuti, in funzione della protezione delle risorse idriche superficiali e sotterranee.

**Andrea Cresta:** perito chimico industriale, ha maturato esperienza nei vari settori della chimica ambientale, della strumentazione analitica, nella predisposizione e validazione dei metodi analitici relativi alle acque naturali, di scarico, alla caratterizzazione dei rifiuti, al monitoraggio degli ambienti di lavoro e degli impianti ecologici. Da un decennio è coordinatore di produzione del laboratorio Idrocons di Tortona (AL).

**Fausto Feletti:** laureato in Scienze Biologiche, specializzato in Farmacologia e Discipline Regolatorie, dal 2002 è ricercatore confermato presso il dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica. Si occupa prevalentemente di determinazioni bioanalitiche mediante HPLC per lo studio di farmaci, tossici e sostanze endogene per studi di farmacocinetica e tossicologia. E’ autore o coautore di 35 pubblicazioni su riviste nazionali ed internazionali, 19 di queste recensite su Medline.