



Universidad de Chile
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Inorgánica y Analítica
Laboratorio de Química Ambiental

Evaluación de la persistencia y movilidad de Bifenilos Policlorados (PCBs) en sistemas suelo-biosólido

MEMORIA PARA OPTAR AL TITULO DE QUIMICO

CLAUDIO ANDRES LEIVA MIRANDA

Profesor Patrocinante:
MSc. Inés Ahumada T

Directores de Tesis:
MSc. Inés Ahumada T.
Dr. Pablo Richter D.

Santiago – Chile
2008

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, quisiera agradecer al financiamiento otorgado por los proyectos FONDECYT 1050288 y 1070616, sin los cuales este trabajo no podría haberse realizado.

Quisiera agradecer, de todo corazón, a mis padres Rosa Miranda y Leopoldo Leiva, por todo el esfuerzo hecho durante estos años, y por todo el apoyo entregado durante el desarrollo de mi carrera, en especial a mi madre por su gran preocupación, animándome más de alguna vez cuando llegaba triste. A mi hermana por su compañía, y por todo el ánimo que me entregaba para salir adelante.

A mis profesores: Sra. Inés Ahumada, por acogerme en su laboratorio, cuando llegue en búsqueda de una Unidad de Investigación, y me fui quedando hasta ahora, al finalizar mi tesis, al Sr. Pablo Richter por su apoyo, comprensión y confianza.

También quiero agradecer con mucho cariño a la persona que ha sido un apoyo incondicional en esta etapa de mi vida, que me ha acompañado en este largo caminar y a tenido que aguantar tantos buenos y malos ratos, mi mejor amiga, compañera y polola Adriana, gracias por tu incondicional compañía.

A mi hermano Leopoldo que desde la distancia me ha entregado su incondicional apoyo, a Sanja y a Hallgrimur, por alegrarme cada fin de semana con sus llamadas, videos y fotos.

A mis amigos, Alejandro C, Carlos M, Cristian D, Cristian G, Daniela A, Daniela M, Flavio S, Pablo S, Tatiana M, Viviana V, Ximena C, con quienes he celebrado buenos momentos y sobre todo me han sido una excelente compañía en los peores momentos tanto personales como académicos.

A mis amigos de Laboratorio: Adolfo M, Ady G, Carlos C, Evelyn C, Gabriela R, Jorge R, Loreto A, Mauricio R, quienes me han apoyado en todo momento, desde que llegue al laboratorio, hasta los últimos momentos, apoyándome tanto en lo que es trabajo como en dudas académicas, y ahora ultimo por todos sus consejos. Y a todos los que han hecho posible este, mi gran logro, muchas gracias.

RESUMEN

La aplicación de biosólidos a suelos con el fin de disposición, complementar o sustituir a los fertilizantes sintéticos, puede incorporar a éstos, especies inorgánicas y orgánicas capaces de causar un posible efecto adverso en el medio ambiente. El riesgo ambiental de los compuestos orgánicos contenidos en los biosólidos, tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), bifenilos policlorados (PCBs), dioxinas y furanos (PCDD/F), compuestos orgánicos volátiles (VOCs) y surfactantes, depende de factores tales como su concentración, persistencia, labilidad, biotoxicidad y habilidad para ser incorporados en la cadena trófica. Dentro de dichos compuestos, son de gran interés los PCBs, cuyo uso está prohibido en nuestro país y se encuentran dentro de la lista de los doce compuestos más peligrosos para los seres vivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la movilidad de los contaminantes orgánicos del tipo PCBs, en suelos enmendados con biosólidos mediante el proceso de incubación y el uso de columnas de lixiviación. Se utilizaron suelos provenientes de la Región Metropolitana, y un biosólido de una de sus plantas de tratamientos de aguas servidas, el cual previo a su uso como enmienda, fue enriquecido con $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PCBs totales (Aroclor 1242, Aroclor 1254, Aroclor 1260 cada uno en $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), para cuantificar de mejor manera la eventual movilidad. Las muestras de suelos se enmendaron con el biosólido en una relación de $30 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$. El proceso de incubación se llevó a cabo durante periodos de 0, 30 y 60 días, en condiciones de temperatura constante y capacidad de campo. Para el estudio de lixiviación en columnas, se utilizaron las muestras de suelo con mayor y menor cantidad de materia orgánica. Estas columnas de lixiviación fueron fabricadas en acrílico, de 12 cm. de alto por 2 cm D.I. seccionada en 6 partes iguales de 2 cm. cada una. En la parte superior se dispuso lodo enriquecido con $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de estos compuestos. En cada una de siguientes cuatro secciones se colocaron 12 g de suelo y la inferior fue llenada con arena de cuarzo. Se utilizaron dos sistemas para realizar la lixiviación: CaCl_2 0,5 M y una solución del sulfonato de alquilbeceno lineal (LAS) $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, considerando que los biosólidos contienen altas concentraciones de estos detergentes. Para la extracción de los analitos se

utilizó la técnica de extracción con solventes presurizados (PSE) en continuo y asistido con ultrasonido, a una presión de trabajo de 1900 ± 100 psi, a flujo constante de $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, y a temperatura de 50 ± 5 °C. El extracto obtenido fue secado en una columna de vidrio con 10 cm de Na_2SO_4 . El volumen de extracto después del secado fue reducido a 1 mL en un concentrador Kuderna-Danish, luego se realizó un “clean up”, en una columna de vidrio que contenía 3 g de sílica gel y 2 cm de Na_2SO_4 , eluyendo los analitos finalmente con 80 mL de n-hexano, para su posterior concentración a 1 mL bajo flujo de nitrógeno. Se usó como estándar interno una mezcla de fenantreno-criseno deuterados y los compuestos fueron determinados a través de cromatografía de gases acoplada a un detector de masa, para esto, se utilizó un equipo GC-MS MAT-95XP con una columna HP-5 de 30 m x 0,32 mm D.I. x 0,25 μm de fase interna. Para el análisis de los cromatogramas se utilizó el software XCALIBUR.

Los resultados mostraron la presencia de PCBs en biosólidos previo al enriquecimiento, en concentraciones máximas de $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. La liberación de PCBs correlacionó con el tiempo de incubación, mostrando una mayor disponibilidad de estos al ir aumentando el tiempo de incubación. El estudio de lixiviación en columnas, mostró que el CaCl_2 no fue capaz de movilizar los PCBs desde el biosólido al suelo, en la escala de tiempo implícita en el experimento (30 días), en cambio el surfactante LAS movilizó estos compuestos, obteniéndose concentraciones de $1,57 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $0,55 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ para la segunda sección y de $0,83 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $0,35 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en la tercera sección de la columna para los suelos LP (La Paloma) y EM (El Maitén) respectivamente, y concentraciones de $0,20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y $0,10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en la cuarta y quinta sección de la columna con el suelo LP. Los congéneres que fueron detectadas en las secciones más profundas de la columna LP (cuarta y quinta sección) correspondieron a los congéneres de mayor peso molecular (HCBp y HeCBp). Los resultados demuestran que la presencia de LAS encontrado en el biosólido estudiado en concentraciones de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, podrían movilizar PCBs al suelo.

Persistence and mobility of polychlorinated biphenyls (PCBs) in soil-biosolid systems.

Summary

The application of biosolids to soils with the purpose of complementing or replace synthetic fertilizers or simply as a biosolid disposal, can incorporate to these substrates inorganic and organic species capable of causing a possible adverse effect on the environment. The environment risk of the organic compounds contained in the biosolids as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzodioxin and dibenzofurans (PCDD/Fs), volatile organic compounds (VOCs) and surfactants, depends on the factors such as their concentration, persistence, lability, biotoxicity and ability to be incorporated in the food chain. Within these components, PCBs are of increasing interest, their use is banned in our country (Chile) and they are found in the list of the twelve most dangerous families of compounds to the human being.

The aim of this research was to evaluate the PCBs mobility in soils amended with biosolids by means of the process of incubation and the use of leaching columns. Soils from the Metropolitan Region and one biosolid from a wastewater treatment plant in this region have been used. Before the use of the biosolid as amend, it was spiked with 300 mg·kg⁻¹ of PCBs (Aroclor 1242, Aroclor 1254, Aroclor 1260 each with the amount of 100 mg·kg⁻¹) in order to quantify clearly the eventual mobility of these compounds. Soil samples were amended with the biosolid in a rate of 30 Mg·ha⁻¹. The incubation process was carried out during a period of 0, 30 and 60 days at constant temperature and field capacity. For leaching columns study, soil samples with different amounts of organic matter were used. These leaching columns were made of acrylic in 2 cm ID and 12 cm length sectioned in 6 equal parts of 2 cm each. Spiked biosolid was located in the upper part of the columns. In each of the following four sections, 12 g of soil was added and the bottom part was filled up with quartz. Two aqueous solutions were used to perform the leaching

test: 0,5 M CaCl_2 and $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ linear alkylbenzene sulfonate (LAS), taking into account that the biosolids contain high concentration of these surfactants.

Pressurized solvent extraction (PSE) was used for extraction of PCBs from the samples. This technique was assisted by ultrasound. Extractions were carried out by using a pressure of 1900 ± 100 psi, with a constant flow of $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ and with temperature of 50 ± 5 °C. The obtained extract was dried in a glass column with 10 cm of Na_2SO_4 . The volume of the extract after being dried was reduced to 1 mL in a Kuderna-Danish concentrator. The “clean-up” was performed in a glass column which contained 3 g of silica gel and 2 cm of Na_2SO_4 . Finally the analytes were eluted with 80 mL of n-hexane and concentrated to 1 mL under nitrogen flow. A mix of phenanthrene-chrysene was used as internal standard and the compounds were determined by gas chromatography coupled to a mass detector. For this the equipment GC-MS MAT-95XP was used with a column HP-5 of 30 m x 0.32 mm D.I. x $0.25 \mu\text{m}$ as an internal phase. For the analysis of the chromatograms the software XCALIBUR was used.

The results show the existence of native PCBs in the biosolids with concentrations of $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ maximum. The release of the PCBs correlated with the incubation time, showing an increase with this variable. The leaching columns study showed that the CaCl_2 was not able to mobilize the PCBs from the biosolid to the soil column, instead the surfactant solution (LAS) mobilized these compounds, obtaining concentrations of $1.57 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $0.55 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ in the second section and values of $0.83 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and $0.33 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, in the third column section for the soils LP (La Paloma) and EM (El Maitén) respectively and concentrations of 0.20 and 0.10 in the fourth and fifth sections section of LP soils. The concentration that was detected in the lowest sections of the column (fourth and fifth sections) corresponded to the congeners of higher molecular weight (HCBp and HeCBp). The results demonstrate that the presence of the LAS found in the biosolid studied in concentrations of $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ could mobilize PCBs to the soil.

Índice

I	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Biosólidos.....	2
1.2	Bifenilos Policlorados.....	4
1.2.1	Propiedades.....	7
1.2.2	Usos de PCBs.....	7
1.2.3	Fuentes de PCBs.....	8
1.2.4	Efectos sobre la salud.....	8
1.2.5	Situación en Chile.....	10
2	Técnicas de extracción de PCBs.....	11
2.1	Extracción Soxhlet.....	11
2.2	Extracción asistida con microondas.....	12
2.3	Extracción con solventes supercríticos.....	12
2.4	Extracción con solvente presurizado.....	13
3	Cromatografía de Gases (GC).....	14
4	Espectrometría de Masas.....	14
5	Acoplamiento GC-MS.....	15
6	Estándar Interno.....	16
II	OBJETIVOS.....	17
2.1	Objetivo General.....	17
2.2	Objetivos Específicos.....	17
III	MATERIALES Y MÉTODOS:.....	18
3.1	Reactivos.....	18
3.2	Equipos.....	18
3.3	Materiales.....	19
3.3	Muestras.....	20
3.3.1	Muestras de Suelo.....	20
3.3.2	Caracterización de los suelos.....	21
3.3.2.1	Determinación de pH.....	21
3.3.2.2	Determinación de Materia Orgánica.....	21
3.3.3	Muestras de biosólido.....	21

3.3.4	Incubación	21
3.3.5	Estudio de movilidad de PCBs.....	21
3.3.6	Preparación de muestras:.....	24
3.3.7	Proceso de extracción:	24
3.3.8	Secado de muestra:.....	26
3.3.9	Concentración de la muestra	26
3.3.10	Limpieza del extracto (clean-up)	28
3.3.11	Determinación cromatográfica	29
3.3.12	Preparación de estándares	30
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1	Caracterización de suelos.....	31
4.2	Estudio de incubación	33
4.2.1	Determinación de PCBs en biosólidos.....	33
4.2.2	Determinación de PCBs en biosólidos enriquecidos.....	34
4.2.3	Determinación de PCBs en suelos enmendados con biosólidos.	35
4.2.3.1	PCBs Totales.	35
4.2.3.1	Congéneres de PCBs.....	37
4.3	Estudio de movilidad de PCBs mediante columnas de lixiviación.....	39
4.3.1	Lixiviación con CaCl ₂ 0,5 M.	39
4.3.2	Lixiviación con LAS.....	40
V	CONCLUSIONES	42
VI	REFERENCIAS.....	44
VII	ANEXOS	48

Índice de tablas.

Tabla 1: Ejemplos de congéneres, homólogo y algunos isómeros de la molécula de Diclorobifenilo.....	5
Tabla 2: Nombre, fórmula molecular, N° de isómeros, N° IUPAC, masa molecular y % de cloro de las congéneres de PCBs.....	6
Tabla 3: Composición porcentual de 9 homólogos de PCBs en las mezclas técnicas de Aroclor (en %)......	6
Tabla 4: Datos de toxicidad agudas para diferentes especies y rutas.....	9
Tabla 5: Cantidad de PCBs en litros por región en nuestro país.....	10
Tabla 6: Características generales de las principales metodologías de extracción para muestras sólidas.....	14
Tabla 7: Clasificación de los suelos.....	20
Tabla 8: Condiciones experimentales para la extracción de PCBs desde muestras de suelos y biosólidos.....	25
Tabla 9: Iones de cuantificación y confirmación para los distintos congéneres de PCBs y para el estándar interno.....	29
Tabla 10: Valores de MO y pH para los distintos suelos.....	31
Tabla 11: Determinación de PCBs totales en la muestra de biosólido El Trebal 2007.....	33
Tabla 12: Determinación de homólogos de PCBs totales en la muestra de biosólido El Trebal 2007	33
Tabla 13: Determinación de PCBs totales en el biosólido enriquecido.....	34
Tabla 14: Determinación de homólogos de PCBs en el biosólido enriquecido.....	34
Tabla 15: Concentraciones totales de PCBs en los suelos a los distintos tiempos de incubación.....	35
Tabla 16: Concentraciones totales y de los distintos congéneres de PCBs en las distintas secciones de la columna del suelo EM.....	40
Tabla 17: Concentraciones totales y de los distintos congéneres de PCBs en las distintas secciones de la columna del suelo LP.....	41

Índice de figuras.

Figura 1: Reacción catalítica para la obtención de PCBs a partir de bifenilos.	4
Figura 2: Estructura básica de los PCBs	5
Figura 3: a) Diagrama y b) imagen de la columna lixiviación.	23
Figura 4: Diagrama equipo extracción.....	25
Figura 5: Diagrama columna de secado.....	27
Figura 6: Equipo concentrador Kuderna-Danish	27
Figura 7: Proceso de limpieza de los extractos o “clean up”	28
Figura 8: Formula para el cálculos de los distintos límites.	50
Figura 9: Cromatogramas correspondientes al estándar de $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, y a los correspondientes homólogos de PCBs.	32
Figura 10: Extractabilidad de PCBs en lo suelos estudiados expresadas en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	36
Figura 11: Extractabilidad de PCBs en el suelo EM.	37
Figura 12: Extractabilidad de PCBs en el suelo CB.	38
Figura 13: Extractabilidad de PCBs en el suelo M.	38
Figura 14: Extractabilidad de PCBs en el suelo LP.	39

Abreviaciones

CB	: Suelo Cuyuncaví Bajo.
CBp	: Monoclorobifenilo.
CaCl ₂	: Cloruro de calcio.
D.I.	: Diámetro Interno.
DCBp	: Diclorobifenilo.
DeCBp	: Decaclorobifenilo.
Fr	: Francia.
EM	: Suelo El Maitén.
EPA	: Agencia de Protección Medioambiental
GC	: Cromatografía de gases.
Ger	: Alemania.
HCBp	: Hexaclorobifenilo.
He	: Helio.
HeCBp	: Heptaclorobifenilo.
IUPAC	: Unión Internacional de la Química Pura y Aplicada.
Jap	: Japón.
LAS	: Sulfonato de alquilbenceno lineal.
LD	: Límite de detección.
LC	: Límite de cuantificación.
LP	: Suelo La Paloma.
M	: Suelo Miraflores.
MAE	: Extracción Asistida con Microondas.
mL	: mililitros.
MS	: Espectrómetro de masas.
MO	: Materia Orgánica.
NCBp	: Nonaclorobifenilo.
nm	: Nanómetro.
OCBp	: Octaclorobifenilo
PAHs	: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.
PCBs	: Bifenilos policlorados.

PCDD/F	: Policlorodibenzodioxina / Policlorodibenzofurano.
PeCBP	: Pentaclorobifenilo.
PLE	: Extracción con Líquidos Presurizados.
SFE	: Extracción con fluidos supercríticos.
SIR	: Registro Selectivo de Iones.
TCBp	: Triclorobifenilo
TeCBp	: Tetraclorobifenilo.
TIC	: Corriente iónica total.
Tr	: Tiempo de retención.
U.K.	: Inglaterra (United Kingdom)
U.S.A.	: Estados Unidos de América.
VOCs	: Compuestos Orgánicos Volátiles.

I INTRODUCCIÓN

La construcción de plantas de tratamientos de aguas servidas en Chile proyecta una cobertura del 98% al año 2010. Esto conlleva el mejoramiento de la calidad de las aguas de muchos recursos fluviales con el consiguiente beneficio sanitario y agrícola, pero tras esto surge una nueva problemática ambiental, la generación de biosólidos.

La mayor producción de biosólidos se concentra en la Región Metropolitana debido al funcionamiento de las plantas de tratamientos de aguas servidas el Trebal y la Farfana, llegando a una cobertura de tratamiento de aguas del 75% de la región, con una producción de biosólidos correspondiente al 65% del país. Actualmente, en Chile, los biosólidos son colocados en monorrellenos construidos especialmente para este fin, mientras se estudian las alternativas para su disposición final.

Los biosólidos pueden considerarse de dos maneras, como recurso para ser usado en agricultura o como residuo que debe ser dispuesto en monorrellenos. Su utilización en la agricultura pretende aprovechar su potencial fertilizante y sus características como mejorador de suelos, ya que se ha encontrado que mejora la estructura, drenaje, porosidad, retención de agua, contenido de nutrientes y ayuda a prevenir la erosión, a la vez que favorece, además el desarrollo de raíces, la nutrición de las plantas y su rendimiento (Epstein, 2003).

Los biosólidos contienen un alto porcentaje de materia orgánica y un importante contenido de nutrientes esenciales para las plantas, sin embargo también pueden contener contaminantes orgánicos, inorgánicos, y agentes patógenos.

Los componentes orgánicos se pueden clasificar en no tóxicos y tóxicos. Los no tóxicos son los más abundantes y comprenden materiales de origen vegetal y animal, cuya concentración depende del tipo de tratamiento (Zitomer and Speece, 1993). Los compuestos orgánicos tóxicos que pueden estar presentes en los biosólidos son diversos, entre ellos se encuentran hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), bifenilos policlorados (PCBs), dioxinas y furanos (PCDD/F), compuestos orgánicos volátiles (VOCs), compuestos alifáticos halogenados

fenoles y surfactantes. Estos contaminantes pueden provenir de residuos tanto domésticos como industriales.

En Chile, la utilización de biosólidos en suelos de uso agrícola, es la opción más factible para solucionar el problema de la disposición de éstos en vertederos. Sin embargo, al aplicar biosólido al suelo, los contaminantes orgánicos pueden ser liberados a la atmósfera, retenidos en el suelo, degradados química o biológicamente, absorbidos por las plantas, bioacumulados en los organismos o lixiviados mediante la fase líquida del suelo. Al degradarse estos contaminantes pueden generar compuestos intermediarios que pueden presentar una mayor o menor toxicidad que el compuesto original. Por lo tanto el riesgo ambiental de los compuestos orgánicos que ingresan al suelo por la aplicación de los biosólidos dependería de los siguientes factores: concentración, persistencia, labilidad, capacidad de incorporarse en la cadena trófica y de su biotoxicidad.

1.1 Biosólidos

Los biosólidos son el producto resultante de la sedimentación de sólidos suspendidos durante el tratamiento de aguas residuales en las plantas de tratamiento de aguas.

Generalmente los biosólidos se constituyen de compuestos orgánicos, macronutrientes, un amplio rango de macro y micronutrientes, metales traza, contaminantes orgánicos y microorganismos.

Sin embargo los biosólidos también pueden contener muchos compuestos orgánicos tóxicos además de materia orgánica, tales como detergentes, pesticidas, PAHs, PCBs, VOCs entre otros.

Dado que los contaminantes orgánicos tienden a adsorberse en los sólidos suspendidos, los biosólidos normalmente contienen concentraciones significativas de variadas clases de contaminantes orgánicos, en los cuales su concentración varía desde los $\text{pg}\cdot\text{kg}^{-1}$ hasta los $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, dependiendo del tipo de agua residual que reciban las plantas de tratamiento (domésticos, municipales, industriales, etc.)

Los contaminantes orgánicos de las aguas residuales pueden ser originados desde varias fuentes tales como deposición seca y húmeda desde la atmósfera,

aguas residuales domésticas, efluentes industriales entre otros. Incluso concentraciones muy bajas de algunas sustancias químicas tales como PCDD/F, PCBs o PAHs pueden representar un grave riesgo tanto para la salud como para el medio ambiente. La aplicación de los biosólidos en suelos agrícolas implica la exposición microbiana del suelo, plantas y animales, incluidos los humanos, a los contaminantes orgánicos existentes en el biosólido.

Los compuestos orgánicos tóxicos contenidos en el biosólido, cuando éste es aplicado al suelo, pueden sufrir diversas reacciones, las que pueden afectar su movilidad a través del suelo hacia otros medios como: sistemas acuáticos, plantas, atmósfera entre otros. Las principales transformaciones, reacciones y efectos son:

- ✚ Volatilización y erosión por viento
- ✚ Fotodescomposición y degradación química
- ✚ Intercepción foliar y adsorción
- ✚ Absorción por las plantas y remoción de cultivos
- ✚ Erosión por las aguas superficiales
- ✚ Adsorción y desorción de los suelos
- ✚ Lixiviación hacia las napas subterráneas
- ✚ Degradación biológica
- ✚ Descomposición química.

El principal impacto en humanos y animales sería el transporte de estos compuestos a través de la cadena trófica y la ingesta de agua. Las vías de transferencia de contaminantes orgánicos hacia los humanos que involucra el sistema biosólido-suelo sería la movilización de estos tóxicos hacia suelos, nivel freático, raíces y de estos medios, a los alimentos y agua potable.

Debido a la toxicidad de estos compuestos se hace necesaria la determinación de éstos contaminantes orgánicos en los biosólidos convirtiéndose en un tema importante debido a que cada año, se generan mayores cantidades de biosólidos en las plantas de tratamiento de aguas.

Las principales rutas de disposición de los biosólidos son la incineración, los rellenos sanitarios o el uso en suelos agrícolas como remediador de los suelos o fertilizantes.

La aplicación de biosólidos a los suelos de uso agrícola se encuentran normadas bajo la concentración de metales pesados en el suelo, pero hoy en día no existe una normativa similar para los contaminantes orgánicos en biosólidos y suelos. (Eljarrat, E. et al, 1997; Singh, R.P., 2008; Quan-Ying Cai, et al, 2007; Harrison, E. et al, 2006)

1.2 Bifenilos Policlorados

Los bifenilos policlorados (PCBs) son compuestos orgánicos sintéticos, producidos en grandes cantidades entre los años 1929 y 1976, su síntesis se realiza mediante la cloración catalítica de bifenilos obteniendo como producto una mezcla compleja de isómeros con distinto porcentaje de átomos de cloro en la molécula (Figura 1), de este modo se producen hasta 209 compuestos llamados congéneres.

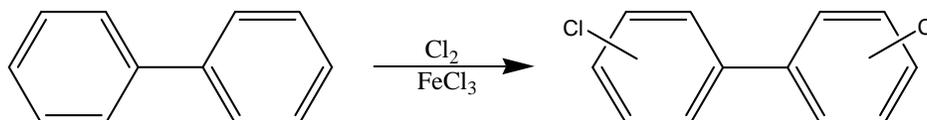


Figura 1: Reacción catalítica para la obtención de PCBs a partir de bifenilos.

Los congéneres se clasifican, según la IUPAC, en homólogos de acuerdo a la cantidad de átomos de cloro que presenta la molécula y estos se pueden subdividir en isómeros indicando la posición del átomo de cloro (Tabla 1).

También existen las mezclas comerciales como por ejemplo el Aroclor.

Tabla 1: Ejemplos de congéneres, homólogo y algunos isómeros de la molécula de Diclorobifenilo.

Congéneres	Homólogo	Isómeros
$C_{12}H_8Cl_2$	Diclorobifenilo	2,2'-Diclorobifenilo
		2,6-Diclorobifenilo
		2,5'-Diclorobifenilo

La fórmula molecular de los PCBs es $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, siendo “n” el número de átomos de cloro de cada congener, pudiendo ser éste un número entre 1 y 10, en la Tabla 2 las fórmulas y masas moleculares de los respectivos congéneres de PCBs, además de la cantidad de isómeros y su respectivo porcentaje de cloro. Su estructura básica se muestra en la Figura 2. Tienen una masa molecular relativa entre 189 y 499 $g \cdot mol^{-1}$.

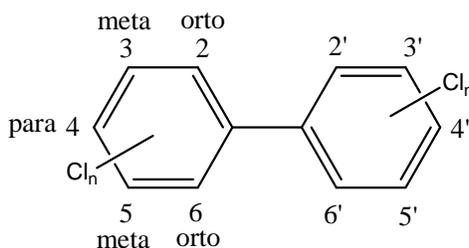


Figura 2: Estructura básica de los PCBs

Comercialmente, 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.

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

	Formula Molecular	N° Isómeros	Número IUPAC	Masa Molecular	% Cloro
Monoclorobifenilo (CBp)	C ₁₂ H ₉ Cl	3	1-3	188,7	18.79
Diclorobifenilo (DCBp)	C ₁₂ H ₈ Cl ₂	12	4-15	233,1	31.77
Triclorobifenilo (TCBp)	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	24	16-39	257,5	41.30
Tetraclorobifenilo (TECBp)	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	42	40-81	292,0	48.65
Pentaclorobifenilo (PeCBp)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	46	82-127	326,4	54.30
Hexaclorobifenilo (HCBp)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	42	128-169	360,9	58.93
Heptaclorobifenilo (HeCBp)	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	24	170-193	395,3	62.77
Octaclorobifenilo (OCBp)	C ₁₂ H ₂ Cl ₈	12	194-205	429,8	65.98
Nonaclorobifenilo (NCBp)	C ₁₂ HCl ₉	3	206-208	464,2	68.73
Decaclorobifenilo (DeCBp)	C ₁₂ Cl ₁₂	1	209	498,7	71.10

Una de las mezclas comerciales más usadas es el Aroclor, esta es una mezcla técnica de PCBs con diferentes niveles de cloración, que fue producida en USA por “Monsanto Chemicals”, entre los años 1930 y 1977, el cual se encuentra identificado mediante un número de cuatro dígitos, los dos primeros indican el número de átomos de carbonos de la molécula de bifenilo, mientras que los dos últimos dígitos indican el porcentaje (en masa) de cloro en la mezcla. En la Tabla 3 se puede observar la composición en masa de los distintos congéneres de PCBs de 3 mezclas de Aroclor. (S. U. Ahmad et al, 2003; Borja, et al., 2005, Field, A. et al 2007).

Tabla 3: Composición porcentual de 9 homólogos de PCBs en las mezclas técnicas de Aroclor (en %)

Aroclor	CBp	DCBp	TCBp	TeCBp	PeCBp	HCBp	HeCBp	OCBp	NCBp
1242	0,3	14,7	42,1	33,9	8,1	0,8	0,1	-	-
1254	-	0,5	0,7	18,3	55,6	22,0	2,5	0,4	-
1260	-	0,1	0,3	0,9	9,9	43,5	36,1	8,3	0,9

Fuente (Breivik, K. et al. 2002)

1.2.1 Propiedades

Las propiedades de los PCBs dependen del grado de cloración que estos presenten, así las moléculas levemente cloradas tales como CBp, DCBp, TCBp y TeCBp tienden a ser líquidos oleosos e incoloros, los PeCBp son pesados y de aspecto viscoso muy similar a la miel, mientras que los altamente clorados (desde HCBp hasta DeCBp) son sustancias con aspecto de grasa o cera. Son pobremente soluble en agua (solubilidad CBp $5,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y la solubilidad de DeCBp $0,015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) pero extremadamente soluble en grasas, aceites, hidrocarburos y otros compuestos orgánicos, debido a este carácter lipofílico son capaces de bioacumularse en las células introduciéndose de esta manera en la cadena alimenticia (Mandalakis, M. et al, 2008; Borja, J. et al, 2005).

1.2.2 Usos de PCBs

Debido a su alta estabilidad química, baja volatilidad, alta constante dieléctrica y alta resistencia a la descomposición térmica, durante mucho tiempo, los PCBs, fueron usados en un amplio rango de aplicaciones industriales como: aceites en transformadores, sistemas de transferencia de calor hidráulicos, capacitores y transformadores eléctricos. También fueron ampliamente usados en lubricantes para bombas y turbinas, en la formulación de aceite de corte para el tratamiento de metales, además en aplicaciones como plastificantes, recubrimientos, aislantes y adhesivos, pesticidas, tintas, colorantes y ceras por nombrar algunos (Borja et al., 2005; Mandalakis et al, 2008).

En otro ámbito, las aplicaciones de los PCBs se pueden clasificar como aplicaciones cerradas o abiertas: las aplicaciones cerradas son aquellas que tratan de evitar la pérdida de los PCBs mediante una unidad sellada, como por ejemplo en los fluidos dieléctricos, capacitores o en motores eléctricos, en este tipo de aplicaciones la contaminación hacia el medio ambiente se produce mediante fugas existentes en el equipo; en cambio en las aplicaciones abiertas, como por ejemplo en pinturas, retardantes de llama, adhesivos, etc. los PCBs quedan en contacto directo con el medio ambiente haciendo inevitable la pérdida de estos. (Inventario nacional de PCBs, Chile)

1.2.3 Fuentes de PCBs

Aunque no se conocen fuentes naturales de PCBs, estos contaminantes se pueden encontrar en diversas matrices medioambientales como por ejemplo en suelos, agua, aire y sedimentos de ríos, lagos y mares. Estos compuestos llegan al ambiente durante su producción, uso o eliminación de estos, desde derrames o fugas accidentales durante su transporte, y desde fugas o incendios de productos que contienen PCBs. Por último, los PCBs pueden viajar largas distancias, es por esta razón que se pueden encontrar en áreas alejadas al lugar de liberación.

1.2.4 Efectos sobre la salud

La exposición de los seres humanos a estos compuestos se puede producir mediante diversas causas como el consumo de alimentos contaminados con PCBs, inhalación y absorción cutánea de estos compuestos en lugares de trabajo. Los PCBs se bioacumulan en el tejido adiposo tanto de seres humanos como animales, causando efectos tóxicos, particularmente en el caso de exposiciones repetidas. Su patología se manifiesta principalmente en el hígado y en la piel, aunque sus efectos también pueden alcanzar el tracto gastrointestinal, el sistema inmunológico y el sistema nervioso. La evaluación de la toxicidad de los PCBs ha sido difícil debido que en su mayoría se encuentran en mezclas las que contienen una gran cantidad de impurezas en ellos, esta es la razón por la cual se distinguen los efectos entre una exposición directa, la que corresponde a los trabajadores que manipulan este tipo de compuesto, y la exposición indirecta, la que está relacionada con la población en general.

Históricamente se han registrado dos grandes casos de intoxicación por PCBs uno en Japón y el otro en Taiwán, donde los principales efectos producidos por esta exposición, en ambos casos, fueron: hipersecreción de las glándulas meibomianas (lacrimales), inflamación de los párpados y pigmentación de las uñas y mucosas, acompañado de cansancio, náuseas, y vómitos. Además se observaron edemas en brazos y piernas, aumento del tamaño del hígado y trastornos hepáticos, alteraciones en el sistema nervioso central, problemas respiratorios y cambios en el sistema inmunológico.

Laboralmente tras una hora de exposición a estos compuestos se produjo erupción cutánea. A altas concentraciones se observaron efectos tales como prurito, escozor, irritación conjuntiva, pigmentación en dedos y uñas y cloracné.

Toxicidad aguda a corto tiempo:

Los siguientes efectos pueden ocurrir después de una exposición de corto tiempo:

- ✚ Irritación de ojos, nariz y garganta
- ✚ A altas concentraciones puede producir daño al hígado.

A continuación, en la Tabla 4, se presentan algunos datos de toxicidad aguda de distintos tipos de Aroclor en distintas especies y rutas.

Tabla 4: Datos de toxicidad aguda para diferentes especies y rutas.

LD50	
Aroclor 1242	(oral) Rata 4250 mg·kg ⁻¹
Aroclor 1254	(oral) Rata 1010 mg·kg ⁻¹ (intraperitoneal) Ratón 880 mg·kg ⁻¹
Aroclor 1260	(oral) Rata 1315 mg·kg ⁻¹

Efectos crónicos

Estos efectos son lo que ocurren algún tiempo después de la exposición prolongada a los PCBs. Entre ellos se encuentran:

- a) Peligros de cáncer
 - ✚ Causan cáncer a la piel, y ha sido demostrado su potencial de causar cáncer al hígado en animales.
 - ✚ Pueden causar daño en la reproducción humana.
- b) Peligros en la reproducción
 - ✚ Pueden ser teratogénicos (causan malformaciones congénitas) en humanos, ya que se ha comprobado su efecto teratogénico en animales.
 - ✚ Pueden pasar de madre a hijo mediante la lactancia.
 - ✚ Pueden afectar al sistema reproductivo en adultos.

c) Otros efectos a largo plazo

- ✚ La exposición repetida a los PCBs puede causar daño al hígado.
- ✚ Puede causar Cloracné, que puede persistir durante años.
- ✚ Altas exposiciones pueden dañar el sistema nervioso, causando parálisis, pérdida de fuerza, picazón y dolor en brazos y piernas.

(Manual de Chile sobre el manejo de bifenilos policlorados; Fishbein, 1974)

1.2.5 Situación en Chile

En nuestro país, durante 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. En la Tabla 5, que nos indica el volumen de PCBs almacenados y en uso de nuestro país, nos muestra que las regiones II, III, RM, VI y VIII, son las regiones que poseen la mayor cantidad de PCBs representando el 90% del total nacional.

Tabla 5: Cantidad de PCBs en litros por región en nuestro país al año 2004.

Región	Uso	Almacenado	Total
I	699	22	721
II	62.014	156.408	218.422
III	10.767	56.267	67.034
IV	7.745	681	8.426
V	12.132	250	12.382
VI	44.944	742	45.686
VII	173	173	346
VIII	80.645	20.378	101.023
IX	450	0	450
X	60	0	60
XI	0	0	0
XII	30.314	2.616	32.930
RM	77.235	5.005	82.240
Total	327.178	242.542	569.720

Fuente: CONAMA

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. Esta liberación involuntaria de los aceites con PCBs pueden contaminar los suelos, las napas y el agua de toda una zona, ya que la gran característica de estos compuestos es que se dispersan fácilmente, además como estos compuestos son capaces de viajar largas distancias estos se pueden encontrar en sitios alejados desde el lugar de liberación. La explosión o la posibilidad de incendio de los transformadores sería un gran riesgo para la salud y el medio ambiente, ya que los PCBs se pueden transformar en grandes cantidades de dioxinas y furanos.

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).

2 *Técnicas de extracción de PCBs*

Para la extracción de los PCBs, desde las matrices de suelos y biosólidos se pueden utilizar diversas técnicas de extracción como la extracción Soxhlet, extracción con ultrasonido, extracción asistida con microondas (MAE), extracción con fluidos súper críticos (SFE) y extracción con líquidos presurizados (PLE).

La selección de cada técnica depende principalmente de la eficiencia, porcentaje de recuperación, reproducibilidad, mínimo uso de solvente, simplicidad y facilidad de su utilización.

2.1 Extracción Soxhlet

La extracción Soxhlet fue usada durante mucho tiempo como el método tradicional de extracción exhaustiva de contaminantes orgánicos, como los PCBs, desde matrices medio ambientales, como suelos y sedimentos, además, es considerada como el método de comparación para las nuevas metodologías de extracción. Esta técnica requiere una gran cantidad de solvente (1000 – 500 mL) y un tiempo aproximado de 20 o más horas para la extracción, lo cual constituye un gran

inconveniente para el medio ambiente y la rapidez del trabajo en laboratorio, por tanto se ha buscado otros métodos para optimizar estos aspectos, como lo son:

- ✚ Extracción asistida con microondas (MAE),
- ✚ Extracción con fluidos súper críticos (SFE),
- ✚ Extracción con líquidos presurizados (PLE).

2.2 Extracción asistida con microondas

En la extracción asistida con microondas (MAE), se emplea la energía de las microondas para provocar movimiento molecular por migración de iones y rotación de dipolos. Esta rotación se refiere al alineamiento de las moléculas que presentan momento dipolar permanente o inducido tanto del solvente como de la muestra. Debido a esto las radiaciones de microondas causan un rápido calentamiento de la materia que facilita el proceso de extracción de los analitos. Como desventaja de este método, se tiene que el calentamiento provocado por las microondas puede causar la degradación de los analitos de interés (Lopez-Avila 2006).

2.3 Extracción con solventes supercríticos

En la extracción con fluidos súper críticos (SFE), el extractante se encuentra en estado súper crítico, esto significa que tanto la presión, como la temperatura del extractante, se encuentran por sobre su valor crítico. Los fluidos súper críticos se encuentran en un estado intermedio líquido-gas, su viscosidad es más baja que la de los líquidos y su coeficiente de difusión es más alto, lo que permite hacer una extracción más eficiente. Además la densidad puede ser ajustada por cambio en la presión y temperatura desarrollando así, extracciones más selectivas. (Hawthorne, 2000). Además esta técnica tiene la ventaja de obtener extractos limpios con reducido consumo de solvente y tiempo de extracción (entre 10 y 60 minutos), sin necesitar limpieza previa para su análisis. Además que algunos fluidos súper críticos son baratos, inertes y no tóxicos, por lo tanto se pueden eliminar fácilmente dejándolos que se evaporen a presión atmosférica (Skoog et al, 2001-2).

2.4 Extracción con solvente presurizado

En el último tiempo, se ha empezado a utilizar la extracción con solvente presurizado, técnica que ha tenido gran aceptación, ya que otorga una extracción cuantitativa con tiempos cortos de extracción y uso de poco solvente (Sporring et al., 2005). En este tipo de extracción la celda se mantiene a alta temperatura (entre 40 y 200 °C) y a presiones elevadas (1000 a 3000 psi), en estas condiciones el solvente se puede considerar como solvente en estado subcrítico, permitiendo extracciones mas eficientes, (Camel, 2001, Kiguchi 2006).

Factores que afectan PLE

a) Efectos de la temperatura:

El incremento de la temperatura puede romper las interacciones fuertes analito-matriz causadas por las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrogeno y atracciones dipolo de las moléculas de soluto con los sitios activos de la matriz. La energía térmica supera las interacciones cohesiva y adhesiva disminuyendo la energía de activación necesaria para el proceso de desorción.

Las altas temperaturas disminuyen la viscosidad y la tensión superficial del solvente, permitiendo una mejor penetración de las partículas de la matriz mejorando la extracción

La disminución de la tensión superficial del conjunto solvente, soluto, matriz, permite que el solvente moje de una mejor manera la matriz en la que se encuentra la muestra, facilitando la disolución mas rápida y eficaz de los analitos en el solvente seleccionado (Richter, 1996).

b) Efectos de la presión

Si se ejerce suficiente presión en el solvente durante el proceso de extracción, se pueden utilizar temperaturas sobre el punto de ebullición de éste.

La presión facilita la extracción de los analitos que están atrapados en los poros de la matriz. La presión, ejerce la fuerza necesaria para que el solvente entre en zonas de la matriz que normalmente no están en contacto con la presión

atmosférica, así el uso de elevada presión ayudará al solvente a colocarse en contacto con los analitos que se encuentran atrapados en los poros.

Para las muestras en que los analitos se encuentran en la superficie o en poros, el flujo presurizado ayuda a la solubilización de las burbujas de aire, haciendo que el solvente entre en contacto más rápidamente (Richter, 1996).

En la Tabla 6 se muestra un resumen de las principales características de las técnicas más usadas para la extracción de contaminantes orgánicos desde matrices medioambientales.

Tabla 6: Características generales de las principales metodologías de extracción para muestras sólidas.

	Soxhlet	SFE	MAE	PLE
Tiempo	3 – 48 Hrs.	10 – 60 min.	3 – 60 min.	5 – 30 min.
Masa muestra (g)	1 – 30	1 – 5	1 – 30	1 – 30
Volumen solvente (mL)	100 – 500	2 – 5	10 – 40	10 – 100

Fuente: Dean, 2000; Sparr Skilson, 2000

3 Cromatografía de Gases (GC).

En GC la muestra se inyectada en la fase móvil, la cual es un gas inerte (He), mediante esta fase, la muestra pasa a través de la fase estacionaria que está fijada en la columna, la que se encuentra dentro de un horno con control de temperatura. La velocidad con que migra cada componente, es función de la distribución de los analitos entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Cada analito presente en la muestra tiene una afinidad diferente hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación. Como consecuencia de esta diferencia de movilidad, los componentes se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de un detector apropiado.

4 Espectrometría de Masas

La espectrometría de masas es una de las herramientas analíticas más completas existentes capaz de suministrar información sobre la composición cualitativa y cuantitativa tanto de analitos orgánicos como inorgánicos de muestras complejas,

las estructuras de una variada gama de especies moleculares complejas, las relaciones isotópicas de los átomos de la muestra y la estructura y composición de superficies sólidas.

Sus principales características son:

- ✚ Capacidad de identificación de manera inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.
- ✚ Es cuantitativa: permite medir las concentraciones de los analitos de interés.
- ✚ Posee gran sensibilidad: se pueden detectar concentraciones del orden de los $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ o $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.
- ✚ Proporciona información estructural de la molécula analizada.
- ✚ Suministra información isotópica.

Dentro del espectrómetro de masas ocurre la ionización de la muestra mediante diferentes métodos, el más usado es el de impacto de electrones, el cual se bombardea la molécula con electrones de una cierta energía capaz de provocar la emisión de un electrón de las moléculas y así ionizarlas.

Además de los iones moleculares (M^+) se forman también iones fragmento por la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía. El tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característicos de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. La detección consecutiva de los iones de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce un espectro de masa que es diferente para cada compuesto.

5 Acoplamiento GC-MS

Mediante cromatografía gaseosa se logra separar los componentes de una mezcla compleja, pero una vez separados, detectados y cuantificados todos los componentes de la mezcla, se dispone sólo del tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos, datos que no son suficientes para la determinación inequívoca de los analitos, sobre todo cuando se analizan muestras con un elevado número de componentes.

Mediante espectrometría de masas se pueden identificar cualquier sustancia pura, pero no es capaz de identificar los componentes por separado de una mezcla sin separar previamente sus componentes.

Por lo tanto la asociación de las dos técnicas da origen a una técnica combinada GC-MS que permite la separación e identificación de mezclas complejas. Así una mezcla inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elusión de los componentes aislados de la mezcla que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas registrando así cada componente de la mezcla en forma de pico cromatográfico e identificándolo con su respectivo espectro de masas.

En este proceso el espectrómetro también actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica cuya representación grafica constituye el cromatograma o TIC (Total Ion Current), donde la corriente iónica generada por los iones da lugar a un pico gaussiano de área proporcional a la concentración del compuesto detectado.

En el caso de mezclas complejas, el correspondiente cromatograma presenta muchos picos, algunos de ellos muy próximos o solapados entre si, resultando difícil la identificación de los analitos de interés. Cuando se desea localizar la presencia de uno o varios compuestos determinados, de espectro de masas conocidos, con rapidez y una alta sensibilidad se recurre a la técnica SIR (Selected Ion Recording). Mediante esta modalidad de trabajo se detectan solo algunas masas de interés, en lugar de trabajar con el total de los iones, aumentado así la selectividad del método y reduciendo las interferencias.

6 *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, 2001-1)

II OBJETIVOS

2.1 *Objetivo General*

- ✚ Evaluar el efecto del tiempo de incubación en la persistencia (estabilidad) / extractabilidad de PCBs en biosólidos y en suelos enmendados con biosólidos.
- ✚ Evaluar la movilidad de PCBs en biosólidos y en sistemas suelos – biosólidos a través de columnas de lixiviación.

2.2 *Objetivos Específicos*

- ✚ Extraer con solvente presurizado el contenido de PCBs de los biosólidos y suelos enmendados con éstos.
- ✚ Determinar el contenido de PCBs en matrices de biosólidos y suelos enmendados con biosólidos mediante cromatografía gas-masa (GC-MS).
- ✚ Realizar ensayos de incubación de suelos enmendados con distintas dosis de biosólidos enriquecidos con PCBs para determinar su labilidad, degradación y/o persistencia.
- ✚ Diseño y posterior construcción de columnas de lixiviación.
- ✚ Análisis e interpretación de los resultados obtenidos de la investigación efectuada.

III MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 *Reactivos*

- ✚ Mezclas técnicas de PCBs
 - Aroclor 1242 Supelco.
 - Aroclor 1254 Supelco.
 - Aroclor 1260 Supelco.
- ✚ Metanol grado HPLC Merck
- ✚ Diclorometano grado HPLC Fisher Scientific
- ✚ Acetona Suprasolv Merck
- ✚ Sulfato de Sodio anhidro, grado P.A., Merck.
- ✚ Hexano, grado HPLC, Fisher Scientific
- ✚ Sílica Gel, grado 923, 100 – 200 mesh, Sigma-Aldrich
- ✚ Lana de vidrio Silanizada Chromatography Research Supplies Inc.
- ✚ Solución CaCl₂ 0,05 M
- ✚ Solución LAS 25 mg·L⁻¹
- ✚ Nitrógeno gas extra puro 99,995% AGA.

3.2 *Equipos*

- ✚ Incubador New Brunswick Scientific Classic Series C24 Incubator Shaker.
- ✚ Balanza Analítica 125 A (±0.0001g) Precisa.
- ✚ Bomba HPLC Perkin Elmer serie Ic 200
- ✚ Baño de agua con ultrasonido Transsonic Digital.
- ✚ Equipo concentrador Kuderna-Danish Supelco
- ✚ Baño termostático GFL
- ✚ Soporte múltiple de extracción en fase sólida Supelco.

3.3 **Materiales**

- ✚ Conexiones Supelco (férulas, tornillos, uniones, fritas)
- ✚ Celda de extracción: columna HPLC WATERS de acero inoxidable, sin relleno de 3,9 x 150 mm D.I.
- ✚ Refrigerante: tubo de 3 m, enrollado de acero inoxidable, SS-316, 1/16", 0.1 mm
- ✚ Válvula de acero inoxidable Swagelok
- ✚ Columna de vidrio para secado de muestras con llave de teflón
- ✚ Piedras para regular la ebullición 2 – 8 mm Merck
- ✚ Refrigerante recto.
- ✚ Tubos recolectores de 40 mL
- ✚ Viales color ámbar 4 mL
- ✚ Viales transparentes 1,5 mL
- ✚ Jeringas para cromatografía Hamilton de 10, 100 y 1000 μ L
- ✚ Columnas de lixiviación de acrílico de 2.5 cm de D.I. y 12 cm de alto seccionada en 6 partes iguales de 2 cm cada una

3.3 Muestras

3.3.1 Muestras de Suelo

Las muestras fueron obtenidas del nivel superficial (0 – 20 cm) de suelos agrícolas de la Región Metropolitana de orden Mollisol las que se identificaron como: La Paloma (L.P.), El Maitén (E.M.), Miraflores (M), Cuyuncaví Bajo (C.B.), en la Tabla 7 se muestra la ubicación, las coordenadas geográficas, serie, orden y textura de cada una de las muestras de suelo seleccionadas para los estudios.

Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, molidas y tamizadas a 2 mm, para finalmente ser almacenadas en frascos de polietileno para su posterior uso.

Tabla 7: Clasificación de los suelos

Suelo	Ubicación	Coordenadas	Serie	Orden	Textura
C.B.	Curacaví	33° 23' 158"	Pomaire	Mollisol	Franco
	Cuyuncaví Bajo RM	71° 07' 126"			Arenoso
E.M.	Lampa	33° 19' 902"	Lampa	Mollisol	Franco
	Camino Lipangue RM	70° 51' 873"			Arenoso
L.P.	Lampa	33° 19' 909"	Lampa	Mollisol	Arenoso
	Camino Lipangue RM	70° 52' 367"			
M	Curacaví	33° 24' 418"	Chorombo	Mollisol	Franco
	Miraflores RM	71° 04' 745"			Arcilloso Arenoso

Fuente: Maricán, A. 2006

3.3.2 Caracterización de los suelos

3.3.2.1 Determinación de pH

La determinación pH de los suelos se realizó potenciométricamente en el sobrenadante de una suspensión en una proporción 1:2,5 suelo-agua respectivamente, con un electrodo combinado de vidrio-calomelano saturado. La fase líquida considerada en este caso fue H₂O.

3.3.2.2 Determinación de Materia Orgánica.

La determinación de Materia Orgánica, se realizó mediante el método de Metson, el cual consiste en una combustión húmeda de la materia orgánica con una mezcla de dicromato de sodio y ácido sulfúrico. Después de la reacción se mide colorimétricamente el cromato reducido en un espectrofotómetro de rango visible con celdas de 10 mm de paso de luz a una longitud de onda de 600 nm.

3.3.3 Muestras de biosólido.

Se utilizó un biosólido proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales “El Trebal” dispuesto en el monorelleno durante el año 2007.

3.3.4 Incubación

Las distintas muestras de suelos fueron enmendadas con el biosólido en una relación de 30 Mg·ha⁻¹ de biosólido, e incubadas en condiciones de capacidad de campo a 25 °C (Maricán, A. 2006) durante periodos de 0, 30 y 60 días.

3.3.5 Estudio de movilidad de PCBs

Se utilizaron columnas de lixiviación para simular de esta manera el horizonte superficial de un suelo agrícola tratado con biosólido.

Para realizar este estudio, se emplearon columnas de lixiviación de acrílico de 2,5 cm D.I. y 12 cm de alto, seccionada en 6 partes iguales (cada una de dos 2 cm de alto) tal como se muestra en la Figura 3.

En la primera sección de la columna se colocó 1,5 g biosólido enriquecido con 100 mg·kg⁻¹ de cada mezcla de Aroclor (1242, 1254, 1260 respectivamente), en cada una de las cuatro secciones siguientes se colocaron 12 g de suelo, y la última se completó con arena de cuarzo y lana de vidrio (Figura 3). El experimento se llevó a cabo en condiciones de presión y temperatura ambiente, las columnas fueron controladas diariamente de manera de reponer la humedad perdida durante el día.

Se estudiaron dos sistemas de lixiviación de PCBs

- ✚ Solución de CaCl₂ 0,5 M, que fue utilizada para simular la fuerza iónica de la disolución de suelo.
- ✚ Solución Sulfonato de Alquilbenceno Lineal (LAS) 25 mg·L⁻¹. Para simular el efecto continuo de este detergente aportado por el biosólido.

Cada columna se trató durante periodos de 1 mes, con cada una de las soluciones, recolectándose los eluidos cada semana, obteniéndose aproximadamente 10 mL en cada tubo.

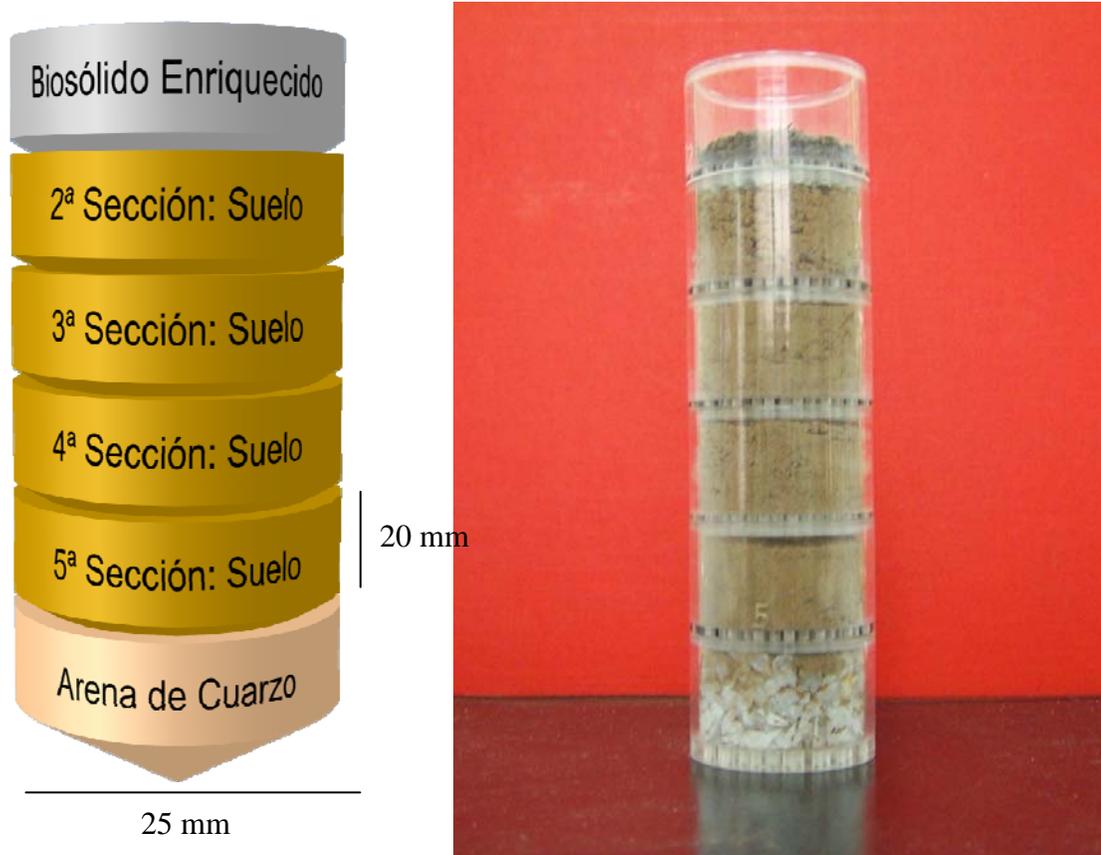


Figura 3: a) Diagrama y b) imagen de la columna lixiviación.

3.3.6 Preparación de muestras:

La preparación de las muestras tanto de suelos, biosólidos como de las mezclas suelo-biosólido, para la determinación y posterior cuantificación del analito de interés consta de los siguientes pasos: extracción, secado, concentración mediante Kuderna-Danish, limpieza o “Clean Up”, concentración de la muestra bajo flujo de nitrógeno, determinación cromatográfica y posterior análisis de resultados.

3.3.7 Proceso de extracción:

Para la extracción de los analitos desde las diferentes matrices (biosólido y mezclas suelo-biosólido) se utilizó la metodología de “Extracción con Solvente Presurizado” (PSE) en continuo asistido con ultrasonido y temperatura (Rocco, 2007; 2008). En la figura 4 se muestra el diagrama del sistema el que está compuesto de una bomba HPLC (Perkin Elmer serie Ic 200); un baño de agua con ultrasonido termoregulado ($50 \pm 5^{\circ}\text{C}$), en donde se sumerge un tubo precalentador de acero inoxidable enrollado de 3 m de largo y una celda de extracción; un sistema enfriador, que consiste en un tubo de acero inoxidable enrollado de 1 m sumergido en agua; y una válvula de salida que permite regular la presión del sistema y a su vez deja salir el extracto.

La extracción sólido-líquido se llevó a cabo utilizando 500 mg de muestra, se mantuvo constante el flujo de diclorometano/acetona 1:1 (v/v) en $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y la presión de trabajo en $1900 \pm 100 \text{ psi}$ con tiempo de extracción y de ultrasonido de 30 minutos (Tabla 8). Finalmente el extracto es recolectado y guardado en tubos de vidrio a 4°C hasta la siguiente etapa.

Tabla 8: Condiciones experimentales para la extracción de PCBs desde muestras de suelos y biosólidos.

Masa muestra	500 mg
Solvente	Mezcla Diclorometano/Acetona 1:1 (v/v)
Tiempo extracción	30 minutos
Temperatura	50 ± 5 °C
Presión	1900 ± 100 psi

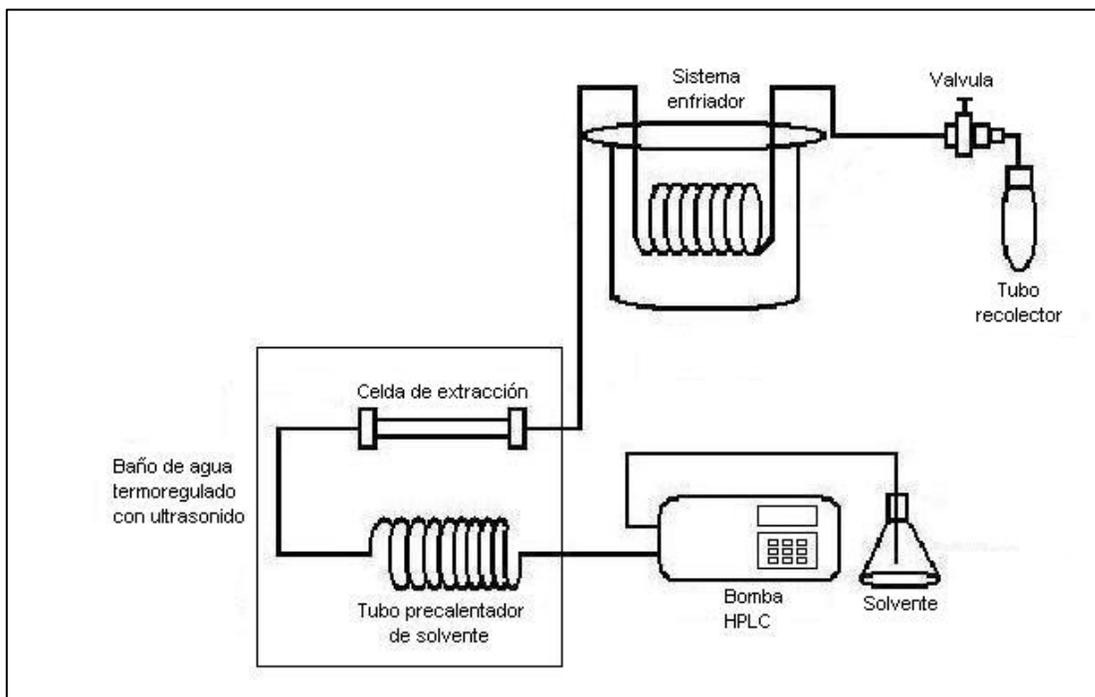


Figura 4: Diagrama equipo extracción.

3.3.8 Secado de muestra:

El extracto obtenido en la etapa anterior, es sometido a un proceso de secado, haciéndolo pasar a través de sulfato de sodio (Na_2SO_4) anhidro y eluido con 10 mL de acetona grado cromatográfico.

En la Figura 5 se muestra el esquema utilizado, que consta de una columna de vidrio de 40 cm de alto por 15 mm de diámetro interno, que en su interior contiene 10 cm de Na_2SO_4 anhidro, el que previamente fue secado por un período de 4 horas a una temperatura de 400 °C.

3.3.9 Concentración de la muestra

Después de la etapa de secado, el extracto, se concentró mediante un sistema Kuderna-Danish (Figura 6) el que se sumergió en un baño de agua termostático a 80 °C hasta un volumen final de 1mL.

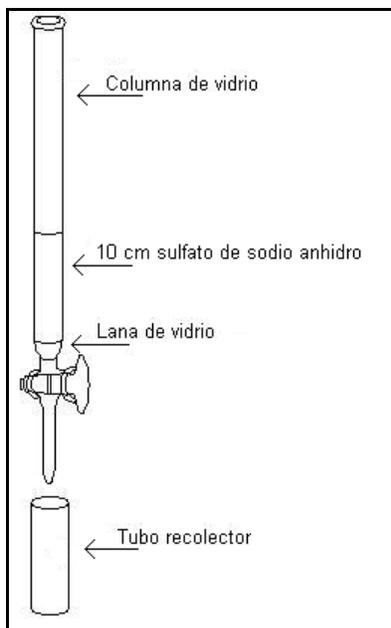


Figura 5: Diagrama columna de secado.

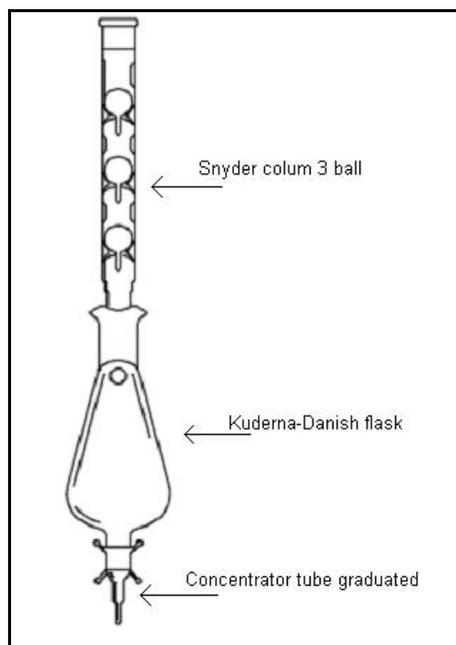


Figura 6: Equipo concentrador Kuderna-Danish

3.3.10 Limpieza del extracto (clean-up)

El tratamiento de limpieza o “clean up” se efectuó sólo en extractos de biosólido.

El extracto se sometió a un cambio de solvente agregando 20 mL de n-hexano y se concentró hasta 1 mL en un sistema Kuderna-Danish sumergido en un baño de agua termoregulado a 90 °C.

Se preparó una columna de vidrio de 8 cm longitud, 1 cm de diámetro interno que contiene 3,0 g de sílica gel y 2 cm de Na₂SO₄ anhidro, de acuerdo al método EPA 3630C, como se muestra en la Figura 7. Para su acondicionamiento se utilizó 10 mL de n-hexano; luego se adicionó la muestra y ésta se eluyó con 80 mL de n-hexano, recolectándose en tubos de vidrio. Finalmente el extracto es concentrado bajo flujo de N₂ a un volumen de 1 mL y almacenado en viales transparentes para su posterior análisis.



Figura 7: Proceso de limpieza de los extractos o “clean up”

3.3.11 Determinación cromatográfica

Al extracto, listo para el análisis se le adiciona un estándar interno, en este caso una mezcla fenantreno/criseno ambos deuterados, que es utilizado para disminuir el error de inyección cromatográfica y para su posterior cuantificación.

Se utilizó un equipo GC-MS MAT 95 XP con una columna de 30 m x 0,32 mm D.I. x 0,25 μm de fase interna. Para el análisis de los respectivos cromatogramas se utilizó el software XCALIBUR. Para la determinación de los distintos homólogos de PCBs y del estándar interno se usó espectrometría de masas en la modalidad de Registro Selectivo de Iones (SIR).

Tabla 9: Iones de cuantificación y confirmación para los distintos congéneres de PCBs.

	DCBp	TCBp	TeCBp	PeCBp	HCBp	HeCBp	Fenantreno	Criseno
Ión de Cuantificación	222	256	290	326	360	394	188	240
Ión de Confirmación	224	258	292	324	362	396	187	236

Tanto para los analitos como para el estándar interno se monitorearon dos iones (Tabla 9). El ión de cuantificación, que es el que registró la mayor intensidad en el cromatograma, seguido del ión de confirmación, ambos iones permiten confirmar la identificación de cada homólogo PCB.

Los parámetros operacionales para la determinación cromatográfica fueron los siguientes:

- ✚ Gas portador: Helio.
- ✚ Temperatura inicial del horno: 80 °C.
- ✚ Temperatura inyección: 250 °C.
- ✚ Presión: 15 psi.
- ✚ Volumen de inyección: 1 μL .

El programa de temperatura usado fue el siguiente:

- ✚ Temperatura inicial: 80 °C.
- ✚ Velocidad de calentamiento: 10 °C·min⁻¹.
- ✚ Temperatura final: 280 °C por 5 minutos.

Condiciones de operación del detector de masas

- ✚ Temperatura de detección: 280 °C.
- ✚ Modo analítico: SIR.
- ✚ Temperatura de la fuente: 280 °C.

3.3.12 Preparación de estándares

A partir de los estándares de Aroclor 1242, 1254 y 1260 de 1000 mg·kg⁻¹, se hicieron 6 diluciones usando n-hexano como solvente, en concentraciones las cuales se estimó que podrían estar las concentraciones de PCBs en la muestras.

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Caracterización de suelos.

En la Tabla 10 se muestran algunas características de los suelos estudiados, como se puede observar, estos suelos están en el intervalo de pH neutro y presentan valores variables de MO encontrándose en el intervalo de 1,65 a 4,58%, siendo los suelos LP y EM los que presentan el menor y mayor contenido respectivamente.

Tabla 10: Valores de MO y pH para los distintos suelos.

Análisis	Unidad	CB	EM	LP	M
MO	%	3,18	4,58	1,65	3,06
pH	-	7,12	6,92	6,98	6,68

En el Anexo 1 se encuentran las curvas de calibración y los parámetros de calidad analítica que se usaron para las determinaciones de las concentraciones de PCBs en las distintas muestras, tanto de biosólidos nativos, enriquecidos y suelos enmendados con biosólidos.

A continuación, en la figura 9, se muestra el cromatograma del estándar de 6 mg·L⁻¹, además se muestran los cromatogramas correspondientes a cada homólogo.

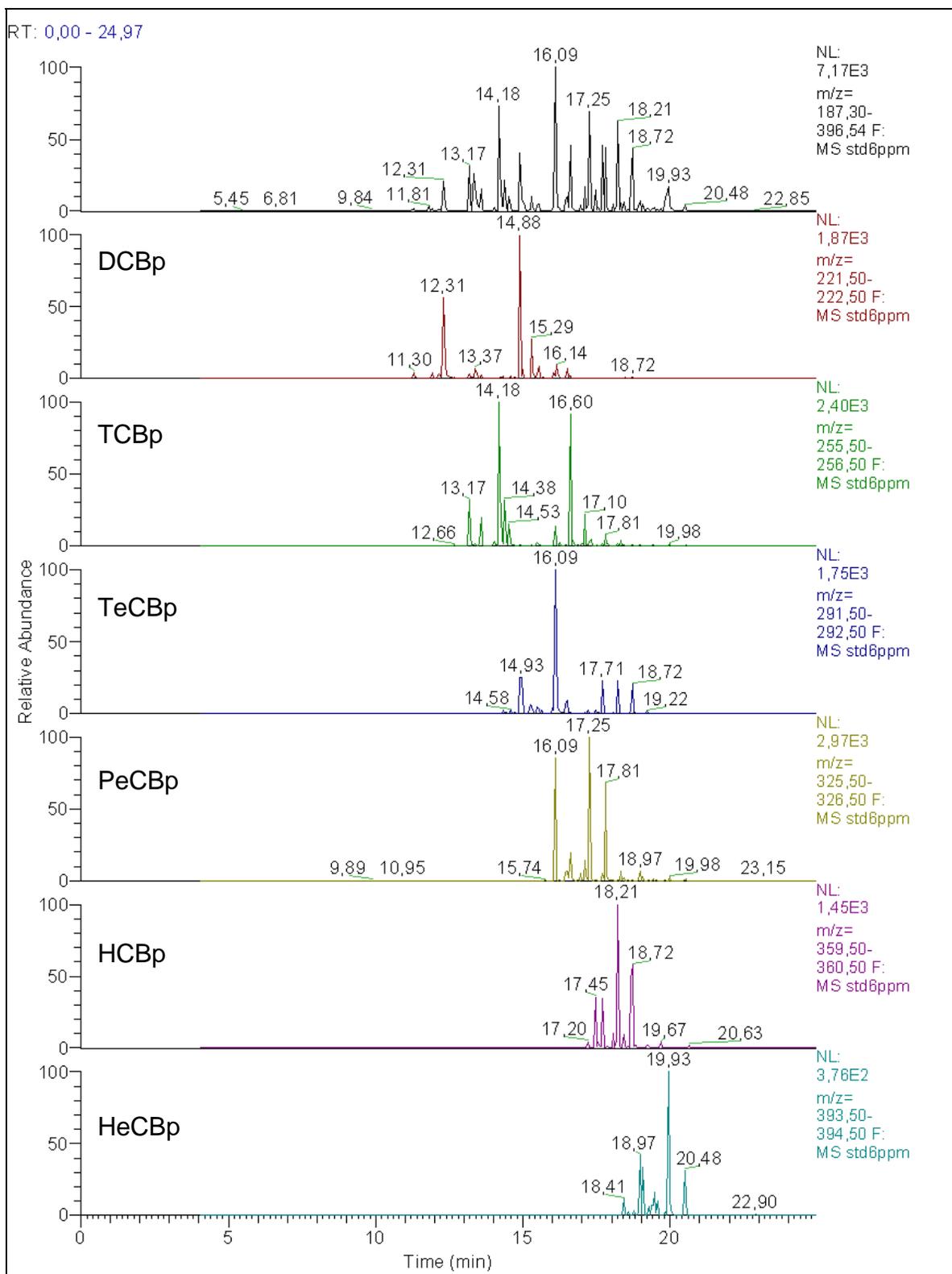


Figura 8: Cromatogramas correspondientes al estándar de 6 mg-L⁻¹, y a los correspondientes homólogos de PCBs.

4.2 Estudio de incubación

4.2.1 Determinación de PCBs en biosólidos.

Se analizó el biosólido El Trebal 2007 encontrándose concentraciones promedio de $0,300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, como se observa en la Tabla 11, mostrando una mayor extractabilidad de los PCBs al ir aumentando el tiempo de incubación.

Tabla 11: Determinación de PCBs totales en el biosólidos El Trebal 2007.

Tiempo incubación [días]	Concentración PCBs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]
0	$0,22 \pm 0,01$
30	$0,32 \pm 0,04$
60	$0,33 \pm 0,04$

Respecto a la determinación de los congéneres de PCBs, en el biosólido se encontraron que los homólogos HCBp y HeCBp son los predominantes, como se observa en la Tabla 12.

Tabla 12: Determinación de homólogos de PCBs en el biosólido El Trebal 2007.

Congéneres	Concentración PCBs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]		
	t=0	t=30	T=60
DCBp	ND	ND	ND
TCBp	ND	ND	ND
TeCBp	ND	ND	ND
PeCBp	ND	ND	ND
HCBp	0,117	0,186	0,191
HeCBp	0,101	0,130	0,137
Total	0,218	0,316	0,328

*ND: no detectado

4.2.2 Determinación de PCBs en biosólidos enriquecidos.

El biosólido se enriqueció con $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cada mezcla de Aroclor (Aroclor 1242, Aroclor 1254, Aroclor 1260 respectivamente), llegando a una concentración total final de $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PCBs totales.

Se determinaron los compuestos de PCBs en este biosólido enriquecido, encontrándose concentraciones promedios de $270 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, mostrándose una mayor extractabilidad de los PCBs al ir aumentando el tiempo de incubación, como se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13: Determinación de PCBs totales en biosólido enriquecido.

Tiempos de incubación [días]	Concentración PCBs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]
0	267 ± 16
30	273 ± 24
60	287 ± 5

Respecto de la determinación de los congéneres de PCBs, se encontró un aumento general en la extractabilidad de los distintos homólogos tal como se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14: Determinación de Homólogos de PCBs en biosólido enriquecido.

Congéneres	Concentración PCBs [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]		
	t=0	t=30	t=60
DCBp	14,72	14,78	15,56
TCBp	40,67	41,12	42,54
TeCBp	48,20	48,81	51,86
PeCBp	66,66	69,01	72,84
HCBp	61,21	63,29	66,45
HeCBp	35,79	36,43	38,09
Total	267,26	273,44	287,34

Cabe destacar que en ningún momento se obtuvo la totalidad de estos compuestos, esto se debió a que los homólogos CBp, OCBp, NCBp, que representan a un 3,30 % de la concentración total no fueron tomados en cuenta.

El aumento de la extractabilidad de PCBs en los biosólidos tanto controles como enriquecidos, se puede atribuir a la degradación de la materia orgánica, liberándose los PCBs que estaban retenidos en ésta aumentando así la extracción de estos compuestos.

4.2.3 Determinación de PCBs en suelos enmendados con biosólidos.

4.2.3.1 PCBs Totales.

En todos los suelos estudiados, luego de la enmienda, se detectó la presencia de PCBs. La extractabilidad de estos compuestos fue aumentando con el tiempo de incubación, (Tabla 15), con excepción del suelo CB, que no presentó gran diferencia en la extractabilidad entre los tiempos 30 y 60 días.

Tabla 15: Concentraciones totales de PCBs de los suelos a los distintos tiempos de incubación.

Tipo de suelo	Concentración de PCBs en mg·kg ⁻¹		
	t=0	t=30	T=60
EM	1,12 ± 0,10	1,24 ± 0,04	1,27 ± 0,05
CB	1,26 ± 0,03	1,28 ± 0,05	1,29 ± 0,03
M	1,26 ± 0,03	1,32 ± 0,15	1,38 ± 0,10
LP	1,12 ± 0,02	1,28 ± 0,01	1,40 ± 0,02

Las mayores diferencias entre las extractabilidades de PCBs entre el t=0 y t=60 son las observadas en el suelo LP, este suelo es el que presentó una menor cantidad de MO, por tanto el mecanismo predominante de retención de estos compuestos no sería sólo a través la materia orgánica, sino que participarían otros mecanismos de retención, en que las uniones serían más débiles, lo que

explicaría la diferencia con los otros suelos, en el que el tiempo de incubación casi no influyó en la extractabilidad de estos compuestos.

Comparando la extractabilidad de los PCBs en todos los suelos, el suelo EM presentó la menor extracción PCBs, demostrando que la materia orgánica es uno de los componentes del suelo que participa en forma predominante en la retención de estos compuestos, por tanto la extractabilidad de estos analitos dependería de la facilidad de degradación de la materia orgánica. En este mismo contexto se podría decir que la mayor cantidad de PCBs extraídos desde el suelo LP, se debería a la mayor facilidad de degradación de su materia orgánica y a otros mecanismos, como se dijo antes en que las interacciones son más débiles.

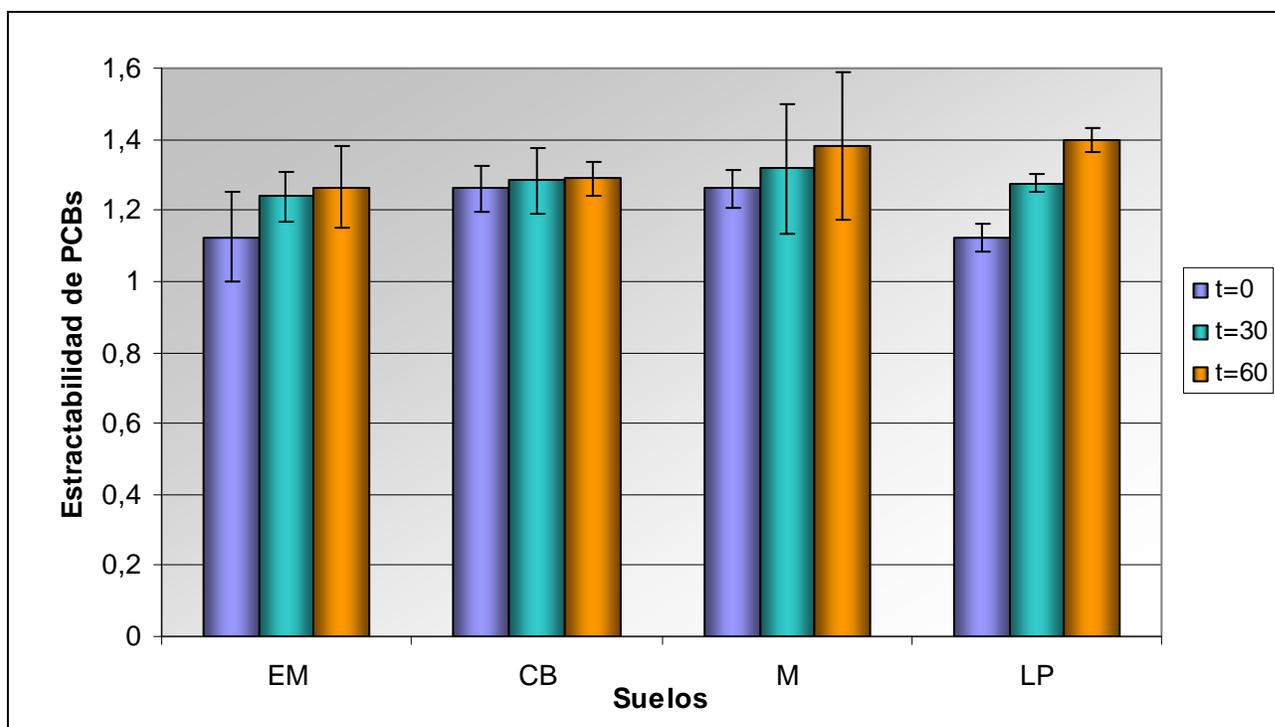


Figura 9: Extractabilidad de PCBs en lo suelos estudiados expresadas en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

4.2.3.1 Congéneres de PCBs

Con respecto a los congéneres de PCBs, los que se encontraron en mayor cantidad, en todos los suelos, son los PeCBp. Este congénere fue disminuyendo con el tiempo, lo cual podría atribuirse a la degradación bioquímica mediante microorganismos que son aportados por el biosólido.

En general las mayores extracciones de PCBs se observaron en el suelo LP, exceptuando los PeCBp, que su mayor extractabilidad se observó en el suelo M, esto se puede atribuir, en un principio a la degradación de la materia orgánica de este suelo, y en segundo lugar a que este suelo, a pesar de ser usado como suelo agrícola, es regado con aguas servidas.

En las Figuras 10, 11, 12 y 13, se muestran las extractabilidades de los distintos congéneres de PCBs a los distintos tiempos de incubación en cada uno de los suelos seleccionados.

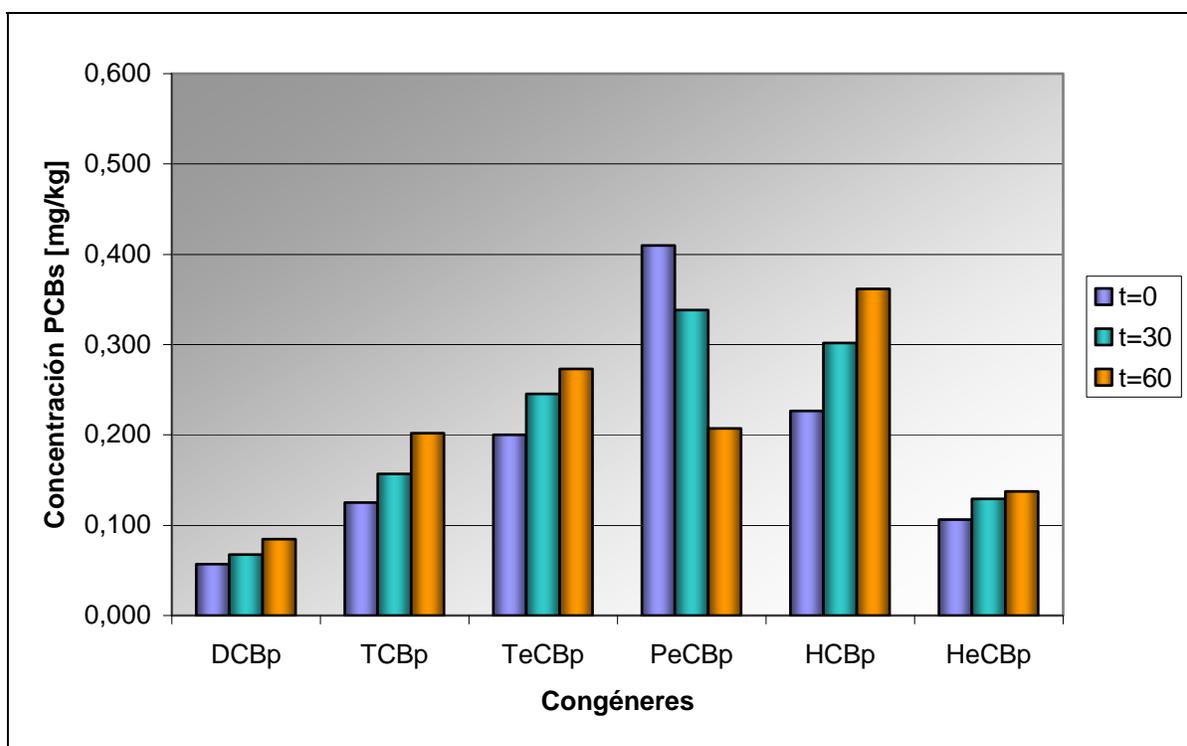


Figura 10: Extractabilidad de PCBs en el suelo EM.

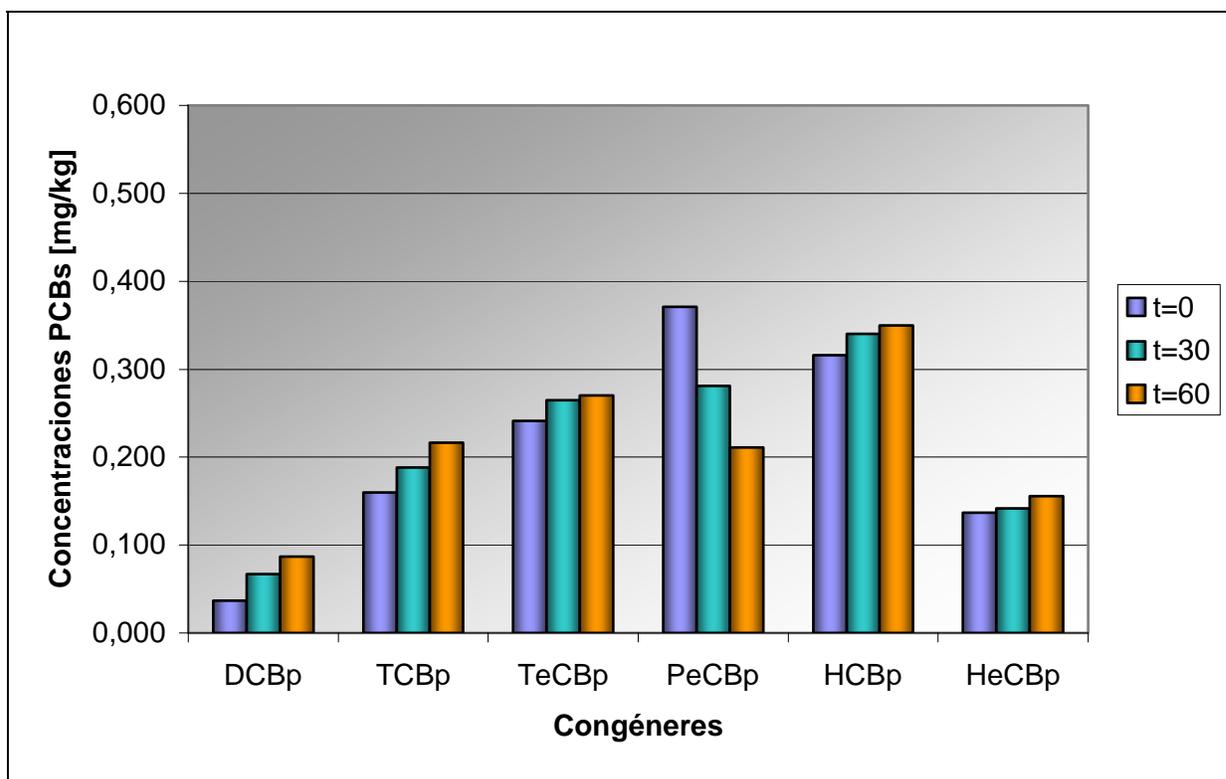


Figura 11: Extractabilidad de PCBs en el suelo CB.

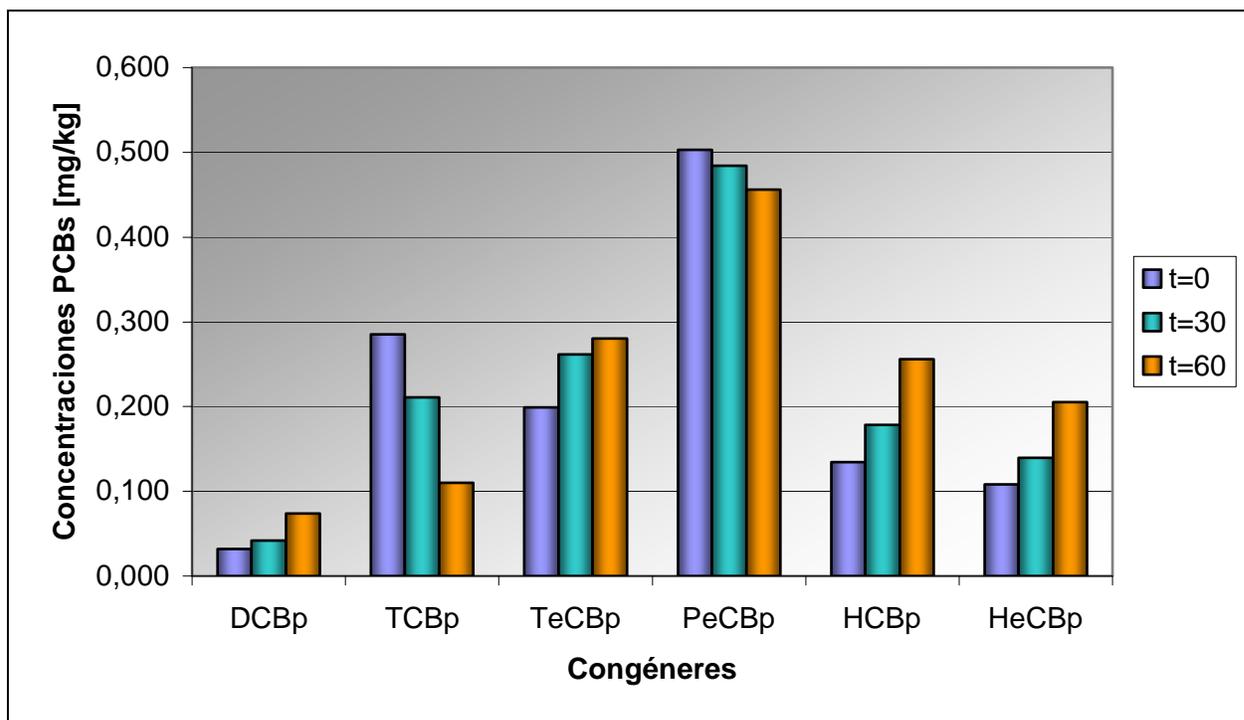


Figura 12: Extractabilidad de PCBs en el suelo M.

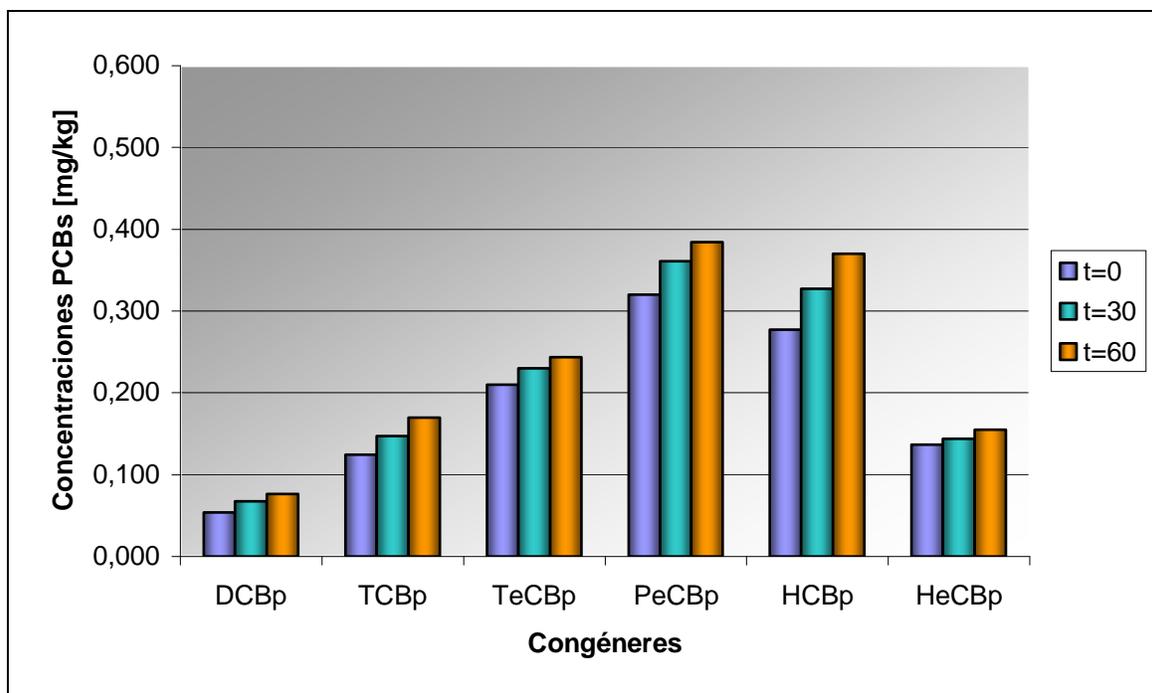


Figura 13: Extractabilidad de PCBs en el suelo LP.

4.3 Estudio de movilidad de PCBs mediante columnas de lixiviación.

Se seleccionaron dos suelos, EM y LP, que se diferencian principalmente en el contenido de materia orgánica

4.3.1 Lixiviación con CaCl₂ 0,5 M.

El CaCl₂ 0,5 M fue utilizado para simular la fuerza iónica de la solución de suelo. Se encontró que bajo estas condiciones los PCBs no fueron detectados en ningunas de las secciones de la columna, por tanto se podría decir que si estos llegaran al suelo por alguna vía, en condiciones normales, estos compuestos no se movilizarían.

4.3.2 Lixiviación con LAS.

Los compuestos de LAS se encuentran en altas concentraciones en estos biosólidos por tanto al utilizar la solución de LAS, como solución lixivadora, simulando la incorporación de biosólidos a los suelos, se observó que la movilización de los PCBs fue diferente para los suelos seleccionados.

En la columna con el suelo EM, se encontró la presencia de PCBs tan solo en la segunda y tercera sección de la columna, no detectándose la presencia de estos compuestos en las secciones cuarta y quinta de la misma.

Con respecto a los congéneres de PCBs, estos fueron detectados tan sólo en la segunda y tercera sección de la columna, como se muestra en la Tabla 16

Tabla 16: Concentraciones totales y de los distintos congéneres de PCBs en las distintas secciones de la columna del suelo E.M.

	2 ^{da} sección	3 ^{ra} sección	4 ^{ta} sección	5 ^{ta} sección
DCBp	0,016	ND	ND	ND
TCBp	0,016	ND	ND	ND
TeCBp	0,113	0,091	ND	ND
PeCBp	0,245	0,205	ND	ND
HCBp	0,013	0,008	ND	ND
HeCBp	0,147	0,046	ND	ND
Total	0,550	0,350	ND	ND

En la columna con el suelo LP, suelo que presenta el menor contenido de MO, los PCBs fueron detectados hasta la quinta sección de la columna de lixiviación, como se observa en la Tabla 17, a medida que se avanzó en ésta, los compuestos más livianos quedaron retenidos en las primeras secciones, llegando sólo los más pesados como los HCBp y HeCBp a la cuarta y tan solo el HeCBp a la quinta sección de la columna.

Tabla 17: Concentraciones totales y de los distintos congéneres de PCBs en las distintas secciones de la columna del suelo L.P.

	2 ^{da} sección	3 ^{ra} sección	4 ^{ta} sección	5 ^{ta} sección
DCBp	0,038	ND	ND	ND
TCBp	0,051	0,031	ND	ND
TeCBp	0,312	0,092	ND	ND
PeCBp	0,559	0,407	ND	ND
HCBp	0,213	0,156	0,062	ND
HeCBp	0,392	0,138	0,136	0,098
Total	1,566	0,826	0,198	0,098

En este estudio se puede observar el efecto de la materia orgánica presente en cada suelo, ya que el suelo EM, el de mayor cantidad de MO, los PCBs quedaron mayoritariamente retenidos en la parte superior de la columna, en cambio en el suelo LP, estos compuestos pasaron a través de toda la columna, se puede deber a que la adsorción en la materia orgánica del suelo, es menor quedándose menos retenidos

V Conclusiones.

La extracción con solvente presurizado asistida con ultrasonido (PSE-US) fue adecuada para la extracción de PCBs desde matrices de biosólidos, suelos y mezclas suelo-biosólidos, en términos de reducción de solvente, cantidad de muestra y disminución en el tiempo de extracción.

En la muestra de biosólido, proveniente de la planta de tratamiento de aguas “El Trebal”, se detectó la presencia de compuestos de PCBs, cuya extractabilidad aumentó con el tiempo de incubación, encontrándose concentraciones promedio de $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, y un predominio de los congéneres HCBp y HeCBp.

En el biosólido enriquecido con $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PCBs se encontraron concentraciones promedio de PCBs total de $270 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. La recuperación de estos compuestos no fue total ya que sólo se tomaron en cuenta los compuestos desde los diclorados (DCBp) hasta los heptaclorados (HeCBp) lo cual correspondería a un 97 %, por tanto la técnica empleada fue adecuada para la extracción cuantitativa de estos compuestos.

La extracción de los PCBs, en todos los suelos enmendados con biosólidos enriquecido aumentó con el tiempo de incubación, lo cual se debería a la degradación de la materia orgánica.

La solución de LAS fue capaz de movilizar a los PCBs a través de la columna de lixiviación, lo que podría significar que estos detergentes presentes en alta concentración en los biosólidos, transportarían a los PCBs a través de los distintos estratos del suelo.

El monitoreo de la presencia de PCBs en biosólidos debe ser constante, ya que estos compuestos fueron detectados en esta matriz, lo cual indicaría que es necesario que en nuestro país exista una pronta legislación sobre este tipo de compuestos, tanto en biosólidos como en suelos agrícolas, teniendo en cuenta que la existencia de estos compuestos en estas matrices pueden ocasionar efectos adversos al medio ambiente.

VI Referencias

Ahmad, S. U., Tariq, S., Jalali, S., Ahmad, M. M. Environmental pollutant Aroclor 1242 (PCB) disrupts reproduction in adult male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Environmental Research* 93 (2003): 272 – 278.

Borja, J., Taleon, D. M., Auresenia, J., Gallardo, S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry* 40 (2005): 1999 – 2013.

Breivik, K., Sweetman, A., Pacyna, J.M., Jones, K.C.,. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners – a mass balance approach 1. Global production and consumption. *The Science of the Total Environment* 290 (2002): 181 – 198.

Quan-Ying Cai, Ce-Hui Mo, Qi-Tang Wu, Qiao-Yun Zeng, Athanasios Katsoyiannis. Occurrence of organic contaminants in sewage sludges from eleven wastewater treatment plants, China. *Chemosphere* 68 (2007): 1751–1762

Camel, V. Recent extraction techniques for solid matrices – supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave – assisted extraction: their potential and pitfalls. *Analyst*. 126 (2001): 1182 – 1193.

CONAMA, Manual de Chile para el manejo de bifenilos policlorados (PCBs; Askareles) Un estudio de casos sobre la aplicación de aguas. Gobierno de Chile.

Dean J.R., Xiong, G. Extraction of organic pollutants from environmental matrices: selection of extraction technique, *Trends in Anal.Chem* 189 (2000) 553-564.

Eljarrat, E., Caixach, J., Rivera, J. Effects of sewage sludges contaminated with polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls on agricultural soils. *Environ. Sci. Technol.* (1997): 31, 2765 – 2771.

Epstein, E., 2003. Land Application of Sewage Sludge and Biosolids. Lewis Publishers. CRC Press LLC, USA.

Field, J. A., Sierra-Alvarez, R., Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls. Environmental Pollution (2007), doi: 10.1016/j.envpol.2007.10.016.

Fishbein, L. Toxicity of Chlorinated Biphenyls. Annu. Rev. Pharmacol. 1974.14:139-156

Harrison, E., Oakes, S. R., Hysell, M., Hay, A. Organic chemicals in sewage sludges. Science of the Total Environment 367 (2006): 481 – 497.

Hawthorne, S.B., Grabanski, C., Martin, E. and Miller, D. Comparison of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. Journal of Chromatography A. 892 (2000): 421 – 433.

Kiguchi, O., Kobayashi, T., Saitoh, K., Ogawa, N. Pressurized liquid extraction of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls from contaminated soil. Journal of Chromatography A 1108 (2006): 176 – 182.

López-Avila, V., J. Benedicto and K.M. Bauer. Microwave-assisted extraction combined with gas chromatography and enzyme-linked immunosorbent assay. Trends in Analytical Chemistry 15 (1996): 334 – 341.

Mandalakis, M., Holmstrand, H., Anderson, P., Gustafsson, Ö. Compound-specific chlorine isotope analysis of polychlorinated biphenyls isolated from Aroclor and Clophen technical mixtures. Chemosphere 71 (2008): 299 – 305.

Maricán, A. Tesis para optar al título de Químico, Universidad de Chile. Extractabilidad de metales traza en suelos agrícolas enmendados con biosólidos. 2006

Richter, B., Jones, B., Ezzell, J., Porter, N. Accelerated solvent extraction: A Technique for sample preparation. *Analytical Chemistry* 68 (1996): 1033 – 1039.

Rocco, G. Tesis para optar título de químico, Universidad de Chile. Determinación de Bifenilos Policlorados (PCBs) en biosólidos utilizando disolventes presurizados para la extracción y GC-MS para su cuantificación. 2007.

Rocco G., Toledo C., Ahumada I., Sepulveda B., Cañete A., Richter P., Determination of polychlorinated biphenyls in biosolids using continuous ultrasound-assisted pressurized solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1193 (2008) 32 - 36

Singh, R.P., Agrawal, M., Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Management* 28 (2008) 347 – 358.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R. *Química Analítica*, Séptima Edición (2001-1), Editorial Mc Graw Hill.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. *Principios de Análisis Instrumental*, Quinta Edición, (2001-2), Editorial Mc Graw Hill.

Sparr-Eskilsson, C., Björklund E., Analytical-scale microwave-assisted extraction, *J. Chromatogr. A* 902 (2000) 227-250.

Sporring, S., Bowadt, S., Svensmark, B. Björklund, E. Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with Soxtec extraction, ultrasonication extraction, supercritical fluid extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent

extraction for the determination of polychlorinated bipheyls in soil. *Journal of Chromatography A*, 1090 (2005) 1 – 9.

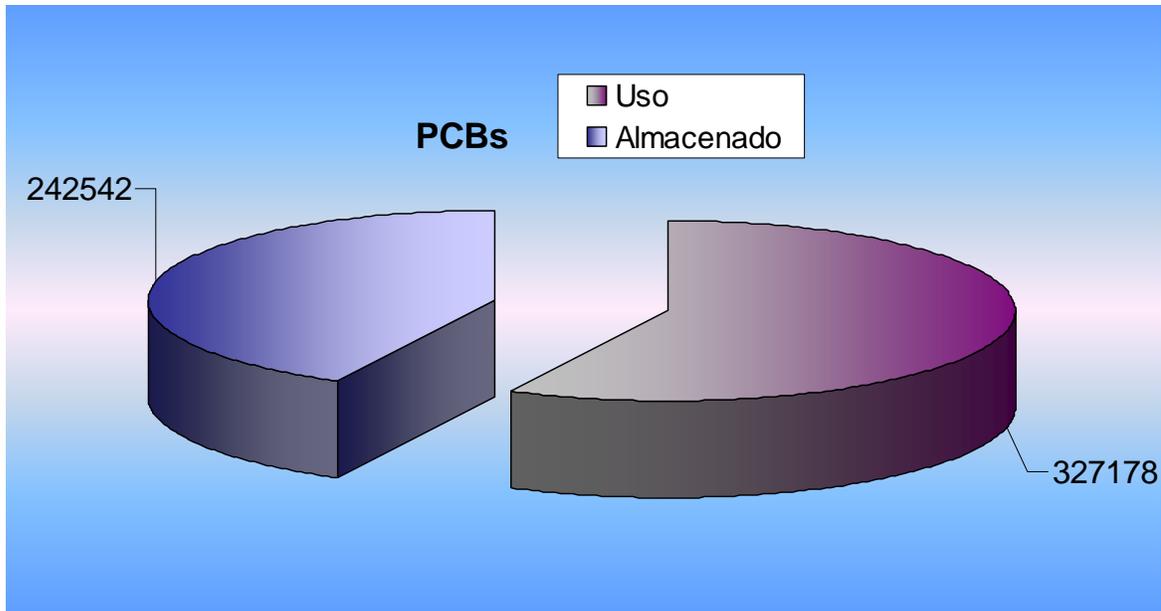
U.S. Environmental Protection Agency, (1996). SW-846: Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods. Method 3630C: Silica Gel Clean up. Revision 3. 3000 Series Methods.

Zitomer D., Speece R. Sequential environments for enhanced biotransformation of aqueous contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, vol 27, N° 2, 1993.

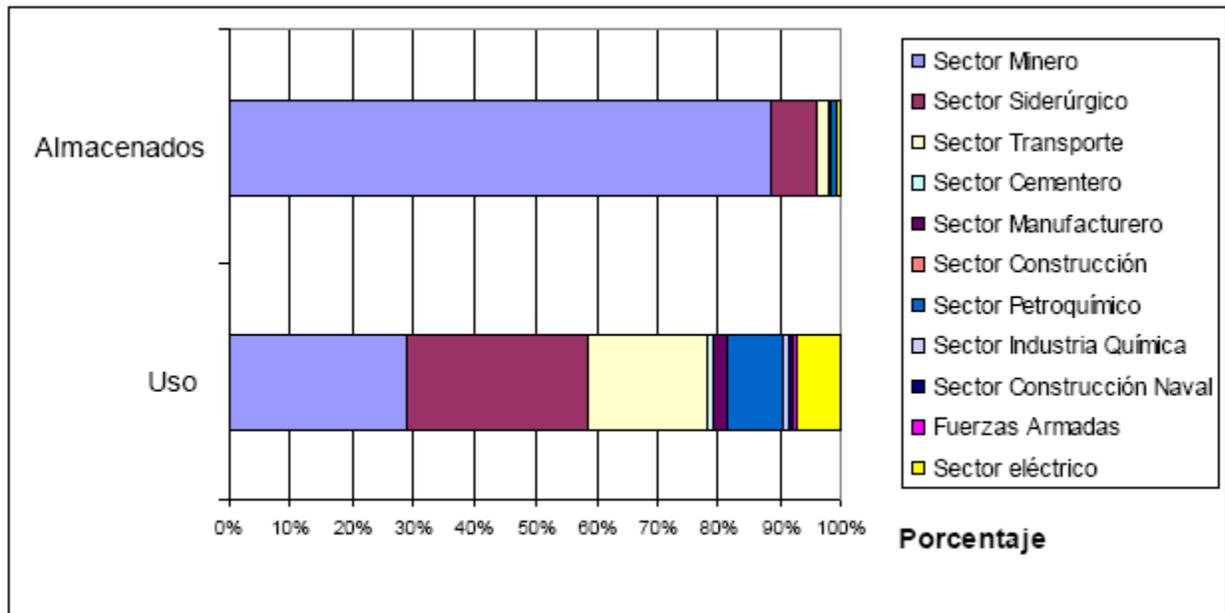
VII

Anexos

Anexo 1: Grafico cantidad total de PCBs en uso y almacenado en Chile al año 2004



Anexo 2: Principales sectores que utilizan PCBs en nuestro país.



Anexo 3

Tabla 18: Curvas de calibración, límites de detección (LD) y cuantificación (LC) y coeficiente de determinación (R^2) de cada uno de los congéneres de PCBs.

Congéneres	Curva Calibración*	R^2	LD*	LC*
DCBp	$Y=2,6871x + 0,0632$	0,9994	0,0095	0,032
TCBp	$Y=3,6298x + 0,2251$	0,9991	0,0322	0,107
TeCBp	$Y=1,5879x + 0,0594$	0,9947	0,0855	0,285
PeCBp	$Y=2,2919x + 0,1968$	0,9947	0,1195	0,398
HCBp	$Y=2,1733x + 0,1022$	0,9992	0,0435	0,145
HeCBp	$Y=1,2624x + 0,0288$	0,9941	0,0681	0,227

* expresados en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Para el cálculo de los distintos límites se utilizó la fórmula que se muestra en la Figura 13.

$$Lx = K \cdot \frac{S_{R/C}}{m} \sqrt{\left[\frac{n-2}{n-1} \right]}$$

Figura 13: Fórmula para los cálculos de los distintos límites.

Donde

$K = 3$ para el límite de detección y $K = 10$ para el límite de cuantificación.

Lx : límite de:

$X = D$: detección

$X = C$: cuantificación.

$S_{R/C}$: desviación estándar de la regresión lineal.

m : pendiente de la regresión lineal.

n : número de datos.

Tabla 19: concentraciones de los diversos congéneres de PCBs en los distintos suelos a los distintos tiempos de incubación.

Congéneres	EM			CB			M			LP		
	t=0	t=30	t=60									
DCBp	0,057	0,068	0,084	0,037	0,067	0,087	0,032	0,042	0,074	0,054	0,068	0,077
TCBp	0,125	0,157	0,202	0,160	0,188	0,216	0,285	0,211	0,110	0,125	0,147	0,170
TeCBp	0,200	0,245	0,273	0,241	0,265	0,270	0,199	0,261	0,280	0,210	0,230	0,243
PeCBp	0,410	0,338	0,207	0,371	0,281	0,211	0,503	0,484	0,456	0,320	0,361	0,384
HCBp	0,226	0,302	0,361	0,316	0,340	0,350	0,134	0,178	0,256	0,277	0,327	0,370
HeCBp	0,106	0,129	0,137	0,137	0,142	0,155	0,108	0,140	0,205	0,137	0,144	0,155
Total	1,125	1,239	1,265	1,263	1,283	1,290	1,303	1,317	1,339	1,145	1,277	1,376

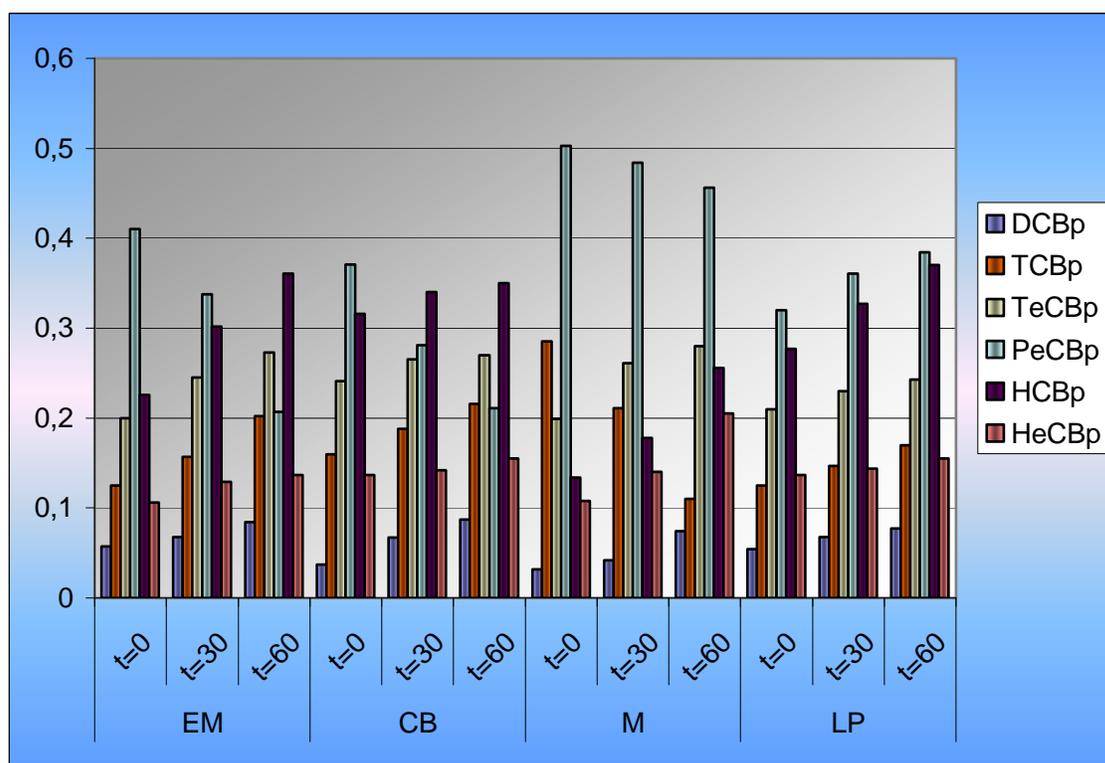


Figura 14 Extractabilidades de los homólogos de PCBs a los distintos tiempos de incubación en los cuatro suelos estudiados.

Tabla 20: Nomenclatura de homólogos de PCBs de acuerdo a la IUPAC

No.	Structure	No.	Structure	No.	Structure	No.	Structure
Monochlorobiphenyls (CBp)		Tetrachlorobiphenyls (TeCBp)		Pentachlorobiphenyls (PeCBp)		Hexachlorobiphenyls (HCBp)	
1	2	52	2,2',5,5'	107	2,3,3',4',5	161	2,3,3',4,5',6
2	3	53	2,2',5,6'	108	2,3,3',4,5'	162	2,3,3',4',5,5'
3	4	54	2,2',6,6'	109	2,3,3',4,6	163	2,3,3',4',5,6
		55	2,3,3',4	110	2,3,3',4',6	164	2,3,3',4',5',6
Dichlorobiphenyls (DCBp)		56	2,3,3',4'	111	2,3,3',5,5'	165	2,3,3',5,5',6
4	2,2'	57	2,3,3',5	112	2,3,3',5,6	166	2,3,4,4',5,6
5	2,3	58	2,3,3',5'	113	2,3,3',5',6	167	2,3',4,4',5,5'
6	2,3'	59	2,3,3',6	114	2,3,4,4',5	168	2,3',4,4',5',6
7	2,4	60	2,3,4,4'	115	2,3,4,4',6	169	3,3',4,4',5,5'
8	2,4'	61	2,3,4,5	116	2,3,4,5,6		
9	2,5	62	2,3,4,6	117	2,3,4',5,6	Heptachlorobiphenyls (HeCBp)	
10	2,6	63	2,3,4',5	118	2,3',4,4',5	170	2,2',3,3',4,4',5
11	3,3'	64	2,3,4',6	119	2,3,4,4',6	171	2,2',3,3',4,4',6
12	3,4	65	2,3,5,6	120	2,3',4,5,5'	172	2,2',3,3',4,5,5'
13	3,4'	66	2,3',4,4'	121	2,3',4,5',6	173	2,2',3,3',4,5,6
14	3,5	67	2,3',4,5	122	2',3,3',4,5	174	2,2',3,3',4,5,6'
15	4,4'	68	2,3',4,5'	123	2',3,4,4',5	175	2,2',3,3',4,5',6
		69	2,3',4,6	124	2',3,4,5,5'	176	2,2',3,3',4,6,6'
Trichlorobiphenyls (TCBp)		70	2,3',4',5	125	2',3,4,5,6'	177	2,2',3,3',4',5,6
16	2,2',3	71	2,3,4',6	126	3,3',4,4',5	178	2,2',3,3',5,5',6
17	2,2',4	72	2,3',5,5'	127	3,3',4,5,5'	179	2,2',3,3',5,6,6'
18	2,2',5	73	2,3',5',6			180	2,2',3,4,4',5,5'
19	2,2',6	74	2,4,4',5	Hexachlorobiphenyls (HCBp)		181	2,2',3,4,4',5,6
20	2,3,3'	75	2,4,4',6	128	2,2',3,3',4,4'	182	2,2',3,4,4',5,6'
21	2,3,4	76	2',3,4,5	129	2,2',3,3',4,5	183	2,2',3,4,4',5',6
22	2,3,4'	77	3,3',4,4'	130	2,2',3,3',4,5'	184	2,2',3,4,4',6,6'
23	2,3,5	78	3,3',4,5	131	2,2',3,3',4,6	185	2,2',3,4,5,5',6
24	2,3,6	79	3,3',4,5'	132	2,2',3,3',4,6'	186	2,2',3,4,5,6,6'
25	2,3',4	80	3,3',5,5'	133	2,2',3,3',5,5'	187	2,2',3,4',5,5',6

26	2,3',5	81	3,4,4',5	134	2,2',3,3',5,6	188	2,2',3,4',5,6,6'
27	2,3',6			135	2,2',3,3',5,6'	189	2,3,3',4,4',5,5'
28	2,4,4'	Pentachlorobiphenyls (PeCBp)		136	2,2',3,3',6,6'	190	2,3,3',4,4',5,6
29	2,4,5	82	2,2',3,3',4	137	2,2',3,4,4',5	191	2,3,3',4,4',5',6
30	2,4,6	83	2,2',3,3',5	138	2,2,3,4,4',5'	192	2,3,3',4,5,5',6
31	2,4',5	84	2,2',3,3',6	139	2,2',3,4,4',6	193	2,3,3',4',5,5',6
32	2,4',6	85	2,2',3,4,4'	140	2,2',3,4,4',6'		
33	2',3,4	86	2,2',3,4,5	141	2,2',3,4,5,5'	Octachlorobiphenyls (OCBp)	
34	2',3,5	87	2,2',3,4,5'	142	2,2',3,4,5,6	194	2,2',3,3',4,4',5,5'
35	3,3',4	88	2,2',3,4,6	143	2,2',3,4,5,6'	195	2,2',3,3',4,4',5,6
36	3,3',5	89	2,2',3,4,6'	144	2,2',3,4,5',6	196	2,2',3,3',4,4',5',6
37	3,4,4'	90	2,2',3,4',5	145	2,2',3,4,6,6'	197	2,2',3,3',4,4',6,6'
38	3,4,5	91	2,2',3,4',6	146	2,2',3,4',5,5'	198	2,2',3,3',4,5,5',6
39	3,4',5	92	2,2',3,5,5'	147	2,2',3,4',5,6	199	2,2,3,3',4',5,5',6
		93	2,2',3,5,6	148	2,2',3,4,5,6'	200	2,2',3,3',4,5,6,6'
Tetrachlorobiphenyls (TeCBp)		94	2,2',3,5,6'	149	2,2',3,4',5,6	201	2,2',3,3',4,5',6,6'
40	2,2',3,3'	95	2,2',3,5',6	150	2,2',3,4',6,6'	202	2,2',3,3',5,5',6,6'
41	2,2',3,4	96	2,2',3,6,6'	151	2,2',3,5,5',6	203	2,2',3,4,4',5,5',6
42	2,2',3,4'	97	2,2',3',4,5	152	2,2',3,5,6,6	204	2,2',3,4,4',5,6,6'
43	2,2',3,5	98	2,2',3,4,6	153	2,2',4,4',5,5'	205	2,3,3',4,4',5,5',6'
44	2,2,3,5'	99	2,2',4,4',5	154	2,2',4,4,5,6'		
45	2,2',3,6	100	2,2',4,4',6	155	2,2',4,4',6,6'	Nonachlorobiphenyls (NCBp)	
46	2,2',3,6'	101	2,2',4,5,5'	156	2,3,3',4,4',5	206	2,2',3,3',4,4',5,5',6
47	2,2',4,4'	102	2,2',4,5,6'	157	2,3,3',4,4',5'	207	2,2',3,3',4,4',5,6,6'
48	2,2',4,5	103	2,2',4,5',6	158	2,3,3',4,4',6	208	2,2',3,3',4,5,5',6,6'
49	2,2',4,5'	104	2,2',4,6,6'	159	2,3,3',4,5,5'		
50	2,2',4,6	105	2,3,3',4,4'	160	2,3,4',4,5,6	Decachlorobiphenyl (DeCBp)	
51	2,2',4,6'	106	2,3,3',4,5			209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'