

U04-FC
Q. Ambiental
P434
C.L



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE



**“EXTRACCIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EN MATRICES
LÍQUIDAS A TRAVÉS DE UN NUEVO SISTEMA DE DISCO ROTATORIO
CON SUPERFICIE DE POLIDIMETILSILOXANO”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial
de los requisitos para optar al Título de los requisitos para optar al Título de:

Químico Ambiental

Catalina Alejandra Pérez Farías

Director de Seminario de Título: Dr. Pablo Richter Duk
Profesor Patrocinante: Prof. María Inés Toral

Enero de 2010
Santiago – Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el o (la) candidato (a):

CATALINA ALEJANDRA PÉREZ FARÍAS

“EXTRACCIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EN MATRICES LÍQUIDAS A TRAVÉS DE UN NUEVO SISTEMA DE DISCO ROTATORIO CON SUPERFICIE DE POLIDIMETILSILOXANO”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Químico Ambiental

COMISIÓN DE EVALUACIÓN

Dr. Pablo Richter Duk
Director Seminario de Título

Firma manuscrita en tinta azul del Dr. Pablo Richter Duk, sobre una línea horizontal.

Prof. María Inés Toral
Profesor Patrocinante

Firma manuscrita en tinta azul de Prof. María Inés Toral, sobre una línea horizontal.
Sello circular de la Facultad de Ciencias, Biblioteca Central, U. de Chile, ubicado a la derecha de la firma.

Dra. Inés Ahumada
Corrector

Firma manuscrita en tinta azul de Dra. Inés Ahumada, sobre una línea horizontal.

Dr. Mauricio Isaacs
Corrector

Santiago de Chile, Enero de 2010

RESEÑA



Nací un frío día 21 de Agosto de 1985, mis padres son Saúl y María Elena. A esta incipiente familia se unió en 1992 mi hermano Flavio que fue el mayor anhelo de mi niñez. Mis estudios básicos lo realicé en el Colegio Lo Errázuriz, en mi barrio, para luego pasar al emblemático Liceo 1 Javiera Carrera donde terminé mi enseñanza media. Mi paso a la Universidad a la carrera de Química Ambiental fue como un sueño para mí. Esta carrera llenaba todas mi expectativas e intereses académicos, aun no podía creer que hubieses encontrado una carrera tan cercana a mis intereses. Los años venideros fueron muy gratificantes tanto profesional como personalmente, ya que además de estar adquiriendo conocimientos que me hacían sentir completa, mi vida comenzaba a rodearse de personas que serian muy importantes para mí, mis amigos.

Aunque se presentaron problemas y dificultades durante el tiempo en que estudié esta carrera, pude salir adelante gracias a la ayuda de personas que hicieron mucho más ligera la carga, lo que me permitió terminar con éxito mi carrera, siendo destacada al final de mi licenciatura.

En este momento que termina mi formación profesional, tengo todas las expectativas de que el elegir Química Ambiental como la carrera que desempeñaría el resto de mi vida, fue la mejor elección que hice. Espero encontrar el rumbo correcto donde pueda desarrollar todo lo que me entregó la Universidad de Chile y la Facultad de Ciencias en mi vida profesional, destacarme y ser la mejor.



*A mis padres, Saúl y María Elena
por su amor incondicional
A mi hermano, Flavio
por ser el mayor regalo en mi vida*



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible realizarlo sin el apoyo y comprensión de grandes personas que están en mi vida. Quisiera agradecer de todo corazón a mi familia por todos estos años de amor, a mi papá Saúl por todos estos años de sacrificio por su familia y por ser el maravilloso padre que eres y a mi mamá María Elena que con su amor, sacrificio y compañía me cuidó y animó cuando más lo necesité. A mi hermano Flavio por el apoyo, compañía y amor que tienes para mí desde que llegaste a mi vida. Gracias a mi familia por ser el soporte de mi vida, lo que me permitió llegar a esta etapa y poder terminarla con éxito. Admiro la fortaleza con la que mi familia ha sabido sobrellevar las circunstancias y como hemos podido salir adelante, a pesar de todas las dificultades que hemos tenido, con mucho amor.

Además, el llegar a esta etapa no hubiera sido posible sin la ayuda y el amor de mi mejor amigo, compañero y pololo Jesús Romano, que me ayudo a crecer y a creer en mí, siendo esto lo que me auxilió y me dio un motivo cuando lo necesite para seguir adelante a pesar de las dificultades que nos puso por delante la vida. De la misma manera agradecerle a una extraordinaria mujer, como es la madre de mi pololo, Antonia De la Torre, por ser una segunda madre para mí y siempre velar por mi bienestar y felicidad.

Agradezco a mis compañeros de Universidad y mis grandes amigos Daniela Santibáñez y Sebastián Gallardo por su amistad y haberme acompañado en este camino y que lo hayamos hecho siempre juntos, nunca olvidándonos que la amistad prima sobre todas las dificultades que se presentan.

Quisiera también agradecer a la profesora Inés Ahumada por haberme recibido en su laboratorio y por sus consejos cuando más lo necesité. A la profesora Sylvia Copaja por su interés, su guía y consejos más allá de lo académico, ayudándome a tomar decisiones importantes para mi futuro profesional y personal. En especial, quiero agradecer al profesor Pablo Richter por haber confiado en mí para este proyecto y por su comprensión y consejos en duros momentos que viví durante la realización de este trabajo.

Agradezco a mis compañeros del Laboratorio de Química Ambiental, Loreto Ascar, Ady Giordano, Claudio Leiva, Adolfo Maricán, Jorge Rivas, Mauricio Retamal por recibirme y hacerme sentir una más de ustedes, por su amistad y además de acompañarme, aconsejarme y escucharme cada vez que lo necesite. También a mi compañero de carrera y de laboratorio Carlos Smelt por su amistad y compañía este año que estuvimos juntos trabajando para nuestro seminario de título.

Además quiero agradecerle al Centro de Estudio para el Desarrollo de la Química (CEPEDEQ) y su personal por facilitarme los instrumentos y materiales necesarios para los análisis realizados para este trabajo y agradecer de manera especial a Betsabet Sepúlveda por ser el soporte de mi trabajo, gracias a su guía, generosidad y disposición a ayudarme y facilitarme las cosas cuando lo necesité.

Quiero agradecer al financiamiento otorgado por el proyecto FONDECYT N° 1070616, sin el cual este trabajo no podría haberse realizado.



ÍNDICE DE CONTENIDOS



I	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Química de los pcbs.....	2
1.2.	Propiedades fisicoquímicas de los PCBs.....	8
1.3.	Toxicología de los PCBs.....	10
1.4.	PCB en el medio ambiente	11
1.5.	Actuales tecnologías para destrucción de PCBs	13
1.6.	Efecto de los PCB en la salud humana.....	15
1.7.	Situación en Chile	17
1.8.	Métodos analíticos	20
	Hipótesis	31
	Objetivos	32
	Objetivo General.....	32
	Objetivos Específicos.....	32
II	MATERIALES Y MÉTODOS	33
2.1.	Reactivos	33
2.2.	Materiales	34
2.3.	Equipos	34
2.4.	Método	34
III	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.1.	Curvas de calibración en GC-ECD	39
3.2.	Estudio de variables.....	40



3.3. Tipos diferentes de fase de PDMS	43
3.4. Estudio de proceso de concentración y elución.....	47
IV CONCLUSIONES	48
V REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
VI ANEXO	54

INDICE DE FIGURAS



Figura 1 Reacción catalizada para formación anillo bifenilo.....	3
Figura 2 Reacción catalítica para la obtención de PCBs a partir de bifenilos.	3
Figura 3 Estructura básica de los PCBs.	4
Figura 4. Policlorodibenzodioxinas (PCDDs) y Policlorodibenzofuranos (PCDFs).	9
Figura 5. Formación de furanos por eliminación de átomos X e Y de la molécula de PCB.	9
Figura 6 Coeficiente de partición relacionado con el coeficiente de partición agua-octanol.	24
Figura 7 Reorganización de ecuación anterior.	25
Figura 8 Parámetro de recuperación de un analito.	25
Figura 9 Recuperación teórica de un analito en función de la razón K_{OW}/β	26
Figura 10 Comparación de recuperación teórica obtenida por SBSE y SPME para un analito en una muestra acuosa.	27
Figura 11 Fotografía y esquema del disco de teflón con recubrimiento de PDMS.	38
Figura 12 Dependencia de la recuperación de la fase de PDMS con el tiempo de extracción a una velocidad de 250 rpm.	40

Figura 13 Dependencia de la recuperación de la fase de PDMS con la velocidad de agitación a un tiempo de extracción de 30 minutos.	42
Figura 14 Recuperaciones para fase sintetizada en el laboratorio a distintos tiempos de agitación.	44
Figura 15 Recuperaciones para fase polidimetilsiloxano comercial Sylgard® 184 silicone elastomer.	45
Figura 16 Recuperaciones para la Fase PDMS Laboratory tubing Silastic®	46
Figura 17 Cromatograma de Estándar PCBs 50ppb	55
Figura 18 Cromatograma de Estándar PCBs 100ppb	56
Figura 19 Cromatograma de Estándar PCBs 200ppb	56
Figura 20 Cromatograma de Estándar PCBs 4000ppb	57



INDICE DE TABLAS



Tabla 1. Nombres generales de los PCBs.....	5
Tabla 2 Nombre, fórmula molecular, N° de isómeros, N° IUPAC, masa molecular y porcentaje de cloro de las moléculas de PCBs.....	6
Tabla 3 PCBs con estructuras similares a dioxinas.....	7
Tabla 4 Nombre, función y estructura química de compuestos utilizados en la preparación de solución sol-gel de recubrimiento.....	36
Tabla 5 Ecuaciones de calibración y coeficientes de correlación para cada homólogo de PCB.....	39
Tabla 6 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 30 minutos.....	58
Tabla 7 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 60 minutos.....	58
Tabla 8 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 120 minutos.....	58
Tabla 9 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 180 minutos.....	58
Tabla 10 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 0 rpm.....	59

Tabla 11 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 125 rpm.	59
Tabla 12 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 250 rpm.	60
Tabla 13 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 375 rpm.	60
Tabla 14 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 500 rpm.	60
Tabla 15 Datos para construcción de gráfico para estudio de fase sintetizada en el laboratorio.	62
Tabla 16 Datos para la construcción de gráfico para estudio de fase comercial Sylgard® 184 silicone.....	62
Tabla 17 Datos para la construcción de gráfico para estudio de fase Laboratory Tubing Silastic®.	63



LISTA DE ABREVIATURAS

COPs	Contaminantes orgánicos persistentes
DI	Diámetro Interno
DS	Decreto Supremo
DO	Diario Oficial
ECD	Detector de Captura de Electrones
EI	Estándar Interno
GC	Cromatografía de gases
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
IUPAC	Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada
MTMOS	Metiltrimetoxisilano
PA	Poliacrilato
PCBs	Bifenilos policlorados
PCN	Naftaleno policlorado
PCT	Terfenilo Policlorado
PBBs	Bifenilo polibromados
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS-DVB	Polidimetilsiloxano-divinil benceno
PCDDs	Policlorodibenzodioxinas
PCDFs	Policlorodibenzofuranos

PMHS	Polimetilhidrosiloxano
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
SPE	Solid Phase Extraction
SPME	Solid Phase Microextraction
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction
SEC	Superintendencia de Electricidad y combustibles
TBA	Tribromoanisol
TFA	Ácido Trifluoroacético
TCDD	Tetraclorodibenzo-p-dioxina

RESUMEN

Los bifenilos policlorados (PCBs) son contaminantes orgánicos clorados de los que se conocen 209 compuestos. Debido a su presencia en el medio ambiente, a su capacidad de bioacumularse, causando efectos adversos en los seres vivos, y su persistencia química y biológica, son considerados productos extremadamente peligrosos. Sus propiedades más importantes son su buena conducción calorífica, termoestabilidad y capacidad de aislamiento eléctrico, lo que hace que los PCBs sean empleados en circuitos hidráulicos, aislante de condensadores y transformadores y en pinturas. La elevada toxicidad de estos contaminantes orgánicos obliga a disponer de métodos analíticos confiables, rápidos, con factibilidad económica y con una sensibilidad que permita la determinación de analitos en diferentes muestras ambientales.

En la mayoría de los métodos informados para estos analitos contrasta la sofisticación de las técnicas instrumentales utilizadas, con las tradicionales técnicas de preparación de muestras, basadas en las clásicas extracciones líquido-líquido. Este tipo de técnicas se utilizan cada vez menos pues requieren de considerables cantidades de solvente.

Con el propósito de minimizar el uso de solventes, y a la vez aumentar la eficiencia de un método analítico, se ha desarrollado más recientemente una serie de estrategias basadas en extracción en fase sólida, entre ellas destaca la microextracción en fase sólida (SPME, solid phase microextraction). En esta misma línea, la de más reciente desarrollo es la extracción por sorción en barra de agitación (stir bar sorptive extraction, SBSE) la cual posee el mismo fundamento que la SPME, pero con la variante que se

utiliza una mayor cantidad de polidimetilsiloxano (PDMS, polydimethylsiloxane) como fase estacionaria, por lo que las recuperaciones de analitos se incrementan hasta incluso llegar al 100%. Sin embargo, esta última metodología presenta los siguientes inconvenientes relacionados con su eficiencia:

- a) La velocidad de rotación de la barra no puede ser muy alta, disminuyendo la eficiencia de preconcentración, ya que el roce con la superficie del recipiente que contiene la muestra puede dañar la fase de polidimetilsiloxano;
- b) La extracción puede únicamente llevarse a cabo en modalidad discontinua o batch, ya que después del proceso de extracción la barra debe extraerse manualmente desde la muestra para la desorción del analito.

En este proyecto se busca superar las desventajas que conlleva el uso de barras de agitación para la extracción de pesticidas en muestras líquidas, al desarrollar un sistema de disco rotatorio con fase sólida inmovilizada; el cual presenta las ventajas de poder agitar a velocidades mayores que la barra de agitación, sin que la fase sea dañada, y de esta forma obtener extracciones cuantitativas en menor tiempo. Así también se busca automatizar el proceso extracción-elución.

Las muestras analizadas fueron elaboradas en el laboratorio dopando 10 mL de agua milliQ con 10 μ L de una solución estándar de PCB 20 mg/L, utilizando como eluyente metanol. Para la determinación de la muestra se hizo un análisis GC-Captura de electrones (ECD). Se realizaron estudios univariados del tiempo y velocidad de agitación del disco, obteniendo como resultados entre 80 y 100 % de recuperación del analito. Además se estudió el proceso de concentración y elución del analito en el

disco, resultando que cerca de un 5% del analito queda remanente en la fase acuosa y no es concentrado en el disco. Se determinó, además, que alrededor del 15% de los analitos queda retenido en el disco después de la elución de 30 minutos con metanol, sugiriendo que este tiempo de desorción sería insuficiente para la retro-extracción cuantitativa de estos analitos desde el disco.

ABSTRACT

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are chlorinated organic pollutants, of which 209 are known compounds. Due to their presence in the environment, their ability to bioaccumulate, causing adverse effects on living organisms, and chemical and biological persistence are considered highly hazardous products. The most important properties are their good heat conduction, heat stability and electrical insulating ability, which makes that PCBs are used in hydraulic circuits, and as insulating in condensers and transformers and paints. The high toxicity of these organic pollutants has forced the set up of fast, cheap and highly sensitive analytical methods that allow their detection on different environmental samples.

In most of the methods reported for these analytes contrasts the sophistication of the instrumental techniques used, with traditional sample preparation techniques based on the classical liquid-liquid extractions. Such techniques are increasingly being used less because they require considerable amounts of solvent.

In order to minimize the use of solvents, while increasing the efficiency of an analytical method has been developed more recently a series of strategies based on solid phase extraction, most notably the solid-phase microextraction (SPME). In the same line, the more recent development is the stir bar sorptive extraction (SBSE) which has the same basis as the SPME, but with the variant that uses a greater amount of polydimethylsiloxane (PDMS) as stationary phase, so that recoveries of analytes are increased to even reach 100%. However, this methodology has the following disadvantages related to its efficiency:

a) The rotation velocity of the bar can not be very high, decreasing the efficiency of preconcentration, since the brush with the receptacle containing the sample can damage the polydimethylsiloxane phase;

b) The extraction can only be done in batch mode, since after the extraction process, the bar must be manually removed from the sample for desorption of the analyte. This project seeks to overcome the disadvantages associated with use of stir bars for the extraction of pesticides in liquid samples, to develop a system of rotating disk with immobilized solid phase, which has the advantages of rotating power at higher speeds than the stirring bar, without being damaged phase, and thereby obtains quantitative extractions in less time. This will also allow automating the process for extraction-elution.

The samples were prepared in the laboratory doping 10 mL of milliQ water with 10 μ L of a solution Standard PCB 20 mg/L, using methanol as eluent. For the determination of the sample analysis was GC-electron capture (ECD). Studies were conducted univariate time and stirring speed of the disc, resulting in 80 to 100% recovery of the analyte. In addition we studied the process of concentration and elution of the analyte in the disk, resulting in about 5% of the analyte is remaining in the aqueous phase and it is not concentrated in the disk. We determined further that about 15% of the analytes are retained on disk after 30 minutes elution with methanol, suggesting that desorption time would be insufficient for quantitative back-extraction of these analytes from the disk.

I INTRODUCCIÓN

En 1930 la compañía norteamericana Swann Chemical Company comenzó a fabricar Ascaleres, que pertenecen a la familia de los hidrocarburos clorados, conocidos como Bifenilos Policlorados (PCBs). Luego en 1935 esta compañía vendió la patente a Monsanto Chemical, desde donde las mezclas de PCBs se han distribuido bajo diferentes nombres, por ejemplo: Aroclor (U.S.A., U.K.), Pheneclor (Fr), Clophen (Ger), Pyralene (Fr), Kanechlor (Jap), entre otros.

En 1933 surgieron los primeros problemas de salud en los trabajadores de la industria Swann Chemical, como pústulas de acné en sus rostros y cuerpos. Otros se quejaron de la pérdida de energía, apetito y la libido, así como otras enfermedades de la piel. Estos síntomas son conocidos ahora como los primeros signos de la clásica exposición de PCBs.

Se estima que por más de 50 años a escala mundial se han producido entre 1930 y 1980 una cantidad cercana a un millón toneladas métricas de PCBs.

Estos compuestos se utilizaron comúnmente como aislante eléctrico tanto en transformadores como en capacitores, en transferencia de calor y en sistemas hidráulicos. Otros usos de los PCBs incluían aditivos en lubricantes y aceites de corte, como suplementos de pesticidas, plastificantes en pinturas, preservantes de la madera, resinas sintéticas, aditivos y sellantes. Además se utilizaron como retardantes de llama y en preparación de tintas para imprentas y en la industria del plástico. En 1978 la ONU recomendó la destrucción masiva de estos compuestos mediante incineración controlada a altas temperaturas. En 1979 fueron retirados del mercado por la Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos (USEPA)

debido a su capacidad de acumularse tanto en el medio ambiente como en la cadena alimentaria, representando un riesgo para el ambiente y la salud de los seres vivos.

Dado el riesgo que presentan estos compuestos no solo para la salud del hombre y de los animales, así como también, debido a las características químicas de gran estabilidad y difícil degradación, los PCBs fueron ingresados al grupo de doce sustancias sintéticas peligrosas conocidos como contaminantes orgánicos persistentes o COPs, según el "Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes", del año 2001. Los COPs son sustancias que están incluidas en la "docena sucia", un listado de los doce contaminantes más peligrosos del planeta. Ocho de ellos son utilizados como plaguicidas: Aldrin, Clordano, DDT, Dieldrin, Endrin, Heptacloro, Mirex y Toxafeno. Dos son productos químicos de aplicación industrial: Bifenilos Policlorados y Hexaclorobenceno (usado de la misma forma como plaguicida) y dos son subproductos no deseados: Dioxinas y Furanos.

1.1. Química de los PCBs

Los PCBs son compuestos sintéticos producidos comercialmente por la cloración catalítica progresiva del bifenilo. La formación de la molécula de bifenilo ocurre por el calentamiento a muy altas temperaturas de la molécula de benceno, lo que rompe los enlaces carbono-hidrógeno. Este hecho es explotado comercialmente cuando el benceno se calienta a temperaturas cercanas a 750°C, en presencia de plomo, el que actúa como catalizador para la formación del bifenilo, que es una molécula formada por dos anillos bencénicos unidos por un enlace simple formado entre los dos carbonos que han perdido su átomo de hidrógeno.

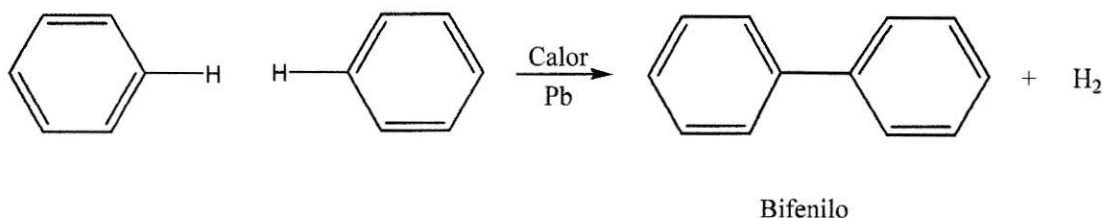


Figura 1 Reacción catalizada para formación anillo bifenilo.

Si el bifenilo reacciona con moléculas de cloro en presencia de un catalizador de cloruro de hierro, algunos átomos de hidrógeno quedan reemplazados por cloro.

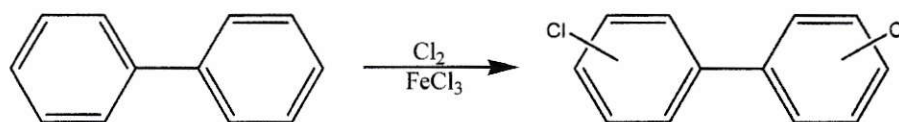


Figura 2 Reacción catalítica para la obtención de PCBs a partir de bifenilos.

Cuanto mayor sea la presencia de cloro inicialmente, como así también sea el tiempo de la reacción, mayor es la extensión de la cloración de la molécula de bifenilo.

Los productos generados de esta reacción son una mezcla compleja de isómeros con distinto porcentaje de átomos de cloro en la molécula, variando en el número y en la posición de los átomos de cloro. La cloración de bifenilos puede reemplazar de 1 a 10 átomos de hidrógeno por átomos de cloro, lo que permite teóricamente la formación de 209 congéneres de la familia de los PCBs. La fórmula de los PCBs se representa como $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, donde n es el número de átomos de cloro en la molécula (entre 1 y 10). Tienen una masa molecular relativa entre 189 y $499 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

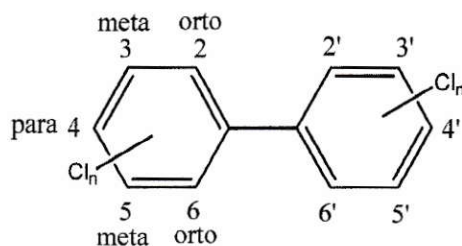


Figura 3 Estructura básica de los PCBs.

El esquema de numeración utilizado para un congénere individual de PCB empieza con el carbono de un anillo que está unido a un carbono del otro anillo; a éste se le otorga la posición 1 y a los otros carbonos alrededor del anillo se les numera secuencialmente. Tal como se muestra en la Figura 3, las posiciones en el segundo anillo se distinguen por primas en la misma posición que la numeración del otro anillo. En la mayoría de los casos, los dos anillos de una molécula no son equivalentes ya que los modos de sustitución son diferentes. Se escoge el anillo con numeración no primada al anillo con menor número de sustituyentes de cloro.

Como ocurre una rotación muy rápida alrededor del enlace simple carbono-carbono que une a los anillos en el bifenilo, no es posible aislar compuestos que corresponden a las diferentes orientaciones de los dos anillos en un PCB.

Si bien muchos compuestos individuales de PCBs son sólidos, las mezclas habitualmente son líquidos o sólidos de bajo punto de fusión. Comercialmente, no se han podido aislar los compuestos individuales de PCB; en lugar de ello se han vendido como mezclas parcialmente separadas, con un contenido promedio de cloro en diferentes productos comprendido entre 21 a 68%.

Según la IUPAC, los nombres de los PCBs están clasificados en tres tipos: homólogos, congéneres y mezclas. Los homólogos se refieren al nombre general de un PCB dependiendo del número de cloros que posea. Los nombres de los congéneres indican la posición de cada cloro dentro de la molécula y las mezclas se usan debido a que comercialmente no se han aislado los compuestos individuales de PCBs y en lugar de ello se han vendido como mezclas parcialmente separadas (Baird C., 2001). La Tabla 1 muestra los nombres homólogos, algunos congéneres y mezclas de PCBs.

Tabla 1. Nombres generales de los PCBs.

Nombre PCB	Tipo
Monoclorobifenilo	Homólogo
Hexaclorobifenilo	Homólogo
2,6-Diclorobifenilo	Congénere
2'3,4,4',5-Pentaclorobifenilo	Congénere
Aroclor 1254	Mezcla

Los PCBs se han comercializado bajo nombres diferentes tales como: Aroclor, Clophen, Phenclor, Pyralene, Kanechlor o Fenclor. En la serie Aroclor se utiliza un código de cuatro dígitos: los dos primeros representan al bifenilo (ATSDR, 2000), mientras que los dos últimos indican el porcentaje en peso del contenido de cloro en la mezcla; por ejemplo, el Aroclor 1252 es una mezcla de PCBs con un 52% de cloro. En 1980, Ballshmiter y Zell propusieron un sistema numérico de identificación para todos los congéneres de PCBs, el cual fue adoptado por la IUPAC.

Tabla 2 Nombre, fórmula molecular, N° de isómeros, N° IUPAC, masa molecular y porcentaje de cloro de las moléculas de PCBs.

PCB	Fórmula	N°	Número	Masa	%
	Molecular	Isómeros	IUPAC	Molecular	Cloro
Monoclorobifenilo	C₁₂H₉Cl	3	1-3	188,7	18,79
Diclorobifenilo	C₁₂H₈Cl₂	12	4-15	233,1	31,77
Triclorobifenilo	C₁₂H₇Cl₃	24	16-39	257,5	41,30
Tetraclorobifenilo	C₁₂H₆Cl₄	42	40-81	292,0	48,65
Pentaclorobifenilo	C₁₂H₅Cl₅	46	82-127	326,4	54,30
Hexaclorobifenilo	C₁₂H₄Cl₆	42	128-169	360,9	58,93
Heptaclorobifenilo	C₁₂H₃Cl₇	24	170-193	395,3	62,77
Octaclorobifenilo	C₁₂H₂Cl₈	12	194-205	429,8	65,98
Nonaclorobifenilo	C₁₂HCl₉	3	206-208	464,2	68,73
Decaclorobifenilo	C₁₂Cl₁₂	1	209	498,7	71,10

Doce de ellos resultan de particular interés por la elevada toxicidad que presentan por ser similares a las dioxinas. Estos PCBs son los que no tienen cloro en las posiciones orto o PCBs coplanares, o los que sólo tienen un átomo de cloro en una de las cuatro posiciones orto (PCBs mono-orto clorados) (Epstein, 2003).

Tabla 3 PCBs con estructuras similares a dioxinas.

Número	Fórmula	Estructura	Número	Fórmula	Estructura
77	3,3',4,4' Tetracloro Bifenilo		126	4,4',5 Pentacloro Bifenilo	
81	3',4,4',5' Tetracloro Bifenilo		156	2',3,3',4,4',5' Hexacloro Bifenilo	
105	2',3,3',4,4' Pentacloro Bifenilo		157	2',3,3',4,4',5 Hexacloro Bifenilo	
114	2',3',4,4',5' Pentacloro Bifenilo		167	2',3,4,4',5,5' Hexacloro Bifenilo	
118	2',3,4,4',5' Pentacloro Bifenilo		169	3,3',4,4',5,5' Hexacloro Bifenilo	
123	2',3,4,4',5 Pentacloro Bifenilo		189	2',3,3',4,4',5 ,5' Heptacloro Bifenilo	

1.2. Propiedades fisicoquímicas de los PCBs

Dependiendo del grado de cloración, el número y posición de los átomos de cloro, los PCBs varían sus propiedades físico-químicas, presentándose como líquidos aceitosos incoloros o amarillo claro hasta resinas duras y transparentes o cristales blancos. Estos compuestos presentan densidades que van desde 1,38 a 1,57 Kg/L. Todos los PCBs son, prácticamente, insolubles en agua, siendo su solubilidad de $57\mu\text{g L}^{-1}$ en agua a 24°C . Presentan una baja presión de vapor cercana a $7,71 \times 10^{-5}$ mm Hg a 25°C y un alto coeficiente de partición octanol-agua (K_{OW} 106,5). Este coeficiente indica el carácter lipofílico de los compuestos, siendo el coeficiente K_{OW} para los PCBs uno de los más altos existentes de los contaminantes orgánicos, creciendo a medida que aumenta el grado de cloración de las moléculas de PCB. Esto explica que los PCBs una vez encontrándose en el medio ambiente, se depositan y adsorben en la superficie de las partículas del suelo, sedimentos, polvo del aire, en biosólidos, aceites y el tejido adiposo de los seres vivos.

Son sustancias con una constante dieléctrica muy alta, con una gran inercia química y termo resistencia a temperaturas inferiores a 800°C . No presentan inflamabilidad y son resistentes a los ácidos y bases como también a los agentes oxidantes.

A temperaturas elevadas pueden desprender productos tales como ácido clorhídrico, monóxido de carbono, pero además de estas sustancias emitidas también se puede desprender bajo ciertas condiciones de temperatura, inferiores a los 700°C , productos muy tóxicos como policlorodibenzodioxinas (PCDDs) y policlorodibenzofuranos (PCDFs). A mayor temperatura a la que se exponen los PCBs, en caso de incendios, recalentamiento de transformadores eléctricos o incineración ilegal de residuos, menor

será el porcentaje de estas sustancias tóxicas llegando a una pureza de eliminación cercana a un 99%. La Figura 4 muestra las estructuras químicas de los productos tóxicos emitidos a temperaturas menores de 700°C.



Figura 4. Policlorodibenzodioxinas (PCDDs) y Policlorodibenzofuranos (PCDFs).

Todos los congéneres de dioxinas y furanos son planos, es decir, todos los átomos de C, O, H y Cl se encuentran en el mismo plano. La Figura 5 muestra la reacción química que ocurre para la formación de dibenzofurano, en esta reacción, se forman a partir de los PCB por eliminación de los átomos X e Y enlazados a los dos átomos de carbono que están en posición orto con respecto a los átomos de carbono que unen los anillos y que están en el mismo lado con respecto a la unión C-C entre los anillos.

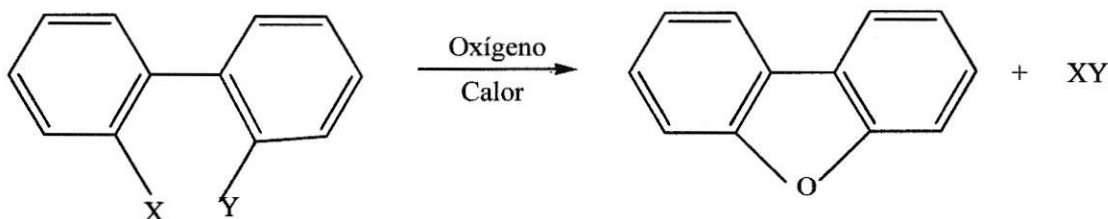


Figura 5. Formación de furanos por eliminación de átomos X e Y de la molécula de PCB.

Los átomos X e Y que se desprenden de la molécula de PCB pueden ser los dos átomos de cloro o bien un átomo de cloro y otro de hidrógeno, lo que provoca la eliminación de Cl₂ o HCl, respectivamente. Con las distintas combinaciones existentes, existen 75 congéneres de PCDDs y 135 congéneres de PCDFs (Baird C., 2001).

1.3. Toxicología de los PCBs

Los resultados obtenidos en ensayos sobre animales indican que la toxicidad de las dioxinas, furanos y PCBs depende de la extensión y del tipo de sustitución por cloro. Considerando como átomos “alfa” a los átomos de carbono centrales en el anillo de la dioxina, y “beta” a los más alejados, es posible la siguiente generalización: las dioxinas muy tóxicas son aquellas con tres o cuatro átomos de cloro en beta, y pocos en alfa. De este modo, la dioxina más tóxica es la 2, 3, 7, 8-TCDD, que tienen cuatro cloros en posición beta y ningún cloro en alfa (Baird C., 2001).

De acuerdo a ensayos realizados con animales, los PCBs más tóxicos son los que no tienen átomos de cloro (o a lo sumo uno) en las posiciones *orto* respecto a los carbonos que unen a los anillos, es decir, en los carbonos 2,2',6 y 6'. Sin cloros en *orto*, los anillos bencénicos pueden adoptar, fácilmente una configuración casi coplanar, de manera que la rotación alrededor del enlace C – C que une a los anillos es rápida. Sin embargo, si ambos cloros están en posición *orto* en el mismo lado de los dos anillos, tienden a alejarse mutuamente, debido a factores estéricos a causa del gran volumen que poseen; lo que fuerza a los anillos a girar de manera de impedir que los anillos adopten una geometría coplanar. Así, las moléculas de PCBs con tres o cuatro átomos de cloro en posición *orto* no pueden adoptar una geometría coplanar. Si los anillos mantienen la coplanaridad por ausencia de interferencia entre los átomos de cloro, y si algunos de los átomos de carbono en posiciones *meta* y *para* están sustituidos por cloros, la molécula de PCB puede alcanzar fácilmente la geometría coplanar, pasando a ser en tamaño y forma muy similar a la 2, 3, 7, 8-TCDD, y por lo tanto, de alto carácter toxico (Baird C., 2001).

El mecanismo primario de la acción tóxica de la 2, 3, 7, 8-TCDD y de los compuestos similares implica un enlace inicial entre la molécula contaminante y el receptor biológico específico; unión que está favorecida por la configuración plana del congénere (Goldstein J. A., Safe S., 1989).

1.4. PCB en el medio ambiente

Debido a su estabilidad y su amplia utilización, junto con las prácticas negligentes en su disposición, los PCB se han convertido en contaminantes muy extendidos y persistentes en el medio ambiente. Cuando se reconoció su acumulación y los efectos nocivos que causan, se dieron por terminado los usos abiertos de estas sustancias, es decir, aquellos en que su disposición no podía controlarse.

Antes del año 1977, los PCBs entraron al agua, aire y al suelo durante su manufactura y uso. Los desechos que contenían PCBs que se generaron en esa época a menudo fueron depositados en vertederos con lo que se iba lixiviando su contenido. Éstos también entraron al ambiente a través de derrames y escapes accidentales durante su transporte, escapes o incendios de transformadores, condensadores o de otros productos que contenían PCBs. Hoy en día, los PCBs aun pueden ser liberados al ambiente desde sitios de almacenamiento de desechos peligrosos mal mantenidos que contienen PCBs, a través de descargas ilegales o impropias de residuos de PCBs, como por ejemplo líquidos de transformadores viejos, escapes o liberaciones de transformadores eléctricos que contienen PCBs, y por la disposición de productos de consumo que contienen PCBs en vertederos municipales o en otro tipo de vertederos no diseñados para el manejo de desechos peligrosos. Además pueden ser liberados al

ambiente por la combustión de ciertos desechos en incineradores industriales o municipales.

Al ser liberados al medio ambiente los PCBs, éstos persisten a lo largo de los años ya que son resistentes a la degradación por agentes químicos y biológicos. Pueden circular fácilmente entre el aire, el agua y el suelo. En el aire, los PCBs pueden entrar por evaporación desde el suelo y desde el agua. También pueden ser transportados largas distancias y es así como han sido detectados en regiones árticas, zonas lejanas de las fuentes de emisión, produciéndose contaminación tanto a escala local como a escala global. En general, mientras más liviano es el PCB, a más distancia de la fuente de contaminación puede ser transportado. En la atmósfera, los PCB están presentes en forma de partículas sólidas o en forma de vapor. Eventualmente volverán a la tierra y al agua depositándose en forma de polvo o en la lluvia y la nieve. (ATSRD, 2001)

En el agua, pueden adherirse a sedimentos del fondo o a partículas superficiales en el agua, como consecuencia de la hidrofobicidad pudiendo ser transportados por corrientes. Además, se volatilizan a partir de las superficies hídricas, para depositarse en el suelo o en el agua, después de haberse desplazado por el aire algunos días. Los PCBs pesados se depositarán preferentemente en sedimentos, mientras que es más probable que los PCBs más livianos se evaporen al aire.

Los sedimentos que contienen PCBs también pueden liberar PCBs al agua que los rodea. Los PCBs se adhieren firmemente al suelo y pueden permanecer en el suelo durante meses o años. En general, mientras más átomos de cloro contienen, más lentamente se degradan. La evaporación parece ser un proceso importante a través del cual los PCBs más livianos abandonan el suelo. Los PCBs en el aire pueden acumularse sobre las hojas y las partes descubiertas de las plantas y de cosechas de

alimentos. La transferencia de los PCBs del suelo a la vegetación tiene lugar principalmente por la adsorción en la superficie externa de las plantas y los desplazamientos que se producen son escasos (ATSDR, 2001).

Además en el agua, los PCBs son incorporados en el cuerpo de pequeños organismos y de peces. También son incorporados por animales que se alimentan de estos organismos acuáticos. Los PCBs se acumulan especialmente en peces y en mamíferos marinos (tales como focas y ballenas) alcanzando niveles que pueden ser miles de veces más altos que los que se encuentran en el agua. Los niveles más altos de PCBs se encuentran en animales situados en las posiciones más altas de la cadena trófica (ATSDR, 2001).

1.5. Actuales tecnologías para destrucción de PCBs

1.5.1. Incineración

En la actualidad, los desechos con PCBs se destruyen en su gran mayoría por incineración, ya que es una tecnología bien establecida y fácilmente disponible en muchos países industrializados. La incineración convencional implica la oxidación de los desechos para transformarlos en óxidos (CO_2 , H_2O) y residuos inorgánicos que pueden ser descargados al ambiente. El proceso de incineración debe asegurar que los desechos estén expuestos a atmósferas oxidantes a altas temperaturas, por eso una de las características más importantes de diseño es el consumo eficiente de combustión. Sin embargo, debe advertirse que ciertos países ya no autorizan esos

incineradores porque el proceso de incineración produce dioxinas y furanos. (Baird C., 2001).

1.5.2. Métodos químicos

El gran problema que existe con la disposición de los PCBs se debe a la naturaleza altamente estable de los enlaces carbono-cloro, esta energía es del orden de los 84 Kcal. Mol⁻¹. Es así que, muchos de los métodos conocidos, tales como clorólisis, deshidrohalogenación catalítica, reacciones con sales fundidas, reacciones con ozono y reacciones con metales alcalinos permiten sólo la deshalogenación parcial. Los procesos basados en reacciones químicas para destruir PCBs se diferencian de los procesos de incineración en que no necesitan altas temperaturas para que ocurran, sino que únicamente del potencial químico de los reactivos. Muchos de los procesos de dechloración se basa en el uso de sodio metálico para dechlorar las moléculas de PCB y dar un aceite que puede reutilizarse, en el transformador o de cualquier otra manera, tiene sobre la incineración la ventaja de que no sólo es menos costosa sino que además permite recuperar y reutilizar el aceite. El sodio es un metal reactivo que se oxida con facilidad; reacciona violentamente con el agua dando gas hidrógeno y con riesgo de incendio. Tiene fuerte afinidad por ciertos elementos, incluido el cloro. Ésta es la propiedad que se explota en la tecnología de descontaminación por sodio metálico: el sodio reacciona con los átomos de cloro de las moléculas de PCB dando cloruro sódico. La dechloración catalítica es una tecnología donde los PCBs reaccionan con un álcali hidróxido metálico, un donador de hidrógeno y un catalizador produciendo sales, agua y un residuo carbonoso. La mayoría de las aplicaciones implican la destrucción de PCBs que contaminan aceite mineral, y pueden realizarse a

temperatura ambiente o a temperaturas moderadas, y aunque destruyen los PCBs contenidos en el aceite, no destruyen el aceite propiamente tal (Lorenzo, C., 2009).

1.5.3. Métodos biológicos

Los análisis de intentos de degradación de PCBs con bacterias han mostrado que este método está potencialmente limitado debido a sus largos tiempos de retención y a que estos compuestos son extremadamente resistentes a la hidrólisis ácida o básica y a la oxidación. Considerando que su estabilidad varía con la posición y número de los cloruros dentro de la molécula se ha demostrado que algunos congéneres de PCBs son degradados por microorganismos; los más altamente clorados por microorganismos anaeróbicos y los menos clorados por microorganismos aeróbicos. Sin embargo, las tasas de transformación tienden a ser muy lentas, de manera que los compuestos generalmente se consideran resistentes a la biodegradación (Clair N. y col, 2001)

1.6. Efecto de los PCB en la salud humana

Los PCBs se bioacumulan en el tejido adiposo tanto de seres humanos como animales, causando efectos tóxicos, particularmente en el caso de exposiciones repetidas. La mayor parte de la información disponible sobre efectos de los PCBs proviene de estudios en animales y en trabajadores expuestos laboralmente a ellos. Según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) dependiente

de la Organización Mundial de la Salud y el Departamento de Salud de los EEUU, los PCBs pertenecen a la categoría de altamente cancerígenos (Greenpeace Chile, 2006).

Entre los efectos adversos para la salud asociados a los PCBs se pueden mencionar diversos tipos de cáncer, defectos en el sistema inmune, y en los sistemas nervioso, endocrino y reproductor. Dado su pasaje a la leche materna, los efectos en los neonatos son frecuentes incluyendo retrasos de crecimiento y dificultades para el aprendizaje. Los bifenilos policlorados poseen una estructura química tal que pueden imitar la conformación de hormonas humanas con lo cual podrían unirse a su receptor simulando y alterando la respuesta que la hormona original produciría. Las exposiciones agudas a niveles altos de PCBs han sido asociadas, en altas concentraciones, a efectos tales como prurito, escozor, irritación conjuntiva, pigmentación en dedos y uñas y cloracné, además de un importante daño hepático. Los efectos crónicos a dosis bajas de PCBs incluyen daños sobre el hígado, alteraciones de la reproducción y el desarrollo (PNUMA, 1999). Son muy destacables los peligros de producir cáncer a la piel y cáncer al hígado tanto en animales como en el ser humano. También puede manifestarse daños en la reproducción humana. Los PCBs pueden ser teratogénicos (causan malformaciones congénitas) en humanos, ya que se ha comprobado su efecto teratogénico en animales. Además, este efecto se puede manifestar mediante la lactancia debido a que el alto contenido de grasa de la leche conlleva al almacenamiento de PCBs y por tanto, su transferencia al niño durante la lactancia (Greenpeace Chile, 2006).

Sin embargo, es difícil demostrar el origen de enfermedades neoplásicas para comprobar su relación con este tipo de contaminantes, y si bien hay centenares de estudios en animales y datos estadísticos, no es fácil comprobar la relación entre PCBs

y cáncer. Es más, si consideramos que los PCBs son unas 100 veces menos tóxicos que el DDT, y que éste a su vez es 100 veces menos tóxico que el cigarrillo, el riesgo estimado de contraer cáncer por exposición a los PCBs sería inferior al de fumar 1 cigarrillo por año (Greenpeace Chile, 2006).

1.7. Situación en Chile

En Chile, los bifenilos policlorados (PCBs), se encuentran prohibidos para su uso como fluidos dieléctricos en transformadores y condensadores nuevos, en virtud de la Resolución Exenta N° 610/1982 de la Superintendencia de Electricidad y Combustibles (SEC). De igual forma, estas sustancias se encuentran en la "Lista de Sustancias Peligrosas# para la salud contenidas en la Resolución Exenta N° 714 del Ministerio de Salud (D.O. Agosto 3, 2002), que da cumplimiento a la Ley 18.164/1982 sobre normas de carácter aduanero, y que establece que para cursar cualquier destinación aduanera respecto de sustancias tóxicas o peligrosas para la salud, el Servicio Nacional de Aduanas debe exigir un certificado emitido por el Servicio de Salud respectivo (Conama, 2004).

En nuestro país, al igual que en otros países, si un transformador contiene una proporción menor a 50 partes por millón de PCBs en su refrigerante, éste se considera "libre de PCBs", es decir, la concentración no presenta riesgo alguno para el medio ambiente ni para el personal que los debe operar y mantener.

En el Diario Oficial de la República, el 16 de Junio del año 2004, se publicó el Reglamento Sanitario Sobre Manejo de Residuos Peligrosos (D.S. N° 148, 2003). Este

reglamento considera como residuos peligrosos a todas aquellas "sustancias y artículos que contienen, consisten o están contaminados con bifenilo policlorado (PCB), terfenilo policlorado (PCT), naftaleno policlorado (PCN) o bifenilo polibromado (PBB), o cualquier otro compuesto polibromado análogo, con una concentración igual o superior a 50 mg/Kg". (Art. 19. A3180).

El año 2004, se realizó el Inventario Nacional de PCBs, en este inventario sólo se consideró las sustancias ocupadas como fluidos dieléctricos en transformadores y condensadores. El principal uso de los PCBs en nuestro país ha sido como aceite refrigerante de transformadores de media y baja tensión, que en algunos casos pueden presentar fugas por falta de mantenimiento.

El volumen total de PCBs declarado por las empresas chilenas e inventariadas por la Conama, alcanza un valor de 569.547 litros de PCB. De éstos 327.005 litros están en uso actualmente y 242.542 litros almacenados. Adicionalmente, se constató que existen deficiencias en las condiciones de almacenamiento de los equipos y materiales con PCBs.

La cantidad de materiales contaminados con PCBs (aceite, ropa y suelos contaminados, carcasas de transformadores y condensadores) y exportados para su posterior eliminación, corresponde a 635.725 Kilos, en un período que va desde 1992 a 2002. Esta cantidad se ha ido incrementando anualmente desde el año 1999 (a excepción del año 2001) previéndose que, como resultado de las exigencias internacionales, en los próximos años existirá un incremento en la exportación de este material contaminado para su posterior eliminación.

Las regiones que presentan mayores volúmenes de PCBs almacenados son la Región de Antofagasta y la Región de Atacama. En tanto, la Región del Biobío, la Región Metropolitana, de Antofagasta, Región de O'Higgins, la Región de Magallanes y la Región de Valparaíso, en orden decreciente, presentan los mayores volúmenes de PCBs en uso actualmente.

Dentro de los sectores que hacen una contribución más significativa se encuentran las empresas del sector minero, con un 60 % total y casi al 90% de los PCBs almacenados. Las empresas del sector transporte en la Región Metropolitana y siderúrgico en las regiones de O'Higgins y del Biobío, en su conjunto contribuyen con más del 30 % del total y con el 50 % del volumen de PCBs en uso. Por otra parte, el aporte de las generadoras y distribuidoras eléctricas fue mínimo, correspondiendo a un 8 % del inventario de PCBs en uso y a un 4 % del inventario total, mientras que, las empresas del sector petroquímico aportan con menos del 10 % de los PCBs en uso.

Uno de los problemas identificado durante el desarrollo de este inventario fue el desconocimiento en muchas empresas del tipo de fluido dieléctrico utilizado en transformadores y condensadores. Este desconocimiento se puede atribuir tanto a la falta de información, como a un cierto descuido en el manejo de este tipo de sustancias en las industrias.

En cuanto a la eliminación de estos compuestos, Chile no cuenta con incineradores de alta tecnología o vertederos de alta seguridad para la eliminación o disposición de los PCBs. (PNI para la gestión de COPs en Chile).

1.8. Métodos analíticos

La toxicidad que poseen los PCBs, ha hecho necesario el desarrollo de metodologías analíticas para determinar su concentración en distintas matrices, que van desde frutas, vegetales, carne, productos alimenticios ya procesados, hasta suelos, lodos y aguas.

Es de importancia el estudio en todas las matrices estudiadas, ya que los PCBs son persistentes y bioacumulables en los tejidos grasos, lo que provoca efectos adversos en la salud de los seres vivos.

Se han desarrollado varios métodos analíticos para la determinación de PCBs que involucran instrumentos altamente eficientes, tales como Cromatografía de Gases (GC) con detectores eficientes en su determinación como son Captura de Electrones (ECD) y Espectroscopía de masa (MS). Sin embargo, el principal problema que presentan los métodos de determinación de pesticidas es la preparación de la muestra para su análisis, ya que ninguna de las metodologías utilizadas permite la medición directa del pesticida en la muestra. Para lograr mayor eficiencia en esta parte del proceso de medición, se han desarrollado varias alternativas de extracción de compuestos orgánicos, incluyendo destilación por arrastre de vapor o extracción con solventes orgánicos (extracción líquido-líquido), sin embargo, estos métodos son tediosos debido a la cantidad de tiempo que emplean y por otro lado presentan la dificultad de necesitar grandes cantidades de muestra y de solventes, lo que los hace no sólo métodos costosos, sino dañinos para el medio ambiente. Para superar las desventajas de estos métodos, recientemente se han desarrollado alternativas simples, innovadoras y con menos utilización de solventes. Entre éstas se puede mencionar,

para compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles, tales como los PCBs, la purga y trampa (purge and trap) y extracción en espacio de cabeza (headspace extraction). Sin embargo, estas técnicas presentan otras desventajas como posibles pérdidas de los analitos durante su extracción.

Una de las técnicas de más reciente aplicación en matrices acuosas, es la extracción en fase sólida (*SPE* solid-phase extraction), la cual no presenta la mayoría de los problemas asociados con las extracciones líquido-líquido, como el uso de grandes cantidades de solventes, la obtención recuperaciones no cuantitativas, separaciones de fases incompleta, entre otras. El principio de la extracción en fase sólida está en retener el analito de interés en una fase estacionaria eliminando en la fase líquida el resto de la matriz, o bien el proceso contrario, en donde las sustancias interferentes son las que quedan retenidas en la fase sólida y el analito se eluye con la fase líquida, siendo una o la otra dependiente de las propiedades que tenga el analito y la interacción que tenga éste con la fase sólida estacionaria.

La *SPE* es más eficiente que la extracción líquido-líquido, es más rápida de ejecutar y pueden obtenerse menores límites de detección que con otras metodologías. Otra ventaja que presenta la extracción en fase sólida es su facilidad para ser automatizada, lo que reduce aún más el uso de solventes y el tiempo para llevar a cabo la determinación del analito. La extracción en fase sólida se utiliza mayormente para muestras líquidas y para extraer analitos semi-volátiles o no-volátiles, pero también se ha implementado su uso para muestras sólidas, en las cuales hay una etapa previa a la *SPE*, que contempla una extracción con solventes.

Tratando de obtener técnicas que presenten mejores ventajas analíticas, se desarrolló en la década del 90 la microextracción en fase sólida (*Solid-Phase Microextraction, SPME*), la cual es una técnica de preparación de muestra que utiliza una fibra de sílica fundida que está recubierta por una fase estacionaria polimérica. El analito de interés es directamente extraído y concentrado en la fase estacionaria.

La SPME se ha utilizado ampliamente debido a que no requiere de mucho tiempo, ni de grandes cantidades de solvente, lo que disminuye los costos de usarlo, y a la vez se ha observado que mejora los límites de detección. Otra de las grandes ventajas que presenta esta técnica, es que puede utilizarse casi en cualquier tipo de muestras, utilizando la modalidad espacio de cabeza, ya que la fibra recubierta en donde se lleva a cabo la extracción no entra en contacto con la muestra en ningún momento. Sin embargo esto puede presentar un problema para analitos que son semi-volátiles o no-volátiles, ya que en ningún momento entrarían en contacto con la fase estacionaria para su partición. Estos inconvenientes pueden solucionarse al aplicar calor sobre la muestra, para promover la volatilización del analito de interés y que éste entre en contacto con la fibra recubierta.

Entre las fibras de recubrimiento se encuentra el polidimetilsiloxano (PDMS) que es una fase apolar, la fase semi-polar polidimetilsiloxano-divinilbenceno (PDMS-DVB) y el poliacrilato (PA) que es una fase polar. Otros materiales que se utilizan como modificadores de las fases antes mencionadas, para obtener polaridades más adecuadas para analitos específicos son el carbowax (CW), carboxen, poli (e-metiltiofenol) y nafion.

Otra parte importante en la SPME es la desorción del analito asociado a la matriz sólida, para lo cual el método más eficiente es el de desorción térmica, utilizando directamente el portal de inyección de un cromatógrafo gaseoso. Esta desorción tiene la ventaja que no involucra el uso de solventes.

Una técnica desarrollada recientemente, de fundamento muy similar a la SPME, es la extracción por sorción en barra de agitación (*Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE*). En la SBSE, los analitos son extraídos desde la matriz, generalmente acuosa, a una fase líquida no miscible, que generalmente se trata de polidimetilsiloxano, debido a sus propiedades que la hacen una fase estacionaria termoestable, con buenas propiedades de difusión.

El polidimetilsiloxano tiene la propiedad de no retener los analitos en la superficie (como en el caso de los adsorbentes) sino que el analito se particiona. Dado que esta partición es un proceso mucho más débil que la adsorción, la probabilidad que los analitos sean degradados, o no puedan ser desorbidos, es mucho más baja en el PDMS comparado con los adsorbentes. Otra ventaja que presenta el PDMS es el hecho de que por tener una interacción más débil con los analitos, éstos pueden ser desorbidos a bajas temperaturas, lo que lo hace una buena fase estacionaria para trabajar con analitos termolábiles. También se encuentra el hecho de que la capacidad de retención para un cierto compuesto no está influenciada por la gran cantidad de agua u otros analitos, ya que cada compuesto tiene un equilibrio de partición propio con la fase de PDMS y no es posible que ocurra desplazamiento de una molécula por otra.

La teoría en la cual se basa la SBSE es muy similar a la que presenta la SPME. La extracción por partición, es una técnica que se basa en el equilibrio, y para muestras acuosas, la extracción de solutos de la fase acuosa a la fase de extracción es controlada por el coeficiente de partición entre la fase de silicona y la fase acuosa. Se ha encontrado que éste coeficiente de partición tiene correlación con el coeficiente de partición octanol-agua. Sin embargo debe notarse que el equilibrio en la partición también depende de la razón de fases, y por consiguiente de la cantidad de PDMS utilizado.

Utilizando la aproximación de que los coeficientes de partición entre PDMS y agua ($K_{PDMS/W}$) es proporcional al coeficiente de partición octanol-agua ($K_{O/W}$) se puede establecer que:

$$K_{O/W} \approx K_{PDMS/W} = \frac{C_{SBSE}}{C_W} = \frac{m_{SBSE}}{m_W} \times \frac{V_W}{V_{SBSE}}$$

Figura 6 Coeficiente de partición relacionado con el coeficiente de partición agua-octanol.

donde C_{SBSE} y C_W es la concentración del analito en el PDMS de la barra agitadora como en la fase acuosa, respectivamente, m_{SBSE} y m_W la masa del analito en la barra agitadora y en la fase acuosa respectivamente, y V_{SBSE} y V_W el volumen de la fase PDMS en la barra agitadora y la fase acuosa respectivamente. La razón de fases β puede definirse como V_W/V_{SBSE} , por lo tanto la ecuación anterior puede escribirse como:

$$\frac{K_{O/w}}{\beta} = \frac{m_{SBSE}}{m_w} = \frac{m_{SBSE}}{m_0 - m_{SBSE}}$$

Figura 7 Reorganización de ecuación anterior.

donde m_0 es la cantidad total de analito presente originalmente en la muestra acuosa.

De esta manera, la eficiencia de extracción o la recuperación del analito pueden calcularse utilizando la ecuación:

$$\frac{m_{SBSE}}{m_0} = \frac{\left(\frac{K_{O/w}}{\beta}\right)}{1 + \left(\frac{K_{O/w}}{\beta}\right)}$$

Figura 8 Parámetro de recuperación de un analito.

Esto indica que el parámetro que gobierna la recuperación de un analito es la razón entre la constante de partición y la razón de volumen de PDMS en la barra agitadora y el volumen de la muestra acuosa. Esto puede apreciarse más claramente en la Figura 9 en la que se observa la recuperación del analito en función de la razón K_{OW}/β .

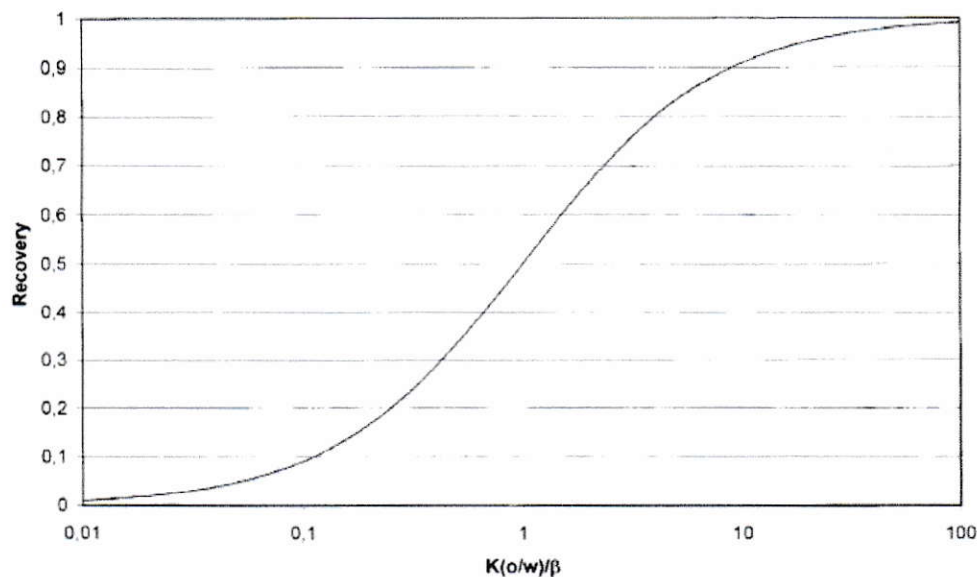


Figura 9 Recuperación teórica de un analito en función de la razón K_{ow}/β .

Una relación $K_{ow}/\beta < 5$ conlleva a extracciones cuantitativas, que es una de las principales diferencias entre el SBSE y la SPME, ya que la fase de PDMS utilizada en las barras de agitación es hasta 400 veces mayor que la utilizada en SPME (menores límites de detección para SBSE).

Esto puede observarse en una comparación de las recuperaciones teóricas de un analito en 10 mL de agua, únicamente calculadas en función de su constante de partición octanol-agua (Volumen de PDMS en SPME es 0,5 μL , volumen PDMS en SBSE 100 μL) como se muestra en la Figura 10.

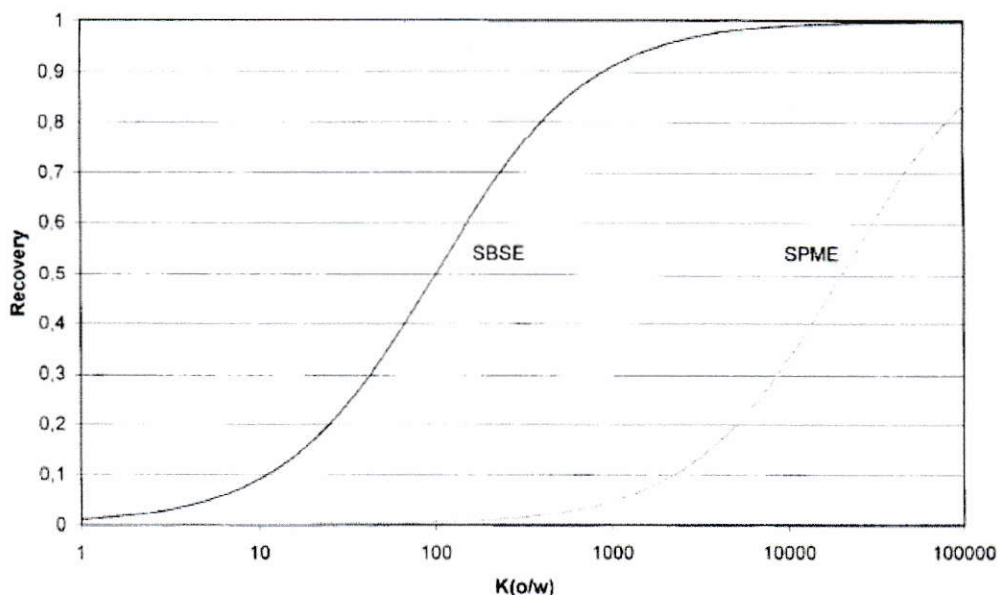


Figura 10 Comparación de recuperación teórica obtenida por SBSE y SPME para un analito en una muestra acuosa.

La principal desventaja de la SBSE está en que la barra no puede agitarse a velocidades mayores de 600 rpm, ya que debido al roce de la barra con la superficie del recipiente en el cual se agita, puede dañarse la fase de PDMS que la recubre. Otra desventaja es que, para la desorción del analito y su posterior determinación, la barra debe manipularse para pasar de la etapa de extracción a la de desorción, lo que hace que el proceso sea discontinuo y difícil de automatizar.

En este contexto, se propone el desarrollo de una estrategia nueva para la sorción de PCBs en una fase de PDMS, a partir de muestras líquidas, utilizando un sistema de disco rotatorio basado en el funcionamiento de la SBSE, pero que permite su implementación en continuo y supera las limitantes de la técnica en que se basa.

1.8.1. Cromatografía Gaseosa (GC)

La cromatografía gaseosa es un método de separación en el cual los componentes de una mezcla se reparten entre dos fases: la fase estacionaria (líquida), que posee una superficie de exposición muy grande y la otra, la fase móvil, que es un gas que circula en contacto con la fase estacionaria. La muestra se vaporiza en el sistema de inyección y es transportada por la fase móvil gaseosa (gas carrier) a través de la columna. La elución de los analitos a través de la columna ocurre por el reparto o partición de los componentes de la muestra con la fase estacionaria y se basa en las diferentes solubilidades de los analitos en esta fase a ciertas temperaturas. Por lo tanto, los analitos que componen la mezcla se separan entre sí en base a sus presiones de vapor relativas y de acuerdo a sus afinidades con la fase estacionaria. Como consecuencia de esta diferencia de movilidad de los analitos, los componentes de la mezcla se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de un detector apropiado.

1.8.2. Captura electrónica (ECD)

La vasta presencia de PCBs en el medio ambiente hace que su detección sea una tarea importante, lo que hace necesario contar con detectores cromatográficos muy sensibles para estos compuestos. El detector de cromatografía de gases más común para compuestos orgánicos que contienen átomos de halógenos, como es el caso de los PCBs, es el detector de captura de electrones (ECD).

El principio sobre el que trabaja el ECD implica la interrupción de la corriente electrónica del detector, debido a la llegada al detector de un analito que contiene átomos "ávidos de electrones" o electrofónicos, como son los halógenos, siendo éstos en la molécula de PCBs, los átomos de cloro.

La mayoría de los detectores de captura de electrones tiene fragmentos de níquel-63 radiactivo, los cuales están colocados en la pared de la cámara de detección. Este elemento inestable emite continuamente partículas beta, es decir, electrones de alta energía procedentes de la desintegración nuclear, a una velocidad relativamente constante. El gas portador utilizado en este análisis colisiona con las partículas beta emitidas por él Ni-63, creando una nube de electrones lentos en la cámara de detección. Esta nube crea un potencial eléctrico entre dos electrodos en la cámara de detección, siendo la corriente constante que resulta amplificada y enviada al computador o integrador. Así el computador recibe una señal constante, ya que esta corriente estará presente mientras que el detector esté funcionando y haya flujo del gas portador.

Esta corriente constante del EDC cambia cuando un analito electrofílico llega al ECD procedente del final de la columna del GC, después de realizada la separación cromatográfica. Los compuestos a analizar disminuyen la corriente debido a que algunos electrones son capturados por los átomos electrofílicos que están presentes en el analito. Cuanto más analito llega, mayor es la disminución de la corriente eléctrica. El computador mide la cantidad de esta disminución y correlaciona la señal del detector con la concentración del analito.

Sin embargo, a diferencia de la señal positiva que presentan otros detectores, como por ejemplo el detector FID (Detector de ionización de llama), la señal del ECD es "inversa", es decir, su información da una medida de la señal ausente que se produce.

El resultado obtenido es el mismo, por lo que por medio del ECD la cantidad de cada analito puede determinarse con elevada sensibilidad y reproducibilidad.

Al igual que otros sistemas cromatográficos, el tiempo en el que cada analito sale de la columna y genera la señal en el detector puede utilizarse para la identificación de cada analito, mediante una calibración previa con estándares químicos adecuados al analito a determinar.

1.8.3. Estándar Interno

Para el análisis cuantitativo mediante GC es necesario el uso de un estándar interno, para reducir los errores asociados a la inyección de la muestra, la velocidad de flujo y las variaciones en las condiciones de la columna. Tanto a las muestras como a los patrones se añade una cantidad conocida de estándar interno y el parámetro analítico que se mide es la relación entre el área del pico del analito y el área del pico del estándar interno (Skoog et al, 2001).

HIPÓTESIS

La utilización de un film de PDMS inmovilizado en un disco rotatorio de teflón permitiría extraer y preconcentrar eficientemente PCBs desde muestras acuosas.

OBJETIVOS

Objetivo General

Implementar una estrategia analítica de extracción/pre concentración de PCBs desde matrices líquidas, utilizando una fase sólida inmovilizada de PDMS en un disco rotatorio y su posterior determinación por cromatografía gaseosa.

Objetivos Específicos

- Implementar la técnica de extracción basado en la utilización de disco rotatorio.
- Implementar un método cromatográfico para identificar y cuantificar PCBs.
- Estudiar las condiciones de operación del disco rotatorio para la extracción de PCBs.
- Analizar e interpretar los resultados obtenidos.

II MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Reactivos

- Standard PCBs AccuStandard® Combined Congener Standard, 33 Comps (20 ug/mL en isooctane)
- Estándar Interno TBA 40 mg/L
- Polidimetilsiloxano-hidroxi terminado Aldrich
- Polimetilhidroxiloxano Aldrich
- Metiltrimetoxisilano 98% Aldrich
- Diclorometano SupraSolv, Merck
- Ácido trifluoroacético Uvasol, Merck
- Metanol grado HPLC Fisher Scientific
- Acetona grado HPLC Fisher Scientific
- Diclorometano grado HPLC Fisher Scientific
- Hexano grado HPLC Fisher Scientific
- Nitrógeno gas extra puro 99,995% AGA.
- Agua Ultrapura Milli Q (Millipore)
- Silicona VersaChem Silicone
- PDMS comercial Sylgard® 184 silicone elastomer kit
- Laboratory tubing Silastic®

2.2. Materiales

- Disco rotatorio teflón con fase PDMS inmobilizada (1,5 y 3 cm diámetro)
- Viales de vidrio con tapa rosca (2, 5 mL)
- Jeringas cromatográficas Hamilton (10, 1000 uL)
- Vasos de precipitado (10, 20, 50 mL)
- Matraz de aforo (10 mL)
- Teflón

2.3. Equipos

- Cromatógrafo de gases HP 5890 Series II con detector de captura de electrones
- Columna capilar HP5 30m x 0,32mm de que?? x 0,25um de que?? (falta colocar DI y FE)
- Autovortex Mixer Vision S.A. KMC-1300V SA5
- Agitador magnético MR 3000/3002
- Equipo Evaporador Nitrógeno
- Balanza Analítica 125 A ($\pm 0.0001g$) Precisa.

2.4. Método

2.4.1. Inmovilización de PDMS por método sol-gel

La fase de polidimetilsiloxano (PDMS) es un polímero que sirve para la retención y posterior desorción de los analitos estudiados. Existe la posibilidad de preparar esta solución in situ, de modo que quede inmediatamente adherida sobre alguna superficie,

particularmente vidrio, ya que posee grupos silanoles disponibles, lo que permiten la interacción química necesaria para la unión. En este caso, se llevó a cabo el procedimiento propuesto por Liu y col. (Liu y col, 2005) para lograr la inmovilización de PDMS con algunas modificaciones, ya que la metodología original contempla la inmovilización sobre vidrio y para montar la metodología en disco es necesario inmovilizar sobre teflón. Para el disco de teflón, una opción fue trabajar recubriéndolo primeramente con estos grupos silanoles (usando adhesivo silicona que los posee), sin embargo, ensayos preliminares demostraron que es mejor realizar la gelificación de la fase de manera previa en un recipiente adecuado (plástico o teflón), y luego retirarla, para cortarla del tamaño requerido y acondicionarla, antes de unirla con el disco de teflón usando algún adhesivo, siendo idealmente utilizado la silicona fría. En este caso, la solución para el recubrimiento del disco de teflon se prepara disolviendo 2 mL de PDMS-OH (polidimetilsiloxano hidroxiterminado) en 3 mL de diclorometano, entonces se incorporan 500 μ L de MTMOS (metiltrimetoxisilano) y 500 μ L de PMHS (polimetilhidrosiloxano). Después de esto se agregan 500 μ L de ácido trifluoracético (conteniendo 5% de agua) y se agita en vortex hasta que la solución se aclare. Para lograr una fase de PDMS de mayor o menor grosor, los volúmenes antes mencionados se varían manteniendo la proporción existente entre ellos.

Esta solución se vierte sobre un recipiente de teflón de 7 cm de diámetro y se deja reposar. Transcurrida una hora, la solución ya presenta un estado de gelificación que hace posible el desprendimiento. La lámina transparente se retira del recipiente y se corta en forma circular del tamaño del disco de teflón en el que se usará y la fase generados del tamaño del disco, se dejan en desecador al vacío por 12 horas más. Según lo propuesto por Gbatu y col (Gbatu y col, 1999), se lleva a cabo un

acondicionamiento de la fase por medio de calentamiento. De esta manera, los discos recubiertos se colocan en una plancha de aluminio y se calientan por 1 hora a 150 °C bajo atmósfera de N₂. Posterior a esto, se colocan en un desecador al vacío nuevamente para su enfriamiento y posterior utilización en la extracción pegándolos sobre el disco de teflón con silicona. La Tabla 4 muestra los componentes de la fase mencionados anteriormente.

Tabla 4 Nombre, función y estructura química de compuestos utilizados en la preparación de solución sol-gel de recubrimiento.

Compuesto	Función	Estructura Química
Metiltrimetoxisilano (MTMOS)	Precursor sol-gel	
Polidimeilsiloxano hidroxi-terminado (PDMS)	Fase de recubrimiento	
Polimetilhidrosiloxano (PMHS)	Agente desactivador	
Acido trifluoracético 5% H ₂ O (TFA)	Catalizador ácido	CF ₃ COOH

2.4.2. Implementación del método por cromatografía gaseosa acoplada a detector de captura de electrones

Se ha llevado a cabo la implementación del método cromatográfico en el cual se utilizan las siguientes condiciones de operación:

Temperatura inyector: 250 °C

Temperatura detector: 300 °C

Programa de T°: 150(1 min) - 4°C/m - 290°C (0 min)

Gas portador: Nitrógeno

Volumen inyección: 1 uL

Tipo de inyección: Split 1:10

Presión: 10 psi

2.4.3. Sistema Propuesto

El sistema propuesto busca superar las limitaciones de la SBSE, mediante el uso de un disco de teflón que posee un recubrimiento de fase de PDMS y cuya apariencia se aprecia en la Figura 11. Este disco posee un magneto en su interior y al tener la fase adherida en la parte superior impide el daño por roce que se provoca con las barras de agitación, a la vez que permite la utilización de una cantidad de fase definida.

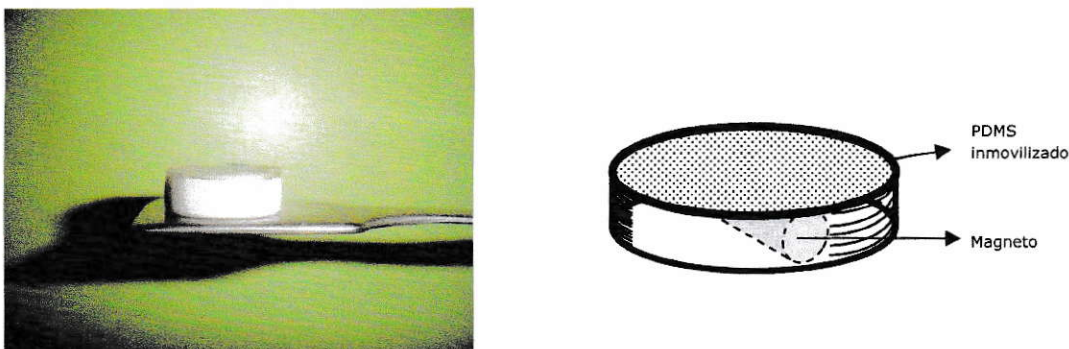


Figura 11 Fotografía y esquema del disco de teflón con recubrimiento de PDMS.

Este disco de teflón se coloca en contacto con la muestra acuosa contenida en un vaso de precipitado en un sistema batch. La muestra con el disco se coloca sobre un agitador magnético que permite que el disco vaya rotando formando un vortex. Una vez finalizado el proceso de extracción y los analitos han sido retenidos por el PDMS, se evacua el líquido presente en el vaso y se agrega un pequeño volumen del agente eluyente (metanol) que se encarga de desorber los analitos de la fase.

2.4.4. Preparación de muestras

Las muestras que se prepararon para realizar las extracciones fueron realizadas desde un estándar de PCBs. Un volumen de 10 mL de agua milliQ fue dopado con 10 μ L del estándar de PCBs para realizar la extracción correspondiente al estudio desarrollado. Los extractos de la desorción del analito desde el disco fue preconcentrado hasta un volumen de 1 mL mediante evaporación utilizando nitrógeno como agente evaporador, pudiendo así obtener concentraciones 10 veces mayores que las originales al dopado de la muestra. Para la verificación de la eficiencia de la preconcentración del disco, se realizó una extracción líquido-líquido con diclorometano, para luego realizar un cambio de solvente a hexano pre concentrando hasta un volumen de 1 ml.

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Curvas de calibración en GC-ECD

Para la calibración de los analitos en la medición cromatográfica se trabajó con soluciones estándar en concentraciones que abarcan de los 50 µg/L a los 200 µg/L desde un estándar original de 20 mg/L en isooctano. Una vez preparada la batería de 4 puntos estándar, éstos se inyectaron en el equipo, en las condiciones cromatográficas mencionadas anteriormente, observándose la señal que presentaba cada uno de los compuestos en estudio en sus respectivos tiempos de retención.

De esta forma, integrando las señales, fue posible obtener una curva de calibración cada vez que se procedía a medir en el cromatógrafo las muestras a estudiar. La Tabla 5 indica las ecuaciones de las curvas de calibración y los respectivos coeficientes de correlación para cada analito.

Tabla 5 Ecuaciones de calibración y coeficientes de correlación para cada homólogo de PCB.

Analito	Ecuación de Calibración	Factor de Correlación
Mono-Cl	$y = 0,0017x + 0,0053$	$R^2 = 0,996$
Di-Cl	$y = 0,0147x - 0,0041$	$R^2 = 0,9999$
Tri-Cl	$y = 0,0064x + 0,0908$	$R^2 = 0,9983$
Tetra-Cl	$y = 0,0208x - 0,0501$	$R^2 = 0,9995$
Penta-Cl	$y = 0,0235x - 0,1116$	$R^2 = 0,9993$
Hexa-Cl	$y = 0,0165x + 0,0049$	$R^2 = 0,9998$
Hepta-Cl	$y = 0,004x - 0,0901$	$R^2 = 0,9989$
Octa-Cl	$y = 0,0144x + 0,0049$	$R^2 = 0,9976$
Nona-Cl	$y = 0,0138x - 0,0204$	$R^2 = 0,9981$
Deca-Cl	$y = 0,0126x + 0,0092$	$R^2 = 0,997$

3.2. Estudio de variables

3.2.1. Dependencia del tiempo de extracción

Puesto que el fenómeno de retención de analitos en la fase de PDMS es un proceso de equilibrio, es de esperar que sea dependiente del tiempo tal y como lo indican las ecuaciones indicadas anteriormente. Así, es necesario realizar experiencias que indiquen si este equilibrio se alcanza en períodos de tiempo cortos o largos, o si, por el contrario, no influye mayormente.

Es así como el primer estudio consistió en realizar una extracción de estándar de PCB a diferentes tiempos de extracción a una velocidad constante de rotación del disco (250 rpm). Los tiempos de extracción fueron a 30, 60, 120, 180 minutos, con 30 minutos de desorción del analito desde el disco utilizando metanol como solvente.

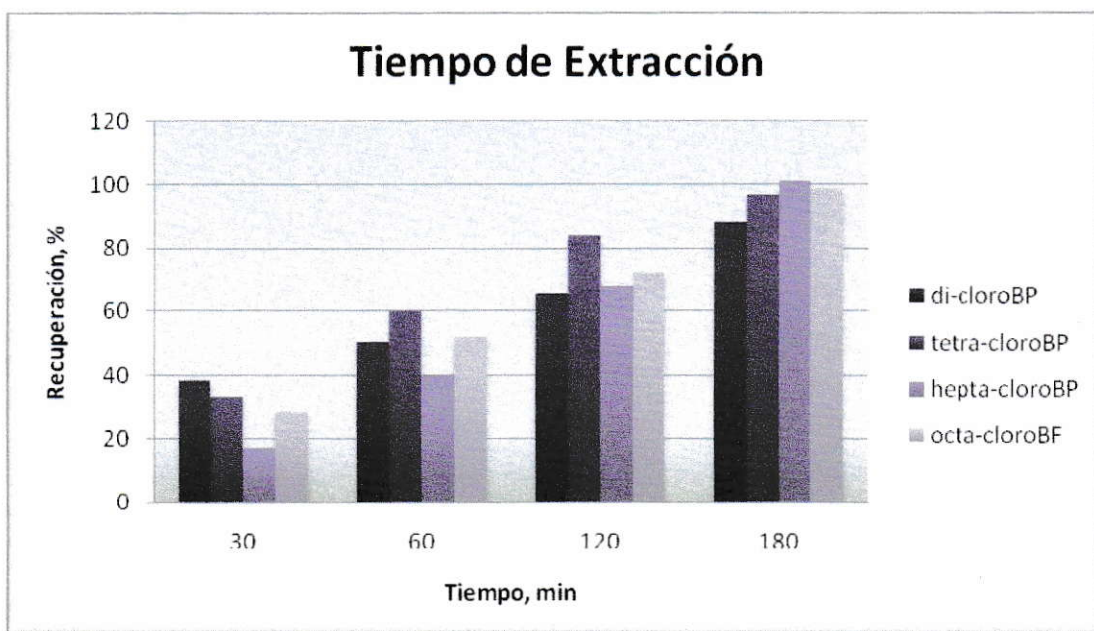


Figura 12 Dependencia de la recuperación de la fase de PDMS con el tiempo de extracción a una velocidad de 250 rpm.

Se hicieron estos experimentos en batch, con el disco pequeño. Los resultados gráficos se observan en la Figura 12, y muestran que efectivamente la retención está influenciada por el tiempo de extracción. Se observa que el efecto del tiempo de extracción para cuatro PCBs representativos a los 180 min hace que la extracción sea prácticamente cuantitativa para una velocidad de agitación de 250 rpm. Se espera que al aumentar la velocidad de agitación, la extracción cuantitativa se alcance antes. La importancia de este dato radica en que, para tomar valores en la matriz experimental que busca encontrar las variables significativas, se pueden tomar rangos de tiempo de extracción no tan grandes, lo que lleva a reducir el tiempo de los experimentos.

3.2.2. Dependencia de la velocidad de agitación

Siguiendo con la teoría que involucra la extracción de analitos usando PDMS, este equilibrio que debe formarse entre los compuestos en la solución acuosa y la red polimérica del PDMS debiese ser favorecido a mayores velocidades de agitación. Esto principalmente porque a mayores velocidades aumenta la convección hacia la superficie del disco, y en consecuencia el transporte de masa de analitos tendería a ser mayor. El segundo estudio consistió en la extracción de estándar de PCB a distintas velocidades de agitación del disco rotatorio a un tiempo de extracción constante de 30 minutos con una desorción al igual que la experiencia anterior de 30 minutos utilizando metanol como solvente. Las velocidades de agitación empleadas fueron expresadas en revoluciones por minutos (RPM) y fueron 0, 125, 250, 375, 500 RPM, obteniéndose una respuesta que coincide con lo predicho.

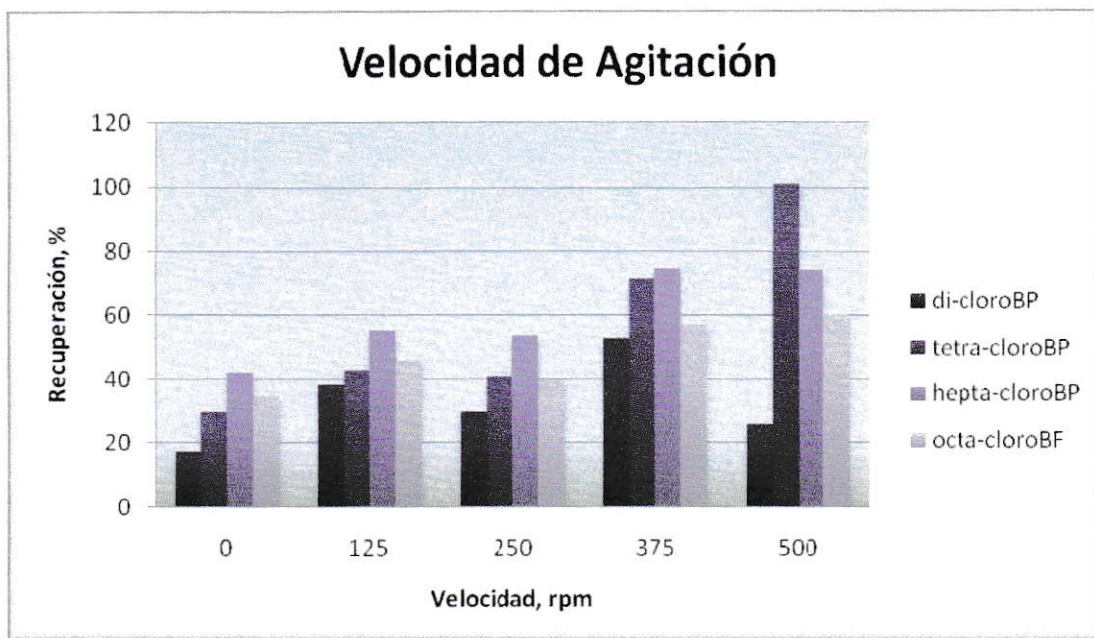


Figura 13 Dependencia de la recuperación de la fase de PDMS con la velocidad de agitación a un tiempo de extracción de 30 minutos.

En la Figura 13 se ve la gráfica que muestra que a mayor velocidad de rotación del disco, las recuperaciones aumentan debido a que el transporte de masa se hace más eficiente. Sin embargo, con 30 min de extracción las recuperaciones aun no alcanzan valores cuantitativos. También se observa que incluso no agitando el disco retiene cierta cantidad de analitos con recuperaciones cercanas a un 40 %. Al aumentar la agitación puede observarse como aumenta significativamente la recuperación. A diferencia del gráfico de la Figura 13, aquí no es tan claro que se alcance un límite de recuperación. Si bien las recuperaciones detectadas aumentan a medida que aumenta la velocidad de agitación, no es posible afirmar que a mayores velocidades de agitación el sistema retendrá la misma cantidad de analito. Por esto se considera que

la agitación para la extracción debería ser máxima, independiente del sistema de agitación que se use.

3.3. Tipos diferentes de fase de PDMS

Se realizó un estudio de tres tipos de PDMS. Las fases empleadas fueron la fase sintetizada en el laboratorio siguiendo el procedimiento propuesto por Liu y col (Liu y col, 2005), una fase PDMS comercial Sylgard® 184 silicone elastomer kit y PDMS laboratory tubing Silastic®. Estas fases se utilizaron para realizar estudios de extracción de PCBs en iguales condiciones para comparar su eficiencia en la extracción.

Las tres fases fueron fijadas en el disco con silicona y acondicionadas para su utilización. El estudio realizado consistió en extraer PCBs por 30 minutos a diferentes tiempos de agitación que fueron 0, 750 y 1250 rpm. La desorción fue realizada al igual que las experiencias anteriores por 30 minutos utilizando metanol. Luego estos extractos fueron preconcentrados hasta un volumen de 1 mL para ser inyectados en el cromatógrafo.

Las Figuras 14, 15 y 16 muestran las gráficas de recuperaciones de los tres distintos tipos de fases estudiadas.

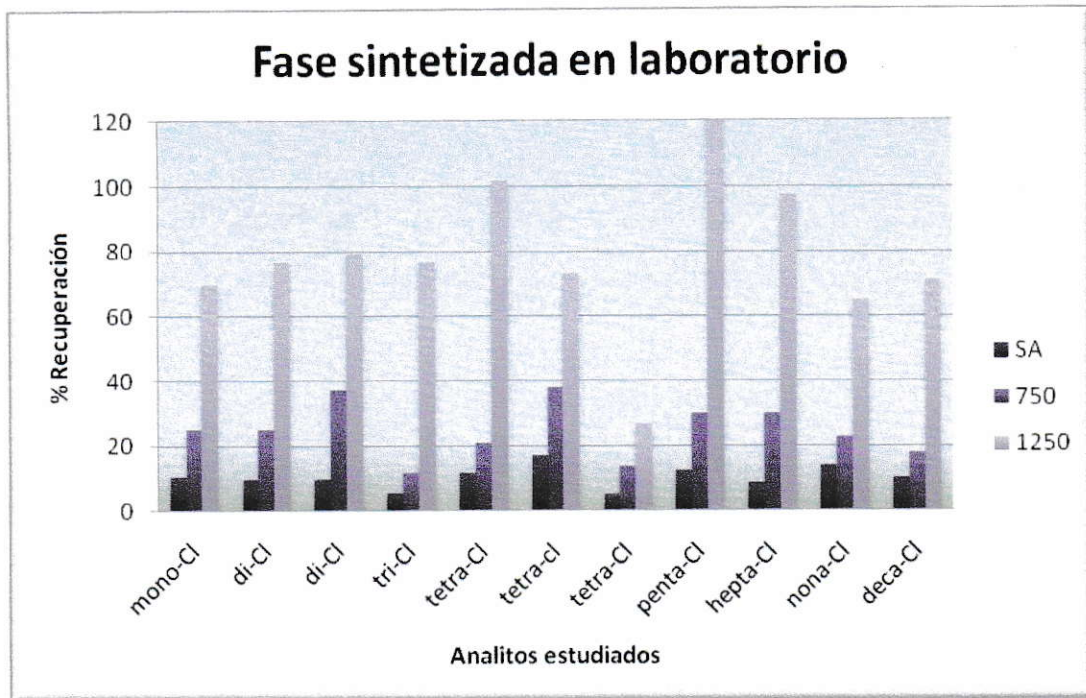


Figura 14 Recuperaciones para fase sintetizada en el laboratorio a distintos tiempos de agitación.

En la Figura 14 muestra la recuperación de PCBs en la fase PDMS sintetizada en el laboratorio siguiendo el método propuesto por Liu y col (Liu y col, 2005). Se observa que la recuperación aumenta a medida que aumenta la velocidad de agitación del disco, llegando al 100% para algunos PCBs de la muestra.

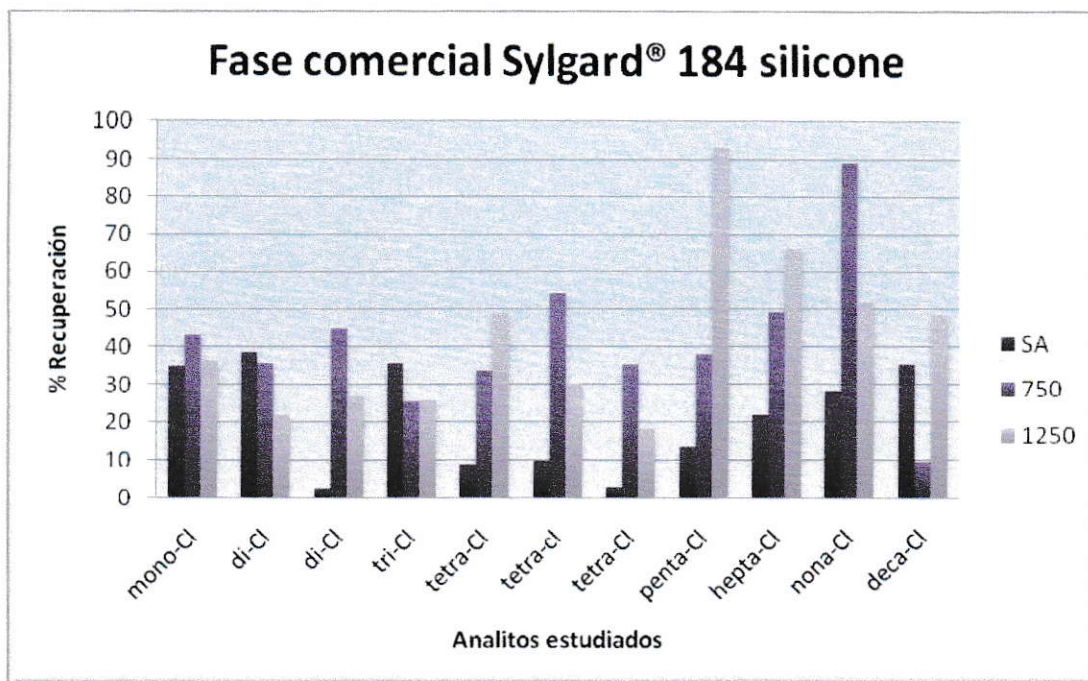


Figura 15 Recuperaciones para fase polidimetilsiloxano comercial Sylgard® 184 silicone elastomer.

En la Figura 15 se observan las recuperaciones de la PDMS comercial Sylgard® 184 silicone elastomer donde se aprecia que las recuperaciones son menores, llegando solo a un máximo de recuperación de un 60%, salvo para un tipo de PCB, donde su recuperación se acerca al 100 %.

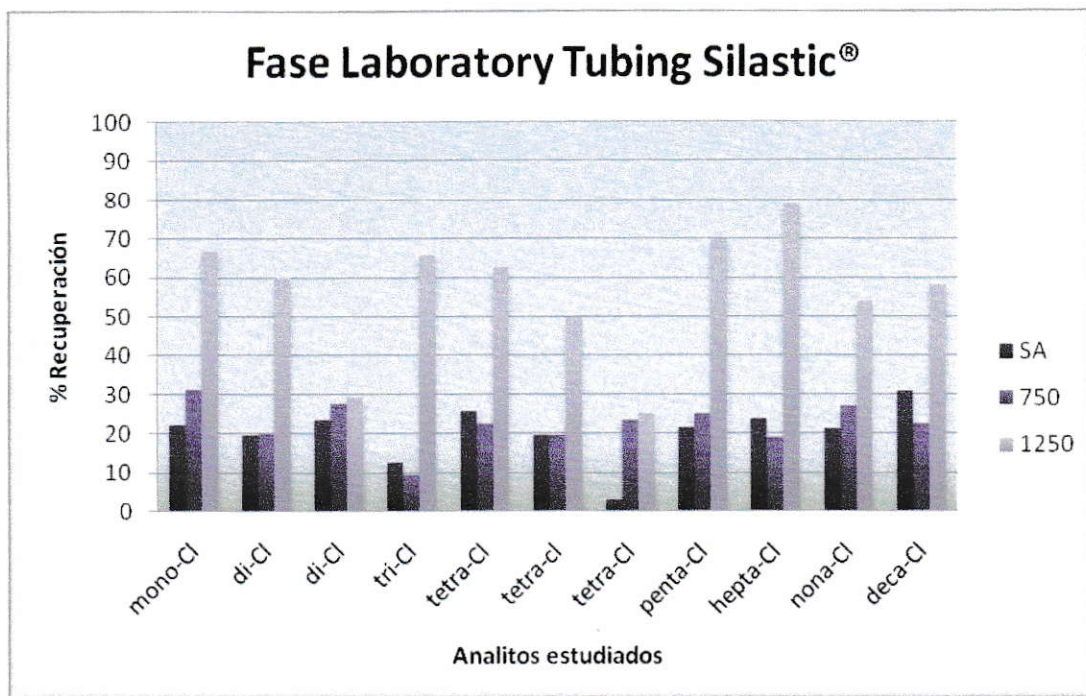


Figura 16 Recuperaciones para la Fase PDMS Laboratory tubing Silastic®.

En la Figura 16 se observa la recuperación de PCBs en la Fase de PDMS Laboratory tubing Silastic® donde se puede apreciar que, aunque la recuperación es cercana al 70%, es menor que lo obtenido con la fase sintetizada en el laboratorio.

Es por esto que la fase que fue sintetizada en el laboratorio fue la que presentó una mayor eficiencia en la extracción, por lo que con esta fase se continuará experimentando en los estudios posteriores. El hecho de que la fase sintetizada en el laboratorio siguiendo el procedimiento propuesto por Liu y col, (Liu y col, 2005) sea mucho más eficiente en la extracción de PCBs desde muestras acuosas, es un resultado que no se esperaba, por el hecho que la fase comercial al ser más homogénea y simple de sintetizar, podía presentar características mucho más

favorables para la extracción y retención de PCBs en ella. El hecho de que esto no sea así, puede ser porque la fase comercial al tener una característica más homogénea y más viscosa, puede ser menos PDMS, requiriendo en consecuencia mayores tiempos para alcanzar el equilibrio de partición.

3.4. Estudio de proceso de concentración y elución

Debido a que la recuperación de los PCBs no fue cuantitativa, se verificó si quedan remanentes residuos de PCBs en la fase acuosa o en la fase de PDMS posterior al proceso de concentración y elución, respectivamente. Para esto se realizó el mismo procedimiento para una extracción de PCBs desde una muestra acuosa preparada en el laboratorio, pero se adicionó el paso de la extracción líquido-líquido, mencionado anteriormente en métodos de preparación de muestras considerándose además eluciones secuenciales del disco.

Se pudo constatar en este estudio que un promedio de 5 % de los analitos queda remanente en la fase acuosa (principalmente los congéneres menos clorados), lo cual es consecuente con la baja solubilidad de los analitos en agua y producto de su baja polaridad preferirían concentrarse en la fase de PDMS. Por otra parte, se determinó que un promedio de 15 a 20 % de los analitos permanecen en el disco posterior a la primera elución, especialmente los congéneres más clorados, lo cual indicaría que 30 min de elución aun no es suficiente para retro-extraer cuantitativamente los analitos desde el disco. Se sugiere en futuros experimentos evaluar el uso de metanol a mayor temperatura como agente eluyente, además de considerar un número mayor de eluciones de menor tiempo y la posibilidad de eluir térmicamente los analitos.

IV CONCLUSIONES

En el presente seminario de título se ha desarrollado una técnica analítica de extracción basada en la utilización de disco rotatorio, estudiando las condiciones de operación del disco rotatorio para la extracción de PCBs, determinándolos por cromatografía gaseosa con detección de captura de electrones (GC-ECD). A partir de las experiencias realizadas durante el desarrollo de ésta, se puede concluir lo siguiente:

La retención de los analitos en el disco está influenciada efectivamente por el tiempo de extracción utilizado. A mayor tiempo de extracción, mayor es la recuperación de los PCBs desde el disco a bajas velocidades de agitación.

El tiempo en que se alcanza el equilibrio entre el analito y la fase de PDMS es dependiente de la velocidad de agitación del disco. A medida que aumenta la velocidad de agitación, el equilibrio se alcanza en menor tiempo, siendo 30 minutos el tiempo más eficiente para la extracción de PCBs.

La polaridad de la fase utilizada para la extracción, como también la del solvente utilizado en la desorción del analito desde el disco rotatorio, influyen en la preconcentración y elución del analito en el disco, ya que al ser los PCBs compuestos muy apolares, especialmente los más clorados, quedan fuertemente retenidos en la fase. De esta forma, en las condiciones de elución establecidas, el metanol como agente eluyente sólo puede desorber cuantitativamente los PCBs con características

menos apolares, es decir aquellos que poseen menor cantidad de cloros en la molécula.

De las fases estudiadas, la homogeneidad que presentan las fases de PDMS adquiridas comercialmente, hace que éstas tengan menores capacidades para interaccionar con el PCB en la extracción comparada con la fase sintetizada en el laboratorio, ya que ésta presenta probablemente mayor porosidad, lo que la hace con mejores propiedades para la extracción y pre concentración del analito en el disco.

V REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATSDR (1996). Toxicological profile for polychlorinated biphenyls, in: Draft for public comment (update), US Department of Health & Human Services. Washington, DC.
- ATSDR (2000). Toxicological profile for polychlorinated biphenyls, in: Draft for public comment (update), US Department of Health & Human Services. Washington, DC.
- ATSDR (2000). Resumen de Salud Pública, Bifenilos Policlorados http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs17.pdf
- Baird C., (2001). Química Ambiental. Ed. Reverté S.A., Barcelona, Pp 346-366
- Baltussen, E.; Sandra, P.; David, F.; Cramers, C. Journal of Microcolumn Separations 11:10 (1999) 737-747
- Barker, S. 2000. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis. Journal of Chromatography A. 880. 63-68
- CONAMA, Manual de Chile para el manejo de bifenilos policlorados (PCBs; Askareles) Un estudio de casos sobre la aplicación de aguas. Gobierno de Chile.
- Decreto Supremo N°148, 2003. Ministerio de Salud. Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos Peligrosos, Chile

- Fishbein, L. Toxicity of Chlorinated Biphenyls. *Annu. Rev. Pharmacol.* 1974.14:139-156
- Gbatu, T.; Sutton, K.; Caruso, J. *Analytica Chimica Acta.* 402 (1999)67-79
- Greenpeace, 2005,; <http://www.greenpeace.org/chile/campaigns/t-xicos/pcbs>
- Kataoka, H.; Lord, H.; Pawliszyn, J. 2000. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A.* 880 (2000) 35-62
- Leon, V.; Llorca-Pórcel, J.; Alvarez, B.; Cobollo, M.; Muñoz, S.; Valor, I. 2006. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: Part II: Method validation. *Analytica Chimica Acta.* 558 issue 1-2 (2006) 261-266
- Liu, M.; Zeng, Z.; Xiong, B. *Journal of Chromatography A.* 1065 (2005) 287-299
- Liu, W.; Hu, Y.; Zhao, J.; Xu, Y.; Guan, Y. *Journal of Chromatography A.* 1102 (2006) 37-43
- Majors, R.; David, F.; Tienpont, B.; Sandra, P. 2003. Stir-bar sorptive extraction of trace organic compounds from aqueous matrices. *Samples Prep Perspectives. LC GC North America.* Vol 21 Number 2 (2003) 1-7
- Malik, A. 2002. Advances in sol-gel based columns for capillary electrochromatography: sol-gel open-tubular columns *Electrophoresis.* 23 (2002) 3973-3992.

- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, PNUMA, (1999).
- Ramos, L.; Ramos, J.; Brinkman, U.. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 381 (2005) 119-140
- Rocco, G. Tesis para optar al título de Químico Ambiental, Universidad de Chile. Determinación de bifenilos policlorados (PCBs) en biosólidos utilizando disolvente presurizados para la extracción y GC-MS para su cuantificación, 2007.
- Sakamoto, M.; Tsutsumi, T. 2004. Applicability of headspace solid-phase microextraction to the determination of multi-class pesticides in waters. Journal of Chromatography A. 1028 issue 1 (2004) 63-74
- Sanchez-Brunete, C.; Albero, B.; Tadeo, J. 2004. Multiresidue determination of pesticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52 (2004) 1445-1451
- Sandra, P.; Tienpont, B.; David, F. 2003. Stir-bar sorptive extraction of trace organic compounds from aqueous matrices. Journal of Chromatography A. 1000 (2003) 299-309
- Saraullo, A.; Martos, P.; Pawliszyn, J. Analytical Chemistry. 69 (1997) 1992-1998
- Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. Principios de Análisis Instrumental, Quinta Edición, (2001), Editorial Mc Graw Hill.
- SUPELCO Boletín 910. (1998) Sigma Aldrich Co

- Toledo, C. Tesis para optar al título de Químico Ambiental, Universidad de Chile. Desarrollo de una metodología para la extracción de bifenilos policlorados (PCBs) desde aceites de transformadores y su posterior cuantificación por cromatografía de gases acoplados a un detector de masa, 2006.
- Vreuls, J.; Swen, R.; Goudriaan, V.; Kerkhoff, M.; Jongenotter, G.; Brinkman, U.. Journal of Chromatography A. 750 (1996) 275-286
- Yamagami, T.; Ochiai, N.; Sasamoto, K.; Kanda, H.; David, F.; Sandra, P.. 2004. Multi-residue method for determination of 85 pesticides in vegetables, fruit and green tea by stir bar sorptive extraction and thermal desorption GC-MS: Global Analytical Solutions GERSTEL. AppNote 4/2004
- Yamagami, T.; Ochiai, N.; Sasamoto, K.; Kanda, H.; David, F.; Sandra, P.. Global Analytical Solutions. AppNote 3/2005
- Zhang, Z.; Pawliszyn, J. Analytical Chemistry. 67 (1995) 34-43

VI ANEXO

6.1. Curvas de Calibración

Para cada análisis realizado se hicieron curvas de calibración de los analitos a estudiar. A continuación se presentan los cromatogramas para las concentraciones que componen la curva de calibración. En cada cromatograma observamos el estándar interno señalado por el círculo rojo, siendo los demás picos, los PCBs componentes del estándar utilizado para el análisis.

* 50 ppb

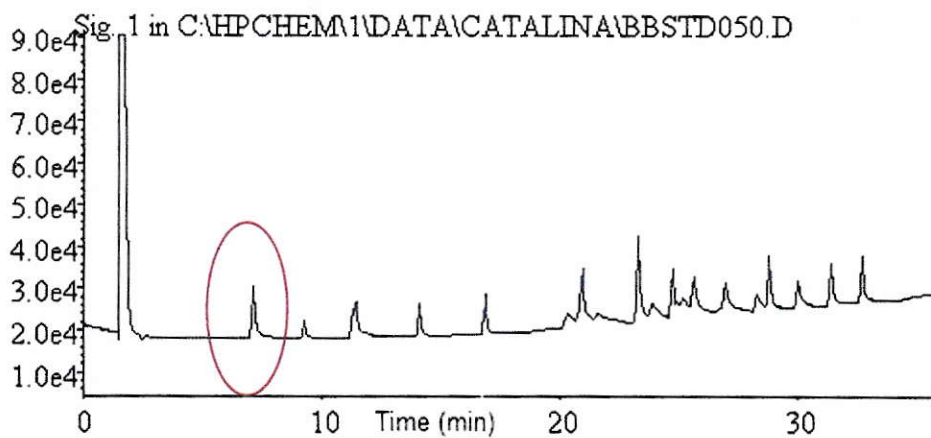


Figura 17 Cromatograma de Estándar PCBs 50ppb

* 100 ppb

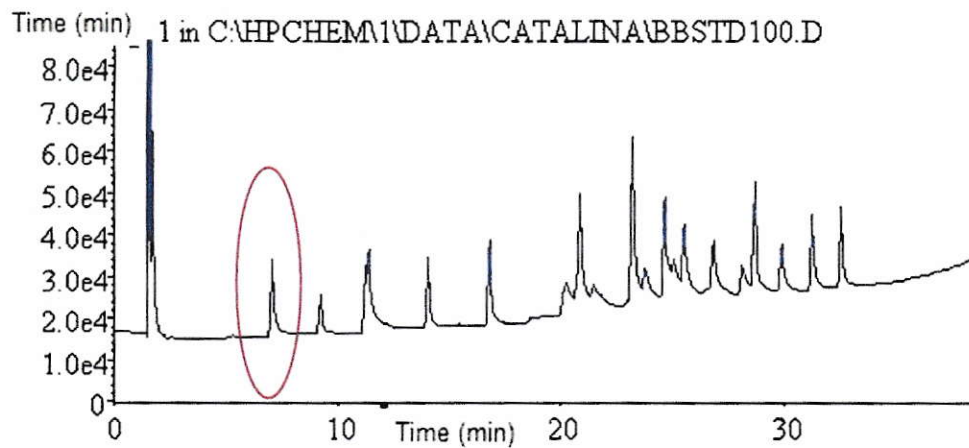


Figura 18 Cromatograma de Estándar PCBs 100ppb

* 200 ppb

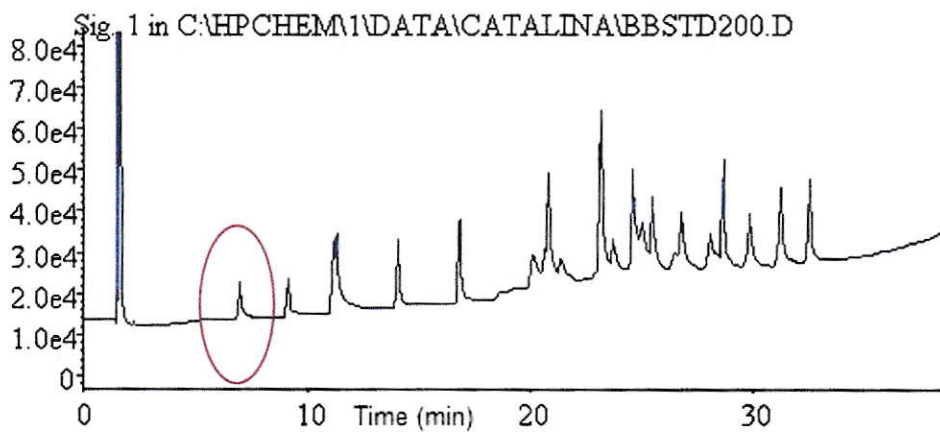


Figura 19 Cromatograma de Estándar PCBs 200ppb

* 400 ppb

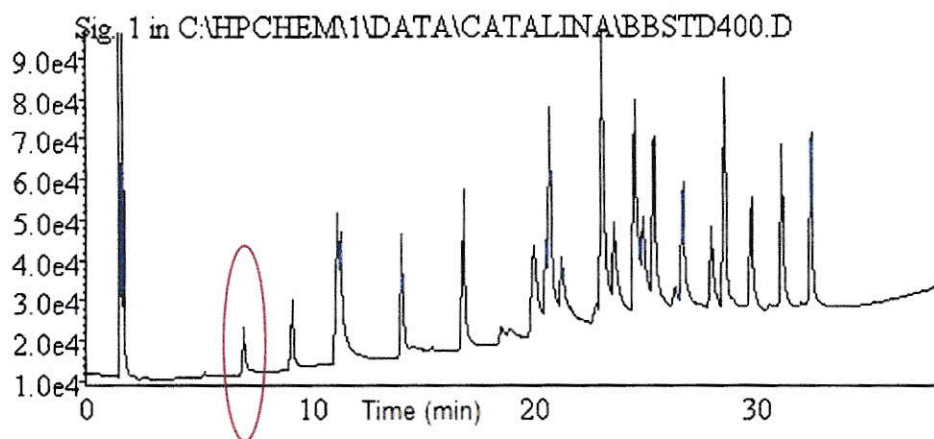


Figura 20 Cromatograma de Estándar PCBs 400ppb

6.2. Estudio de variable “Tiempo de Extracción”

Se realizó un estudio de la variable del tiempo de extracción analizado en el apartado 3.2.1. Las Tablas 6, 7, 8 y 9 corresponden a los datos para el desarrollo del gráfico presentado en la Figura 12. Se presentan los datos para las extracciones realizadas en 30, 60, 120 y 180 minutos.

En las Tablas 6, 7, 8 y 9 se muestran la razón entre el área de los picos cromatográficos correspondiente con el área del estándar interno utilizado en el análisis (Tribromoanisol a 4 ppm), las concentraciones correspondientes a cada PCB estudiado y el porcentaje de recuperación que tiene el disco para cada analito analizado.

30 minutos			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,124226565	62,86058104	38,48131473
tetra-cloroBP	0,23743498	66,51953517	33,25976758
hepta-cloroBP	0,114176262	34,41378672	17,20689336
octa-cloroBF	0,275173724	57,32442952	28,66221476

Tabla 6 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 30 minutos.

60 minutos			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,154803487	87,22893475	50,14481389
tetra-cloroBP	0,593626706	120,047267	60,02363352
hepta-cloroBP	0,421123231	79,41670692	39,70835346
octa-cloroBF	1,139485363	103,9344428	51,96722142

Tabla 7 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 60 minutos.

120 minutos			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,194829624	119,1278627	65,41269464
tetra-cloroBP	0,909672163	167,5419033	83,77095167
hepta-cloroBP	0,803215	135,436955	67,71847751
octa-cloroBF	1,887986673	144,2991151	72,14955754

Tabla 8 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 120 minutos.

180 minutos			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,254405256	166,6068089	88,13768689
tetra-cloroBP	1,080641178	193,2347618	96,61738088
hepta-cloroBP	1,258290114	202,1576303	101,0788151
octa-cloroBF	2,863289075	196,8945632	98,4472816

Tabla 9 Datos para construcción de grafico para estudio del tiempo de agitación de 180 minutos.

6.3. Estudio de variable “Velocidad de Agitación” del disco

Se realizó un estudio de la variable velocidad de agitación analizado en el apartado 3.2.2. Las Tablas 10, 11, 12, 13 y 14 corresponden a los datos para el desarrollo del gráfico presentado en la Figura 13. Se presentan los datos para las extracciones realizadas a velocidades de agitación 0, 125, 250, 375 y 500 rpm.

En las Tablas 10, 11, 12, 13 y 14 se muestran la razón entre el área de los picos cromatográficos correspondiente con el área del estándar interno utilizado en el análisis (Tribromoanisol a 4 ppm), las concentraciones correspondientes a cada PCB estudiado y el porcentaje de recuperación que tiene el disco para cada analito analizado.

0 rpm			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,095225852	34,63067947	17,31533973
tetra-cloroBP	1,054439505	59,39096906	29,69548453
hepta-cloroBP	2,734940999	84,47897379	42,2394869
octa-cloroBF	0,90320914	69,25458185	34,62729093

Tabla 10 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 0 rpm.

125 rpm			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,167039443	76,8885424	38,4442712
tetra-cloroBP	1,491313643	86,26711629	43,13355815
hepta-cloroBP	3,493257871	110,8602609	55,43013047
octa-cloroBF	1,206108495	91,82519094	45,91259547

Tabla 11 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 125 rpm.

250 rpm			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,137601899	59,56636576	29,78318288
tetra-cloroBP	1,41770616	81,73884287	40,86942143
hepta-cloroBP	3,405408927	107,8040607	53,90203033
octa-cloroBF	1,04502178	79,82178057	39,91089028

Tabla 12 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 250 rpm.

375 rpm			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,216399756	105,9340384	52,96701918
tetra-cloroBP	2,425530162	143,7393686	71,86968429
hepta-cloroBP	4,598688062	149,3173656	74,65868278
octa-cloroBF	1,508453885	114,3545212	57,17726062

Tabla 13 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 375 rpm.

500 rpm			
PCBs	Razón (Área/EI)	Concentración (ppb)	% Recuperación
di-cloroBP	0,124511872	51,86369377	25,93184689
tetra-cloroBP	3,380274597	202,4744818	101,2372409
hepta-cloroBP	4,580866687	148,697373	74,34868649
octa-cloroBF	1,600459675	121,210352	60,605176

Tabla 14 Datos para construcción de gráfico para estudio de velocidad de agitación a 500 rpm.

6.4. Estudio de Diferente fases PDMS

Se realizó un estudio de distintos tipos de PDMS para encontrar el más eficiente en el proceso de extracción de PCBs desde muestras acuosas, analizado en el apartado 3.3. Las Tablas 15, 16 y 17 corresponden a los datos para el desarrollo de los gráficos presentados en las Figuras 14, 15 y 16. Se presentan los datos para las extracciones realizadas con distintas fases de PDMS que son la fase sintetizada en el laboratorio, la fase comercial Sylgard® 184 silicone y fase Laboratory Tubing Silastic®.

En las tablas 15, 16 y 17 se muestran los estudios para cada fase, realizándose extracciones a distintas velocidades de agitación (0, 750 y 1250 rpm). Se observa la razón entre el área de los picos cromatográficos correspondiente a cada analito, con el área del estándar interno utilizado en el análisis (Tribromoanisol a 4 ppm), las concentraciones correspondientes a cada PCB estudiado y el porcentaje de recuperación que tienen las distintas fases para cada analito analizado.

Los análisis de los resultados de estos estudios están el apartado III Resultados y Discusión analizados en profundidad.

Fase sintetizada en laboratorio											
	mono-Cl	di-Cl	di-Cl	tri-Cl	tetra-Cl	tetra-cl	tetra-Cl	penta-Cl	hepta-Cl	nona-Cl	deca-Cl
Razón (Área/EI)											
0	0,153	0,404	0,260	0,205	0,262	0,139	0,157	0,253	0,302	0,225	0,256
750	0,181	0,723	0,124	0,207	1,121	0,586	0,426	0,615	0,356	0,372	0,291
1250	0,409	2,168	0,549	0,932	1,673	0,760	0,458	0,959	1,409	1,343	1,322
Concentración											
0	21,4	19,7	19,9	10,8	23,5	34,5	10,7	24,7	17,3	27,8	20,0
750	49,9	50,4	74,6	23,3	41,7	75,9	27,3	60,2	60,1	45,8	35,6
1250	99,9	113,7	98,4	93,0	203,7	106,4	53,8	254,0	195,7	130,8	142,6
% Recuperación											
0	10,7	9,8	9,9	5,4	11,8	17,2	5,3	12,3	8,7	13,9	10,0
750	24,9	25,2	37,3	11,7	20,9	38,0	13,7	30,1	30,1	22,9	17,8
1250	50,0	56,9	49,2	46,5	101,8	53,2	26,9	127,0	97,8	65,4	71,3

Tabla 15 Datos para construcción de gráfico para estudio de fase sintetizada en el laboratorio.

Fase comercial Sylgard® 184 silicone											
	mono-Cl	di-Cl	di-Cl	tri-Cl	tetra-Cl	tetra-cl	tetra-Cl	penta-Cl	hepta-Cl	nona-Cl	deca-Cl
Razón (Área/EI)											
SA	0,230	1,135	0,175	0,572	0,797	0,486	0,072	0,539	0,923	0,865	0,755
750	0,184	1,200	0,164	0,410	1,704	0,875	0,754	0,978	0,220	0,473	0,347
1250	0,237	0,882	0,299	0,563	0,701	0,616	0,534	0,603	1,033	1,123	0,968
Concentración											
SA	70,5	77,4	4,7	71,8	18,0	19,5	5,7	26,9	43,7	56,5	70,7
750	86,3	71,7	89,9	51,0	67,5	108,6	70,9	76,4	98,5	178,3	19,0
1250	72,7	43,4	53,7	51,2	98,4	60,4	36,3	186,3	132,2	103,7	97,8
% Recuperación											
SA	35,2	38,7	2,3	35,9	9,0	9,7	2,9	13,5	21,9	28,3	35,4
750	43,1	35,8	44,9	25,5	33,8	54,3	35,4	38,2	49,2	89,1	9,5
1250	36,3	21,7	26,8	25,6	49,2	30,2	18,1	93,1	66,1	51,8	48,9

Tabla 16 Datos para la construcción de gráfico para estudio de fase comercial Sylgard® 184 silicone.

Fase Laboratory Tubing Silastic®											
	mono-Cl	di-Cl	di-Cl	tri-Cl	tetra-Cl	tetra-cl	tetra-Cl	penta-Cl	hepta-Cl	nona-Cl	deca-Cl
	Razón (Área/EI)										
SA	0,106	0,610	0,107	0,211	1,426	0,697	0,064	0,752	1,033	0,791	0,829
750	0,152	0,662	0,121	0,213	1,486	0,767	0,498	0,836	0,829	0,820	0,483
1250	0,435	2,291	0,475	0,997	1,505	0,704	0,740	0,673	1,188	1,161	1,116
	Concentración										
SA	44,5	39,2	47,1	25,1	51,3	39,5	6,1	43,4	47,7	42,7	61,5
750	61,9	40,2	55,4	19,2	45,2	39,0	46,8	50,2	38,1	53,9	45,0
1250	133,2	120,5	58,4	171,6	185,4	99,9	50,3	199,6	158,4	108,3	116,5
	% Recuperación										
SA	22,3	19,6	23,5	12,6	25,7	19,8	3,0	21,7	23,9	21,4	30,8
750	30,9	20,1	27,7	9,6	22,6	19,5	23,4	25,1	19,0	27,0	22,5
1250	66,6	60,2	29,2	85,8	92,7	50,0	25,2	99,8	79,2	54,2	58,3

Tabla 17 Datos para la construcción de gráfico para estudio de fase Laboratory Tubing Silastic®.