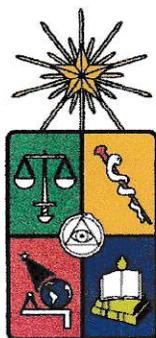


UCH-FC
Q-Ambiental
T649
C-L



**DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA PARA LA
EXTRACCION DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs)
DESDE ACEITES DE TRANSFORMADORES Y SU
POSTERIOR CUANTIFICACION POR CROMATOGRAFÍA DE
GASES ACOPLADO A UN DETECTOR DE MASA**

Seminario de Título

entregado a la

Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al título de

QUIMICO AMBIENTAL

CARLA BEATRIZ TOLEDO NEIRA

Director de Seminario de Título: Dr. Pablo Richter Duk

Profesor Patrocinante: M.Cs. Sylvia Copaja Castillo

Julio, 2006

**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**INFORME DE APROBACION
SEMINARIO DE TITULO**

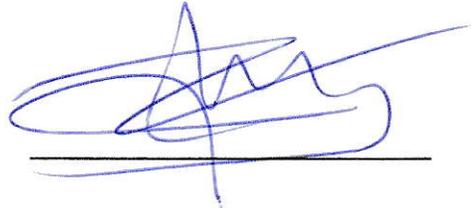
Se informa a la Escuela de pregrado de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile que el Seminario de Título presentado por la alumna

CARLA BEATRIZ TOLEDO NEIRA

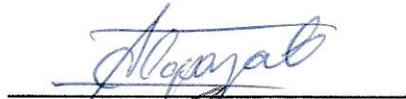
ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación del Seminario de Título como requisito para optar al título de Químico Ambiental

COMISION

Director Seminario de Título: Dr. Pablo Richter D.



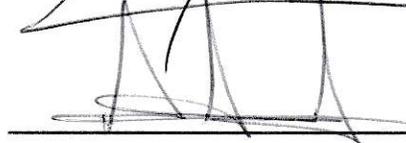
Profesor patrocinante: M. Cs. Sylvia Copaja C.



Profesores correctores: Dr. Patricio Rivera L.



Dr. Alejandro Álvarez L.



*A mi familia, y en especial
a mi Antonia, mi gran tesoro.*

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, a mi madre, mi padre y a mi hermana. En especial a mi madre, por enseñarme lo que es ser realmente una buena madre, por estar siempre apoyando y dando fuerzas para salir adelante. Sin tu ayuda, no lo hubiera logrado.

A mis amigos y compañeros de carrera; Tahira, Paula, por su cariño e incondicionalidad, Anita, Diego y Consuelo por su amistad y compañerismo.

A mis amigas del laboratorio de analítica, Libby, Yasmín, María José y Lorena por sus buenos consejos y por hacer esos días de trabajo más alegres y amenos.

Al Dr. Alejandro Álvarez por su apoyo y acertados consejos en los buenos y malos momentos, no sólo académicamente sino también en lo personal.

A la profesora Sylvia Copaja por su apoyo como Jefe de Carrera y especialmente por su comprensión en esos momentos claves y difíciles que se me presentaron al inicio de este seminario.

Al Dr. Manuel Leiva por poner a disposición al CENMA, para el avance de mi trabajo y a Rodrigo Carrasco por su ayuda y buena disposición.

Agradezco a todas las personas del CEPED EQ, que de alguna u otra forma ayudaron a la realización de esta tesis, en especial a Cecilia por la paciencia y buena disposición que siempre tuvo para conmigo.

A todos los compañeros del laboratorio de química analítica y ambiental y a su profesora Inés Ahumada por recibirme como una más de la casa, Gracias por hacerme parte de sus encuentros y festejos.

Quisiera agradecer en forma muy especial al Dr. Pablo Richter. Por creer en mí, e invitarme a trabajar con él. Por enseñarme que “la paciencia si es la madre de la ciencia” y que el trabajo constante y conciente, aunque tarde, de alguna u otra forma, siempre tiene recompensa. Aunque quisiéramos, no siempre tenemos días buenos, gracias por escuchar y aceptar.

Finalmente se agradece el financiamiento de esta Tesis al proyecto FONDECYT N° 10300005

INDICE DE CONTENIDO

1. Introducción	1
2. Marco Teórico	5
2.1 Antecedentes generales de los PCBs	5
2.1.1 Propiedades físico-químicas de los PCBs	5
2.1.2 Química de los PCBs	7
2.1.3 Efectos de los PCBs sobre la salud humana	10
2.1.4 PCBs en el medio ambiente	14
2.1.5 Normas para los PCBs	17
2.1.6 Degradación de los PCBs	19
2.1.2 Cromatografía gaseosa acoplada a un detector de masa (GC-MS)	22
2.1.3 Diseño experimental	27
3. Hipótesis	29
3.1 Hipótesis global	29
3.2 Hipótesis derivada	29
4. Objetivos	30
4.1 Objetivo general	30
4.2 Objetivos específicos	30

5. Materiales y métodos	31
5.1 Materiales	31
5.1.1 Reactivos	31
5.1.2 Disoluciones	32
5.1.3 Equipos e instrumentos	32
5.2 Metodología	34
5.2.1 Optimización de variables por técnica de análisis de multivariado	34
5.2.2 Procedimiento general del método propuesto	34
5.2.3 Proceso de limpieza	35
5.2.4 Determinación de PCBs	37
5.2.4.1 Curvas de calibración	37
5.2.4.2 Validación del método	38
6. Resultados y discusión	39
6.1 Ensayos preliminares	39
6.2 Optimización de variables por técnica de análisis de multivariado	43
6.3 Validación del método propuesto	48
6.3.1 Curvas de calibración	48
6.3.2 Determinación de parámetros analíticos	52
6.3.3 Proceso de limpieza	54
6.4 Aplicación del método propuesto a muestras reales	56

7. Conclusiones	61
8. Bibliografía	64
9. Anexo	68

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Contaminantes orgánicos persistentes (COPs)	2
Tabla 2	PCBs similares a dioxinas	9
Tabla 3	Condiciones de trabajo cromatógrafo de gases	37
Tabla 4	Condiciones de trabajo detector de masa	37
Tabla 5	Iones para la cuantificación y confirmación de los diferentes PCBs	41
Tabla 6	Factores, niveles y matriz del diseño experimental para la optimización y las respectivas respuestas entregadas por GC-MS	43
Tabla 7	Rangos estudiados durante la optimización y respuesta óptima para cada variable	47
Tabla 8	Ecuaciones de regresión para cada congéner, bajo 10 mg/kg	52
Tabla 9	Parámetros analíticos obtenidos para los diferentes congéneres	53
Tabla 10	Recuperaciones alcanzadas por el método propuesto con y sin limpieza a nivel de 60 mg/kg	55
Tabla 11	Concentraciones obtenidas en muestras reales de aceites de transformadores	58

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estructura de (a) PCDDs y (b) PCDs. Compuestos generados durante la combustión de los PCBs	6
Figura 2	Formación de PCDFs durante la combustión de los PCBs	6
Figura 3	Formación del anillo bifenilo	7
Figura 4	Valores de TEQ para PCDD, PCDF y PCBs, en alimentos de supermercados en EEUU	12
Figura 5	Detector de masa con cuadrupolo	25
Figura 6	Matriz de experimentos para los diseños factoriales completos 2^2 y 2^3	28
Figura 7	Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masa	33
Figura 8	Resumen del procedimiento analítico para la determinación de PCBs en aceite de transformador por el método propuesto	36
Figura 9	Cromatograma en modalidad SCAN para una mezcla de congéneres.	40
Figura 10	Espectro de masa para el pentaclorobifenilo	41
Figura 11	Cromatograma TIC e iones mas abundantes para el hexaclorobenceno	42
Figura 12	Superficie de respuesta estimada para volumen de disolvente y tiempo de agitación	45
Figura 13	Efecto de ambas variables sobre la respuesta	46
Figura 14	Grafico de Pareto estandarizado	47
Figura 15	A) Cromatograma de un estándar de 60 mg/kg en modalidad SIR. b), c), d) iones moleculares para el heptaclorobifenil	48
Figura 16	Curvas de calibración para di y triclorobifenilo.	49

Figura 17	Curvas de calibración para tetra y pentaclorobifenilo.	50
Figura 18	Curvas de calibración para hexa y heptaclorobifenilo.	51
Figura 19	Cromatograma de una misma muestra con y sin limpieza (clean-up)	54
Figura 20	Cromatograma TIC de la muestra real A1.	57

LISTA DE ABREVIATURAS

COPs	Contaminantes orgánicos persistentes
DDT	Dicloro-difenil-tricloretoano
DS	Decreto supremo
EI	Estándar interno
EPA	Agencia de protección del medio ambiente
GC-MS	Cromatografía de gases acoplado a masa
PCBs	Bifenilpoliclorados
PCDDs	Policlorodibenzodioxinas
PCDFs	Policlorodibenfuranos
SCAN	Monitoreo múltiple de iones
SIR	Registro selectivo de iones
TIC	Corrida total de iones

RESUMEN

Los bifenilos policlorados (PCBs) son hidrocarburos aromáticos clorados, de los que se conoce alrededor de unos 200 compuestos. Son considerados productos peligrosos debido a su persistencia en el medio ambiente, a su capacidad de bioacumularse en las cadenas tróficas, no degradarse en el ambiente y causar efectos adversos en organismos expuestos a ellos. Una de sus propiedades más importantes, es su buena conductividad calorífica y, sobre todo, su capacidad de aislamiento eléctrico. Por ello los PCBs han sido empleados en los circuitos hidráulicos y en los de refrigeración, y como aislante en condensadores y transformadores.

El presente trabajo pretende el desarrollo y validación de un método por espectrometría de masa en modalidad SIR para la determinación de PCBs en aceite de transformadores.

El método se basa en una extracción rápida (1 min) de los PCBs desde el aceite con un volumen determinado de metanol y en la determinación directa en el extracto por GC-MS. El método propuesto fue aplicado a la determinación de PCBs en muestras reales de aceites de transformadores.

Por otro lado dos variables fueron optimizadas, volumen de disolvente y tiempo de extracción, esta optimización se hizo mediante una técnica de análisis de multivariado, lo que arrojó como óptimo un volumen de 6,3 mL y un tiempo de extracción de sólo 1,0 minuto, para un volumen de muestra de 4 mL.

La precisión del método desarrollado, expresada como coeficiente de variación (CV) fue de alrededor de un 2 % para los congéneres más pesados y de un 4% para los congéneres más livianos.

Los límites de detección y de cuantificación se encontraron entre un 0,15-0,17 y 0,5-0,55 mg/kg respectivamente, para los PCBs más pesados y entre un 0,14-0,17 y 0,45-0,58 mg/kg respectivamente, para los PCBs más livianos.

Finalmente la exactitud, expresada como porcentaje de recuperación, fue de un 90% para los PCBs más pesados y entre un 30 a 60% para PCBs más livianos.

La principal ventaja del método propuesto es la rapidez para discriminar entre un residuo peligroso (> 50 mg/Kg de PCBs) o no peligroso (< 50 mg/Kg de PCBs).

ABSTRACT

Polychlorinated biphenyl (PCBs) are aromatic hydrocarbons chlorinated, of that two hundred combinations are known. They are considered dangerous products due to their persistence in the environment, for their capacity to be bioaccumulated in the food chain, not to degrade in the environment and to cause adverse effects in organisms exposed them. One of the more important properties is the good calorific conductivity and especially, their capacity of electrical isolation. Due this, PCBs have been used in the hydraulic circuits and in those of refrigeration, and as insulating in condensers and transformers.

The present work describes the development and validation of a method by mass spectrometry in single ion recording (SIR) for the determination of PCBs in transformers oils.

The method is based on the rapid extraction (1 min) of PCBs in methanol and the direct determination in the extract by GC-MS.

The proposed method was applied to the determination of PCBs in real samples of transformer oils.

On the other hand, two variables was optimized, solvent volume and extraction time. This optimization was carried out by multivariate analysis, giving as optimal results a value of 6 ml for the extraction volume and 1 minute of extraction time, for 4 mL of the sample.

The precision of developed method, expressed as Coefficient of variation (CV), was 2 % to heaviest PCBs and 3-4% to lightest PCBs.

The detection and quantification limits were 0.15-0.17 and 0.5-0.55 mg/kg to heaviest PCBs and 0.14-0.17 and 0.45-0.58 mg/kg to lightest PCBs respectively.

Finally the accuracy was expressed as percentage recovery obtaining 90% to heaviest PCBs and 30 to 60 % to lightest PCBs.

The principal advantage of the proposed method is the rapidity to discriminate between a dangerous (> 50 mg/Kg of PCBs) or not dangerous residues (< 50 mg/Kg of PCBs).

INTRODUCCION

Antes de 1880 la industria eléctrica enfriaba los condensadores y transformadores con aceite mineral, un líquido que a pesar de tener menor densidad que el agua, ser biodegradable y un buen conductor del calor, tenía muchos riesgos de explosión. Años más tarde se descubrió que al introducir moléculas de cloro al benceno, la combustibilidad del aceite mineral desaparecería y podía utilizarse como conductor dieléctrico, resistente a altas temperaturas, y además con la ventaja de mantener su estado físico.

Fue en 1929 cuando la compañía norteamericana Swann Chemical Company comenzó a fabricar y a comercializar los primeros Ascareles, llamados científicamente Bifenilos policlorados (PCBs).

Estos compuestos fueron utilizados principalmente como aislante eléctrico tanto en transformadores como en condensadores. Su uso también fue extendido a la industria del plástico como plastificante; como aditivo en lubricantes, preservantes de la madera, entre muchas otras aplicaciones.

En 1933 se registraron los primeros problemas de salud debido a la manipulación de estos compuestos, la mayoría de los trabajadores de la industria Swann presentaron manchas en sus caras y cuerpo.

Hoy en día se sabe que estas sustancias, no sólo representan un riesgo para la salud del hombre y de los animales, sino que también, debido a sus características químicas de estabilidad y difícil degradabilidad, pertenecen al grupo de contaminantes orgánicos persistentes o COPs, (tabla 1), compuestos altamente dañinos para el medio

ambiente. Además estas sustancias están incluidas en la "docena sucia", un listado de los doce contaminantes más peligrosos del planeta.

Tabla 1: Contaminantes orgánicos persistentes

DDT	Aldrín
Dioxinas	Dialdrín
Furanos	Endrín
Hexaclorobenceno	Clordano
PCBs	Mírex
toxafeno	heptacloro

Por otro lado, la producción y el empleo de los PCBs durante décadas principalmente en aceites de transformadores, han provocado que sean contaminantes ambientales presentes en lugares tan alejados como lo son el Ártico y el Cabo de Hornos (greenpeace, 2005).

Ante la evidencia de la alta toxicidad de estos compuestos, los países industrializados prohibieron su fabricación y colocaron restricciones a su uso.

En 1978 la ONU recomendó su destrucción mediante incineración controlada a altas temperaturas. Según datos de algunos organismos internacionales, el total mundial de PCBs fabricados es de aproximadamente un millón doscientos mil toneladas.

La Norma Chilena 382 del Instituto Nacional de Normalización, INN, clasifica a los PCBs como clase 6, perteneciente a la división 6.1 de sustancias venenosas (tóxicas), ya que pueden causar la muerte o lesiones graves o que pueden ser nocivas para la salud humana y/o animal, si se ingieren o inhalan o si entran en contacto con la piel (NCh 382,1998).

Hoy en día, si bien se han informado diversos métodos analíticos para la extracción de estos compuestos en aceites de transformadores (Takada y col, 2001; Kyoung y col,

2004; Ramil y col, 2004), es también cierto que no existe un método analítico rápido y sencillo aceptado para su determinación.

Se han informado métodos para la determinación de estos en aire, agua, suelos, lodos (Rosinska y col, 1999) y muestras biológicas (Björklund y col, 2001; Punín y col, 2005), pero estos métodos no son fácilmente adaptables a aceites, debido a la gran afinidad que existe entre este tipo de matrices y los PCBs.

Las metodologías propuestas se basan en procesos de disolución y limpieza de las muestras (proceso de clean-up), previo a la determinación instrumental, la cual generalmente se lleva a cabo por cromatografía gaseosa, (GC).

Debido a la complejidad de las etapas de preparación de muestras propuestas, estas metodologías pueden estar sujetas a mayores errores en la determinación de los PCBs. Su determinación requiere en general, métodos largos y costosos, además de un gasto excesivo de reactivos.

En función de los antecedentes expuestos, se desarrolló y validó un método rápido por espectrometría de masas (MS) acoplado a cromatografía de gases (GC) utilizando modalidad de registro selectivo de iones (SIR) para la determinación de diferentes Arocloros (Aroclor 1242, 1254 y 1260) y su posterior aplicación de este, a muestras reales en aceites de transformadores.

El método propuesto en esta investigación tiene como objetivo, reducir la laboriosidad, el tiempo de análisis, la contaminación (gracias al menor uso de disolventes orgánicos), la falta de repetibilidad y además el riesgo de pérdida de muestra.

La importancia de desarrollar un método de determinación rápida radica en la posibilidad de determinar la posible contaminación de aceites de transformadores en el menor tiempo posible.

La metodología propuesta, se basa en una extracción líquido-líquido, usando como disolvente metanol. La extracción se realiza en un agitador y enseguida para obtener una buena separación de fases, la muestra se somete a centrifugación. El sobrenadante es separado del aceite por medio de jeringas. Posteriormente el disolvente se evapora mediante el uso de un rotaevaporador. El extracto se reconstituye con un volumen determinado de una solución metanólica de hexaclorobenceno, el cual se utiliza como estándar interno. Finalmente la muestra es inyectada a un cromatógrafo de gases y la cuantificación de los congéneres se realiza mediante un detector de masa, permitiendo con esto la confirmación inequívoca de los compuestos detectados.

Para obtener una mejor recuperación de los PCBs extraídos es necesario optimizar tanto el volumen del disolvente, como el tiempo de extracción. Esta optimización se realizó mediante un análisis de multivariado, (diseño experimental).

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes generales de los PCBs

2.1.1 Propiedades físico-químicas de los PCBs

Físicamente, los PCBs presentan desde aspecto aceitoso hasta resinas duras y transparentes o cristales blancos, dependiendo del grado de cloración de la molécula. Casi siempre se presentan como mezclas. Estos presentan densidades que van desde 1,38 a 1,57 kg/L

Estos tipos de compuestos, poseen constantes dieléctricas altas, de ahí su uso en aceites de transformadores, y una gran estabilidad térmica y química. Estas últimas dos características los hacen pertenecer a la familia de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs).

A temperaturas elevadas y durante su combustión desprenden productos como: ácido clorhídrico, dióxido de carbono, monóxido de carbono, pueden también desprender, bajo ciertas condiciones de temperaturas (bajo los 700°C), productos muy tóxicos como policlorodibenzodioxinas (PCDDs) y policlorodibenzofuranos (PCDFs), (figura 1). Cuanto mayor es la temperatura, menor es el porcentaje de estos tóxicos llegando a una pureza de eliminación de un 99%.

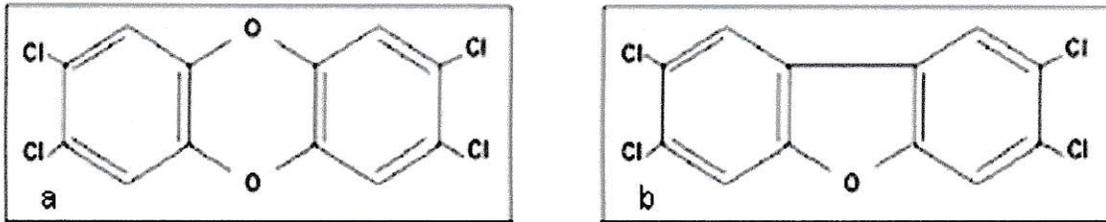


Figura 1 : Estructura de (a) PCDDs y (b) PCDFs. Compuestos generados durante la combustión de los PCBs.

Todos los congéneres de dioxinas y furanos son planos, esto es, todos los átomos de C, O, H y Cl se encuentran en el mismo plano. La figura 2 muestra la reacción química la formación de PCDFs. En esta reacción los átomos de X e Y pueden ser cloro los dos, o bien uno puede ser hidrogeno y el otro cloro. De manera que la molécula que se elimina es Cl_2 o HCl , respectivamente. Con las distintas combinaciones, existen 75 congéneres de PCCDs y 135 congéneres de PCDFs.

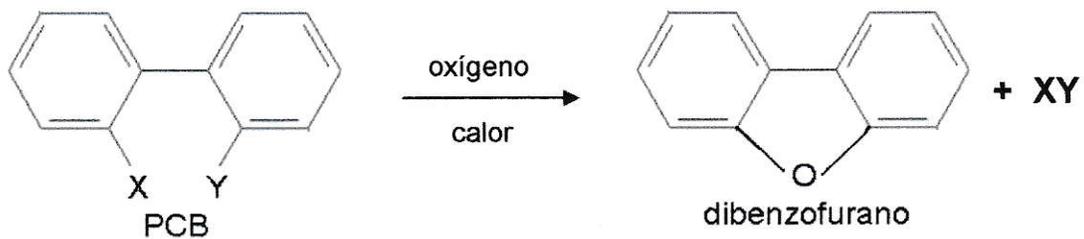


Figura 2: Formación de PCDFs durante la combustión de los PCBs.

2.1.2 Química de los PCBs

Aunque el benceno es un compuesto muy estable, el calentamiento a altas temperaturas es capaz de romper los enlaces carbono-hidrógeno. Este hecho es explotado comercialmente cuando el benceno se calienta a alrededor de 750°C, en presencia de plomo, que actúa como catalizador para formar bifenilo, que es una molécula en la que dos anillos bencénicos están unidos por un enlace simple formado entre los dos carbonos que han perdido su átomo de hidrógeno. La figura 3, muestra la reacción que tiene lugar entre dos anillos bencénicos para formar un bifenilo.

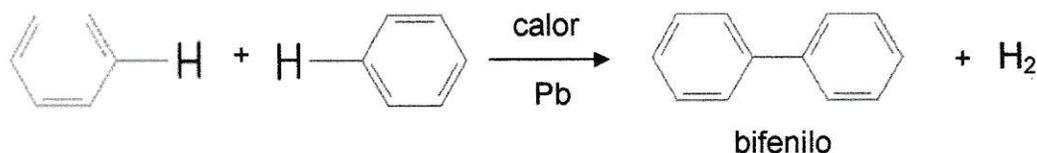


Figura 3: Formación del anillo bifenilo

Igual que el benceno, si el bifenilo reacciona con el Cl_2 en presencia de un catalizador de cloruro de hierro, algunos de sus átomos de hidrógeno quedan reemplazados por cloro. Cuanto más cloro este inicialmente presente y cuanto mayor sea el tiempo de reacción, mayor es la extensión de la cloración de la molécula de bifenilo.

Los productos generados son bifenilos policlorados o PCBs. Estas reacciones entre bifenilos y átomos de cloro producen una mezcla de 209 congéneres de la misma familia de los PCBs; las proporciones exactas dependen de la proporción de cloro a bifenilo, así como del tiempo de reacción y de la temperatura (Baird, C. 2001).

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 aislado los compuestos individuales de PCBs; en lugar de ello, se han vendido como mezclas parcialmente separadas, con un contenido promedio de cloro en diferentes productos comprendido entre 21 y 68 %. (Baird, C. 2001).

Entre los PCBs se presta especial atención en cuanto a toxicidad, a dos grupos de compuestos denominados "PCBs similares a dioxinas" (tabla 2), que presentan una toxicidad similar a la de las dioxinas (Schinitman, N.I. 2000). El número y la posición de los átomos de cloro determinan las propiedades biológicas y el comportamiento ambiental de cada PCBs.

En base a lo anterior, los PCBs coplanares son considerados de alta toxicidad, estos PCBs son los que no tienen cloro en las posiciones *orto*, y agrupa a un 6% de los PCBs conocidos (Shain, y col. 1991). Por otro lado están los que sólo tienen un átomo de cloro en una de las cuatro posiciones *orto*, estos PCBs son llamados mono-ortoclorados.

La gran mayoría de los estudios de estos compuestos se han centrado en su solubilidad en el agua y se ha determinado que existe una correlación inversa entre su solubilidad y el grado de cloración.

La solubilidad de los Arocloros en agua se encuentran entre 0,016 a 640 µg/L para congéneres individuales con alto contenido de cloro. Los Arocloros cuyo contenido de cloro va desde un 40 a 60% tienen una solubilidad en agua entre 2,7 y 250 µg/L.

Tabla 2: PCBs con estructuras similares a dioxinas

Número	Estructura	Número	Estructura
77		126	
81		156	
105		157	
114		167	
118		169	
123		189	

2.1.3 Efecto de los PCBs sobre la salud humana

La mayor parte de la información disponible sobre los efectos de los PCBs proviene de estudios en animales (Goldey y col, 1995) 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 USA, los PCBs pertenecen a la categoría de altamente cancerígenos.

Tradicionalmente las investigaciones se han orientado a determinar la carcinogenicidad de los PCBs; sin embargo, hoy en día se sabe que la exposición a ellos provoca un amplio espectro de problemas en la salud. Las exposiciones agudas a niveles altos de PCBs han sido asociadas a problemas de picazón y pigmentación de la piel, irritación de ojos, alteraciones en la función hepática y en el sistema inmunológico, irritación del tracto respiratorio, dolores de cabeza, mareos, depresión, pérdida de la memoria, fatiga e impotencia. Los efectos crónicos a dosis bajas de PCBs incluyen daños sobre el hígado, alteraciones de la reproducción y el desarrollo.

En los países industrializados suelen hacerse estudios para conocer los niveles de los PCBs en la población, y una de las variables que se analiza es su concentración en leche materna. Esto es debido a que el alto contenido de grasa de la leche conlleva al almacenamiento de PCBs allí, y por lo tanto, su transferencia al niño durante la etapa de la lactancia.

Debido a su carácter altamente liposoluble, es que estos compuestos pueden penetrar al cuerpo humano a través de la piel, pulmones y tracto intestinal.

Una vez que han ingresado al cuerpo humano son llevados a los tejidos grasos a través de la sangre y depositados en órganos como los riñones, pulmones, cerebro, corazón, y piel.

Pero no solamente penetran PCBs en los seres humanos u otros organismos, sino también dioxinas y furanos que se almacenan en la grasa al igual que los PCBs. Con el fin de disponer una medida de la toxicidad neta en los organismos, es que los científicos a menudo dan cuenta de las concentraciones de estos organoclorados en términos del 2,3,7,8 – TCDD, que si estuviese presente sólo, produciría el mismo efecto tóxico que este compuesto, y han definido el “factor equivalente de toxicidad”, o TEQ, el cual relaciona la toxicidad de cada congéner de PCDDs, PCDFs y PCBs a la del 2,3,7,8 -TCDD , a la cual se le asigna arbitrariamente un valor de 1,0 (Baird, C. 2001).

En la figura 4 se muestra una gráfica de barras relativas a los valores de TEQ para la contaminación de varios tipos de alimentos que se adquieren en los supermercados de los EEUU. Adviértase que los pescados de agua fresca contienen las mayores cantidades de toxicidad por PCBs y PCDFs.

Por otra parte, una dieta vegetariana consistente en legumbres, frutas y cereales, sin productos procedentes de animales, tiene un TEQ muy bajo comparada con el correspondiente a una dieta que contiene alimentos derivados de animales. (Schechter, A., y col. 1997).

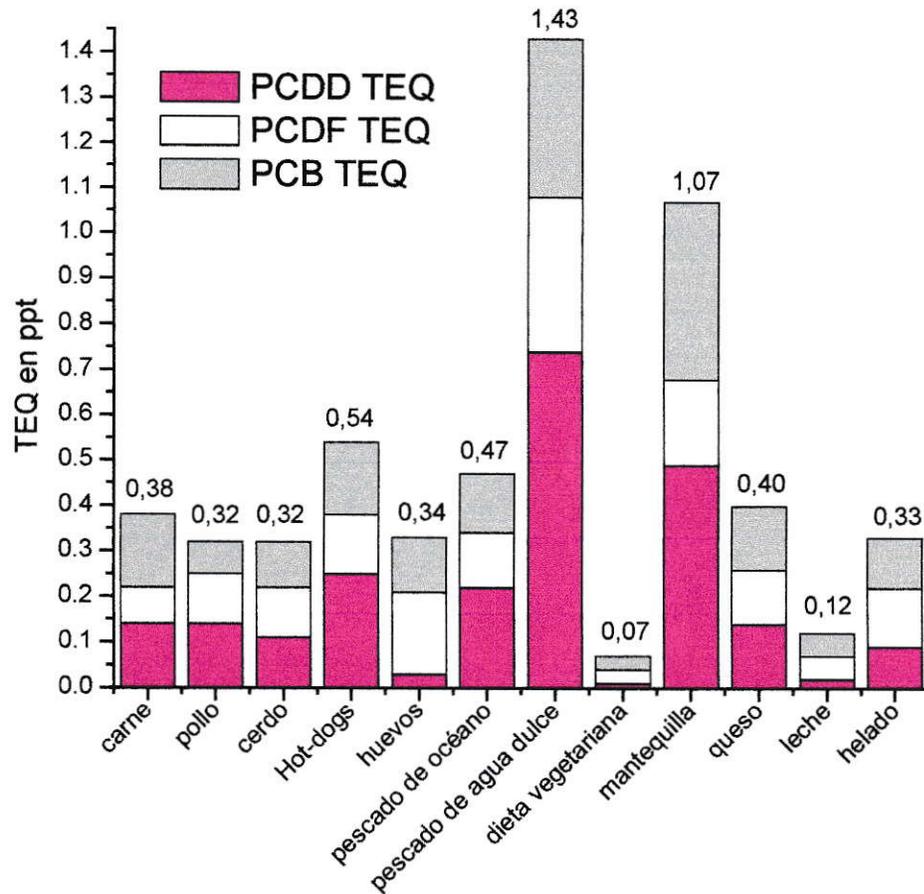


Figura 4: Valores de TEQ para PCDD, PCDF y PCBs, en alimentos de supermercados en EEUU.

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, de ahí que reciben el nombre de “Estrógenos Ambientales” (Freué, J. 2006).

Sin embargo, es difícil demostrar el origen de enfermedades neoplásicas para comprobar su relación con este tipo de contaminantes.

Si bien la relación entre PCBs y cáncer es estrecha, todavía no está del todo demostrado que estos compuestos sean realmente culpables de muchas enfermedades neoplásicas en trabajadores o poblaciones "accidentalmente" expuestas.

2.1.4 PCBs en el medio ambiente

Como se dijo anteriormente los PCBs son resistentes al fuego, muy estables, no conducen electricidad y tienen baja volatilidad a temperaturas normales. Estas y otras características los han hecho ideales para la elaboración de una amplia gama de productos industriales y de consumo. Pero son estas mismas cualidades las que hacen a estos compuestos peligrosos para el ambiente, especialmente su resistencia extrema a la ruptura química y biológica a través de procesos naturales.

Irónicamente su estabilidad química, que ha contribuido a su uso industrial extenso, es también uno de los aspectos que causa la preocupación más grande. Esta resistencia inusual, más su tendencia a permanecer y acumularse en organismos vivos, genera la presencia de PCBs en el ambiente y una amplia dispersión con sus consecuentes efectos.

La liberación de PCBs en el ambiente está relacionada a derrames accidentales, y escapes durante su transporte; por escapes o incendios de productos que contenían estos compuestos; a través de accidentes industriales, disposición impropia y disipación ambiental en locales específicos, como por ejemplo, en sedimentos (ATSDR. 2001).

Las principales fuentes de entrada y dispersión de PCBs en el medio ambiente incluyen los residuos gaseosos de iniciadores, los residuos de industrias que manipulan aceites, ceras, tintas, el drenaje de aterramientos sanitarios que contengan papeles, plásticos o resinas, drenaje de aguas de irrigación donde se usaron pesticidas que contenían PCBs, reciclaje de papeles, contaminación directa a través de la manipulación indebida o el vaciamiento de fluidos de condensadores y transformadores, fluidos hidráulicos o aceites y concentración en materiales biológicos.

Una vez en el ambiente, los PCBs no se degradan fácilmente y por lo tanto, pueden permanecer en el ambiente largo tiempo.

Pueden circular fácilmente entre el aire, el agua y el suelo. Por ejemplo, los PCBs pueden entrar al aire por evaporación desde el suelo y desde el agua. En el aire, pueden ser transportados largas distancias. La región ártica es un sumidero hemisférico para los PCBs y otros contaminantes orgánicos persistentes, debido a que estas sustancias se acumulan en el ambiente frío y se concentran en los tejidos grasos de los animales y la gente.

Como consecuencia, los PCBs se encuentran en todo el planeta. En general, mientras más livianos son los PCBs, a más distancia de la fuente de contaminación pueden ser transportados. En la atmósfera, los PCBs 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 (ATSDR. 2000).

En el agua pueden ser transportados por corrientes, pueden adherirse a sedimentos del fondo o a partículas en el agua, y pueden evaporarse al aire. Los PCBs pesados se depositarán preferentemente en sedimentos, mientras que es más probable que los más livianos se evaporen al aire.

Los sedimentos que contienen PCBs también pueden liberar PCBs al agua que los rodea. Estos compuestos 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 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. 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. 2000).

2.1.5 Norma para los PCBs

En mayo del 2001 se firmó el llamado convenio de Estocolmo, tratado global que tiene como objetivo proteger la salud humana y el ambiente contra los contaminantes orgánicos persistentes o COPs. Para implementar la Convención, en nuestro país se tomaron medidas para restringir la producción y el uso de los COPs seleccionados. Con respecto a los PCBs, existe una resolución de la Superintendencia de Electricidad y Combustibles que prohíbe el uso de ellos en equipos eléctricos nuevos. Además, debemos destacar que se están haciendo los inventarios de PCBs y dioxinas y furanos. Por su parte la CONAMA está desarrollando también un catastro de sitios contaminados por estas sustancias.

Finalmente se destaca también la publicación de un manual para la identificación y el manejo ambientalmente adecuado de los PCBs, trabajo que ha tomado varios años y que ha sido financiado por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y el Fondo COPs de Canadá.

En una gran cantidad de países, incluido el nuestro, si un transformador contiene una proporción menor a 50 partes por millón de PCBs en su refrigerante, se considera "libre de PCBs". Es decir, que "la concentración no representa riesgo alguno para el medio ambiente ni para el personal que los debe operar y mantener".

El 16 de Junio del año 2004 se publicó en el Diario Oficial de la República, el reglamento sanitario sobre manejos de residuos peligrosos (D.S N° 148, 2003).

En este reglamento se 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) ó bifenilo polibromado (PBB), ó cualquier otro compuesto polibromado análogo, con una concentración igual o superior a 50 mg/kg”. (Art.19. A3180).

2.1.6 Degradación de los PCBs

Como resultado de la alta estabilidad mencionada anteriormente, los PCBs son compuestos difíciles de degradar. La degradación de estos, está vinculada a mecanismos de destrucción química, bioquímica o térmica. Los métodos más frecuentes son la fotólisis y la incineración.

La fotólisis es el proceso más utilizado para la degradación de los PCBs. Este proceso utiliza los radicales libres producidos de la radiación solar, para remover los átomos de cloro desde el anillo bifenilo. Este método está limitado a PCBs que se encuentran en el aire y en el agua.

Por otro lado la incineración a altas temperaturas es una tecnología bien establecida y fácilmente disponible en muchos países industrializados. La efectividad de la incineración es función del tiempo de residencia, la temperatura, la turbulencia y la concentración de oxígeno. Para mantener esos parámetros en el punto deseado y asegurar la eficacia del sistema de depuración del gas, es preciso mantener un riguroso control del proceso.

Temperaturas inferiores a los 1200-1300 °C en el horno pueden dar lugar a la formación de dioxinas y p-dibenzo furanos, compuestos que son un millón de veces más tóxicos que los cianuros. Esta tecnología tiene las desventajas de que sus costos son muy elevados y no son completamente aceptadas por la población.

Existen otras tecnologías actualmente disponibles para el tratamiento de aceites, aguas y suelos contaminados con PCBs, sin tener que utilizar la incineración, aunque muchas de ellas están implementadas sólo a escala de laboratorio, entre ellas se encuentran:

1. Procesos de decloración: Con los procesos de decloración se trata de poder reutilizar/reciclar el aceite libre de cloro.

Decloración química: los procesos químicos están bien sistematizados y se utilizan comercialmente para el tratamiento de PCBs líquidos y de aceites contaminados con PCBs. El contenido de cloro se convierte en sales inorgánicas, que se pueden extraer de la fracción orgánica por filtración o centrifugación. Las reacciones se realizan en atmósfera inerte (para evitar todo riesgo de incendio) y en ausencia de agua (los desechos se deshidratan previamente por calentamiento).

Decloración con sodio metálico: La tecnología más frecuente se basa en el uso de sodio metálico para desclorar las moléculas de PCBs y generar 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, generando 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 PCBs produciendo cloruro sódico.

2. Sistemas de arco plasmático: Los sistemas de arco plasmático crean un campo de plasma térmico, dirigiendo una corriente eléctrica a través de una corriente de gas a baja presión, para el tratamiento de materias orgánicas cloradas y otros desechos. El proceso alimentado eléctricamente se puede cortar o iniciar en pocos segundos. El desecho se piroliza en iones y átomos a una temperatura superior a 3000°C. Entre los productos finales figuran gases (argón, dióxido de carbono y agua) y una disolución acuosa de sales de sodio.

3. Degradación biológica: La tendencia a biodegradarse de los PCBs varía en función del grado de cloración y la posición de los átomos de cloro. No obstante, existen numerosas investigaciones que demuestran que los átomos de cloro de las moléculas de PCBs pueden ser eliminados por procesos anaerobios, seguidos por la oxidación por bacterias aerobias, resultando en la degradación de la mayoría de los PCBs.

4. Oxidación con agua supercrítica: Por encima de su punto crítico el agua se transforma en un medio único de reacción, donde los hidrocarburos y el oxígeno molecular tienen una solubilidad infinita. Los principales productos de oxidación son: ácido acético, alcoholes y residuos orgánicos. El agua en condiciones supercríticas es efectiva en la oxidación de los PCBs. Para lograr una oxidación completa se han utilizado catalizadores en este sistema. Una ventaja del sistema de oxidación catalítica con agua supercrítica es la ausencia de formación de Coque y de envenenamiento del catalizador. Las principales desventajas de este sistema son los requerimientos de altas temperaturas (450-500 °C), altas presiones (240-300 atm) y oxígeno molecular puro, así como también problemas de corrosión. Todos estos hechos hacen que esta tecnología sea costosa.

2.2 Cromatografía Gaseosa acoplada a un Espectrómetro de Masas.

La cromatografía gas-líquido es una de las técnicas más utilizada para realizar separaciones analíticas de una mezcla compleja. Su fundamento se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida, que se encuentra inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte dentro de una columna.

En cromatografía de gases, la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatografica, y a diferencia de otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es transportar el analito a través de la columna (Skoog^a y Leary,1994).

En el interior de la columna se produce un equilibrio de distribución líquido-gas. Aquellos componentes de la muestra que son retenidos con fuerza por la fase estacionaria son eluidos lentamente con el flujo de la fase móvil, y por el contrario aquellos que se unen debilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como resultado de esto, los componentes de la muestra se separan en bandas discriminadas que pueden ser analizadas cualitativamente y/o cuantitativamente a partir de un cromatograma. Estas bandas representan el área obtenida en función del tiempo de retención, el que es propio para cada uno de los analitos a determinar.

Una de las ventajas más importantes que posee la cromatografía de gases, es que con poca cantidad de muestra, se logra tener una alta sensibilidad (límites de detección del orden de los ppm y ppb), y además una buena exactitud.

En la salida de la columna del cromatógrafo gaseoso se acopla como detector, un dispositivo espectral que permite comprobar la aparición de los picos al final de la columna y proporcionar información acerca de su identidad.

De los diferentes acoplamientos desarrollados en relación al estudio de mezclas volátiles, el acoplamiento GC-MS es el que ha recibido mayor atención desde su inicio. La popularidad alcanzada por la cromatografía de gases capilar en las últimas décadas, y los avances espectaculares en el campo de los computadores y de la microelectrónica, han hecho posible la fabricación de sistemas GC-MS sencillos de sobremesa, totalmente controlados por computador y de manejo muy simple y relativamente bajo costo, válidos para análisis de rutina.

Existen dos tipos de espectrómetros de masas para GC-MS: espectrómetros de sector magnéticos y filtros de masa de cuadrupolos. Los analizadores de masa cuadrupolares sirven para registrar iones negativos, ya que el analizador no discrimina los iones por su polaridad. Estos pueden alcanzar una velocidad máxima de barrido de alrededor de 780 unidades de masa por segundo, a su vez se puede lograr velocidades de barrido mayores aumentando la energía de ionización simultáneamente con la rampa de barrido de masas, con el fin de mantener una velocidad de iones más constantes y reducir el tiempo de tránsito de los iones más pesados.

Los espectrómetros de masas pueden utilizarse como detectores para cromatografía de gases en tiempo real. La corriente total de electrones se registra y se mide como función del tiempo, siendo una medida del número total de iones formados del material en el eluyente.

En el caso de la detección con iones selectivos (SIR), durante el ciclo de elución, se registran las intensidades de iones preseleccionados, característicos de un compuesto en particular o de una clase de compuestos.

Esta técnica es favorable para los análisis que requieren de la máxima sensibilidad, especialmente en el trabajo ambiental o biológico.

Con la detección múltiple de iones (SCAN), las intensidades de un intervalo de iones preseleccionados se registran como una función del tiempo. El analizador del espectrómetro de masa cicla por el grupo de iones que se registra varias veces por segundo. Este tipo de detección es útil para descubrir picos solapados y cuando se ensaya con un isótopo estable incorporando a las moléculas de la muestra.

Las ventajas de utilizar un espectrómetro de masa (MS) como detector para GC, son su alta sensibilidad y especificidad en la identificación de compuestos desconocidos o en la confirmación de la presencia de compuestos.

El analizador de masa de cuadrupolo es probablemente el más utilizado, ya que además de su alto desempeño analítico, combina facilidad de uso.

La Figura 5 muestra un MS simplificado cuadrupolar. La parte más importante del instrumento es el conjunto de cuatro barras cilíndricas de metal que sirven de electrodos del filtro de masas. Los iones de la fuente son acelerados por un potencial entre 5 a 15 V, e introducidos en el espacio entre las barras. Las barras opuestas se conectan eléctricamente, un par al polo positivo de una fuente variable de corriente continua y el otro par a la terminal negativa. Además se aplican a cada par de barras potenciales variables de corriente alterna de radiofrecuencia. Las barras cilíndricas son normalmente de 6 mm de diámetro y aproximadamente 15 cm de longitud.

Estas barras están sujetas rígidamente sobre soportes cerámicos que proporcionan una buena estabilidad mecánica, aunque cambie la temperatura. (Skoog^b y Leary, 1994).

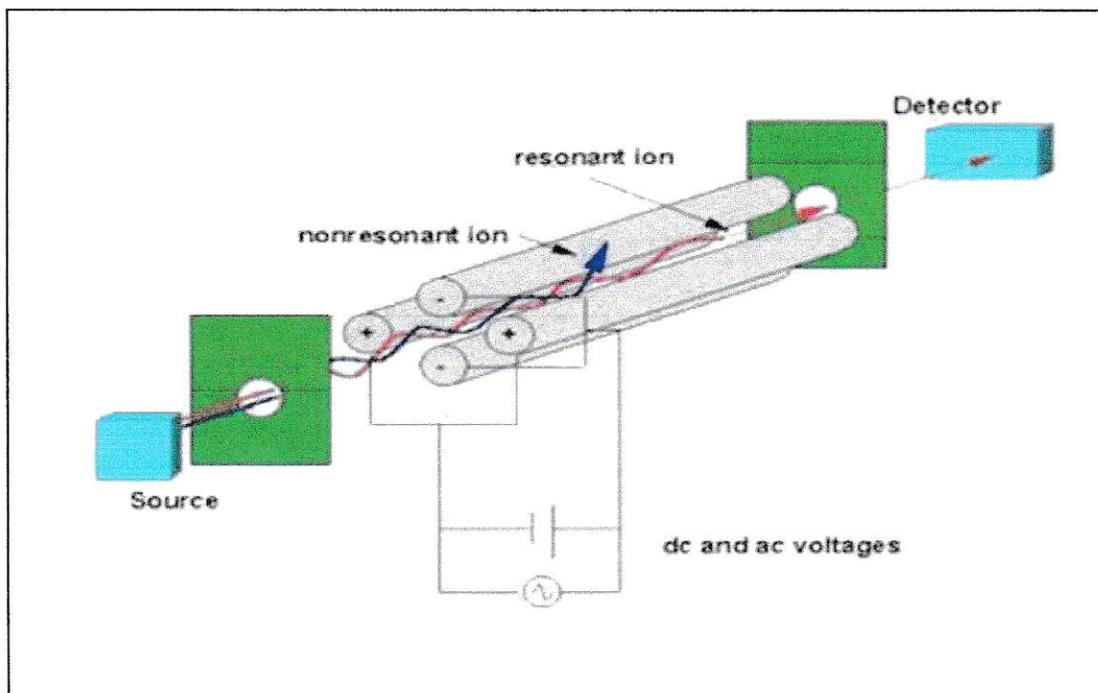


Figura 5 : Detector de masas con cuadrupolo

Por otro lado están los detectores de sector magnético, cuyas mayores ventajas son su capacidad de conseguir alta resolución y alto rango de masas, así como la sensibilidad y otras cualidades derivadas de la óptica de alta energía que utilizan. Como consecuencia de una mayor resolución, estos espectrómetros son capaces de realizar medidas más exactas, lo que les hace muy útiles en estudios de dilucidación estructural de compuestos conocidos, ya que pueden eliminarse las interferencias de otros compuestos presentes, cuyos espectros presentan a la misma masa nominal que los picos del espectro de la sustancia de interés, evitando los llamados “falsos positivos”. (Plascencia, G. 2003).

Las principales ventajas de los cuadrupolos, comparada con los instrumentos de sector magnético, son su menor costo, menor tamaño, escala más lineal, mayor velocidad de barrido y simplicidad de construcción y manejo.

Por el contrario sus desventajas provienen principalmente de su limitado poder de resolución y su baja transmisión a masas altas (Esteban, L. 1993).

2.3 Diseño experimental

Para optimizar procesos de fabricación, condiciones de reacción y métodos de análisis entre otros, es necesario conocer que variables influyen significativamente en el sistema y cómo afectan. A menudo esta información no está disponible y se genera experimentando

El elevado coste de la experimentación y las limitaciones de tiempo obligan a ejecutar sólo los experimentos imprescindibles. Y el método tradicional de variar un sólo factor a la vez no suele ser la mejor opción. Puede implicar más experimentos de los necesarios y, a pesar de ello, proporcionar sólo información parcial. Por ejemplo no nos mostrará si existe interacción entre factores. Las interacciones suelen ser muy corrientes y a veces son los efectos más importantes, por lo que conocerlas es imprescindible para comprender el comportamiento de muchos sistemas.

El diseño de experimentos estadísticos contempla una amplia variedad de estrategias experimentales, que son óptimas para generar la información que se busca.

Una de estas estrategias es el diseño experimental 2^k , en donde se describen los experimentos más adecuados para conocer simultáneamente qué efecto tienen k factores sobre una respuesta y descubrir si interaccionan entre ellos.

Estos experimentos están planeados de forma que si varían simultáneamente varios factores correlacionados se evita repetir experimentos (Ferré, J.2004).

Además, los experimentos se complementan de tal modo que la información buscada se obtiene combinando respuestas de todos ellos. Esto permite obtener la información con un mínimo número de experimentos y con la menor incertidumbre posible (porque los errores aleatorios de las muestras se promedian).

La figura 6 muestra las matrices 2^2 y 2^3 , para el estudio de 2 y 3 factores respectivamente. La matriz comprende 2^k filas ($2 \times 2 \times \dots = 2^k$ experimentos) y k columnas, que corresponden a los k factores de en estudio. Si se construye en el orden estándar cada columna empieza por el signo -, y se alternan los signos - y + con frecuencia 2^0 para x_1 , 2^1 para x_2 , 2^2 para x_3 , y así sucesivamente hasta x_k , donde los signos se alternan con una frecuencia 2^{k-1} .

La notación -1 o simplemente - se le asigna al valor extremo inferior del dominio experimental y el valor +1 ó +, al extremo superior.

	X_1	X_2		X_1	X_2	X_3
1	-	-	1	-	-	-
2	+	-	2	+	-	-
3	-	+	3	-	+	-
4	+	+	4	+	+	-
			5	-	-	+
			6	+	-	+
			7	-	+	+
			8	+	+	+

Figura 6: Matriz de experimentos para los diseños factoriales completos 2^2 y 2^3

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes generales de los PCBs

2.1.1 Propiedades fisico-químicas de los PCBs

Físicamente, los PCBs presentan desde aspecto aceitoso hasta resinas duras y transparentes o cristales blancos, dependiendo del grado de cloración de la molécula. Casi siempre se presentan como mezclas. Estos presentan densidades que van desde 1,38 a 1,57 kg/L

Estos tipos de compuestos, poseen constantes dieléctricas altas, de ahí su uso en aceites de transformadores, y una gran estabilidad térmica y química. Estas últimas dos características los hacen pertenecer a la familia de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs).

A temperaturas elevadas y durante su combustión desprenden productos como: ácido clorhídrico, dióxido de carbono, monóxido de carbono, pueden también desprender, bajo ciertas condiciones de temperaturas (bajo los 700°C), productos muy tóxicos como policlorodibenzodioxinas (PCDDs) y policlorodibenzofuranos (PCDFs), (figura 1). Cuanto mayor es la temperatura, menor es el porcentaje de estos tóxicos llegando a una pureza de eliminación de un 99%.

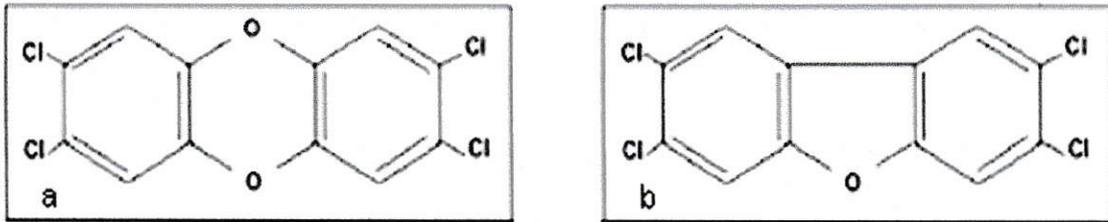


Figura 1 : Estructura de (a) PCDDs y (b) PCDFs. Compuestos generados durante la combustión de los PCBs.

Todos los congéneres de dioxinas y furanos son planos, esto es, todos los átomos de C, O, H y Cl se encuentran en el mismo plano. La figura 2 muestra la reacción química la formación de PCDFs. En esta reacción los átomos de X e Y pueden ser cloro los dos, o bien uno puede ser hidrogeno y el otro cloro. De manera que la molécula que se elimina es Cl₂ o HCl, respectivamente. Con las distintas combinaciones, existen 75 congéneres de PCCDs y 135 congéneres de PCDFs.

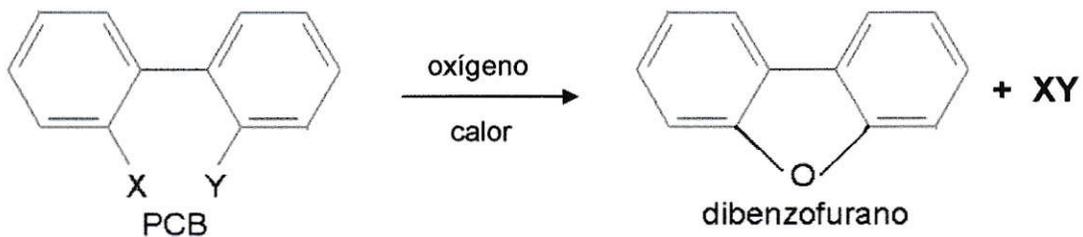


Figura 2: Formación de PCDFs durante la combustión de los PCBs.

2.1.2 Química de los PCBs

Aunque el benceno es un compuesto muy estable, el calentamiento a altas temperaturas es capaz de romper los enlaces carbono-hidrógeno. Este hecho es explotado comercialmente cuando el benceno se calienta a alrededor de 750°C, en presencia de plomo, que actúa como catalizador para formar bifenilo, que es una molécula en la que dos anillos bencénicos están unidos por un enlace simple formado entre los dos carbonos que han perdido su átomo de hidrógeno. La figura 3, muestra la reacción que tiene lugar entre dos anillos bencénicos para formar un bifenilo.

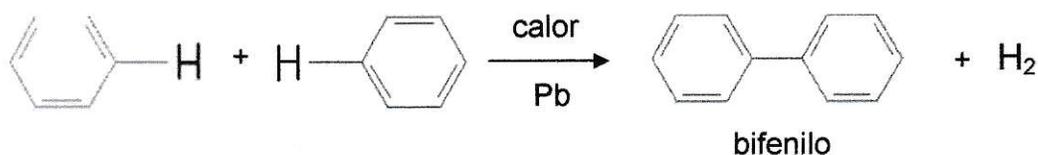


Figura 3: Formación del anillo bifenilo

Igual que el benceno, si el bifenilo reacciona con el Cl_2 en presencia de un catalizador de cloruro de hierro, algunos de sus átomos de hidrógeno quedan reemplazados por cloro. Cuanto más cloro este inicialmente presente y cuanto mayor sea el tiempo de reacción, mayor es la extensión de la cloración de la molécula de bifenilo.

Los productos generados son bifenilos policlorados o PCBs. Estas reacciones entre bifenilos y átomos de cloro producen una mezcla de 209 congéneres de la misma familia de los PCBs; las proporciones exactas dependen de la proporción de cloro a bifenilo, así como del tiempo de reacción y de la temperatura (Baird, C. 2001).

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 aislado los compuestos individuales de PCBs; en lugar de ello, se han vendido como mezclas parcialmente separadas, con un contenido promedio de cloro en diferentes productos comprendido entre 21 y 68 %. (Baird, C. 2001).

Entre los PCBs se presta especial atención en cuanto a toxicidad, a dos grupos de compuestos denominados "PCBs similares a dioxinas" (tabla 2), que presentan una toxicidad similar a la de las dioxinas (Schinitman, N.I. 2000). El número y la posición de los átomos de cloro determinan las propiedades biológicas y el comportamiento ambiental de cada PCBs.

En base a lo anterior, los PCBs coplanares son considerados de alta toxicidad, estos PCBs son los que no tienen cloro en las posiciones *orto*, y agrupa a un 6% de los PCBs conocidos (Shain, y col. 1991). Por otro lado están los que sólo tienen un átomo de cloro en una de las cuatro posiciones *orto*, estos PCBs son llamados mono-ortoclorados.

La gran mayoría de los estudios de estos compuestos se han centrado en su solubilidad en el agua y se ha determinado que existe una correlación inversa entre su solubilidad y el grado de cloración.

La solubilidad de los Arocloros en agua se encuentran entre 0,016 a 640 µg/L para congéneres individuales con alto contenido de cloro. Los Arocloros cuyo contenido de cloro va desde un 40 a 60% tienen una solubilidad en agua entre 2,7 y 250 µg/L.

Tabla 2: PCBs con estructuras similares a dioxinas

Número	Estructura	Número	Estructura
77		126	
81		156	
105		157	
114		167	
118		169	
123		189	

2.1.3 Efecto de los PCBs sobre la salud humana

La mayor parte de la información disponible sobre los efectos de los PCBs proviene de estudios en animales (Goldey y col, 1995) 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 USA, los PCBs pertenecen a la categoría de altamente cancerígenos.

Tradicionalmente las investigaciones se han orientado a determinar la carcinogenicidad de los PCBs; sin embargo, hoy en día se sabe que la exposición a ellos provoca un amplio espectro de problemas en la salud. Las exposiciones agudas a niveles altos de PCBs han sido asociadas a problemas de picazón y pigmentación de la piel, irritación de ojos, alteraciones en la función hepática y en el sistema inmunológico, irritación del tracto respiratorio, dolores de cabeza, mareos, depresión, pérdida de la memoria, fatiga e impotencia. Los efectos crónicos a dosis bajas de PCBs incluyen daños sobre el hígado, alteraciones de la reproducción y el desarrollo.

En los países industrializados suelen hacerse estudios para conocer los niveles de los PCBs en la población, y una de las variables que se analiza es su concentración en leche materna. Esto es debido a que el alto contenido de grasa de la leche conlleva al almacenamiento de PCBs allí, y por lo tanto, su transferencia al niño durante la etapa de la lactancia.

Debido a su carácter altamente liposoluble, es que estos compuestos pueden penetrar al cuerpo humano a través de la piel, pulmones y tracto intestinal.

Una vez que han ingresado al cuerpo humano son llevados a los tejidos grasos a través de la sangre y depositados en órganos como los riñones, pulmones, cerebro, corazón, y piel.

Pero no solamente penetran PCBs en los seres humanos u otros organismos, sino también dioxinas y furanos que se almacenan en la grasa al igual que los PCBs. Con el fin de disponer una medida de la toxicidad neta en los organismos, es que los científicos a menudo dan cuenta de las concentraciones de estos organoclorados en términos del 2,3,7,8 – TCDD, que si estuviese presente sólo, produciría el mismo efecto tóxico que este compuesto, y han definido el “factor equivalente de toxicidad”, o TEQ, el cual relaciona la toxicidad de cada congéner de PCDDs, PCDFs y PCBs a la del 2,3,7,8 -TCDD , a la cual se le asigna arbitrariamente un valor de 1,0 (Baird, C. 2001).

En la figura 4 se muestra una gráfica de barras relativas a los valores de TEQ para la contaminación de varios tipos de alimentos que se adquieren en los supermercados de los EEUU. Adviértase que los pescados de agua fresca contienen las mayores cantidades de toxicidad por PCBs y PCDFs.

Por otra parte, una dieta vegetariana consistente en legumbres, frutas y cereales, sin productos procedentes de animales, tiene un TEQ muy bajo comparada con el correspondiente a una dieta que contiene alimentos derivados de animales. (Schechter, A., y col. 1997).

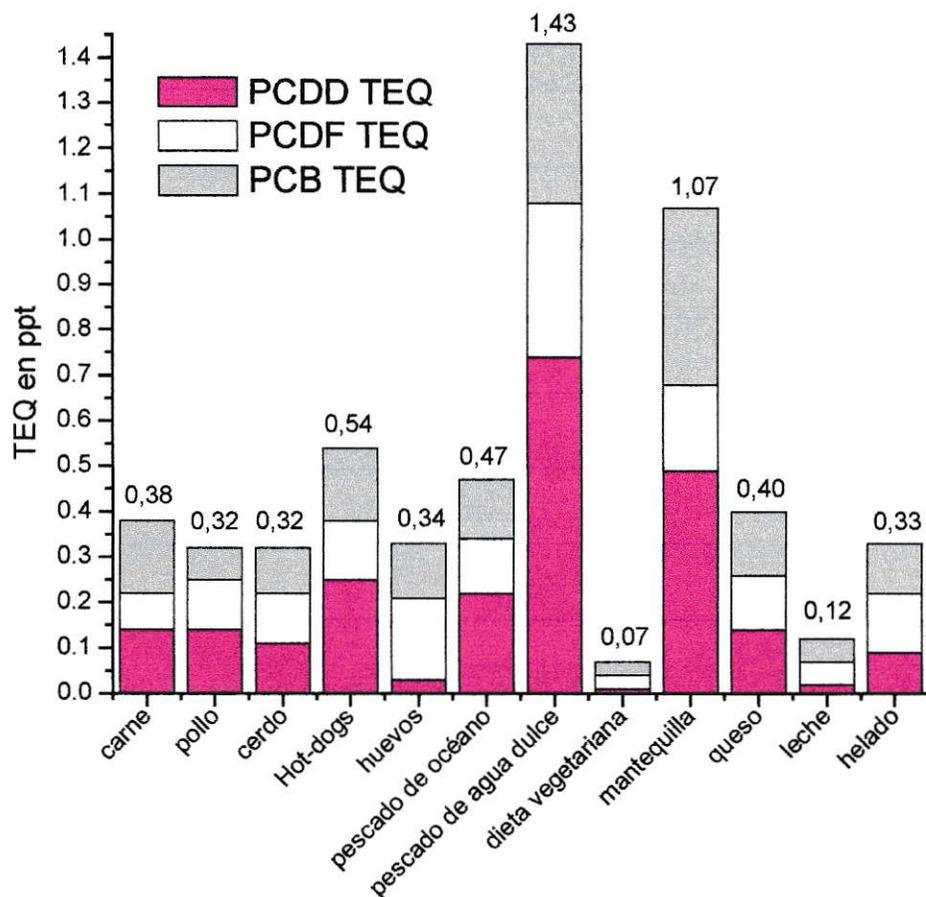


Figura 4: Valores de TEQ para PCDD, PCDF y PCBs, en alimentos de supermercados en EEUU.

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, de ahí que reciben el nombre de “Estrógenos Ambientales” (Freué, J. 2006).

Sin embargo, es difícil demostrar el origen de enfermedades neoplásicas para comprobar su relación con este tipo de contaminantes.

Si bien la relación entre PCBs y cáncer es estrecha, todavía no está del todo demostrado que estos compuestos sean realmente culpables de muchas enfermedades neoplásicas en trabajadores o poblaciones "accidentalmente" expuestas.

2.1.4 PCBs en el medio ambiente

Como se dijo anteriormente los PCBs son resistentes al fuego, muy estables, no conducen electricidad y tienen baja volatilidad a temperaturas normales. Estas y otras características los han hecho ideales para la elaboración de una amplia gama de productos industriales y de consumo. Pero son estas mismas cualidades las que hacen a estos compuestos peligrosos para el ambiente, especialmente su resistencia extrema a la ruptura química y biológica a través de procesos naturales.

Irónicamente su estabilidad química, que ha contribuido a su uso industrial extenso, es también uno de los aspectos que causa la preocupación más grande. Esta resistencia inusual, más su tendencia a permanecer y acumularse en organismos vivos, genera la presencia de PCBs en el ambiente y una amplia dispersión con sus consecuentes efectos.

La liberación de PCBs en el ambiente está relacionada a derrames accidentales, y escapes durante su transporte; por escapes o incendios de productos que contenían estos compuestos; a través de accidentes industriales, disposición impropia y disipación ambiental en locales específicos, como por ejemplo, en sedimentos (ATSDR. 2001).

Las principales fuentes de entrada y dispersión de PCBs en el medio ambiente incluyen los residuos gaseosos de iniciadores, los residuos de industrias que manipulan aceites, ceras, tintas, el drenaje de aterramientos sanitarios que contengan papeles, plásticos o resinas, drenaje de aguas de irrigación donde se usaron pesticidas que contenían PCBs, reciclaje de papeles, contaminación directa a través de la manipulación indebida o el vaciamiento de fluidos de condensadores y transformadores, fluidos hidráulicos o aceites y concentración en materiales biológicos.

Una vez en el ambiente, los PCBs no se degradan fácilmente y por lo tanto, pueden permanecer en el ambiente largo tiempo.

Pueden circular fácilmente entre el aire, el agua y el suelo. Por ejemplo, los PCBs pueden entrar al aire por evaporación desde el suelo y desde el agua. En el aire, pueden ser transportados largas distancias. La región ártica es un sumidero hemisférico para los PCBs y otros contaminantes orgánicos persistentes, debido a que estas sustancias se acumulan en el ambiente frío y se concentran en los tejidos grasos de los animales y la gente.

Como consecuencia, los PCBs se encuentran en todo el planeta. En general, mientras más livianos son los PCBs, a más distancia de la fuente de contaminación pueden ser transportados. En la atmósfera, los PCBs 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 (ATSDR. 2000).

En el agua pueden ser transportados por corrientes, pueden adherirse a sedimentos del fondo o a partículas en el agua, y pueden evaporarse al aire. Los PCBs pesados se depositarán preferentemente en sedimentos, mientras que es más probable que los más livianos se evaporen al aire.

Los sedimentos que contienen PCBs también pueden liberar PCBs al agua que los rodea. Estos compuestos 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 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. 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. 2000).

2.1.5 Norma para los PCBs

En mayo del 2001 se firmó el llamado convenio de Estocolmo, tratado global que tiene como objetivo proteger la salud humana y el ambiente contra los contaminantes orgánicos persistentes o COPs. Para implementar la Convención, en nuestro país se tomaron medidas para restringir la producción y el uso de los COPs seleccionados. Con respecto a los PCBs, existe una resolución de la Superintendencia de Electricidad y Combustibles que prohíbe el uso de ellos en equipos eléctricos nuevos. Además, debemos destacar que se están haciendo los inventarios de PCBs y dioxinas y furanos. Por su parte la CONAMA está desarrollando también un catastro de sitios contaminados por estas sustancias.

Finalmente se destaca también la publicación de un manual para la identificación y el manejo ambientalmente adecuado de los PCBs, trabajo que ha tomado varios años y que ha sido financiado por el Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y el Fondo COPs de Canadá.

En una gran cantidad de países, incluido el nuestro, si un transformador contiene una proporción menor a 50 partes por millón de PCBs en su refrigerante, se considera "libre de PCBs". Es decir, que "la concentración no representa riesgo alguno para el medio ambiente ni para el personal que los debe operar y mantener".

El 16 de Junio del año 2004 se publicó en el Diario Oficial de la República, el reglamento sanitario sobre manejos de residuos peligrosos (D.S N° 148, 2003).

En este reglamento se 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) ó bifenilo polibromado (PBB), ó cualquier otro compuesto polibromado análogo, con una concentración igual o superior a 50 mg/kg". (Art.19. A3180).

2.1.6 Degradación de los PCBs

Como resultado de la alta estabilidad mencionada anteriormente, los PCBs son compuestos difíciles de degradar. La degradación de estos, está vinculada a mecanismos de destrucción química, bioquímica o térmica. Los métodos más frecuentes son la fotólisis y la incineración.

La fotólisis es el proceso más utilizado para la degradación de los PCBs. Este proceso utiliza los radicales libres producidos de la radiación solar, para remover los átomos de cloro desde el anillo bifenilo. Este método está limitado a PCBs que se encuentran en el aire y en el agua.

Por otro lado la incineración a altas temperaturas es una tecnología bien establecida y fácilmente disponible en muchos países industrializados. La efectividad de la incineración es función del tiempo de residencia, la temperatura, la turbulencia y la concentración de oxígeno. Para mantener esos parámetros en el punto deseado y asegurar la eficacia del sistema de depuración del gas, es preciso mantener un riguroso control del proceso.

Temperaturas inferiores a los 1200-1300 °C en el horno pueden dar lugar a la formación de dioxinas y p-dibenzo furanos, compuestos que son un millón de veces más tóxicos que los cianuros. Esta tecnología tiene las desventajas de que sus costos son muy elevados y no son completamente aceptadas por la población.

Existen otras tecnologías actualmente disponibles para el tratamiento de aceites, aguas y suelos contaminados con PCBs, sin tener que utilizar la incineración, aunque muchas de ellas están implementadas sólo a escala de laboratorio, entre ellas se encuentran:

1. Procesos de decloración: Con los procesos de decloración se trata de poder reutilizar/reciclar el aceite libre de cloro.

Decloración química: los procesos químicos están bien sistematizados y se utilizan comercialmente para el tratamiento de PCBs líquidos y de aceites contaminados con PCBs. El contenido de cloro se convierte en sales inorgánicas, que se pueden extraer de la fracción orgánica por filtración o centrifugación. Las reacciones se realizan en atmósfera inerte (para evitar todo riesgo de incendio) y en ausencia de agua (los desechos se deshidratan previamente por calentamiento).

Decloración con sodio metálico: La tecnología más frecuente se basa en el uso de sodio metálico para desclorar las moléculas de PCBs y generar 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, generando 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 PCBs produciendo cloruro sódico.

2. Sistemas de arco plasmático: Los sistemas de arco plasmático crean un campo de plasma térmico, dirigiendo una corriente eléctrica a través de una corriente de gas a baja presión, para el tratamiento de materias orgánicas cloradas y otros desechos. El proceso alimentado eléctricamente se puede cortar o iniciar en pocos segundos. El desecho se piroliza en iones y átomos a una temperatura superior a 3000°C. Entre los productos finales figuran gases (argón, dióxido de carbono y agua) y una disolución acuosa de sales de sodio.

3. Degradación biológica: La tendencia a biodegradarse de los PCBs varía en función del grado de cloración y la posición de los átomos de cloro. No obstante, existen numerosas investigaciones que demuestran que los átomos de cloro de las moléculas de PCBs pueden ser eliminados por procesos anaerobios, seguidos por la oxidación por bacterias aerobias, resultando en la degradación de la mayoría de los PCBs.

4. Oxidación con agua supercrítica: Por encima de su punto crítico el agua se transforma en un medio único de reacción, donde los hidrocarburos y el oxígeno molecular tienen una solubilidad infinita. Los principales productos de oxidación son: ácido acético, alcoholes y residuos orgánicos. El agua en condiciones supercríticas es efectiva en la oxidación de los PCBs. Para lograr una oxidación completa se han utilizado catalizadores en este sistema. Una ventaja del sistema de oxidación catalítica con agua supercrítica es la ausencia de formación de Coque y de envenenamiento del catalizador. Las principales desventajas de este sistema son los requerimientos de altas temperaturas (450-500 °C), altas presiones (240-300 atm) y oxígeno molecular puro, así como también problemas de corrosión. Todos estos hechos hacen que esta tecnología sea costosa.

2.2 Cromatografía Gaseosa acoplada a un Espectrómetro de Masas.

La cromatografía gas-líquido es una de las técnicas más utilizada para realizar separaciones analíticas de una mezcla compleja. Su fundamento se basa en la distribución del analito entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida, que se encuentra inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte dentro de una columna.

En cromatografía de gases, la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatografica, y a diferencia de otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es transportar el analito a través de la columna (Skoog^a y Leary, 1994).

En el interior de la columna se produce un equilibrio de distribución líquido-gas. Aquellos componentes de la muestra que son retenidos con fuerza por la fase estacionaria son eluidos lentamente con el flujo de la fase móvil, y por el contrario aquellos que se unen debilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como resultado de esto, los componentes de la muestra se separan en bandas discriminadas que pueden ser analizadas cualitativamente y/o cuantitativamente a partir de un cromatograma. Estas bandas representan el área obtenida en función del tiempo de retención, el que es propio para cada uno de los analitos a determinar.

Una de las ventajas más importantes que posee la cromatografía de gases, es que con poca cantidad de muestra, se logra tener una alta sensibilidad (límites de detección del orden de los ppm y ppb), y además una buena exactitud.

En la salida de la columna del cromatógrafo gaseoso se acopla como detector, un dispositivo espectral que permite comprobar la aparición de los picos al final de la columna y proporcionar información acerca de su identidad.

De los diferentes acoplamientos desarrollados en relación al estudio de mezclas volátiles, el acoplamiento GC-MS es el que ha recibido mayor atención desde su inicio. La popularidad alcanzada por la cromatografía de gases capilar en las últimas décadas, y los avances espectaculares en el campo de los computadores y de la microelectrónica, han hecho posible la fabricación de sistemas GC-MS sencillos de sobremesa, totalmente controlados por computador y de manejo muy simple y relativamente bajo costo, válidos para análisis de rutina.

Existen dos tipos de espectrómetros de masas para GC-MS: espectrómetros de sector magnéticos y filtros de masa de cuadrupolos. Los analizadores de masa cuadrupolares sirven para registrar iones negativos, ya que el analizador no discrimina los iones por su polaridad. Estos pueden alcanzar una velocidad máxima de barrido de alrededor de 780 unidades de masa por segundo, a su vez se puede lograr velocidades de barrido mayores aumentando la energía de ionización simultáneamente con la rampa de barrido de masas, con el fin de mantener una velocidad de iones más constantes y reducir el tiempo de tránsito de los iones más pesados.

Los espectrómetros de masas pueden utilizarse como detectores para cromatografía de gases en tiempo real. La corriente total de electrones se registra y se mide como función del tiempo, siendo una medida del número total de iones formados del material en el eluyente.

En el caso de la detección con iones selectivos (SIR), durante el ciclo de elución, se registran las intensidades de iones preseleccionados, característicos de un compuesto en particular o de una clase de compuestos.

Esta técnica es favorable para los análisis que requieren de la máxima sensibilidad, especialmente en el trabajo ambiental o biológico.

Con la detección múltiple de iones (SCAN), las intensidades de un intervalo de iones preseleccionados se registran como una función del tiempo. El analizador del espectrómetro de masa cicla por el grupo de iones que se registra varias veces por segundo. Este tipo de detección es útil para descubrir picos solapados y cuando se ensaya con un isótopo estable incorporando a las moléculas de la muestra.

Las ventajas de utilizar un espectrómetro de masa (MS) como detector para GC, son su alta sensibilidad y especificidad en la identificación de compuestos desconocidos o en la confirmación de la presencia de compuestos.

El analizador de masa de cuadrupolo es probablemente el más utilizado, ya que además de su alto desempeño analítico, combina facilidad de uso.

La Figura 5 muestra un MS simplificado cuadrupolar. La parte más importante del instrumento es el conjunto de cuatro barras cilíndricas de metal que sirven de electrodos del filtro de masas. Los iones de la fuente son acelerados por un potencial entre 5 a 15 V, e introducidos en el espacio entre las barras. Las barras opuestas se conectan eléctricamente, un par al polo positivo de una fuente variable de corriente continua y el otro par a la terminal negativa. Además se aplican a cada par de barras potenciales variables de corriente alterna de radiofrecuencia. Las barras cilíndricas son normalmente de 6 mm de diámetro y aproximadamente 15 cm de longitud.

Estas barras están sujetas rígidamente sobre soportes cerámicos que proporcionan una buena estabilidad mecánica, aunque cambie la temperatura. (Skoog^b y Leary, 1994).

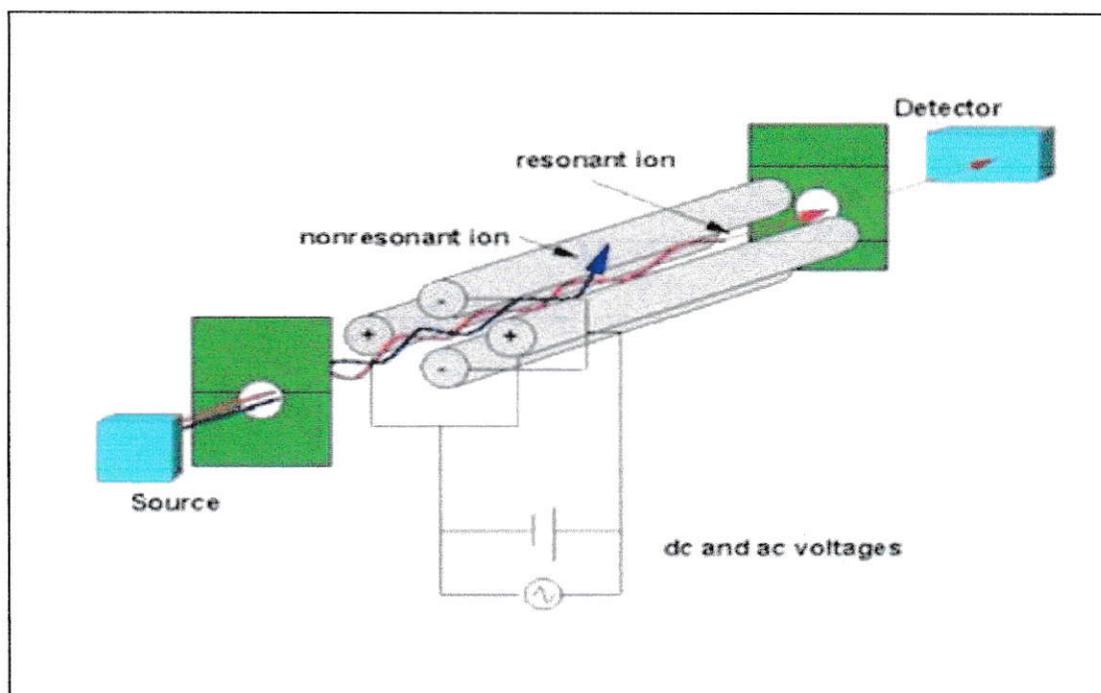


Figura 5 : Detector de masas con cuadrupolo

Por otro lado están los detectores de sector magnético, cuyas mayores ventajas son su capacidad de conseguir alta resolución y alto rango de masas, así como la sensibilidad y otras cualidades derivadas de la óptica de alta energía que utilizan. Como consecuencia de una mayor resolución, estos espectrómetros son capaces de realizar medidas más exactas, lo que les hace muy útiles en estudios de dilucidación estructural de compuestos conocidos, ya que pueden eliminarse las interferencias de otros compuestos presentes, cuyos espectros presentan a la misma masa nominal que los picos del espectro de la sustancia de interés, evitando los llamados “falsos positivos”. (Plascencia, G. 2003).

Las principales ventajas de los cuadrupolos, comparada con los instrumentos de sector magnético, son su menor costo, menor tamaño, escala más lineal, mayor velocidad de barrido y simplicidad de construcción y manejo.

Por el contrario sus desventajas provienen principalmente de su limitado poder de resolución y su baja transmisión a masas altas (Esteban, L. 1993).

2.3 Diseño experimental

Para optimizar procesos de fabricación, condiciones de reacción y métodos de análisis entre otros, es necesario conocer que variables influyen significativamente en el sistema y cómo afectan. A menudo esta información no esta disponible y se genera experimentando

El elevado coste de la experimentación y las limitaciones de tiempo obligan a ejecutar sólo los experimentos imprescindibles. Y el método tradicional de variar un sólo factor a la vez no suele ser la mejor opción. Puede implicar más experimentos de los necesarios y, a pesar de ello, proporcionar sólo información parcial. Por ejemplo no nos mostrará si existe interacción entre factores. Las interacciones suelen ser muy corrientes y a veces son los efectos más importantes, por lo que conocerlas es imprescindible para comprender el comportamiento de muchos sistemas.

El diseño de experimentos estadísticos contempla una amplia variedad de estrategias experimentales, que son óptimas para generar la información que se busca.

Una de estas estrategias es el diseño experimental 2^k , en donde se describen los experimentos más adecuados para conocer simultáneamente qué efecto tienen k factores sobre una respuesta y descubrir si interaccionan entre ellos.

Estos experimentos están planeados de forma que si varían simultáneamente varios factores correlacionados se evita repetir experimentos (Ferré, J.2004).

Además, los experimentos se complementan de tal modo que la información buscada se obtiene combinando respuestas de todos ellos. Esto permite obtener la información con un mínimo número de experimentos y con la menor incertidumbre posible (porque los errores aleatorios de las muestras se promedian).

La figura 6 muestra las matrices 2^2 y 2^3 , para el estudio de 2 y 3 factores respectivamente. La matriz comprende 2^k filas ($2 \times 2 \times \dots = 2^k$ experimentos) y k columnas, que corresponden a los k factores de en estudio. Si se construye en el orden estándar cada columna empieza por el signo -, y se alternan los signos - y + con frecuencia 2^0 para x_1 , 2^1 para x_2 , 2^2 para x_3 , y así sucesivamente hasta x_k , donde los signos se alternan con una frecuencia 2^{k-1} .

La notación -1 o simplemente - se le asigna al valor extremo inferior del dominio experimental y el valor +1 ó +, al extremo superior.

	X_1	X_2		X_1	X_2	X_3
1	-	-	1	-	-	-
2	+	-	2	+	-	-
3	-	+	3	-	+	-
4	+	+	4	+	+	-
			5	-	-	+
			6	+	-	+
			7	-	+	+
			8	+	+	+

Figura 6: Matriz de experimentos para los diseños factoriales completos 2^2 y 2^3

HIPOTESIS

3.1 Hipotesis global

La rápida extracción de PCBs con metanol desde aceite de transformador, permitirá el desarrollo un método analítico de screening para una determinación más rápida de estos compuestos, comparada con otros métodos de análisis.

3.2 Hipotesis derivada

Una extracción líquido-líquido con metanol permitirá extraer cuantitativamente los PCBs desde un aceite mineral de transformador, solubilizando una cantidad mínima de aceite, que no causará interferencias en la posterior determinación de los PCBs por GC-MS.

OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

El objetivo del presente trabajo es el desarrollo de una metodología rápida para la determinación de PCBs desde aceites de transformadores, basada en la extracción líquido-líquido con metanol y su posterior determinación directa por GC-MS.

4.2 Objetivos específicos

- Puesta a punto de un método por GC-MS para la cuantificación de PCBs.
- Optimización de variables del sistema analítico como volumen de disolvente y tiempo de extracción, a través de un método multivariado (diseño experimental).
- Determinación de parámetros analíticos.
- Aplicación del método a muestras reales.

MATERIALES Y METODOS

5.1 Materiales

- Jeringa 50 μ L
- Viales con tapa rosca de 2 mL
- Matraz de aforo de 1 mL
- Tubos de centrifuga de vidrio 10 mL.
- Pipetas volumétricas de 4 , 6 y 10 mL

5.1.1 Reactivos.

- Metanol (99,9%,Merck , grado HPLC)
- Diclorometano (99,9%,EMD, grado HPLC)
- Hexano (96%, Merck, grado HPLC)
- Ácido sulfúrico (95-97%, Merck, p.a)
- Estándar PCB Mixture – 525.1 Chem Service (100 mg/Kg)
- Estándar Aroclor 1242 Supelco (1000 μ g/mL)
- Estándar Aroclor 1254 Supelco (1000 μ g/mL)
- Estándar Aroclor 1260 Supelco (1000 μ g/mL)
- Aceite de transformador Supelco (libre de PCBs)

5.1.2 Disoluciones.

- Estándar interno hexaclorobenceno (600 µg/mL), se pesaron 30 mg de hexaclorobenceno y se aforó a 50 mL, con diclorometano

5.1.3 Equipos e instrumentos

- Agitador Heildolph Reax 2000
- Centrífuga Labofurge 400 Heraeus Instruments
- Rotaevaporador Heildolph vv 2000
- Cromatógrafo de Gas: HP 5890 Series II acoplado a un Espectrómetro de Masa cuadropolar Fisons Instruments MD 800 (Figura 7).

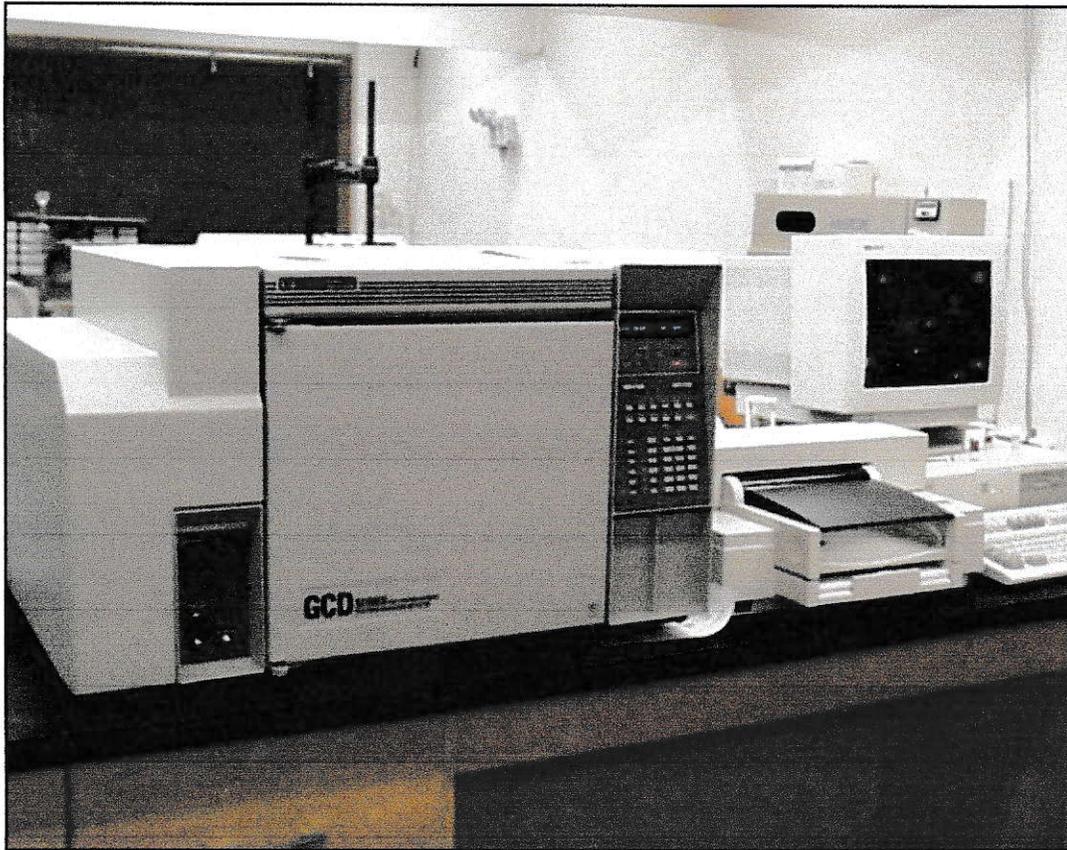


Figura 7: Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masa.

5.2 Metodología

5.2.1 Optimización de variables por técnica de análisis de multivariado

Se realizó un diseño experimental del tipo “screening” (factorial de niveles combinados más 3 centros: $3 \times 2 + 3$) para optimizar la recuperación de los PCBs desde aceites de transformador, (dopado con un estándar de Aroclor 1260), considerando como factores volumen de disolvente y tiempo de extracción.

El rango de estudio para cada factor fue el siguiente:

- Volumen de disolvente (metanol) en un rango de 2 y 10 mL.
- Tiempo de extracción (agitación) en un rango de 1 y 10 minutos.

5.2.2 Procedimiento general del método propuesto.

Medir 4 mL de muestra y trasvasiarlos a un tubo de centrifuga de vidrio de 10 mL. Enseguida agregar al tubo 6 mL de metanol (volumen óptimo) y llevar la muestra a un agitador por 1 minuto, (tiempo óptimo). Hecha la extracción, el tubo se somete a centrifugación por 5 minutos a 3.500 rpm, para obtener una mejor separación de las fases.

Separadas las fases, se transfieren 4 mL de la fase metanólica a un tubo de vidrio con tapa esmerilada.

A este tubo se le agregan 100 μL de hexaclorobenceno de 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, para utilizarlo como estándar interno (si). Finalmente, 1 μL de la muestra es inyectada en el GC-MS para la determinación de los PCBs.

En la detección se utilizó modalidad SIR, con una masa de cuantificación y dos masas para confirmación, además de dos masas para el estándar interno.

La Figura 8 muestra la metodología empleada para la extracción de los diferentes arocloros. Este procedimiento se realizó bajo condiciones óptimas de volumen de disolvente y tiempo de extracción, es decir, 6,3 mL de volumen de metanol y 1 minuto de tiempo de extracción. Además se realizaron tres réplicas para los diferentes arocloros.

Para la determinación exacta de los compuestos di, tri y tetraclorobifenilos se realizó un proceso de limpieza o clean-up.

5.2.3 Proceso de limpieza

Para obtener una recuperación más satisfactoria de los congéneres más livianos, como dicloro, tricloro y tetraclorobifenilos, se desarrolló un método simple de clean-up, utilizando hexano como disolvente y ácido sulfúrico concentrado para separar el aceite de la muestra.

Después de la centrifugación, el sobrenadante extraído es tratado con 16 mL de hexano a fin de disolver la muestra. Enseguida la muestra se trata con 10 mL de ácido sulfúrico concentrado con el fin de separar el aceite extraído en la fase metanólica.

La muestra es atacada en fragmentos de 10 mL de ácido sulfúrico consecutivamente, hasta que ambas fases queden incoloras.

Realizado esto, la muestra se concentra con nitrógeno hasta un volumen de 4 mL, se le agrega el estándar interno (EI) y 1 μ L de la muestra es inyectada en el GC-MS para la determinación de los PCBs.

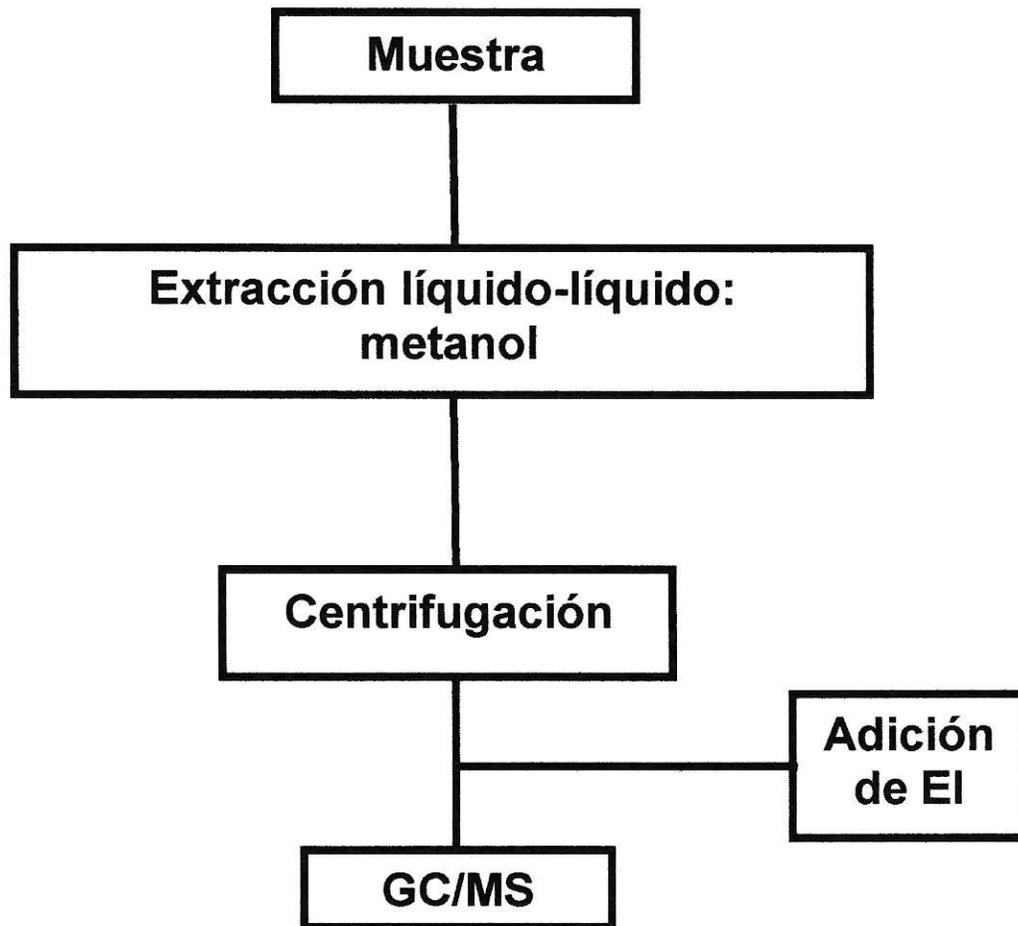


Figura 8: Resumen del procedimiento analítico para la determinación de PCBs en aceite de transformador por el método propuesto.

- **Condiciones de trabajo GC HP 5890 Series II**

Tabla 3: Condiciones de trabajo Cromatógrafo de Gases

Columna capilar	HP-5MS (30m × 0,25 mm × 0,25µm)
Programa temperatura	50°C (3 min) – 10°C/min – 280°C (5 min)
Temperatura inicial del horno	250°C
Temperatura de inyección	250°C
Presión	15 psi
Gas portador	Helio
Volumen de inyección	1µL
tipo de inyección	splitless

- **Condiciones de trabajo Detector de masa Fisons Instruments MD 800**

Tabla 4: Condiciones de trabajo Detector de Masa

Temperatura de detección	280°C
Modo analítico	SIR
Fuente cuadrupolo	280°C

5.2.4 Determinación de PCBs

5.2.4.1 Curvas de calibración

Las curvas de calibración se prepararon a partir de un estándar de 1000 µg/mL del Aroclor correspondiente. Se prepararon disoluciones de 6 concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 µg/mL. Estas disoluciones además contienen 15 µg/mL de hexaclorobenceno como estándar interno.

5.2.4.2 Validación del método propuesto

La validación del método se llevó a cabo a través del uso del estándar Aroclor 1242, 1254 y 1260. Se determinaron las propiedades analíticas del método, tales como: precisión, límites de detección y límites de cuantificación y exactitud (ver anexo).

RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Ensayos preliminares

Antes de realizar cualquier determinación de PCBs en GC-MS, y en general cualquier compuesto a determinar por GC-MS, es necesario conocer e identificar los iones que son más abundantes para cada tipo de congéner.

A fin de identificar los iones y elaborar un programa de modalidad SIR, es que se inyectó un estándar de PCBs, el cual contiene 8 tipos de congéneres que van desde el mono hasta el octaclorobifenilo. Por otra parte, la determinación y cuantificación para cada congéner de PCBs nos permite conocer los tipos de PCBs para los cuales el método puede ser cuantitativo.

La figura 9, muestra el cromatograma logrado en modalidad SCAN, con barridos de masa de 40 a 500 m/z, para esta mezcla de congéneres. Nótese que la señal más grande corresponde al hexaclorobenceno, ($t_R = 18,69$ min.), utilizado como estándar interno (EI) y las demás señales aparecen en orden creciente de moléculas de cloro, es decir a mayor tiempo de retención, mayor cantidad de átomos de cloro en la molécula. Para cada tipo de PCBs se eligieron los tres iones más abundantes.

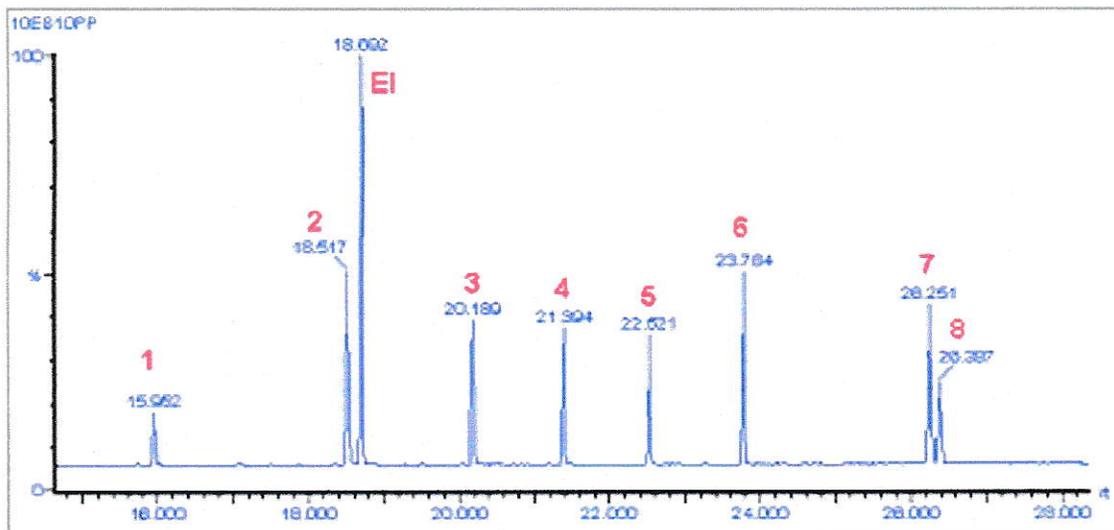


Figura 9: cromatograma en modalidad SCAN para una mezcla de congéneres. 1-8, diferentes congéneres de PCBs en una muestra estándar.

Se registraron, los 8 espectros correspondientes a las 8 señales de la figura 9. Por su parte la figura 10 muestra el espectro de masa característico del tipo pentaclorobifenilo. En este se observa claramente el patrón de fraccionamiento, que a su vez es característico para cada molécula.

El ion 326 es el ión molecular del pentaclorobifenilo y seguido de él se encuentran los iones isotópicos provenientes del cloro. Del ion molecular y de los iones isotópicos se determinan los tres iones más abundantes para cada tipo de congéner. Para este caso específico de los pentaclorobifenilos, las tres masas más abundantes son 358, 360 y 362 (marcados en figura 10).

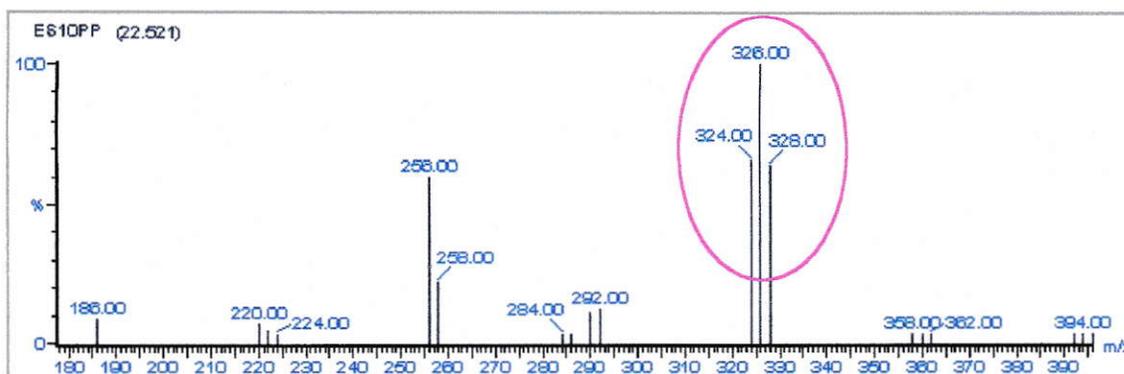


Figura 10: Espectro de masa para el pentaclorobifenil.

Una vez obtenidos los tres iones más abundantes para cada tipo de congéner (desde los di a los heptaclorobifenilos), incluyendo dos iones para el estándar interno, se realiza un programa en modalidad SIR, que incluye solamente los iones seleccionados, por el barrido antes mencionado (tabla 5).

A fin de obtener una determinación inequívoca de los compuestos a analizar, es que se optó por trabajar con dos iones para la confirmación del compuesto y un ion para la cuantificación de ellos.

Para el caso del hexaclorobenceno, utilizado como estándar interno, el ión de confirmación fue el ión 286 y el de cuantificación (integración del área) el ión 284, que corresponde al ion molecular (figura 11)

Tabla 5: Iones para la cuantificación y confirmación de los diferentes PCBs

Tipo de congéner	di	tri	tetra	penta	hexa	hepta
Ión de cuantificación	224	258	292	326	360	394
Ión de confirmación	152 222	186 256	220 290	324 328	358 362	392 396

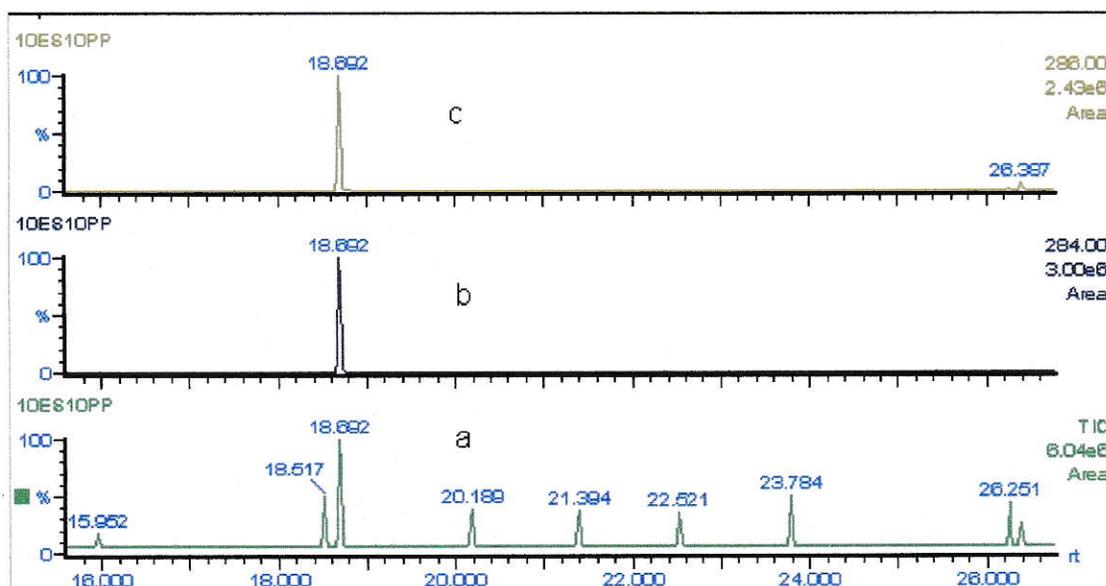


Figura 11: (a) Cromatograma TIC en modalidad SIR y (b,c) iones más abundantes para el hexaclorobenceno.

6.2 Optimización de variables por técnica de análisis de multivariado

Para obtener la optimización de las variables se trabajó con un diseño experimental de niveles mezclados el cual estudia el efecto de dos variables en una corrida de 9 experimentos, y la interacción de las variables entre si. El rango estudiado para el caso del volumen fue de 2 a 10 mL. Para el caso del tiempo de 1 a 10 minutos. Los niveles de volumen y tiempo tomados para realizar la optimización se muestran en la tabla 6. Además las respuestas entregadas para cada extracción representan la relación: área analito/área EI.

Tabla 6: Factores, niveles y matriz del diseño experimental para la optimización y las respectivas respuestas entregadas por GC-MS

Factor	Nivel		
	-1	0	1
Volumen (mL)	2	6	10
Tiempo (min)	1	5,5	10
Experimentos	Volumen (mL)	Tiempo (min)	Respuesta *
1	0	0	0,253
2	-1	-1	0,162
3	-1	1	0,113
4	0	-1	0,269
5	0	0	0,241
6	0	1	0,204
7	1	-1	0,178
8	1	1	0,145
9	0	0	0,256

* área analito /área EI

En este diseño experimental el análisis ANOVA evalúa la significancia estadística de los factores a un nivel de probabilidad del 95 % ($\alpha = 0,05$). Para este caso se considero tres valores centrales (n° de factores +1) para estimar el error experimental. El modelo además se ajusta adecuadamente a los datos experimentales, ya que explica el 95,93%, de la variación de la respuesta en el nivel estudiado.

El diseño experimental también dio origen a una superficie de respuesta (figura 12) explicado por un modelo lineal de 2^{do} orden.

$$\text{Respuesta} = 0,0540 + 0,0797 \times V - 0,0066 \times T - 0,0063 \times V^2 + 0,0002 \times V \times T$$

donde V representa la variable volumen y T representa la variable tiempo. En esta ecuación se observa claramente que la variable más significativa es la variable volumen de disolvente, y que por el contrario la interacción de las dos variables, esto es, volumen de disolvente y tiempo de extracción no tiene mayor significancia, o es muy pequeña con respecto a las otras.

Respuesta estimada en superficie

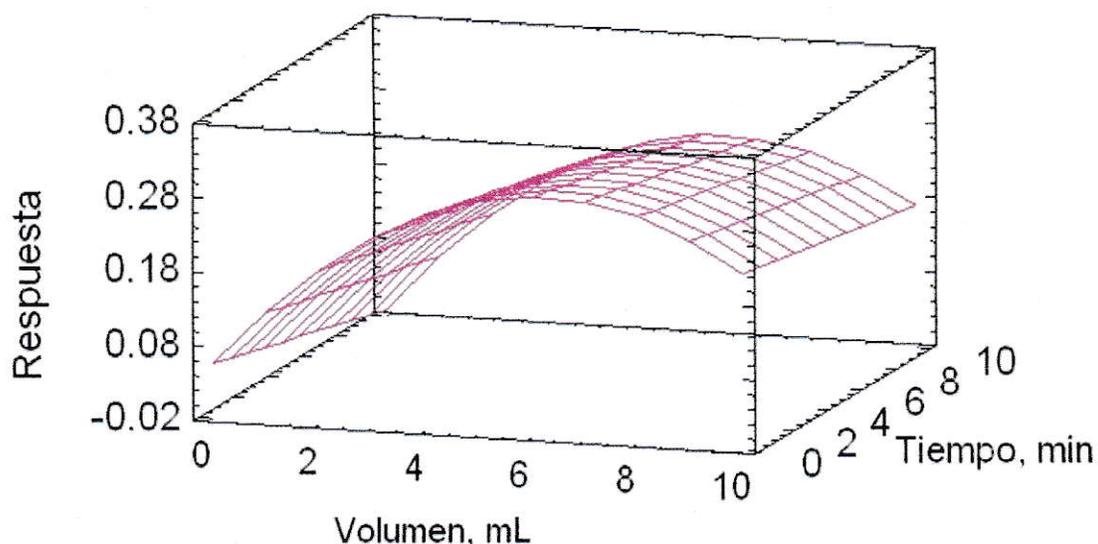


Figura 12: Superficie de respuesta (área analito/área EI) estimada para volumen de disolvente y tiempo de agitación.

Tanto en la ecuación de regresión como en las figuras 12 y 13, se observa que la variable más afectada en su respuesta es el volumen de disolvente utilizado, ya que presenta claramente un valor óptimo a los 6 mL y por otro lado una variación de respuesta muy superior a la presentada por la variable tiempo de extracción.

Con respecto a esta variable, podemos observar que el aumento de tiempo en la extracción trae consigo una disminución en la respuesta (ecuación de regresión). Esto se puede explicar porque un mayor tiempo de extracción de la muestra, trae consigo también la extracción de una mayor cantidad de matriz, es decir, de aceite de transformador, lo que se traduce en una baja en la respuesta debida principalmente a la interferencia del aceite con los compuestos que queremos determinar.

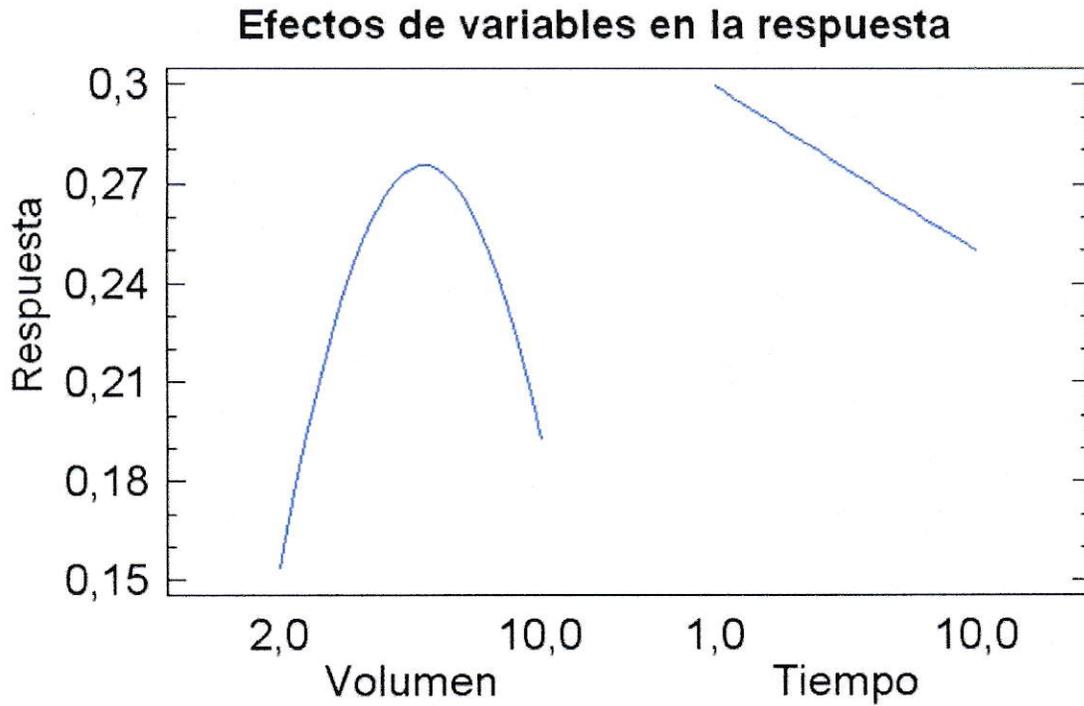


Figura 13: Efecto de ambas variables sobre la respuesta

La figura 14 muestra el gráfico de Pareto para el diseño experimental. El gráfico muestra que el factor tiempo (B) y la interacción volumen-volumen (AA) son significativos. Dichos efectos son significativos porque traspasan la línea vertical azul que representa el test del 95% de nivel de significancia. Por el contrario el efecto volumen (A) y la interacción volumen-tiempo (AB) presentan mucha menor significancia. Nótese que los efectos e interacciones de los mismos van en orden decreciente de importancia.

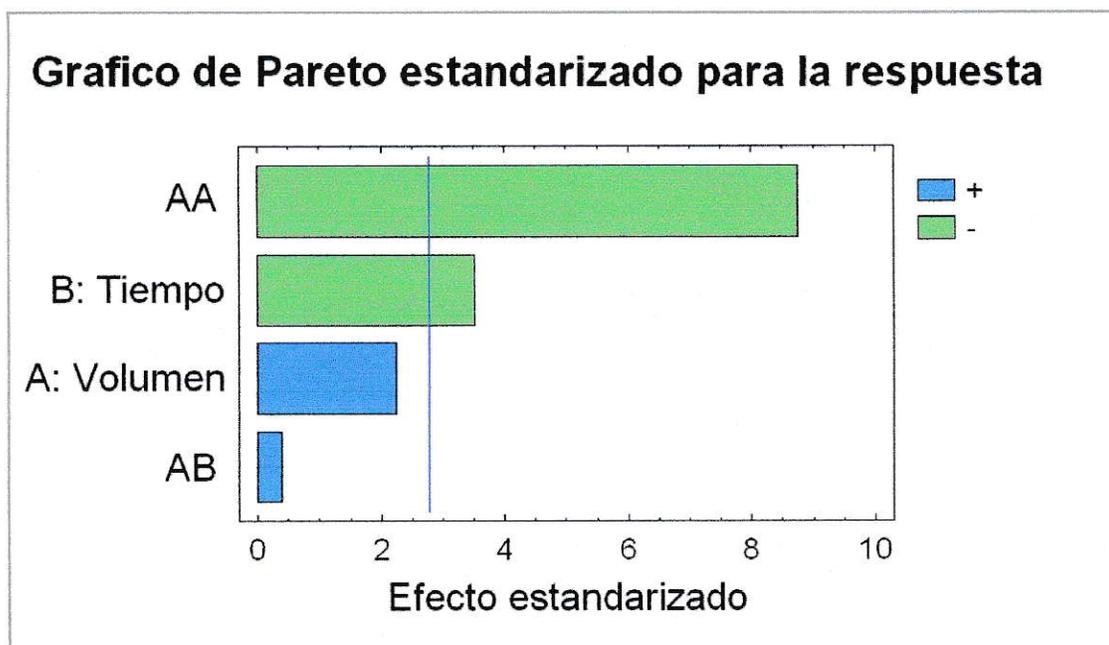


Figura 14: Gráfico de Pareto estandarizado.

La tabla 7 presenta los factores de volumen y tiempo óptimos, que entregó el programa computacional para la optimización de estas dos variables.

Tabla 7: Rangos estudiados durante la optimización y respuesta óptima para cada variable

Factor	Nivel Bajo	Nivel Alto	Nivel Optimo
Volumen (mL)	2,0	10,0	6,3
Tiempo (min)	1,0	10,0	1,0

6.3 Validación del método propuesto

6.3.1 Curvas de calibración

Una vez definidas las condiciones del GC-MS, y lograda la optimización de las variables, se procedió a validar los parámetros analíticos de la metodología propuesta para la extracción de PCBs. Para ello se realizaron diferentes curvas de calibración, una para cada tipo de congéner.

La figura 15 muestra un cromatograma de una estándar de 60 mg/kg y los iones para los heptaclorobifenilos. La integración de las áreas se realiza en el ion más abundante. Para este caso en particular se realiza en el ion 394.

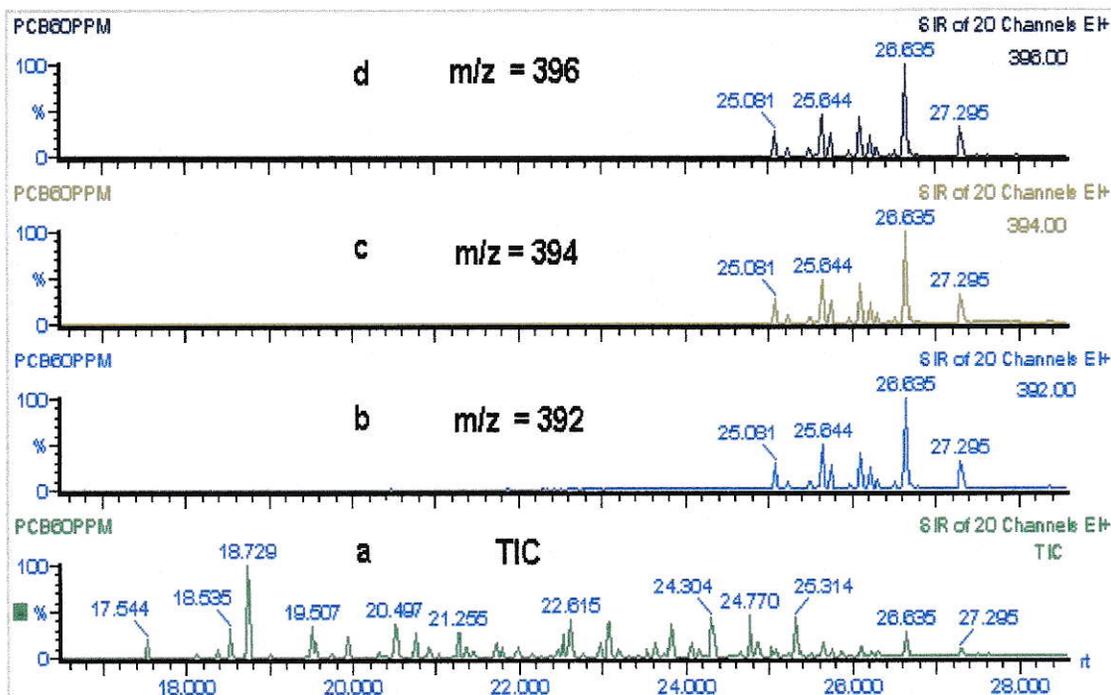
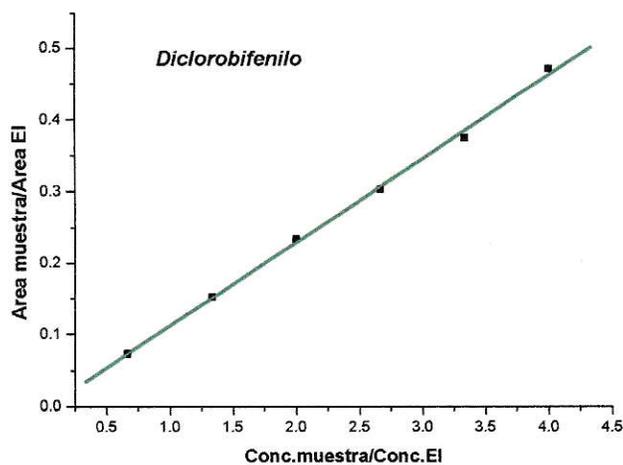
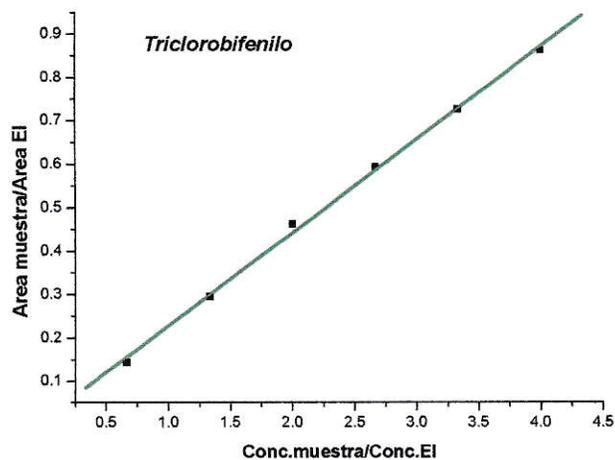


Figura 15: a) Cromatograma de un estándar de 60 mg/kg en modalidad SIR. b), c), d) los iones moleculares para el heptaclorobifenilo.

Las curvas obtenidas para cada tipo de bifenilo policlorado con su correspondiente R, se muestran a continuación en las figuras 16, 17 y 18.

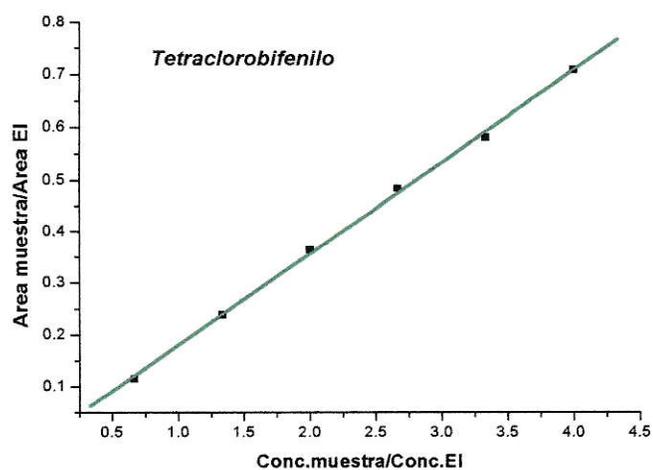


Ecuación de la recta:
 $Y = 0,117 * X - 0,005$
 $R = 0,9990$

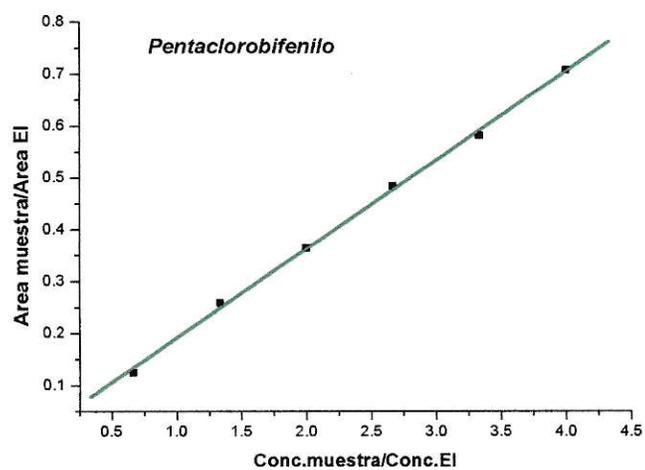


Ecuación de la recta:
 $Y = 0,214 * X + 0,013$
 $R = 0,9990$

Figura 16: Curvas de calibración para di y triclorobifenilo.

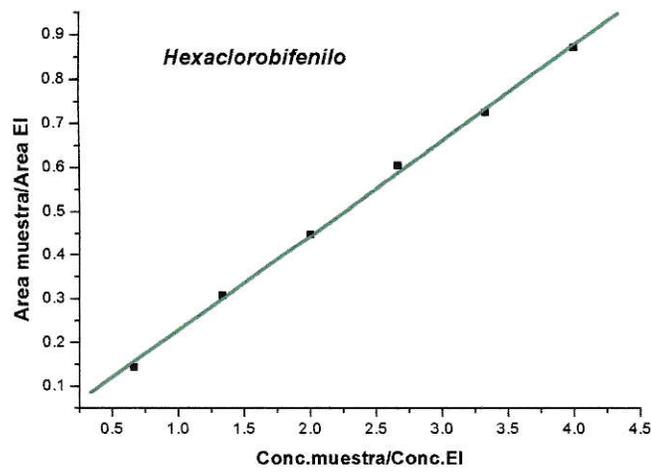


Ecuación de la recta:
 $Y = 0,176 \cdot X + 0,003$
 $R = 0,9994$

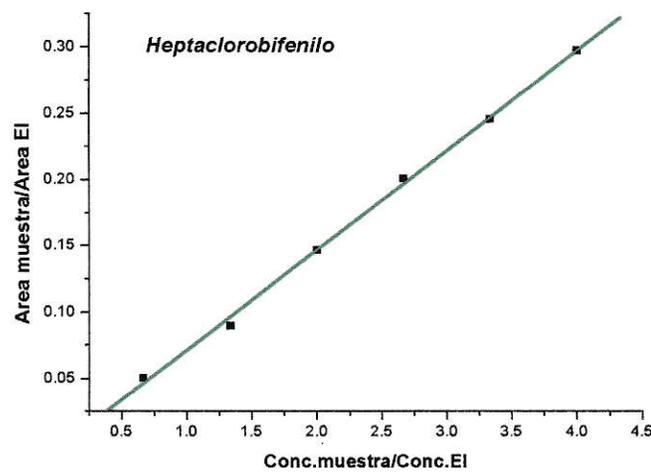


Ecuación de la recta:
 $Y = 0,171 \cdot X + 0,020$
 $R = 0,9993$

Figura 17: Curvas de calibración para tetra y pentaclorobifenilo.



Ecuación de la recta:
 $Y = 0,215 \cdot X + 0,013$
 $R = 0,9992$



Ecuación de la recta:
 $Y = 0,075 \cdot X - 0,004$
 $R = 0,9991$

Figura 18: Curvas de calibración para hexa y heptaclorobifenilo.

6.3.2 Determinación de parámetros analíticos

Una vez seleccionadas las condiciones y hechas las curvas de calibración respectivas para cada congéner, se procedió a determinar los parámetros analíticos. Para la determinación de los LD y LC, se realizó una curva de calibración con estándares de Aroclor 1242, Aroclor 1254 y Aroclor 1260 en un rango de baja concentración (1, 5 y 10 mg/kg), para cada congéner. La tabla 8 muestra las ecuaciones utilizadas, con sus respectivos coeficientes de regresión.

Tabla 8: Ecuaciones de regresión para cada congéner, bajo 10 mg/kg

Tipo de Congéner	R	Pendiente $m \pm \text{Error}$	Intercepto $S_{bl} \pm \text{Error}$
Diclorobifenilo	1	$8,17E-3 \pm 1,93E-5$	$5,78E-3 \pm 1,25E-4$
triclorobifenilo	0,99961	$2,88E-2 \pm 8,01E-4$	$7,67E-2 \pm 5,19E-3$
Tetraclorobifenilo	0,99914	$1,87E-2 \pm 7,79E-4$	$3,78E-2 \pm 5,05E-3$
Pentaclorobifenilo	0,99987	$3,20E-2 \pm 5,13E-4$	$2,22E-2 \pm 3,33E-3$
Hexaclorobifenilo	0,99972	$2,55E-2 \pm 1,15E-3$	$9,24E-3 \pm 7,45E-3$
Heptaclorobifenilo	0,99934	$1,50E-2 \pm 5,44E-4$	$1,23E-2 \pm 3,53E-3$

Para la determinación de la precisión, se calculó el coeficiente de variación (CV) al nivel de repetibilidad.

Con respecto a la exactitud del método, esta fue expresada como porcentaje de recuperación. Estos resultados se muestran en la tabla 8.

Aquí se observa que la extracción de estos compuestos con el método aplicado es cuantitativa para los PCBs más pesados, es decir, con mayor cantidad de cloro en la molécula. Por otro lado, el método propuesto no es cuantitativo para PCBs de baja masa molar, debido a la gran interferencia que produce el aceite mineral extraído sobre las señales de los analitos, en el rango de tiempos de retención correspondientes a los dicloro y tetraclorobifenilo. Sin embargo, como se aprecia en la tabla 9, la recuperación obtenida es adecuada para utilizarlo como método de screening en la verificación de aceites contaminados con estos compuestos (> 50 mg/kg).

Tabla 9: Parámetros analíticos obtenidos para los diferentes congéneres.

Tipo de Congéner	LD (mg/kg)	LC (mg/kg)	Precisión	Exactitud	
			CV * (%)	% Recuperación **	% Recuperación *
Diclorobifenilo	0,05	0,15	3,40	< LD	61,0
triclorobifenilo	0,54	1,80	4,36	< LD	40,4
Tetraclorobifenilo	0,81	2,69	4,74	< LD	30,0
Pentaclorobifenilo	0,31	1,04	2,25	100,8	91,0
Hexaclorobifenilo	0,87	2,92	2,14	102,6	92,2
Heptaclorobifenilo	0,88	2,35	2,35	101,8	97,8

* A una concentración de 60 mg/kg. Residuo peligroso según la norma

** A una concentración de 10 mg/kg. Residuo no peligroso según la norma

6.3.3 Proceso de limpieza de la muestra

La figura 19 muestra dos cromatogramas para una misma muestra. Una de ellas, con un proceso de clean-up, el cual permitió eliminar la interferencia del aceite co-extraído junto con los PCBs, y otro sin proceso de clean-up. En la muestra sin clean-up se observa claramente la extracción de aceite por parte del metanol, en cambio la muestra con clean-up, la aparición de aceite es mínima.

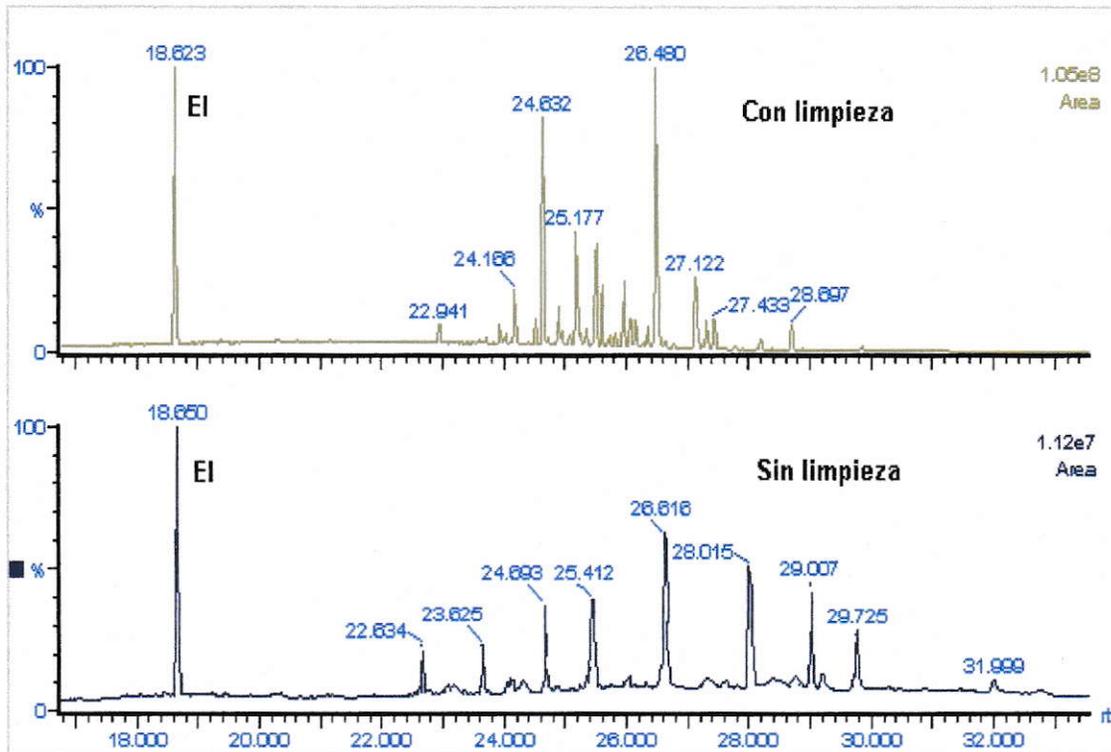


Figura 19: Cromatograma de una misma muestra con y sin limpieza (clean-up).

Las recuperaciones del método con o sin pretratamiento (limpieza) a un nivel de 60 mg/kg, se muestran en la tabla 10. En esta tabla se observa un gran aumento de recuperación para los congéneres que anteriormente se encontraban bajo la superficie del aceite (di, tri y tetraclorobifenilos).

Por otro lado los congéneres de mayor masa molar mantuvieron su porcentaje de recuperación (penta, hexa y heptaclorobifenilo).

Tabla 10: Recuperaciones alcanzadas por el método propuesto con y sin limpieza a nivel de 60 mg/kg

Tipo de Congéner	% Recuperación sin clean-up	% Recuperación con clean-up
Diclorobifenilo	67 ± 3	96 ± 3
tríclorobifenilo	41 ± 4	94 ± 3
Tetraclorobifenilo	38 ± 4	92 ± 3
Pentaclorobifenilo	94 ± 2	92 ± 2
Hexaclorobifenilo	91 ± 2	96 ± 2
Heptaclorobifenilo	97 ± 2	99 ± 2

6.4 Aplicación de la metodología propuesta a muestras reales

Se analizaron un total de 4 muestras reales de aceites de transformadores, con el método propuesto. Todas las muestras sobrepasaron la norma permitida, es decir, sobre 50 mg/kg.

En la determinación de PCBs para estas muestras, se trabajó con una curva de calibración de hexa y heptaclorobifenilos, debido a que todas las muestras reales presentaron altos índices de PCBs más pesados, por lo que no fue necesario tratamiento de limpieza de la muestra.

La figura 20 muestra un cromatograma TIC en modalidad SIR, para una muestra real (A1) usando la metodología propuesta en forma directa. A diferencia de los otros cromatogramas mostrados anteriormente (figuras 9,15 y 19), el EI ($t_r = 18,66$) para este caso, no sobrepasa el 40 % de abundancia en la señal. Esto es de gran importancia, ya que pone de manifiesto que la concentración de PCBs para esta muestra es muy alta y sobrepasa ampliamente el rango de estudio de muestra metodología que es de 60 mg/kg (PCBs totales).

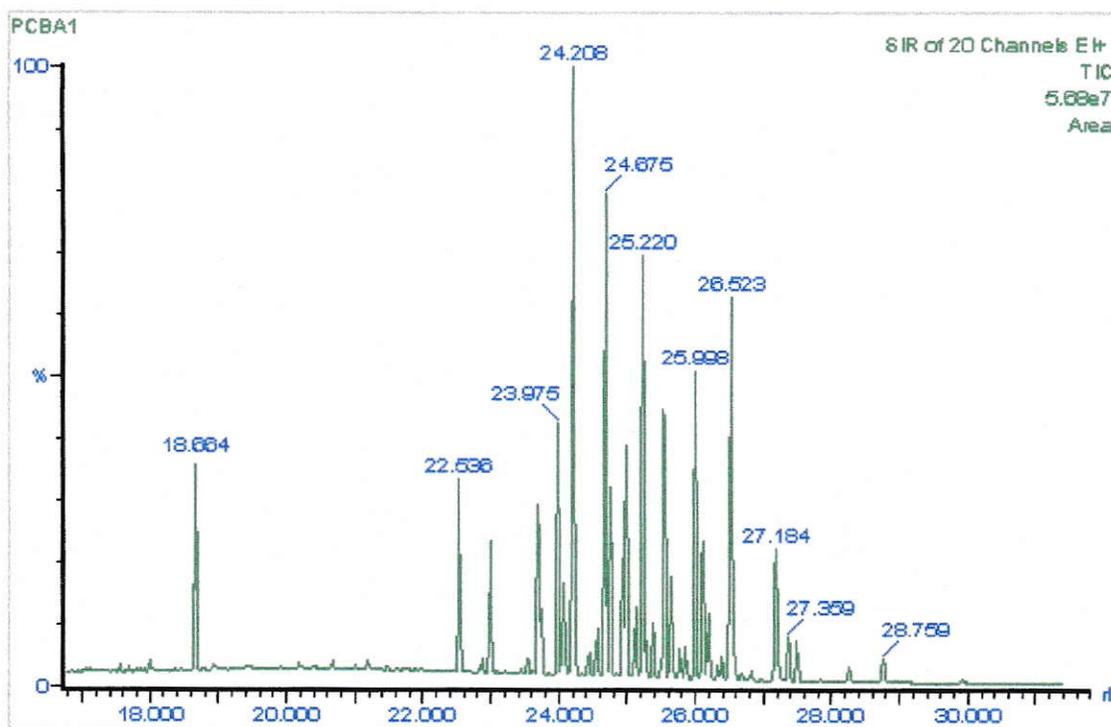


Figura 20: Cromatograma TIC de la muestra real A1.

Esta misma situación se presentó en las tres muestras restantes, lo que llevó a diluciones de las muestras (sobre 500 veces).

La tabla 11 muestra las recuperaciones obtenidas para las cuatro muestras reales. Como se puede observar, todas las muestras superan ampliamente la norma de 50 mg/kg, lo que nos indica que estos aceites son claramente residuos peligrosos.

Tabla 11: Concentraciones obtenidas en muestras reales de aceites de transformadores

muestra	mg/Kg	Clasificación
A1	3067 ± 120	Residuo peligroso
A2	8100 ± 320	Residuo peligroso
UV	14375 ± 570	Residuo peligroso
AO	15120 ± 600	Residuo peligroso

Por otra parte el método propuesto para que sea cuantitativo a este nivel de contaminación, requiere de varias extracciones consecutivas y en algunos casos para las dos muestras más contaminadas, varias diluciones. Esto nos da a entender que a estos niveles de contaminación, el método funciona como método de screening.

Si bien el rango de estudio del método propuesto, es un rango muy pequeño y a muy baja concentración, es también el rango más importante en la determinación de PCBs en aceites de transformadores, ya que es a este nivel donde se determina la peligrosidad de esos compuestos en este tipo de residuos.

A diferencia del método propuesto en este trabajo, el método estándar para la extracción de PCBs desde aceites de transformadores (ASTM D4059-00), utiliza detector de captura de electrón (ECD). Este tipo de detectores es muy sensible a moléculas que contienen grupos funcionales electronegativos, tales como los halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro. De ahí su utilización para determinar PCBs. Además los detectores ECD tienen la ventaja de no alterar la muestra de manera significativa. Pero por otro lado su intervalo lineal de respuesta normalmente se limita a unos dos órdenes de magnitud.

Sin embargo este detector responde a cualquier molécula que pueda contener átomos de cloro como los triclorobencenos, que también se encuentran en los aceites de transformadores, por lo que existe una alta probabilidad que estos compuestos den señales con tiempos de retención comparables a los PCBs. Debido a esto no sólo el aceite mineral será un interferente en la detección de los PCBs, sino que también lo harán aquellos compuestos clorados que no sean PCBs.

A fin de eliminar estos dos interferentes es que este método propone dos pasos de limpieza de la muestra, para una mayor recuperación de los PCBs. La muestra primero se disuelve en n-hexano y se pasa por una columna con Fluorisil (60/100 mesh) a fin de eliminar las impurezas propias del aceite mineral y luego una limpieza con ácido sulfúrico concentrado (extracciones consecutivas).

La muestra se agita por diez minutos y luego se somete a centrifugación, para separar ambas fases, por unos 15 minutos más. Este tratamiento con ácido es efectivo para eliminar los interferentes antes mencionados y algunas sustancias lipofílicas propias del aceite mineral.

Una comparación crítica entre el método estándar y el método propuesto en esta memoria indica que:

En nuestra metodología la existencia de otros compuestos clorados, como los triclorobencenos no interfieren en la cuantificación de los PCBs, ya que, un espectro de masa nos entrega información única e inequívoca para cada molécula. En consecuencia el número de etapas de clean-up se reduce, lo que conlleva a un ahorro de tiempo.

Por otra parte en la mayoría de los casos, el método propuesto en esta memoria, no necesita de un proceso de clean-up para verificar la existencia de PCBs sobre la norma

en los aceites de transformadores, lo que permite minimizar considerablemente el tiempo de la metodología para la determinación de estos compuestos.

Gracias a todo lo planteado anteriormente, es que el método se hace ampliamente valioso en el sentido analítico y sobre todo en el sentido ambiental. Analítico porque sólo las muestras que den positivo, es decir sobre la norma, podrían ser sometidas a los métodos confirmativos, y aun así se estaría ahorrando tiempo, trabajo y reactivos, gracias a la simplicidad operativa del método propuesto. En el sentido ambiental, porque es capaz de entregar información valiosa acerca de la peligrosidad de las muestras tratadas y de la posible contaminación de las mismas.

CONCLUSIONES

En el presente seminario de título se ha desarrollado una metodología rápida por espectrometría de masas en modalidad SIR, para la determinación de bifenilos policlorados en aceites de transformadores. A partir de las experiencias realizadas durante el desarrollo de esta, podemos concluir lo siguiente:

- ❖ El diseño experimental es una herramienta óptima para estudiar simultáneamente el efecto, en este caso de dos variables importantes sobre la respuesta y sus posibles interacciones. Además la representación gráfica dada por esta, resulta clara para interpretar y nos entrega información de mucha utilidad, con respecto a las variables estudiadas.
- ❖ Por otro lado permite disminuir el tiempo del proceso de desarrollo en la experimentación, ya que requiere relativamente de pocas corridas experimentales, lo que se traduce en un ahorro de recursos, mejorando con esto además el valor de la investigación.
- ❖ Al trabajar en modalidad SIR se incrementó la especificidad. La sensibilidad también mejoró, ya que al registrarse únicamente un número bajo de iones, se aumentó la relación señal ruido, obteniéndose en el modo SIR sensibilidades de 100-1000 veces superior que en SCAN.

- ❖ La metodología entrega excelentes recuperaciones para PCBs de alta masa molar (de 5 a 7 cloros) a dos niveles de concentración (10 y 60 mg/kg), pero bajas recuperaciones para PCBs más livianos (de 2 a 4 cloros), sobre todo a concentraciones bajas. Sin embargo, esta limitante no es relevante, si lo que se quiere determinar es el grado de peligrosidad del residuo, ya que a concentraciones elevadas la respuesta es suficientemente alta para tal propósito.

- ❖ Para la determinación exacta de Arocloros con bajo contenido de cloro (diclorobifenilo, triclorobifenilo y tetraclorobifenilo), se hace necesario un pretratamiento de la muestra (clean-up) para eliminar el aceite extraído y de esta forma lograr una determinación cuantitativa de ellos.

- ❖ El tratamiento del extracto con H_2SO_4 concentrado resultó ser eficaz para limpiar la muestra y con esto obtener mejores recuperaciones de aquellos PCBs claramente interferidos por el aceite, es decir de 2 a 4 cloros.

- ❖ Si bien un detector ECD es altamente sensible y nos arroja límites de detecciones muy bajos, también presenta menos selectividad que un detector MS. Esto es de gran importancia a la hora de determinar PCBs, ya que un compuesto como el triclorobenceno presente en los aceites de transformadores, no es interferente en la metodología propuesta pero si lo es en la metodología convencional, lo que exige realizar un pretratamiento (clean-up) para su eliminación.

- ❖ El método propuesto representa una metodología más rápida y sencilla que la metodología convencional, ya que no requiere de un proceso de clean-up para verificar la existencia de PCBs sobre la norma en los aceites de transformadores.
- ❖ Como conclusión final se puede indicar, que si bien el método propuesto representa una alternativa al método tradicional (ASTM D4059-00), representa un sistema de vanguardia (screening) que resulta ser simple y rápido y que actúa como un sistema de filtro de muestras contaminadas y no contaminadas. Después de esto, sólo las muestras seleccionadas, es decir, aquellas que sobrepasan la norma, podrían ser sometidas a un método convencional, si es que se requiere una cuantificación más certera de los analitos. Lo cual puede no ser necesario si se requiere tomar una medida restrictiva de tipo ambiental, donde la rapidez en la toma de decisiones es clave.

BIBLIOGRAFÍA

- ATSDR. Resumen de salud pública.2000 ; Bifenilos policlorados
http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs17.pdf
- ATSDR. ToxFAQs™ . 2001; Bifenilos policlorados (BPCs)
http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts17.html
- Baird, C. 2001. Compuestos tóxicos. En Química Ambiental. Ed. Reverté S.A., Barcelona, Pp 346-366.
- Björklund, E., Muller, A., Von Holst, C. 2001. Comparison of Fat Retainers in Accelerated Solvent Extraction for the Selective Extraction of PCBs from Fat-Containing Samples. Anal. Chem. 73:4050-4053.
- Decreto Supremo N° 148, 2003. Ministerio de Salud. Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos Peligrosos, Chile.
- Esteban, L. 1993. En la espectrometría de masas en imágenes. ACK Editores, Madrid, Pp 103-105.
- Ferré, J. 2004.
<http://www.quimica.urv.es/quimio/general/doecast.pdf>.

- Freué, J. 2006.
<http://www.cancerteam.com.ar/freue01.html>.
- Goldey, E., Kehn, L., Lau, C., Rehnberg, G., Crofton, K. 1995. Development exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) reduces circulating thyroid hormone concentrations and causes hearing deficits in rats. *Toxicol Appl Pharm* 135:77-88.
- Greenpeace. 2005.
<http://www.greenpeace.org/chile/campaigns/t-xicos/pcbs>.
- Kyoung, S., Kim, J., Chung, D., Sim, K., Kyoung, J., Hee, Y., Rok, I., 2004. Analytical method of polychlorinated biphenyls (PCBs) in transformer oil. *Organohalogen Compd.* 66:358-364.
- Miller J.C., Miller J.N, 1993. *Estadística para química analítica*. Addison-Wesley Iberoamericana, Wilmington. Cap. 7.
- Norma Chilena 382, of 98. *Sustancias Peligrosas – Terminología y clasificación general*. Edición 1998. Instituto Nacional de Normalización, Chile.
- Plascencia, G. 2003. *Espectrometría de masas*.
http://132.248.32.2/computo/pdfs/met/Spec_Masas.pdf.

- Punín, M., Lage, M., 2005. Comparison of supercritical fluid extraction and Soxhlet extraction for the determination of PCBs in seaweed samples. *Chemosphere*, 43:455-459.
- Ramil, M., Rodriguez, I., Cela, R. 2004. Selective determination of polychlorinated biphenyls in waste oils using liquid-liquid partition followed by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography with atomic emission detection. *J. Chromatogr. A*.1056:263-266.
- Rosinska, A., Sulkowski, W., Malina, G. 1999. Comparison of the extraction methods of polychlorobiphenyls from sewage sludge. CISA, Environmental Sanitary Engineering Centre, Cagliari, Italy.
- Schechter, A., Cramer, P., Boggess, K., Stanley, J., Olson, J.R. 1997. Levels of Dioxins, Dibenzofurans, PCB and DDE Congeners in Pooled Food Samples Collected in 1995 at Supermarkets Across the United States. *Chemosphere*, 34:1437-1447.
- Schinitman, N.I. 2000. Prevenir la Exposición a PCBs, Dioxinas y Furanos. <http://www.ecoportat.net/content/view/full/29648>
- Shain, W., Bush, B., Seegal, R. 1991. Neurotoxicity of polychlorinated biphenyls: Structure activity relationship of individual congeners. *Toxicol Appl Pharm* 111:33-42.

- Skoog^a, D.A y Leary, J.J. 1994. Cromatografía de gases. En Análisis Instrumental. Edit. Mc Graw Hill, Madrid. p 704.
- Skoog^b, D.A., Leary, J.J. 1994. Espectrometría de masas. En Análisis Instrumental. Edit. Mc Graw Hill. Madrid. p 502.
- ASTM D-405900. 2005. Standard test method for analysis of polychlorinated biphenyls in insulating liquids by gas chromatography.
- Takada, M., Hisayuki, T., Ryuji U. 2001. A new rapid method for quantification of PCBs in transformer oil. Chemosphere, 43:455-459.

ANEXO

1) Cálculos LD y LC para el pentaclorobifenilo

Ecuación lineal general: $Y = m \cdot X + S_{bl}$

$$m = 0,03212 \pm 0,00051$$

$$S_{bl} = 0,02218 \pm 0,00333$$

Limite de detección (LD):

$$S = S_{bl} + 3 \times \sigma_{bl}$$

$$S = 0,02218 + 3 \times 0,00333$$

$$S = 0,03217$$

$$LD = \frac{S - S_{bl}}{m}$$

$$LD = \frac{0,03217 - 0,02218}{0,03212} = 0,311 \text{ mg/kg}$$

Limite de cuantificación (LC):

$$S = S_{bl} + 10 \times \sigma_{bl}$$

$$S = 0,02218 + 10 \times 0,00333$$

$$S = 0,05548$$

$$LD = \frac{S - S_{bl}}{m}$$

$$LD = \frac{0,05548 - 0,02218}{0,03212} = 1,0367 \text{ mg/kg}$$

2) Cálculo precisión (CV) para el pentaclorobifenilo

Replicas	Relación área muestra/ área EI
1	0,05344
2	0,05234
3	0,05069
4	0,05049
5	0,05146
6	0,05306

Media de la muestra = $X = 0,05191$

Desviación estándar de la muestra = $S = 0,00122$

$$CV = \frac{S}{X} \times 100$$

$$CV = \frac{0,00122}{0,05191} \times 100 = 2,35 \%$$