



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (BPCs) EN  
LÍQUIDOS AISLANTES EMPLEANDO IONIZACIÓN QUÍMICA  
NEGATIVA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA**

**JOSÉ EDUARDO BECERRIL MERCADO**



**MÉXICO, D.F.**

**2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**           **Profesor: FRANCISCO ROJO CALLEJAS**

**VOCAL:**                 **Profesor: ANA ELENA GARCIA IÑARRITU**

**SECRETARIO:**         **Profesor: OMAR AMADOR MUÑOZ**

**1er. SUPLENTE:**       **Profesor: PATRICIA DIAZ ARISTA**

**2° SUPLENTE:**         **Profesor: CAROLINA FLORES AVILA**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: CENTRO DE CIENCIAS DE LA  
ATMOSFERA, UNAM.**

### **ASESOR DEL TEMA:**

**Dr. Omar Amador Muñoz.**

### **SUPERVISOR TÉCNICO:**

**M. en C Erik Beristaín Montiel.**

### **SUSTENTANTE:**

**Becerril Mercado José Eduardo.**

## ÍNDICE

	Páginas
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. ¿Qué son los BPCs?	2
1.2. Propiedades Fisicoquímicas	3
1.3. Producción	6
1.4. Los BPCs como contaminantes	8
1.4.1. Riesgos en el ambiente	9
1.4.2. Riesgos a la Salud	10
1.4.2.1. Efectos hepáticos	11
1.4.2.2. Efectos endocrinos	12
1.4.2.3. Efectos dérmicos y oculares	12
1.4.2.4. Efectos Inmunológicos	12
1.4.2.5. Efectos neurológicos	12
1.4.2.6. Efectos reproductivos	13
1.4.2.7. Efectos de desarrollo	13
1.4.2.8. Cáncer	13
1.4.2.9. Niños	14
1.5. Estudios clínicos	14
1.5.1 Niveles mínimos de riesgo (NMR)	15
1.5.2 Eliminación y excreción	16
1.6 Mecanismo de acción	16
1.7. Disposición y Eliminación de los BPCs	18
1.7.1. Eliminación térmica	18
1.7.2. Eliminación química	18
1.7.3. Fotólisis	19
1.7.4. Biodegradación	19
1.7.4.1. Degradación aerobia	20
1.7.4.2. Degradación anaerobia	21
2. METODOS DE EXTRACCIÓN	22
2.1. Soxhlet	23
2.2. Líquido-líquido	23
2.3. Fase sólida	23
2.4. Fluidos súper críticos	23
2.5. Microondas	24
2.6. Ultrasonido	24
2.7. Barra magnética	25
3. CROMATOLOGRAFÍA DE GASES	26

3.1. Detector de captura de electrones	26
3.2. Espectrometría de masas	27
3.2.1. Tipos de ionización	28
3.2.1.1 Ionización Electrónica (IE)	28
3.2.1.2. Ionización Química (IQ)	29
3.2.2. Modos de análisis en espectrometría de masas	30
3.3. Análisis Bifenilos Policlorados (BPCs)	30
4. ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO	33
4.1. Análisis Cualitativo	33
4.2. Análisis Cuantitativo	33
4.2.1 Normalización simple	33
4.2.2. Normalización de área corregida	34
4.2.3. Estándar externo	34
4.2.4. Estándar interno	34
4.2.5. Adiciones patrón	34
5. OBJETIVOS	36
5.1. General	36
5.2. Particulares	36
6. METODOLOGÍA	37
6.1. Materiales y Reactivos	37
6.2. Procedimiento general	38
6.3. Preparación de disoluciones estándar	39
6.3.1. Disolución de trabajo (DT)	39
6.3.2. Disolución de Estándares internos (DT-EI)	40
6.3.3. Referencia fortificada (RF)	40
6.3.4. Materiales de referencia certificado (MRC)	41
6.3.5. Muestras de aceite de transformador	42
6.4. Tratamiento de disoluciones	43
6.4.1 Evaluación de los métodos de limpieza (eliminación de interferencias)	43
6.4.2. Evaluación de exactitud y eficiencia del método.	45
6.4.3 Efecto matriz	46
6.4.4. Determinación de BPCs en aceites de transformador	47
6.5. Análisis cualitativo	48
6.6. Análisis cuantitativo	49
7. RESULTADOS	53
7.1. Análisis cualitativo y cuantitativo	53
7.2. Efecto matriz	59
7.3. Eficiencia del método analítico	62

7.3.1. Exactitud y eficiencia	66
7.3.2. Límites de detección y cuantificación del método	68
7.4. Determinación de BPCs en las muestras de aceite de transformador	68
8. Conclusiones	70
8.1. General	70
8.2. Particulares	70
9. Consideraciones	71
10. Referencias	72
ANEXO I	78

### Índice de figuras

Figura	Página
Figura 1. Estructura básica de los Bifenilos Policlorados (BPCs)	3
Figura 2. BPCs como material dieléctrico y aislante térmico	7
Figura 3. La inadecuada eliminación de BPCs	10
Figura 4. Mapa conceptual fisiológico basado en la exposición a los BPCs	11
Figura 5. Los BPCs están clasificados como posibles carcinogénicos en piel	14
Figura 6. Diagrama de metabolismo de los BPCs	17
Figura 7. Los incineradores son una herramienta para la destrucción de BPCs	18
Figura 8. Mecanismo de Reacción en el 3 Cloro Bifenilo en presencia de iones OH	20
Figura 9. Diferentes microorganismos son útiles para la biodegradación	20
Figura 10. Degradación de BPCs por un mecanismo anaerobio	20
Figura 11. Reacción en dos pasos mediada por microorganismos para la eliminación de BPCs	21
Figura 12. Principales pasos para determinar BPCs en muestras	22
Figura 13. Metodología general en la determinación de BPCs en muestras de aceite de transformador	38
Figura 14. Diagrama para la preparación de las disoluciones madre y de trabajo 1, 2 de BPCs	39
Figura 15. Preparación de las disoluciones madre y de trabajo de los estándares internos (DM = Disolución madre, DT EI = disolución de trabajo estándar interno)	40
Figura 16. Preparación de la disolución de referencia fortificada	41
Figura 17. Preparación del material de referencia certificado	41
Figura 18. Esquema que muestra la verificación de la balanza utilizada para el desarrollo de la metodología	42

Figura 19. Pruebas de eficiencia en tratamientos de limpieza en aceite mineral fortificado	44
Figura 20. Procedimiento aplicado a las muestras de aceite de transformador	48
Figura 21. Cromatograma del Aroclor 1242	53
Figura 22. Cromatograma del Aroclor 1254	54
Figura 23. Cromatograma del Aroclor 1260	54
Figura 24. Cromatograma de la mezcla de los tres Aroclor 4ª dilución de la curva de calibración instrumental	55
Figura 25. Curva de calibración Aroclor 1242, 12.85 min.	57
Figura 26. Curva de calibración Aroclor 1254, 23.37 min.	57
Figura 27. Curva de calibración del Aroclor 1260, 34.75 min.	57
Figura 28. Cromatogramas traslapados que muestran el comportamiento del aceite mineral enriquecido con 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ de la mezcla de tres Aroclor en ionización química positiva	60
Figura 29. Cromatogramas traslapados que muestran a los Bifenilos Policlorados a 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ en el aceite mineral, analizados en ionización química negativa monitoreando a los iones seleccionados	61
Figura 30. Supresión iónica de los BPCs detectados en EM/IQN/MIS por el efecto matriz	62
Figura 31. Recuperación de Aroclor por el método de adición patrón del 1242, 1254, 1260 y mezcla con 50 $\text{g Kg}^{-1}$ , sin considerar la supresión de iones	63
Figura 32. Recuperación de los BPCs en los Aroclor 1242, 1254, 1260 y en su mezcla a 50 $\text{g Kg}^{-1}$ . Cálculo considerando la curva de calibración instrumental y la supresión de iones	64
Figura 33. Porcentajes de recuperación de los BPCs adicionados sobre aceite de transformador a 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ y tratados con ácido, florisil y ácido + florisil	65
Figura 34. Exactitud en términos del sesgo entre el valor observado y el certificado para el Aroclor 1242 (N=20), 1254 (N=4) y 1260 (N=16)	66
Figura 35. Eficiencia del método en términos de los porcentajes de recuperación del Aroclor 1242 (N=20), 1254 (N=4) y 1260 (N=16), en el material de referencia certificado	67
Figura 36. Bifenilos Policlorados en muestras de aceite de transformador	68

## Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla I. Grupos de Bifenilos Policlorados (BPCs)	4
Tabla II. Composición de los grupos isómeros de los BPCs	5
Tabla III. Composición de mezclas comerciales de BPCs en porcentaje	7
Tabla IV. Técnicas de extracción y purificación	25
Tabla V. Comparación entre detector de captura de electrones y espectrometría de masas	31
Tabla VI. Análisis de BPCs mediante detector de captura de electrones y espectrómetro de masas en IQN, ventajas y desventajas	32
Tabla VII. Verificación de la balanza Sartorius modelo A200S. N=3	43
Tabla VIII. Tiempos de retención de los Aroclor del 1242, 1254, 1260	56
Tabla IX. Coeficientes de correlación de Pearson	58
Tabla X. Pendientes (FRR), ordenada al origen y límites de detección y de cuantificación ponderados instrumentales para cada señal de Aroclor	59
Tabla XI. Promedios, desviaciones estándar (DE) y coeficientes de variación (CV) de los porcentajes de recuperación de los BPCs adicionados sobre aceite de transformador	65
Tabla XII. Promedios, desviaciones estándar (DE) y coeficientes de variación (CV) de los porcentajes de recuperación de los Aroclor	67
Tabla XIII. Límites de detección y de cuantificación de los Aroclor 1242, 1254 y 1260 (N=16)	68
Tabla XIV. Promedios, desviaciones estándar (DE) y coeficientes de variación (CV) de los Bifenilos Policlorados en aceites de transformador	69

## RESUMEN

Los bifenilos policlorados (BPCs) son un conjunto de compuestos sintéticos orgánicos persistentes, con características dieléctricas y térmicas usados ampliamente en transformadores eléctricos. Su núcleo está conformado por un bifenilo y puede contar con dos o hasta 10 átomos de cloro. Su naturaleza lipofílica les permite bioacumularse en los seres vivos, dañando su salud. En este trabajo, se optimizó el método de la ASTM 04959-00 (2010) que contempla el uso excesivo de materiales y reactivos. La metodología mostró ser sensible y selectiva para la detección de BPCs en aceite de transformador utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en ionización química negativa (CG-EM-IQN/MIS). Esta metodología reduce el tiempo y la cantidad de consumibles. En ella se utilizaron 100 mg de aceite de transformador, 5 mL de hexano y 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado. La extracción se hizo en ultrasonido.

El análisis de las muestras se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas con cuadrupolo en ionización química negativa y monitoreando a los iones de interés. El método analítico fue eficiente para recuperar el  $89.9 \pm 12.1$  % de BPCs del Aroclor 1242, el  $87.5 \pm 6.1$  % de aquellos en el Aroclor 1260 y sólo del  $72.8 \pm 1.1$  % en el Aroclor 1254. La exactitud del método en términos del sesgo fue  $-10.1 \pm 1.4$  % para el Aroclor 1242, del  $-12.5 \pm 0.9$  % para el Aroclor 1260 y del  $-27.2 \pm 0.4$  % para el Aroclor 1254. La reproducibilidad del método en términos de sus coeficientes de variación osciló entre el 0.4 y el 12 %. Los límites de detección para el Aroclor 1242, 1254 y 1260 fueron 229, 295 y 117  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , mientras que los de cuantificación fueron 759, 651 y 693  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . La complejidad de la matriz provocó la supresión de los iones de los BPCs entre 5 y 25 %. Este parámetro se debe considerar cuando se requiera su análisis en aceite mineral por CG-EM-IQN/MIS.

Se encontraron BPCs en las cuatro muestras enviadas por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Todas rebasaron los 50  $\text{mg Kg}^{-1}$  establecidos en la NOM-133-ECOL-2000. En tres de ellas, el Aroclor 1242 fue el más abundante. En la cuarta fue el Aroclor 1260.

## 1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la contaminación ambiental es un procedimiento complejo y se encuentra integrado por múltiples disciplinas y profesionales dedicados a la caracterización química de los contaminantes, a su dispersión en el medio, a sus fuentes, receptores y efectos en la salud humana y en el entorno donde se encuentran. Por medio del análisis químico se conduce a un mejor conocimiento del ambiente y de los procesos que suceden. Con la optimización de las técnicas analíticas se obtiene mayor sensibilidad para detectar menores cantidades de contaminantes, minimiza variaciones en las concentraciones dependientes del tiempo debido a la degradación de los analitos, así como al manejo y al origen de la muestra e identifica interferencias debidas a la naturaleza de la matriz o la presencia de compuestos que comparten estructuras o propiedades físico químicas con los analitos de interés. Por tanto en un análisis químico, el principal objetivo es determinar cualitativa y cuantitativamente la composición de la muestra con la mayor precisión y exactitud posible.

### **1.1. ¿Qué son los bifenilos policlorados (BPCs)?**

Son un conjunto de compuestos orgánicos sintéticos persistentes, que los hacen peligrosos a los sistemas vivos, ya que se bioacumulan debido a su carácter lipofílico. No se conocen fuentes naturales de los BPCs. Se encuentran en forma de aceites o como sólidos, a menudo cristalinos, con tonos que van de incoloro a amarillo (OMS, 2005). Algunos son volátiles y se encuentran en fase gas en el aire, no tienen olor o sabor conocido. Se encuentran en el ambiente como mezclas variadas de BPCs. La estructura básica de estos compuestos es el bifenilo y generalmente se producen en mezclas complejas que tienen una variedad de usos en la industria.

Su alta estabilidad química y física, y su uso como aisladores eléctricos, disolventes y retardantes de flama, los llevaron a tener un amplio uso comercial. En los Estados Unidos se producían las mezclas bajo el nombre de Aroclor. El mayor productor de esta sustancia fue Monsanto en el periodo de 1929 hasta 1977, año en el que fueron prohibidos. Debido a su amplio uso, la eliminación inadecuada, su amplia

estabilidad y toxicidad potencial, los posibles efectos en la salud de estas sustancias aún siguen siendo una preocupación para el ambiente.

## 1.2 Propiedades Físicoquímicas

Los bifenilos policlorados están conformados por una molécula de bifenilo y pueden tener desde dos hasta 10 átomos de cloro (algunos consideran la sustitución por un solo cloro como BPC) (figura 1). Se conocen hasta 209 moléculas sintetizadas y caracterizadas de esta familia que varían en el número y la posición de los átomos de cloro sobre la molécula de bifenilo. Cuentan con una fórmula empírica,  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$  donde n corresponde al número de cloros desde el monoclora hasta el decacloro.

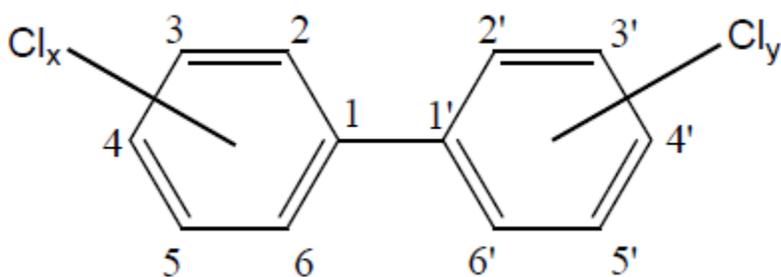


Figura 1. Estructura básica de los bifenilos policlorados (BPCs)

En la molécula de bifenilo por cada una de las diez posiciones posibles de sustitución puede encontrarse cloro o hidrógeno arrojando como diferencia el peso proporcionado por el átomo de cloro presentando, un grado de cloración que varía en porcentaje entre el 19 y 71%, dato importante para su identificación en su manufactura ya que se utiliza un código de identificación que consta de cuatro dígitos, comenzando con el número 12 que es la referencia a los 12 carbonos presentes, siendo la excepción el Aroclor 1016 (Hutzinger, 1974), seguido del porcentaje en peso de los cloros presentes en la mezcla, es decir el Aroclor 1242 consta en promedio de 42 % en masa de cloro en dicha mezcla con un promedio de tres átomos de cloro por molécula. La composición de las mezclas comerciales puede variar de un lote a otro debido a las diferencias en el proceso de cloración o el empleo de diferentes procedimientos de análisis para la identificación del cloro.

El conjunto de los 209 bifenilos policlorados se dividen por grado de cloración. Todos aquellos congéneres que en su composición contengan la misma cantidad de cloro se denominan homólogos, aquellos con diferente patrón de sustitución se denominan isómeros, por lo tanto, todo bifenilo con dos átomos de cloro independientemente de su ubicación serán isómeros entre sí, denominándose grupo homólogo o isómero.

Tabla I. Grupos de bifenilos policlorados (BPCs)

CLASIFICACION	NUMERO DE COMPUESTOS INDIVIDUALES
<b>Congénere</b>	209
<b>Grupo isómero u homólogo</b>	10
<b>Isómeros por grupo homólogo</b>	1-46

El sistema de numeración para los BPCs se muestra en la figura 1 donde se muestra la estructura general. Las posiciones 2, 2', 6, 6' se denominan *orto*, 3, 3', 5, 5' se denominan *meta* y la posición 4 y 4' se denominan *para*. Los anillos pueden girar alrededor del enlace que los conecta, si estos se encuentran en el mismo plano se llaman planares, pero si se encuentran en un ángulo de 90°, son no planares. La configuración planar está determinada por el número de sustituciones en la posición *orto*, ya que la sustitución de átomos de hidrógeno por átomos de cloro en las posiciones *orto* al ser más grandes obliga a los anillos de benceno a girar fuera del plano. La sustitución *no orto* provee la configuración de estructura plana llamándose congéneres coplanares.

Las propiedades químicas que hacen deseable su uso en las industrias son las mismas características que contaminan el entorno donde se encuentran. Las mezclas comerciales de BPCs a bajas temperaturas no cristalizan pero forman resinas, debido a que los átomos de cloro presentes tienen alta densidad. También presentan baja presión de vapor a temperatura ambiente, alta estabilidad térmica y resistencia a ácidos y bases y por tanto resistencia a la oxidación y reducción (Safe y Hutzinger, 1987). Son insolubles en agua pero en compuestos orgánicos y grasos son altamente solubles (OMS 2005). Tienen características propias de combustible, sus productos de combustión son más peligrosos que el mismo BPC y se incluyen

cloruros de hidrógeno, dibenzo dioxinas policloradas y dibenzo furanos policlorados (EPA 1980 y NFPA, 1994). Su alto uso en equipos eléctricos se debe a su carácter dieléctrico, ya que tienen poca conductividad eléctrica y alta resistencia al calor (Hutzinger 1983).

Su tendencia a acumularse en el medio y sedimentos marinos además de la capacidad de transportarse en la atmosfera a lugares remotos hace constante la evaluación de la salud humana y de los sistemas biológicos con respecto a los efectos producidos por los BPCs.

Tabla II. Composición de los grupos isómeros de los BPCs

<b>Grupo isómero BPCs</b>	<b>Fórmula empírica</b>	<b>Porcentaje de cloro</b>	<b>Numero de isómeros</b>
<b>Monocloro bifenilo</b>	$C_{12}H_9Cl$	19	3
<b>Dicloro bifenilo</b>	$C_{12}H_8Cl_2$	32	12
<b>Tricloro bifenilo</b>	$C_{12}H_7Cl_3$	41	24
<b>Tetracloro bifenilo</b>	$C_{12}H_6Cl_4$	49	42
<b>Pentacloro bifenilo</b>	$C_{12}H_5Cl_5$	54	46
<b>Hexacloro bifenilo</b>	$C_{12}H_4Cl_6$	59	42
<b>Heptacloro bifenilo</b>	$C_{12}H_3Cl_7$	63	24
<b>Octacloro bifenilo</b>	$C_{12}H_2Cl_8$	66	12
<b>Nonacloro bifenilo</b>	$C_{12}HCl_9$	69	3
<b>Decacloro bifenilo</b>	$C_{12}Cl_{10}$	71	1

La presencia del gran número de congéneres hace que el análisis químico y su reporte se dificulten, por lo tanto es común describir su concentración en el ambiente como “Aroclor grado equivalente” práctica imprecisa debido a que la distribución ambiental de los congéneres difiere con el Aroclor grado comercial usado. Además es probable que existan diferencias en transporte, reacciones y acumulación entre diversos congéneres, debido a propiedades únicas como presión de vapor o solubilidad.

No se conocen todas las características de los congéneres, sin embargo se pueden estimar a partir de otros debido a que varían sistemáticamente en base al número de cloros y la configuración que tienen en la molécula. Por ejemplo estimaciones respecto al coeficiente de partición desarrollan reglas en función de la disposición y número de cloros, calculadas por programas computacionales. Esta estimación

presenta discrepancias y no se observa una tendencia general respecto al coeficiente de partición en compuestos con alto contenido de cloro (Burkhard, 1985). Debido a que son casi insolubles en agua se asume que la constante de Henry (H), definida por la relación entre la presión de vapor del congénere de interés y la concentración del gas disuelto, es independiente de su concentración, consideración válida para BPCs sólidos y líquidos (Wang Ying y Donald Mckay, 1986).

$$H = P_x / C_x = P_L / C_L$$

Donde  $P_x$  = Presión parcial en aplicada en liquido o sólido.

$C_x$  = Concentración en liquido o sólido.

H = Constante de Henry.

Las unidades resultantes pueden ser  $\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$ . Los datos experimentales reportados muestran que la constante de la ley de Henry no es proporcional al número de cloros, mostrando como valor medio  $48 \text{ Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$ . Por otra parte, el coeficiente de partición octanol-agua, está dado por la relación:

$$K_{ow} = C_o / C_w$$

Donde  $C_o$  = Concentración de la sustancia en la fase orgánica.

$C_w$  = concentración de la sustancia en fase acuosa.

Los valores relacionados al coeficiente de partición, disminuyen cuando la cantidad de cloros aumenta aproximadamente  $1000 \text{ moles m}^{-3}$  por unidad de bifenilo. (Bidleman y Westcott 1981-1983). Dicha relación entre la solubilidad en el agua y el coeficiente de partición octanol-agua sugiere que la solubilidad del líquido subenfriado es relativamente constante debido a la naturaleza orgánica de los BPCs y el octanol (Banerjee 1980).

### 1.3. Producción

Los BPCs se sintetizaron por primera vez en 1864. Se produjeron comercialmente en el periodo de 1929 hasta 1977 bajo nombres comerciales de Aroclor, Askarel y Therminol. Su producción se debió a la necesidad de contar con un sistema de refrigeración más seguro en la industria eléctrica. Por tal motivo se utilizó como aislante en transformadores y condensadores (figura 2). En el periodo de 1957 a

1971 se produjeron 12 tipos diferentes de Aroclor con contenido de cloro entre 21 y 68 %, para el año 1970 la producción total fue 39 millones de kg (OMS, 1993). La fabricación de BPCs es resultado de la cloración del bifenilo con cloro anhidro en presencia de un catalizador como limaduras de hierro o cloruro férrico. El grado de cloración se controla por el tiempo de contacto del bifenilo con el cloro en el reactor con un promedio de 12 a 36 horas. Ejemplo de este método es el Aroclor 1254 que se obtenía en dos etapas, en la primera se cloraba al bifenilo al 42 % que se fraccionaba por destilación, produciendo el Aroclor 1016 y un residuo con mono-oroto, tetra-cloro bifenilo y sus homólogos superiores. En la segunda etapa, el residuo con alrededor del 49 % del cloro, se cloraba al 54 % derivando en el Aroclor 1254 (Monsanto, Lot KI-02-6024).



Figura 2. Debido a sus propiedades los BPCs fueron ampliamente utilizados como material dieléctrico y aislante térmico en transformadores.

Tabla III. Composición de mezclas comerciales de BPCs en porcentaje.

Clorobifenilos	Aroclor							Kaneclor			Penclor
	1016	1221	1232	1242	1248	1254	1260	kc-300	kc-400	kc-500	DK
$C_{12}H_{10}$	0.1	11	6	0.1	-	0.1	-	-	-	-	-
$C_{12}H_9Cl$	1	51	26	1	-	0.1	-	-	-	-	-
$C_{12}H_8Cl_2$	20	32	29	16	2	0.5	-	17	3	-	-
$C_{12}H_7Cl_3$	57	4	24	49	18	1	-	60	33	5	-
$C_{12}H_6Cl_4$	21	2	15	25	40	21	-	23	44	27	-
$C_{12}H_5Cl_5$	1	0.5	0.5	8	36	48	12	0.6	16	55	-
$C_{12}H_4Cl_6$	0.1	-	-	1	4	23	38	-	5	13	-
$C_{12}H_3Cl_7$	-	-	-	0.1	-	6	41	-	-	-	-
$C_{12}H_2Cl_8$	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-
$C_{12}HCl_9$	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
$C_{12}Cl_{10}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

El 99 % de los BPCs utilizados en la industria se produjeron por Monsanto Chemical Company que producía los Aroclor 1221, 1232, 1242, 1248, 1254, 1260, 1262 y 1268. En 1971, la empresa cesó la producción voluntariamente y solo produjo Aroclor 1016, 1242 y 1254. Para 1975 se estima que se acumuló una producción en los Estados Unidos de 635 millones de kg, de los que se vendieron 568 millones, se exportaron 68 millones y se importaron 1.4 millones de kg. El primer conjunto de reglas relacionadas a la limitación de producción de BPCs fue emitido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) en 1977. Sin embargo, fue hasta 1979 donde la producción de BPCs se prohibió en los Estados Unidos, así como el uso de los materiales que los contenían. Se reguló la eliminación de productos contaminados y la importación o exportación solo se permitió bajo exenciones (Durfee 1976; EPA 1976; Hatton 1979; IARC, Kimbrough 1987). Dichas exenciones se otorgaron por un año para la fabricación o importación de BPCs destinadas al propio uso del importador (EPA 1977, 1979a, b, c, 1988a, b). En México la norma NOM-133-ECOL-2000 indica que las diversas muestras que contengan 50 ppm o 100 g/100 cm<sup>2</sup> se pueden clasificar como muestras contaminadas. Los usos de los BPCs se pueden clasificar para espacios cerrados y abiertos, en el primer caso se puede mencionar a los fluidos dieléctricos y el segundo como retardantes de flama o adhesivos. Además se encuentra reportado el uso en insecticidas por la capacidad de aumentar las propiedades del DDT, lindano, compuestos organofosforados, y carbaril (Hutzinger, 1983). Los BPCs se identificaron durante estudios para insecticidas como el DDT y metabolitos relacionados como contaminantes ambientales (Crine, 1988).

#### **1.4. Los BPCs como contaminantes**

La mayor amenaza de los BPC se encuentra en los sitios de desecho, lugares que son destinados para su confinación y tratamiento a largo plazo. El número de sitios donde se evalúa la presencia y eliminación de BPCs se desconocen, de tal manera que los sitios donde se encuentran se incrementan conforme los estudios avanzan. El hecho de que la industria libere BPCs en el medio que le rodea no siempre acarrea un riesgo inmediato, solo se puede estar en riesgo cuando se entra en

contacto con dichas sustancias. Se puede estar expuesto por inhalación, contacto cutáneo o ingestión. Algunos factores que determinan el riesgo ante su exposición, son la concentración, el tiempo y el tipo de exposición, el sexo, la dieta, la etnia, el estilo de vida y la salud (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) 2000).

#### **1.4.1. Riesgos en el ambiente**

Los BPCs se encuentran esparcidos en el ambiente en bajas concentraciones (Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls 2000), tienen la cualidad de acumularse siendo un problema que afecta la salud de los humanos. Se han desarrollado técnicas para su identificación pero todas se asemejan entre sí debido a que requieren un amplio proceso de extracción y purificación, el tratamiento tradicional de las muestras que pueden llegar a contener estos compuestos requieren grandes cantidades de disolventes que en su mayoría son caros y generan cantidades considerables de desechos, los cuales también contaminan al ambiente. Los BPCs se incorporaron al ambiente por diversas vías: durante su manufactura, su uso, su inapropiada eliminación o por derrames y fugas (figura 3). En la actualidad siguen permeando al ambiente por las malas condiciones de los vertederos y el mal estado del equipo que los contiene, además de su incorrecta incineración; se estima que más de un tercio del total de la producción mundial se ha introducido en el ambiente (Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls, 2000). Una vez distribuidos en éste no se degradan fácilmente, permanecen por largos periodos de tiempo y se transportan fácilmente. Esto permite su distribución entre el agua, el aire y el suelo (Berkaw et al., 1996). Los BPCs con mayor masa son propensos a depositarse en sedimentos. Pueden ser absorbidos por organismos acuáticos y avanzar en la cadena trófica, mientras que aquellos en fase gas pueden absorberse en plantas y cultivos.

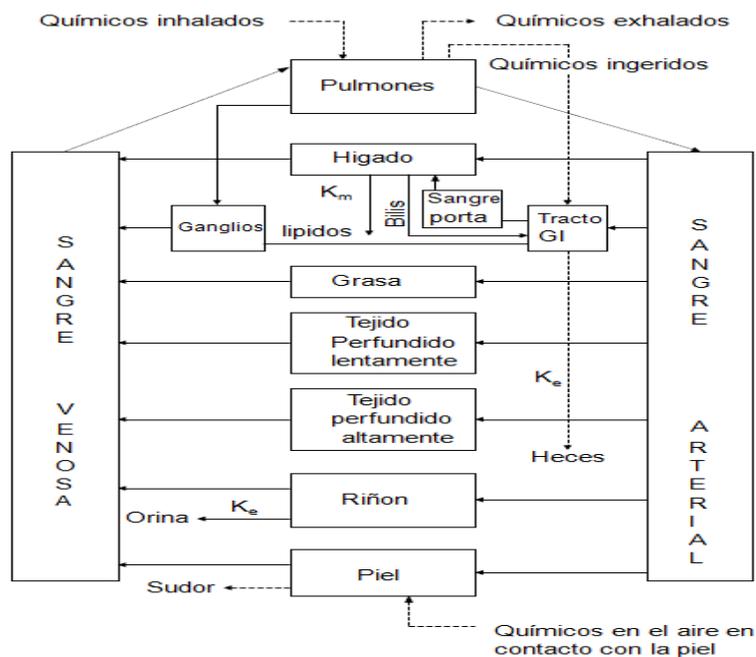


*Figura 3. La inadecuada eliminación es una fuente de exposición a los BPCs*

#### **1.4.2. Riesgos a la Salud**

La mayor exposición es por inhalación e ingestión de alimentos contaminados, como peces, carne y lácteos. Se considera que los peces, como las carpas, que se alimentan cerca de los sedimentos contaminados con BPCs, pueden contener niveles de varias ppm; mientras que los niveles en carne y lácteos son menores a 1 ppm. Los sitios altamente contaminados como la Fundidora de General Motors en los que se han encontrado concentraciones de hasta 750 ppm como en Akwesasne, Nueva York (ATSDR, 1995) y las áreas de trabajo para el mantenimiento del equipo eléctrico, son fuentes de exposición aérea y dérmica. (Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos 2000). Diversos estudios en mamíferos como ratas, ratones y monos expuestos a la ingesta de BPCs mostraron daños hepáticos, anemia, acné y lesiones en estómago y glándula tiroides, además de alteraciones en el sistema inmunológico, reproductivo y conductual; también pueden actuar como disruptores hormonales, pero no se le atribuyen efectos teratogénicos (Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls, 2000). Estudios en los trabajadores expuestos a los BPCs demuestran que estos compuestos se encuentran asociados con ciertos tipos de cáncer en los humanos. El Departamento de salud y servicios humanos de los Estados Unidos (DHHS) declaró que es razonable clasificarlos como carcinogénicos, mientras que la EPA y la Agencia Internacional para la investigación sobre el Cáncer le asociaron un carácter probablemente carcinogénicos en seres humanos (Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls 2000). La cantidad y gravedad de los efectos encontrados fue función principalmente de la especie, la raza, el sexo y la edad. Dichos efectos se han observado en plantas, biota marina, aves, monos, roedores y humanos (Waid 1986).

**Representación conceptual fisiológica basada en el modelo Farmacocinético para una sustancia química**



$K_e$  (eliminación) and  $K_m$  (metabolismo).

Figura 4. Mapa conceptual fisiológico basado en la exposición a los BPCs que son absorbidos por inhalación, ingeridos o expuestos en la piel metabolizados por el hígado y excretados por orina, bilis, heces, sudor o exhalación. Muestra absorción en ganglios linfáticos evitando los efectos de primer paso, mecanismo importante en moléculas lipofílicas. Se muestra la constante de eliminación y de metabolismo (Krishnan et al, 1994 y Hansen 1999)

### 1.4.2.1. Efectos hepáticos

El daño hepático en animales se encuentra documentado por exposición vía oral, incluye inducción de enzimas, agrandamiento del hígado, lesiones necróticas y tumores. Genera porfiria enfermedad generalmente hereditaria, en la cual una parte de la hemoglobina no se genera correctamente. En personas que trabajan en contacto con los BPCs se le asocia a un incremento en enzimas hepáticas, lípidos y colesterol. Por ingestión de alimentos contaminados como pescado se ha reportado aumento en las enzimas (Svensson, 1994). La diferencia de los efectos en animales y en humanos puede ser por la diferente susceptibilidad entre las especies, los niveles, el tiempo de exposición y la composición de la mezcla (Mosa, 1996).

#### **1.4.2.2. Efectos endócrinos**

Cuando la exposición ha sido durante el embarazo o la lactancia, se han observado daños en las hormonas tiroideas repercutiendo en el desarrollo normal del cerebro derivando en trastornos de desarrollo neurológico y el déficit asociados al hipotiroidismo (Winneke et al. y Nagayama et. Al., 1998). La exposición a los BPCs es un factor que predispone al bocio. Existen evidencias de que la respuesta ante estrógenos puede producir efectos tanto agonistas como antagonistas actuando por múltiples mecanismos. En trabajadores expuestos a BPCs se observó la estimulación de la glándula tiroidea, cambios en las secreciones hormonales y actividad aumentada (Langer, 1998). Se han observado también daños en glándulas suprarrenales y los niveles de esteroides suprarrenales en suero.

#### **1.4.2.3. Efectos dérmicos y oculares**

Provocan lesiones dérmicas como irritación de la piel, acné y pigmentación de las uñas, efectos observados después de la ingestión de productos contaminados o la exposición ocupacional (Rice, 1996). Los efectos oculares se pueden observar desde irritación hasta la hipersecreción de las glándulas de meibomio, pigmentación anormal de la conjuntiva y párpados hinchados, afectaciones siempre acompañadas de acné (Emmett, 1988a).

#### **1.4.2.4. Efectos Inmunológicos**

Aumentan las afecciones respiratorias y del oído medio aumentando la incidencia de la otitis media aguda siendo mayor en los bebés de madres que incluían dietas basadas en grasa de los mamíferos marinos. Los niveles de los anticuerpos en suero de IgA o IgM se redujeron tras la exposición\* (Dewailly, 2000). En animales demuestran que la exposición provoca alteraciones morfológicas y funcionales del sistema inmunológico aumentando la susceptibilidad a enfermedades.

#### **1.4.2.5. Efectos neurológicos**

En niños se pueden encontrar déficits en la memoria, aprendizaje e IQ. Los hijos de madres expuestas a una ingesta de BPCs mostraron una mayor inmadurez y

reflejos anormales. En animales de laboratorio se ha confirmado una disminución de capacidad para realizar tareas que implican la memoria, también se ha observado una deficiencia en dopamina relacionada a la presencia de los BPCs (Fein, 1984a, 1984b).

#### **1.4.2.6. Efectos reproductivos**

Tras la exposición se mostraron dificultades para concebir, así como trastornos menstruales y defectos en la morfología en los espermatozoides que se puede asociar a la exposición de BPCs. Se ha observado mayor nivel de BPCs en la sangre de mujeres que han presentado mayor número de abortos involuntarios y la reducción en la fecundación. En animales, también se ha observado cambios en el ciclo menstrual y en el periodo de celo además de la disminución de la implantación de las ratas y monos, mostrando un aumento en la incidencia del aborto y la muerte del producto en las últimas semanas del embarazo (Lebel, 1998). Los efectos reproductivos en los machos son menos representativos que en las hembras, sin embargo el aumento de la concentración de algunos congéneres disminuyó la motilidad espermática en hombres infértiles pero no así de las mezclas totales.

#### **1.4.2.7. Efectos de desarrollo**

El efecto más asociado a la exposición de BPCs es el bajo peso de los hijos al nacer de las mujeres expuestas. En animales como los roedores expuestos durante la gestación a dosis altas se encontraron con un peso disminuido al nacer y dificultad para adquirir el peso normal (Fein, 1984a, b)

#### **1.4.2.8. Cáncer**

La carcinogénesis se ha evaluado en estudios retrospectivos evaluando la mortalidad por cáncer en trabajadores expuestos durante la fabricación y reparación de los componentes eléctricos que contienen los BPCs (Kimbrough, 1999a). En algunos tipos de cáncer se puede observar evidencia que sugiere su relación con la exposición a los congéneres. Ejemplo de esto es el cáncer de hígado, el tracto biliar, los intestinos y la piel (figura 5). Los BPCs han sido clasificados como

probables carcinógenos humanos tanto por la IARC y la EPA. En animales existe la evidencia irrevocable de que son compuestos con carácter hepatocarcinogénico.



Figura 5. Los BPCs están clasificados como posibles carcinogénicos en piel

#### **1.4.2.9. Niños**

Se encuentran expuestos de la misma manera que los adultos con la diferencia que la ingesta en relación al peso puede ser mayor. Los niños pueden estar expuestos por el comportamiento mano-boca y llevarse objetos contaminados a la boca. Uno de los períodos de mayor exposición es durante la lactancia. Los fetos también están expuestos si la madre está expuesta y pueden mostrar efectos secundarios como la disminución de peso al nacer. Para saber si estuvo expuesto antes de nacer se pueden hacer estudios en la sangre del cordón umbilical. No existe reporte de malformaciones de nacimiento en seres humanos. Se observó que los daños en piel provocados en niños por los BPCs no son los mismos (OMS, 2005).

#### **1.5. Estudios clínicos**

El nivel de BPCs en el ambiente antes de su producción era cero, ahora todas las personas en países industriales tienen algún nivel de estos compuestos en su organismo (Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls 2000), existen pruebas de rutina en sangre, grasa corporal y leche materna para comprobar los niveles. Si estos son más altos que los niveles de referencia indicarán que se ha expuesto a altos niveles de BPCs, estas pruebas no indican la cantidad exacta de

\*La producción de anticuerpos específicos es una respuesta debida a la invasión por un agente patógeno, donde las inmunoglobulinas son capaces de reconocer y unirse al antígeno. Las inmunoglobulinas son un conjunto de glicoproteínas presentes en el suero sanguíneo y líquidos corporales que se unen específicamente al antígeno en las fases de reconocimiento y efectora de la inmunidad humoral. Existen cinco tipos diferentes: IgG la más abundante en suero sanguíneo y la única que puede atravesar placenta, IgA abundante en secreciones y mucosas, IgM implicada en la respuesta primaria, IgD componente de los linfocitos B y su actividad no está bien definida e IgE poco abundante e implicada en procesos de alergia.

exposición o el tiempo en el cual estuvo expuesto a los congéneres.

Los estándares de la Agencia para la Protección Ambiental (EPA) marcan como límite máximo 0.5 ppb en agua potable (<http://water.epa.gov/drink/agua/estandares.cfm>). La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) limita la presencia de estos compuestos en algunos alimentos como el pescado a 0.2 ppm, 0.3 ppm en huevo, 1.5 ppm en leche y otros productos lácteos y 3 ppm en aves de corral y carne roja. La norma OSHA (OSHA, 190.34) marca para trabajadores en contacto con los BPCs para un periodo de 8 horas durante cinco días a la semana un límite máximo permitido por semana de 1 mg m<sup>-3</sup> de aire con BPCs al 42 % de cloro o 0,5 mg m<sup>-3</sup> con BPCs al 54 % en cloro. Similarmente, el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH, por sus siglas en inglés) menciona que BPCs con 42 o 54 % de cloro a 1 µg m<sup>-3</sup> por día, las jornadas de los trabajadores pueden ser de 10 horas diarias, 40 horas a la semana.

### **1.5.1 Niveles mínimos de riesgo (NMR)**

La población en general está expuesta a mezclas de BPCs, donde la potencia y la toxicidad puede ser mayor a las mezclas comerciales. Una variable para conocer el riesgo ante su exposición es el equivalente toxico. Este se calcula multiplicando la cantidad de cada congénere toxico por su factor de equivalencia toxica (FET) y se suman los valores obtenidos (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/es/>). Con ello se estima la potencia de las mezclas de los BPCs mediante la comparación relativa de los congéneres de BPCs individuales. Estos se usan para desarrollar los valores de orientación de la salud pública. Por otra parte, no existen datos en humanos ni en animales sobre los NMR por inhalación. Los NMR orales son 0.03 µg/Kg/día derivado de una exposición oral intermedia (15-364 días). La exposición a nivel medio se basa en alteraciones neuroconductuales en monos infantiles a dosis 7.5 µg/Kg/día que representa el 80 % de los congéneres que suelen encontrarse en leche materna. Los NMR en una exposición crónica (365 días o más) vía oral es de 0.02 µg/Kg/día dando origen a alteraciones del desarrollo neurológico.

En los niños por lactancia es 3,4 ppm de BPCs estimado en una mujer de 25 años de edad que pesa 60 Kg y tiene 25% de grasa corporal como resultado de una dosis diaria equivalente a 93 µg/Kg/día (Tryphonas, 1998a).

### **1.5.2 Eliminación y excreción**

La excreción en los seres humanos o animales tras la exposición en ambientes controlados a los BPCs no se encuentra reportada, pero no existe evidencia alguna de que esta sea diferente a la observada por absorción oral, de tal manera que la mayor vía de excreción después de su exposición son las heces seguida de la orina. Las vidas medias de las mezclas de los congéneres en sistemas vivos siempre son representativas de las condiciones del estado de las mezclas de BPCs. Una vida larga para ciertos congéneres puede ser el resultado de un exceso de exposición, tasas elevadas de consumo de alimentos contaminado o la configuración molecular (Gage y Holm, 1976). La vida media en humanos de los Aroclor 1242 y 1254 son 2.6 y 4.8 años respectivamente, variando dependiendo de concentraciones iniciales de los mismos en el suero. Los clorobifenilos se eliminan por parámetros cinéticos individuales, en ensayos experimentales se ha observado que las vidas medias no dependen de las dosis probadas. Los largos periodos de “semi” desintegración introducen una variable de dilución por el crecimiento y el aumento de grasa en los seres vivos, además de la fluctuación del peso corporal contribuyendo a largas vidas medias (Buhler, 1989). En algunas especies animales se han observado dos fases de eliminación. La primera es rápida con una vida media de 1 a 9 días y la segunda es lenta con vida media de 12 días. Existen modelos fisiológicos farmacocinéticos que estiman la cinética de los BPCs pero tiene ciertas limitaciones, las tasas de metabolismo es específica para cada especie y no hay factor de escala.

### **1.6 Mecanismo de acción**

Debido a su carácter lipofílico de los BPCs se absorben en el tracto gastrointestinal. La bioacumulación en diversas matrices no refleja directamente el perfil de los BPCs de las mezclas comerciales, por tanto es importante saber los efectos y actividades

biológicas de los congéneres de manera individual por el riesgo que plantean para la salud humana almacenándose en los tejidos adiposos. Los congéneres de BPCs se metabolizan por el hígado a través del mecanismo del citocromo P-450 a metabolitos menos lipofílicos que experimentan conjugación con glutatión o ácido glucorónico. La velocidad de metabolismo depende del patrón de sustitución en el anillo de bifenilo. El mecanismo para congéneres que demuestran actividad estrogénica, neurotóxica o carcinogénica no es claro aún.

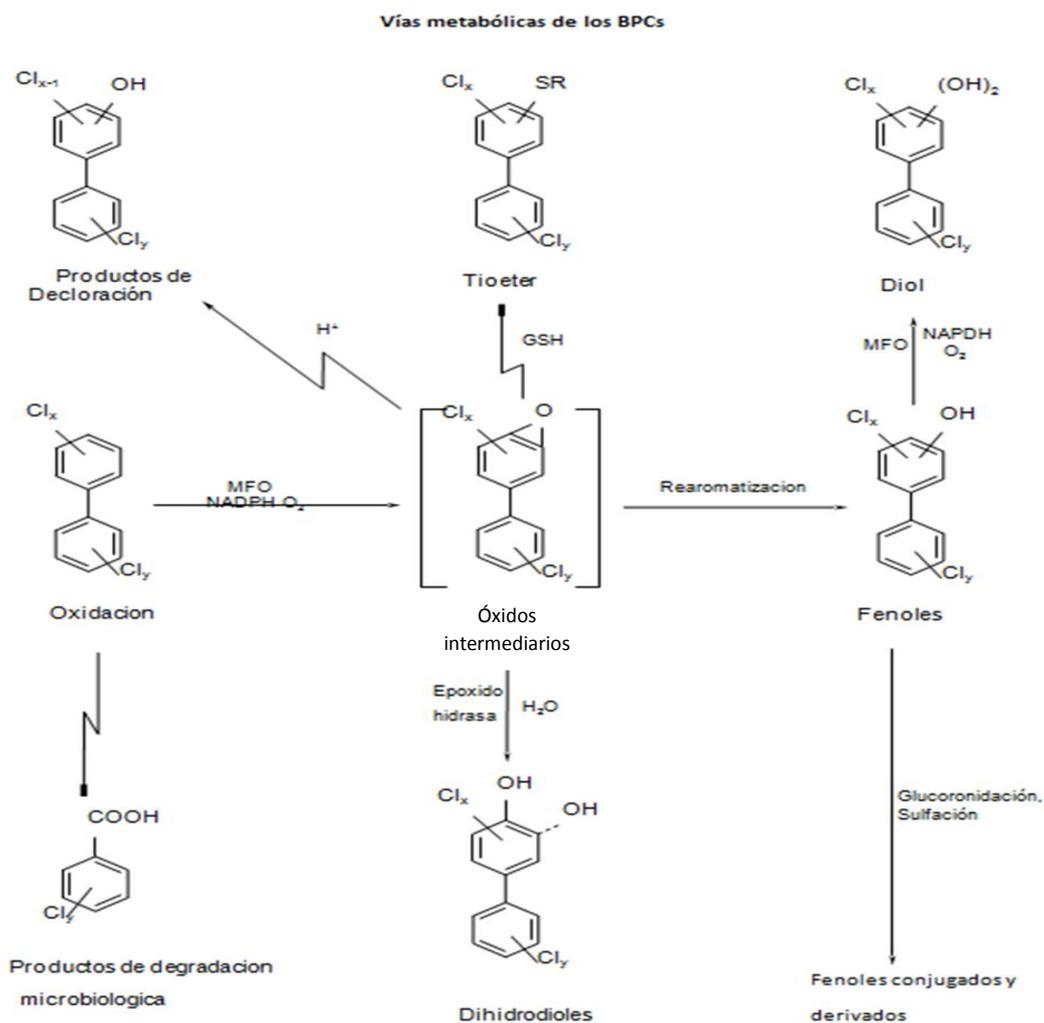


Figura 6. Diagrama de metabolismo de los BPCs. Rutas de degradación en el cuerpo humano (Safe, 1984).

## **1.7. Disposición y Eliminación de los BPCs**

Dado que los BPCs no se degradan fácilmente, bajo ciertas condiciones pueden ser destruidos por procesos químicos, físicos o biológicos.

### **1.7.1. Eliminación térmica**

Se realiza a través de sistemas de incineración convencional (figura 7) o calderas de alto rendimiento bajo condiciones de combustión apropiadas, generalmente se usan calderas a gas, gasoil o carbón pulverizado (Ackerman et. al., 1983).



*Figura 7.* Los incineradores son una herramienta para la destrucción de BPCs.

### **1.7.2. Eliminación química**

Se lleva a cabo por la reacción de degradación de Fenton, que es un proceso de oxidación usado para la destrucción de compuestos orgánicos tóxicos en el agua (Chen y Pignatello, 1997). Además del método de limpieza de los materiales dieléctricos o suelos basado en una reacción de polietilén glicol e hidróxido de potasio con eficiencia de 99 % para compuestos di y tri sustituidos.

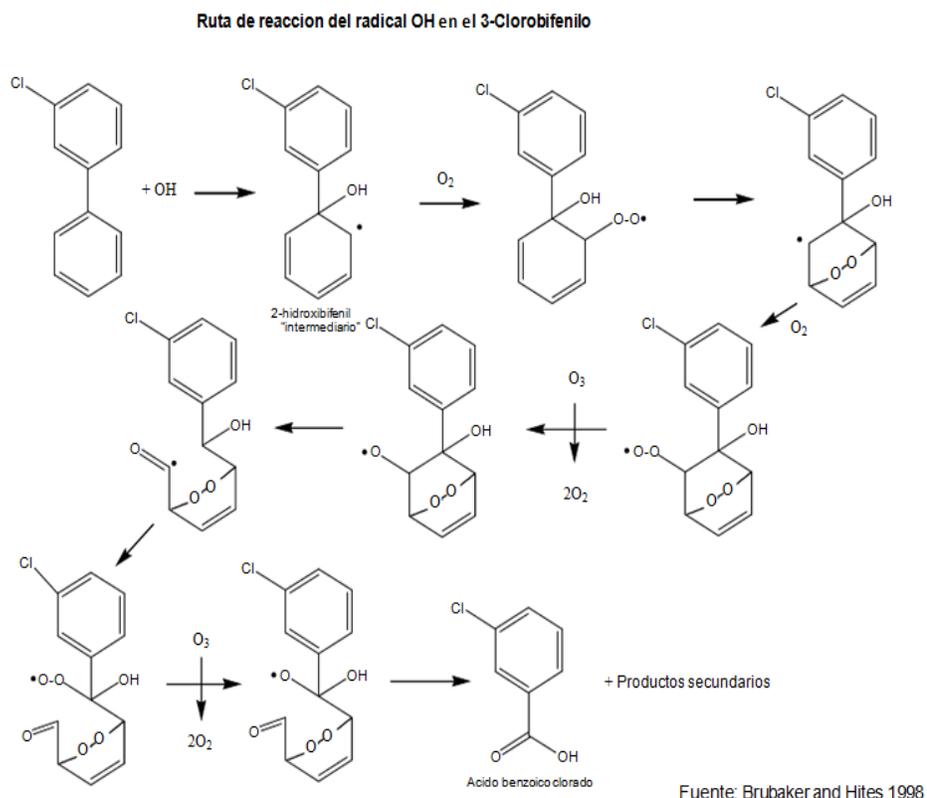


Figura 8. Mecanismo de Reacción en el 3-Clorobifenilo en presencia de OH

### 1.7.3. Fotólisis

Es una reacción físico-química para la degradación de los BPCs. Se produce cuando la molécula se expone a la radiación con longitudes de onda mayores a 290 nm o bien, recibe energía desde otra molécula, iniciando la reacción con la fisión de la molécula para la formación de radicales libres. Sus productos son inestables y reaccionan con el disolvente formando otras moléculas orgánicas menos complejas obteniendo como producto final una mezcla compleja de isómeros.

### 1.7.4. Biodegradación

Método potencial para la remediación de suelos o sedimentos contaminados. La eficiencia depende del grado de cloración y de la posición de los átomos de cloro en la molécula de BPC. Las moléculas que contienen los cloros en posición *para* son las favorecidas por el método de biodegradación (figura 9), la cual, se puede llevar a cabo por dos diferentes mecanismos: aerobio (destrucción oxidativa por degradación) y anaerobio (eliminación del cloro por un proceso de reducción) (OMS, 1993).

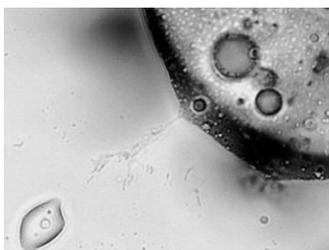
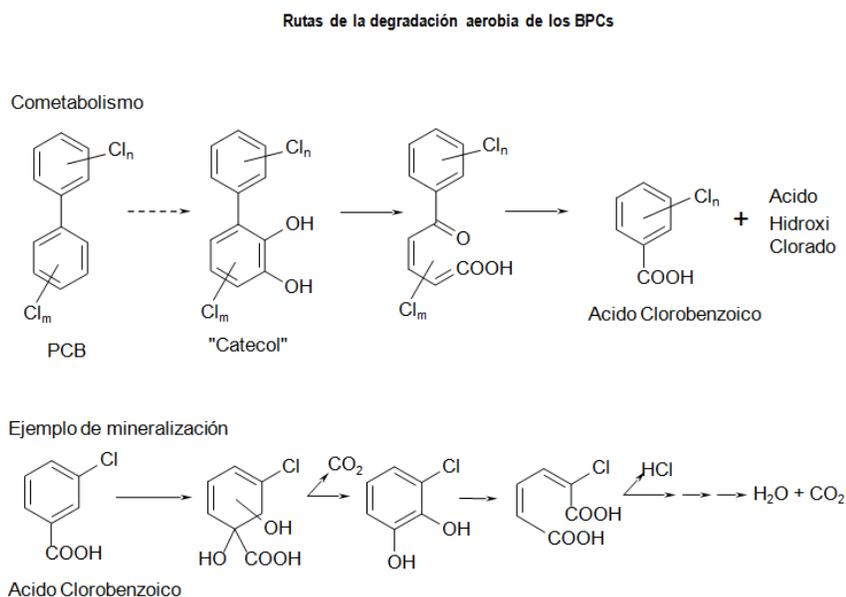


Figura 9. Diferentes microorganismos son útiles para la biodegradación.

### 1.7.4.1. Degradación aerobia

Se limita a congéneres con cinco o menos átomos de cloro más dos átomos de carbono no sustituidos adyacentes. La degradación aerobia se realiza por una variedad de bacterias que utilizan la enzima dioxigenasa que ataca a moléculas de bifenilo libres en las posiciones 2,3 o 5,6 (Abramowicz y Olson, 1995). Dependiendo de la estructura del BPC mostrará algún grado de biodegradación, es decir, disminuirá a medida que aumenta el número de cloros. Congéneres con sustitución en orientación *orto* son extremadamente resistentes, si un anillo no está sustituido se degradan fácilmente.

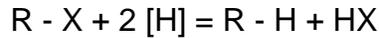


Fuente: adaptación de Adrigens et al. 1991; Robinson and Lenn 1994

Figura 10. Degradación de BPCs por un mecanismo anaerobio seguido de un proceso de mineralización.

### 1.7.4.2. Degradación anaerobia

La reacción reductiva se lleva a cabo en condiciones anaeróbicas produciendo congéneres menos clorados, reduciendo el contenido de cloro en las mezclas de BPCs. Reduce el potencial de bioacumulación y en algunos casos la toxicidad, el proceso es lento y puede llevarse a cabo en periodos de meses y años. El proceso reductivo, implica el reemplazo de un átomo de cloro por uno de hidrógeno.



Donde R representa a una molécula orgánica, X el halógeno y H la presencia de los protones. El potencial de reducción aumenta de manera proporcional a la presencia de cloros (Nies y Vogel, 1990), también dependen de la posición. Este procedimiento puede ser el primer paso de la remediación, donde el objetivo es reducir la cantidad de cloro en el congénere para que éste sea más susceptible a la degradación aerobia.

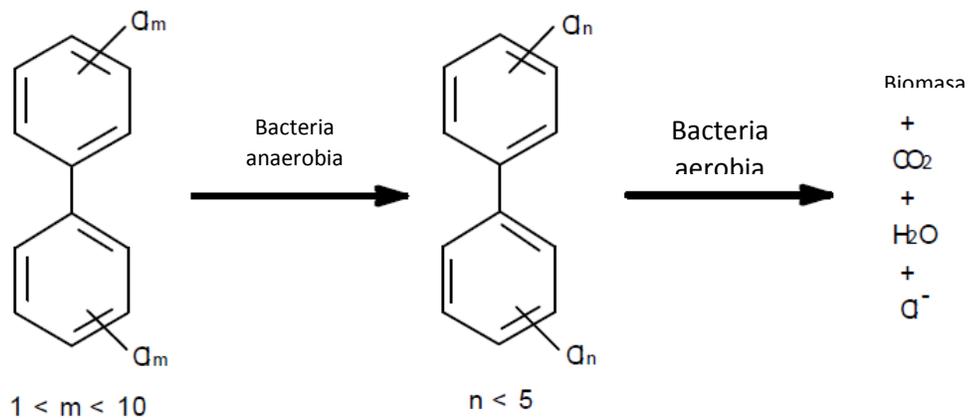


Figura 11. Reacción en dos pasos mediada por microorganismos para la eliminación de BPCs

Los fermentadores metanógenos desarrollan un papel importante en la deshalogenación reductiva en un medio anaerobio, como el rumen, digestores de aguas residuales, vertederos o sedimentos de agua dulce (Ferry, 1992). Ejemplo de este proceso de eliminación es el microorganismo *Methanobacterium thermoautotrophicum*.

## 2. METODOS DE EXTRACCIÓN

La metodología para el análisis de BPCs incluye varias etapas como toma de muestra, almacenamiento, extracción, limpieza y análisis (EPA 1995, 1999; Hess et al. 1995) Debido a la alta estabilidad de los BPCs es importante conocer el tipo y concentración de ellos y de sus metabolitos presentes en las muestras de cualquier naturaleza. De tal manera que se necesitan métodos confiables para su análisis (Biziuk 2001; Doyle 2004) Dependiendo del tipo de matriz, será el tratamiento analítico a emplear. En el caso de muestras atmosféricas, su colecta se realiza mediante su filtración a través de filtros, como fibra de vidrio, y sorbentes como florisil y espuma de poliuretano. En el caso de muestras acuosas, su colecta se hace en ríos o cursos de agua considerando factores tales como profundidad, caudal, distancia a la orilla, donde se procura tomarla lo más lejos de ésta, evitando no remover el fondo, remansos y estancamientos; se toma la muestra con un frasco (evitando frascos de plástico para identificar compuestos orgánicos) sujetándolo por el fondo en posición invertida, sumergiéndolo completamente y dándole la vuelta en sentido contrario a la corriente (rio) o desplazándolo horizontalmente en la dirección de la boca del frasco (lago). Mientras que para su determinación se realizan extracciones empleando disolventes y a menudo técnicas de pre concentración. En el caso de muestras de agua superficial y residual pueden requerir limpieza en columnas de adsorción antes del análisis. Si la muestra es tejido animal, éste se homogeniza y se seca, se lleva a cabo una extracción líquido-sólido, se eliminan impurezas y se analiza empleando generalmente cromatografía de gases (Ahmed, 2001). La figura 12 muestra un esquema general para la determinación de BPCs en muestras ambientales y tejidos biológicos.

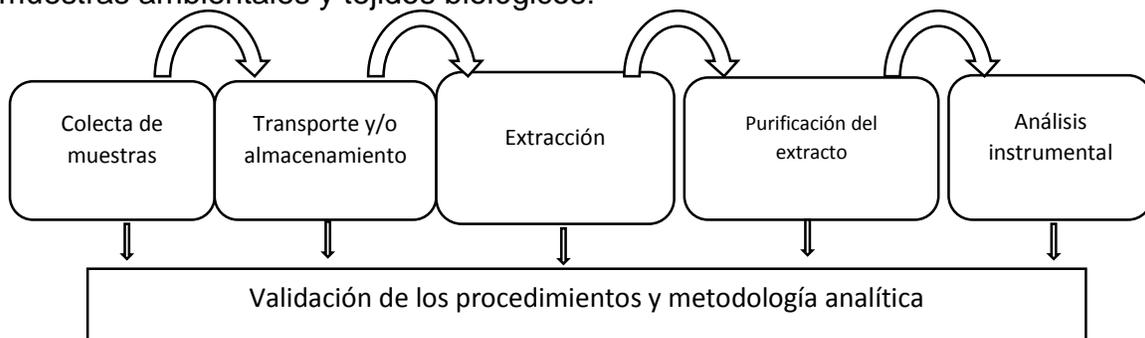


Figura 12. Principales pasos para determinar BPCs en muestras

## **2.1. Soxhlet**

En este método, la muestra se mezcla con un disolvente orgánico cuya polaridad debe ser afín a la de los analitos a extraer. Esta se coloca en un cartucho o filtro ubicado en la cámara de extracción con el sifón del Soxhlet. En el matraz ubicado en la parte inferior de dicha cámara, se coloca el disolvente, se calienta hasta su evaporación y posterior condensación en un condensador ubicado en la parte superior de la cámara. Una vez que el volumen del disolvente alcanza el nivel superior del sifón, éste regresa nuevamente al matraz para iniciar su evaporación. Esta técnica utiliza considerables cantidades de disolvente. Se utiliza frecuentemente en muestras con alto contenido en lípidos (Faladandysz, 2004).

## **2.2. Líquido-líquido**

Se emplea para extraer muestras líquidas. Se hace por agitación y se basa en la partición del analito entre el líquido y la muestra. En la extracción liquido-liquido, ambas fases deben ser inmiscibles. Esta técnica también emplea grandes volúmenes de disolventes.

## **2.3. Fase sólida**

La extracción en fase sólida se puede llevar a cabo empleando cartuchos o discos. Existen diferentes tipos de sorbentes en el mercado como alúmina, silicato de magnesio, inmuno-adsorbentes, sílica sustituida con diferentes grupos funcionales y con distintos grados de sustitución. En esta técnica no es necesario un amplio uso de disolventes y pueden ser tratadas matrices sólidas. También ha sido adaptada a métodos de micro extracción incluyendo métodos de pre concentración, fácilmente acoplable a un sistema en línea con la cromatografía de líquidos y de gases (Kataoka, 2002).

## **2.4. Fluidos supercríticos**

La extracción en este método se lleva cabo a temperatura y presión superiores al punto crítico de los disolventes. Estos adquieren propiedades de gas y líquido. Con la modificación de la temperatura y presión se puede manipular el coeficiente de

difusión, la constante dieléctrica y la viscosidad para mejorar tanto la extracción como la selectividad. En este método los extractos presentan analitos con pocos o ningún interferente y el tiempo de extracción se reduce considerablemente así como la cantidad de disolventes. En esta técnica se llevan a cabo pre-tratamientos que no son contaminantes y se usan fluidos súper críticos no tóxicos como el dióxido de carbono (Reverchon, 2006). La principal desventaja es que muestra poca selectividad a compuestos polares y dificultad al emplearlo en muestras vegetales.

## **2.5. Microondas**

Se realiza a través de la radiación de ondas electromagnéticas no ionizantes con frecuencia de 300 a 300,000 MHz. Con ello se genera un movimiento de moléculas que provocan una migración de iones y la rotación de dipolos alineándose con el campo magnético inducido por las ondas. El tiempo para la extracción de los analitos en esta técnica se reduce porque el calentamiento se lleva a cabo directamente sobre la muestra y el disolvente. La combinación de alta presión, temperatura, potencia y tiempo de exposición proporciona velocidad a la extracción requiriendo bajas cantidades de los disolventes. El tiempo de extracción de esta técnica es independiente de la masa de la muestra, donde la eficiencia depende principalmente de la temperatura. Algunas desventajas son su alto costo y problemas de oxidación para ciertos orgánicos. (Diagne, 2002).

## **2.6. Ultrasonido**

La energía proporcionada por las ondas de ultrasonido se utiliza para favorecer la desorción de los analitos de interés de la matriz que los contiene. Las ondas de ultrasonido provocan la cavitación en el líquido que contiene la muestra implicando el cambio localizado de presión y temperatura favoreciendo la penetración del disolvente de extracción en la muestra. El medio donde viajan las ondas es generalmente agua. Las ondas ultrasónicas tienen frecuencias generalmente entre 20 y 400 KHz. El tiempo y la cantidad de disolventes empleados son generalmente menores comparados con el método Soxhlet (Mason, 2004).

## 2.7. Barra de agitación

En esta técnica, la extracción se lleva a cabo entre la muestra y una barra de agitación magnética que se encuentra cubierta por una capa de polidimetil siloxano. Al realizar la agitación, las moléculas de los compuestos afines al polímero se adsorben en él y posteriormente se desadsorben empleando calor o disolventes más afines a los analitos (Baltussen et. al., 2002, Pico et. al., 2007).

Tabla IV. Técnicas de extracción y purificación (Tekel et al. 2001, Ahmed 2003; Zwir-Ferenc y Biziuk 2004)

Técnica	Extracción	Purificación	Características
Extracción por disolventes	++	-	Laborioso, gran volumen de disolventes.
Soxhlet	++	-	Laborioso, alto consumo de tiempo, gran volumen de disolventes
Extracción asistida por microondas en Soxhlet	++	-	Poco volumen de disolvente pero viables para uso en microondas.
Extracción por ultrasonido	++	-	Gran volumen de disolvente, tiempos de extracción cortos
Extracción acelerada por microondas	++	-	Poco volumen de disolvente pero viables para uso de microondas por su temperatura de evaporación.
Extracción acelerada por disolventes	++	-	Poco volumen de disolvente, temperaturas de evaporación.
Extracción por fluidos supercríticos	++	+	Necesita optimización, no importa la cantidad de disolvente, temperatura de evaporación, extractos concentrados
Extracción en fase solida	++	+	Automatización, poco volumen de disolventes
Micro extracción en fase solida	++	-	No importa volumen de disolventes, automatización, no sensible a materias suspendidas, problemas de reproducibilidad y optimización.
Extracción en fase solida dispersiva	++	+	Poco disolvente, no apto para muestras secas o con alto contenido lipídico, requiere fases de limpieza.
Extracción por absorción en barra de agitación.	++	-	Aumento en los extractos comparado con MEFS, que resulta en mayor recuperación.
Cromatografía de permeación en gel	-	++	Automatización, buenos recobros, alto consumo de tiempo, larga vida de las columnas
Ac. Sulfúrico	-	++	Método destructivo para remover lípidos, alto recobro.
Saponificación	-	++	Método destructivo para remover lípidos, razonable recobro.
++ Principal aplicación		+ Aplicación secundaria	
- Generalmente sin aplicación			

### 3. CROMATOGRAFÍA DE GASES.

El análisis de los BPCs se puede llevar a cabo por la cromatografía de gases que es un método físico que se utiliza para separar los componentes de una mezcla. Técnica de análisis que se realiza entre dos fases: una móvil y una estacionaria; la primera puede ser un líquido o un gas mientras que la segunda puede ser un líquido o un sólido. Este método de separación se lleva a cabo por un proceso de partición, donde el analito se distribuye entre la fase móvil (gas inerte p.ej. He, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, etc.) y la fase estacionaria polímero de polaridad definida (no polar a polar). Este polímero se encuentra unido a las paredes internas de una columna o bien, recubriendo un soporte empacado en dicha columna. La separación de los analitos se lleva a cabo en función de su afinidad con la fase estacionaria y su presión de vapor. La detección de los BPCs en un cromatógrafo de gases, es clave para una correcta identificación. El detector de captura de electrones es muy sensible a los compuestos que tienen grupos funcionales electronegativos como halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro. No detecta grupos funcionales como alcoholes o aminas. El detector de captura de electrones tiene una respuesta 10<sup>7</sup> veces superior con respecto a la de los hidrocarburos. Sin embargo, la espectrometría de masas es otra opción que no ha sido rutinariamente usada en la determinación de BPCs. Esta técnica permite identificar el ion característico de dichos compuestos, haciendo selectiva su determinación en mezclas complejas.

#### **3.1. Detector de captura de electrones (DCE)**

Es un detector selectivo y sensible para compuestos electronegativos como los halogenados (el orden de sensibilidad es F<sup>-</sup><Cl<sup>-</sup><Br<sup>-</sup><I<sup>-</sup>). Este detector puede utilizar fuentes radioactivas como <sup>63</sup>Ni o de Tritio, o bien fotones de alta energía para generar electrones térmicos. En el primer caso, el <sup>63</sup>Ni es la fuente más común. En este detector, el decaimiento del radioisótopo genera electrones beta de alta energía, que al chocar con las moléculas del gas acarreador, se produce un plasma rico en electrones térmicos secundarios (con energías entre 0.02 y 0.05 eV), radicales libres e iones positivos. En el caso de los detectores que no emplean fuentes radioactivas, se crean fotones en la cámara de ionización por descargas

continuas o pulsadas sobre el gas acarreador (helio). Lo que también genera una plasma de electrones térmicos e iones positivos. Los electrones térmicos generan una corriente entre el ánodo y el cátodo con una corriente constante de alrededor de  $10^{-8}$  A. Cuando un compuesto que captura electrones eluye de la columna cromatográfica y entra al detector, atrapa a los electrones térmicos. Esto forma aniones y señales negativas, cuya intensidad es proporcional a la concentración del soluto. Los gases acarreadores más comunes son helio, nitrógeno y una mezcla de metano: argón al 5-10 %. Esta última mezcla se ha observado que inhibe la formación de iones meta estables (reacciones de Penning) y por lo tanto en la generación de efectos de ionización indeseables. Los halógenos, peróxidos, quinonas y el grupo nitro eluye de la columna y entra al detector, éste captura algunos de los electrones libres, produciendo una señal negativa. Este detector se contamina fácilmente y se ve afectado por agua y oxígeno. Para su uso es necesario que el detector se encuentre libre de fugas y que se usen gases secos y de ultra alta pureza, además de muestras limpias. Se puede observar contaminación cuando se muestra una línea base ruidosa o los picos tienen pequeñas caídas negativas antes y después de cada señal. Para limpiar el DCE se puede usar hidrogeno de alta pureza para quemar las impurezas aunque el desmontarlo y limpiarlo manualmente es muy frecuente.-La respuesta es variable y es función de las condiciones experimentales como el potencial de polarización, la temperatura, el caudal de gas portador que afectan la sensibilidad, la selectividad y su linealidad. Sin embargo, la alta sensibilidad también mejora su respuesta a las impurezas, por lo que se debe trabajar con las mayores precauciones posibles.

### **3.2. Espectrometría de masas.**

La espectrometría de masas genera iones de compuestos inorgánicos u orgánicos y los separa de acuerdo con su relación masa/carga ( $m/z$ ). La ionización del analito se puede realizar por campos eléctricos, por el impacto de electrones energéticos, de iones o de fotones. Los iones formados pueden ser átomos individuales ionizados, clusters, moléculas y sus fragmentos o asociados. El espectrómetro de

masas se constituye por una fuente de ionización, un analizador que los clasifica por su masa y un detector que mide la intensidad relativa de las diferentes masas.

### **3.2.1. Tipos de ionización**

La energía de ionización es aquella necesaria para separar un electrón de la molécula en estado gaseoso. Esta depende de la estructura molecular. La mayoría de los compuestos tienen energías de ionización entre 7 y 15 eV. Para la determinación de las estructuras se requiere de la generación de especies cargadas eléctricamente, lo cual se logra mediante diferentes metodologías. En el área ambiental, se emplean con frecuencia la ionización por impacto electrónico (IE) y la ionización química (IQ). Para la identificación de BPCs, ambos métodos son complementarios.

#### **3.2.1.1. Ionización Electrónica (IE)**

Este proceso se lleva a cabo por un haz de electrones de elevada energía procedentes de un filamento incandescente. La identificación se lleva a cabo a través de su patrón de fragmentación, iniciando con la identificación del ion molecular. Actualmente existen algunas bibliotecas con cientos de espectros de masas de compuestos conocidos que ayudan a la interpretación de su identificación, como la creada por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST por sus siglas en inglés). En impacto electrónico, la muestra se ioniza si la energía contenida por los electrones es superior a la necesaria para producir la ionización. El exceso de energía provoca la fragmentación del ion molecular, generando iones fragmento, que produce un espectro de masas de la molécula. La ionización en este modo se lleva a cabo por convención a 70 eV (Kiguchi y Katsumi, 2007). A pesar de las ventajas que ofrece este método acerca de la información estructural, en algunos casos la energía proporcionada es demasiada. Esto provoca que el ión  $[M]^+$  se fragmente completamente inhibiendo la determinación del ion molecular y por lo tanto, limitando la identificación del compuesto de interés. Una alternativa para ello, es el uso de técnicas de ionización más suaves, como la ionización química (Skoog, 2001).

### **3.2.1.2 Ionización Química (IQ)**

La ionización química es una alternativa para confirmar el peso molecular de los compuestos desconocidos. La principal diferencia con la ionización por impacto electrónico es la cantidad de energía transmitida a las moléculas en el proceso de ionización, donde las moléculas forman iones a través de un gas ionizante (metano, isobutano, amonio, acetonitrilo, etc.). La energía proporcionada en este método es menor a 20 eV. Esto genera menor fragmentación. La ionización química puede ser tanto positiva como negativa (Skoog 2001, Pérez, 2008).

#### **a) Ionización Química Positiva**

La Ionización Química Positiva (IQP) se lleva a través de la reacción entre un compuesto y los iones del gas reactivo. El cual sigue diversos mecanismos: Transferencia de protones (es el más común), transferencia o abstracción del hidruro, adición electrofílica o por intercambio de carga en compuestos que no contengan hidrógeno.

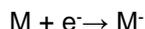
#### **b) Ionización Química Negativa**

La ionización química negativa (IQN) es un método altamente sensible y selectivo para los compuestos con afinidad electrónica. No todos los compuestos pueden ser ionizados negativamente (por ejemplo los hidrocarburos saturados no pueden ser analizados por este método). Como gas reactante se puede utilizar metano, isobutano o amoniaco. La IQN se produce cediendo un electrón, dos son los principales procesos de ionización para IQN: captura de electrones por resonancia, en la que ión molecular se produce mediante los mismos mecanismos que en IQP y captura de electrones disociativa, donde el gas reactivo actúa como productor de electrones térmicos y como estabilizador de las colisiones de los iones formados causando fragmentación. Los electrones que se emiten desde un filamento pierden su energía por la colisión con el gas reactivo, para convertirse en electrones térmicos, produciendo iones moleculares. Si los electrones tienen energía suficiente para romper las moléculas, la fragmentación ocurre.

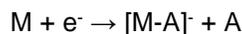
### **Ionización Química Negativa**



Captura de  $e^-$  de resonancia 0-12 eV



Captura de  $e^-$  disociativa 15 eV



Formación de par iónico  $>10$  eV



Donde A y B son fragmentos de la molécula M y  $\text{M}^-$  es el ion molecular con carga negativa

### **3.2.2. Modos de análisis en Espectrometría de Masas**

#### **SCAN**

En este modo se obtiene el espectro de masas completo del compuesto de interés. Es una poderosa herramienta empleada en el análisis cualitativo para la identificación de compuestos.

#### **SIM**

Este modo consiste en el monitoreo selectivo de iones característicos del compuesto de interés. Es más sensible que en "SCAN" debido a la reducción del número de masas a analizar, lo que incrementa el número de "SCAN" en el mismo tiempo de análisis.

### **3.3. Análisis de Bifenilos Policlorados (BPCs):**

La técnica de detección habitual para el análisis de BPCs por cromatografía de gases es mediante el uso del detector de captura de electrones, debido a su sensibilidad y especificidad a estos contaminantes. La espectrometría de masas por ionización química negativa y el monitoreo de los iones específicos es una alternativa a la metodología convencional. La tabla V muestra una comparación de las principales características de ambos métodos, así como sus ventajas y desventajas. Mientras que la tabla VI muestra su aplicación sobre el análisis de BPCs.

Tabla V. Características del detector de captura de electrones y del espectrómetro de masas en el modo ionización química negativa.

Detector Captura de Electrones	Espectrómetro de Masas en IQN
Respuesta muy selectiva y sensible a compuestos con capacidad de capturar electrones.	Selectivo y sensible a compuestos halogenados.
Detecta disminución en el nivel de ionización.	Utiliza gas reactivo ionizado como metano, isobutano o amoniaco.
Utiliza fuente radioactiva $^{63}\text{Ni}$ o Tritio, puede requerir una licencia o pruebas radiológicas	Los procesos de ionización para IQN <ul style="list-style-type: none"> <li>- captura de electrones por resonancia</li> <li>- captura de electrones disociativa.</li> <li>- Producción de iones moleculares.</li> </ul>
$^{63}\text{Ni}$ más usado pero menos sensible: <ul style="list-style-type: none"> <li>- provee corriente constante</li> <li>- menos propenso a la contaminación</li> <li>- puede usarse a temperaturas altas (hasta 400°C)</li> <li>- menos reactivo por lo tanto seguro</li> <li>- corriente constante de alrededor de <math>10^{-8}</math> A correspondiente a la línea base</li> </ul>	Proceso realizado por fragmentación. Se puede aplicar el monitoreo de iones seleccionados.
Gas portador, nitrógeno de alta pureza, puede utilizar gas auxiliar.	Contaminación por: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fugas</li> <li>- Muestras sucias.</li> <li>- Falta de mantenimiento</li> </ul>
Mayor eficiencia si el voltaje aplicado es por pulsos.	Fragmentación de la molécula más suave que en el modo impacto electrónico, por ende, mayor intensidad del ion molecular
Identificación de bajas cantidades de analito otorgando un rango lineal amplio.	Inespecífico para isómeros
Contaminación por: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Agua y oxígeno</li> <li>- Fugas</li> <li>- Requiere gases extra secos y de ultra pureza</li> <li>- Muestras sucias.</li> <li>- Falta de mantenimiento.</li> </ul>	
Respuesta variable afectando la sensibilidad, la selectividad y su linealidad debido a: <ul style="list-style-type: none"> <li>- potencial de polarización,</li> <li>- temperatura</li> <li>- caudal del gas</li> </ul>	
Alta sensibilidad mejora respuesta a impurezas	
Menos específico que espectrometría de masas	
Límites de cuantificación $10^{-9}$ a $10^{-12}$ g	
Linealidad en el rango $10^3$ hasta $10^4$	
Estabilidad adecuada	

Tabla VI. Análisis de BPCs mediante detector de captura de electrones y espectrómetro de masas en IQN, ventajas y desventajas.

Detector de Captura de Electrones	Espectrómetro de Masas en IQN
<b>Ventajas</b>	
<p>Selectivo                      Límites de detección, 0.3 a 1 fg <math>\mu\text{L}^{-1}</math>.                      No se ve afectado por siliconas.                      El detector trabaja en el rango de 280 a 400°C.                      La respuesta se encuentre entre <math>10^6</math> y <math>10^7</math> superior a compuestos halogenados que a hidrocarburos.</p>	<p>Específico                      Límite de detección, alrededor de 0.60 pg <math>\mu\text{L}^{-1}</math>.                      Las interferencias en bifenilos BPCs se pueden evitar con el aumento en el grado de disolución.                      La presencia BPCs penta y hexa, muestra el uso excesivo de BPCs 1248 y 1254.                      La masa del compuesto es la técnica más habitual para identificación de grupo congénere.                      Los tiempos de retención son determinados por el DDE.                      Pueden analizarse muestras biológicas (pescado, tejido adiposo humano, suero, leche, etc) ambientales, sedimentos, etc.                      Útil para la identificación de BPC coplanares, ya que son separados completamente por el instrumento y son los últimos en aparecer                      Es posible utilizar estándar interno marcado (Carbono 13) para aumentar la exactitud y precisión para largos tiempos de retención y corregir las pérdidas.                      No se da la coelución de congéneres homólogos.                      Los límites de detección dependen del grado de cloración de los BPCs, la sensibilidad aumenta al aumentar la cantidad de cloros.                      El tiempo de retención relativa aumenta la fiabilidad de la detección de los compuestos.                      Se inyectan de 1 a 2 <math>\mu\text{L}</math> de la muestra.                      Reporte en partículas por millón en masa.                      Los estándares se analizan en hexano.                      Aporta información suficiente para identificar específicamente los congéneres individuales.</p>
<b>Desventajas</b>	
<p>Respuesta a otros compuestos clorados y halógenos, así como a compuestos con oxígeno como los ftalatos.                      La presencia de aceites minerales disminuye la sensibilidad debido a que los compuestos de alto peso molecular pueden retenerse en la columna y generar picos fantasmas.                      Residuos de oxígeno producen oxidación y generan productos que dan respuesta en el detector.                      Los valores de las áreas de cada pico deben ser inferiores a 10 ng para evitar saturar al detector                      No distingue entre los diferentes Aroclor.                      Respuesta variable en función de las condiciones experimentales.                      No aporta información suficiente para identificar específicamente los congéneres individuales.                      Se contamina fácilmente                      Largos tiempos para su estabilización.                      El intervalo lineal es limitado en algunos casos.</p>	<p>Interferencia con los componentes de los líquidos aislantes                      La presencia de aceites minerales disminuye la sensibilidad.                      Presenta variaciones considerables en el análisis cuantitativo.                      El intervalo lineal es limitado en algunos casos las muestras tendrán que ser diluidas provocando que los niveles queden por debajo de LOD.                      No distingue entre los diferentes Aroclor.                      Gases de ultra alta pureza.</p>

## 4. ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO

El análisis químico se puede dividir en dos tipos: el análisis cualitativo y el análisis cuantitativo. El objetivo del análisis cualitativo es establecer la presencia de algún elemento o compuesto en una muestra. El análisis cuantitativo busca establecer la cantidad de algún elemento, compuesto o componente presente en la muestra.

### **4.1. Análisis Cualitativo**

Tiene como propósito la identificación de cada uno de los componentes en una muestra. Para la identificación en cromatografía de gases, se utilizan los tiempos de retención de los picos conocidos de un estándar y los picos de una muestra. Sin embargo, el acoplamiento con la espectrometría de masas crea una herramienta poderosa que utiliza a la masa del compuesto como una variable adicional en la identificación de las moléculas.

### **4.2. Análisis Cuantitativo**

El análisis cuantitativo nos indica la cantidad de uno o más analitos. Tras la identificación previa de los componentes de una muestra por cromatografía de gases se lleva a cabo el tratamiento de las señales obtenidas por el equipo, se obtiene el área de los picos que son proporcionales a la concentración. La obtención de las áreas es mediante los métodos: manual, mecánico y de integradores digitales. Los integradores digitales o computarizados permiten una automatización total del sistema.

#### **4.2.1 Normalización simple**

Considera el 100 % de la muestra al sumar las áreas de todos los picos en el cromatograma, asumiendo que el porcentaje del área es equivalente al porcentaje en peso. Los factores de respuesta son factores de corrección usados para convertir las áreas absolutas de los picos en valores que son proporcionales a su área en peso, estos varían de un compuesto a otro y se debe calcular para cada componente.

#### 4.2.2. Normalización de área corregida

Conocido también como normalización de área con factores de respuesta. En este método se obtienen factores de respuesta relativos,  $f$ . Un analito que puede estar contenido en la muestra es elegido como estándar, y a su factor de respuesta  $f$  se le da un valor arbitrario como 1,00. Se miden los picos del estándar y los demás analitos contenidos en la mezclas y se calcula el factor de respuesta relativa  $f_x$  de la siguiente manera:

$$f_x = f_{est} \left( \frac{\text{área estándar}}{\text{área analito}} \right) x \left( \frac{\text{peso analito}}{\text{peso estándar}} \right)$$

#### 4.2.3. Estándar externo

Este método compara los tiempos o los volúmenes de retención absolutos entre un estándar y el compuesto en la muestra. Si éstos son similares, entonces se le adjudica su presencia. Una vez identificado el analito de interés, su cuantificación se lleva a cabo mediante la comparación de sus áreas o altura con las obtenidas de su estándar correspondiente a una concentración conocida. Para una mejor cuantificación se recomienda hacer una curva de calibración.

#### 4.2.4. Estándar interno

Este método se recomienda cuando el tamaño de la muestra, la velocidad del flujo o la temperatura de la columna varían durante el análisis. Se escoge un estándar interno que no se encuentre en la muestra, debe tener buena resolución con respecto al analito de interés, de concentración similar a éste y preferentemente, de estructura semejante. En este caso, la identificación se lleva a cabo empleando los tiempos o los volúmenes de retención relativos al estándar interno, mientras que la cuantificación se lleva a cabo usando las áreas o las alturas relativas a éste mismo. Este método es más preciso que el del estándar externo.

#### 4.2.5. Adiciones patrón

Se utiliza para compensar los efectos debidos a las diferencias físicas y químicas entre los estándares y las muestras. En este método se mide el área del

componente de una muestra desconocida ( $x$ ), se grafica en la ordenada "Y" a cero microgramos de concentración, se añade una cantidad conocida de estándar, se analiza y se grafica en el punto correspondiente a la concentración añadida de estándar( $x+s_1$ ). Se agrega por segunda vez la cantidad conocida de estándar; la muestra y el doble de estándar se analizan y grafican ( $x+s_2$ ). Se traza una línea entre los puntos obtenidos y se extrapola al lado negativo del eje de las  $x$  y el valor obtenido en esta intercepción es la masa presente en la muestra original. Esta técnica es útil para muestras complejas, ya que los estándares están hechos por la adición de la muestra y las interferencias son las mismas para ambos.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. General**

Determinar bifenilos policlorados de tres mezclas comerciales (1242,1254, 1260) en muestras de aceite de transformador eléctrico por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en ionización química negativa.

### **5.2. Particulares**

- 5.2.1. Optimizar y evaluar una metodología para la extracción y el análisis de 3 mezclas de BPCs, tomando como referencia la guía de la ASTM 04959-00 (2010).
- 5.2.2. Comparar la eficiencia del método al aplicar 3 tratamientos de limpieza, empleando ácido sulfúrico concentrado, florisil y la combinación de ambos.
- 5.2.3. Determinar la linealidad y los límites de detección y de cuantificación del Cromatógrafo de Gases acoplado al Espectrómetro de Masas en Ionización Química Negativa (CG-EM/IQN).
- 5.2.4. Determinar la eficiencia, la exactitud, la reproducibilidad, la selectividad y los límites de detección y de cuantificación del método.
- 5.2.5. Aplicar la metodología para la determinación de la concentración de BPCs en muestras reales de aceite de transformador.

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1. Materiales y Reactivos.**

Para la realización de la metodología se utilizaron los siguientes reactivos: aceite libre de BPCs (Supelco), hexano grado HPLC (Sigma-Aldrich), ácido sulfúrico concentrado (JT Baker), Florisil (Fluka). Los estándares correspondientes a las mezclas de BPCs fueron Aroclor 1242 (Supelco, 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en hexano), Aroclor 1250 (Supelco, 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en hexano), Aroclor 1260 (Supelco, 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en hexano). Como material de referencia certificado se utilizaron las mezclas Aroclor 1242 (Supelco, 50  $\text{mg Kg}^{-1}$  en aceite de transformador), Aroclor 1250 (Supelco, 50  $\text{mg Kg}^{-1}$  en aceite de transformador), Aroclor 1260 (Supelco, 50  $\text{mg Kg}^{-1}$  en aceite de transformador). Los estándares internos que se emplearon en el desarrollo de la metodología fueron el 4,4'-Diclorodifenildicloroetileno o DDE (Supelco 1000 mg, 99.2% m/m de pureza) y el decacloro bifenilo (Supelco 100 mg, 99.15% m/m de pureza). Las muestras que se trataron fueron donadas por el programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).

## 6.2. Procedimiento general.

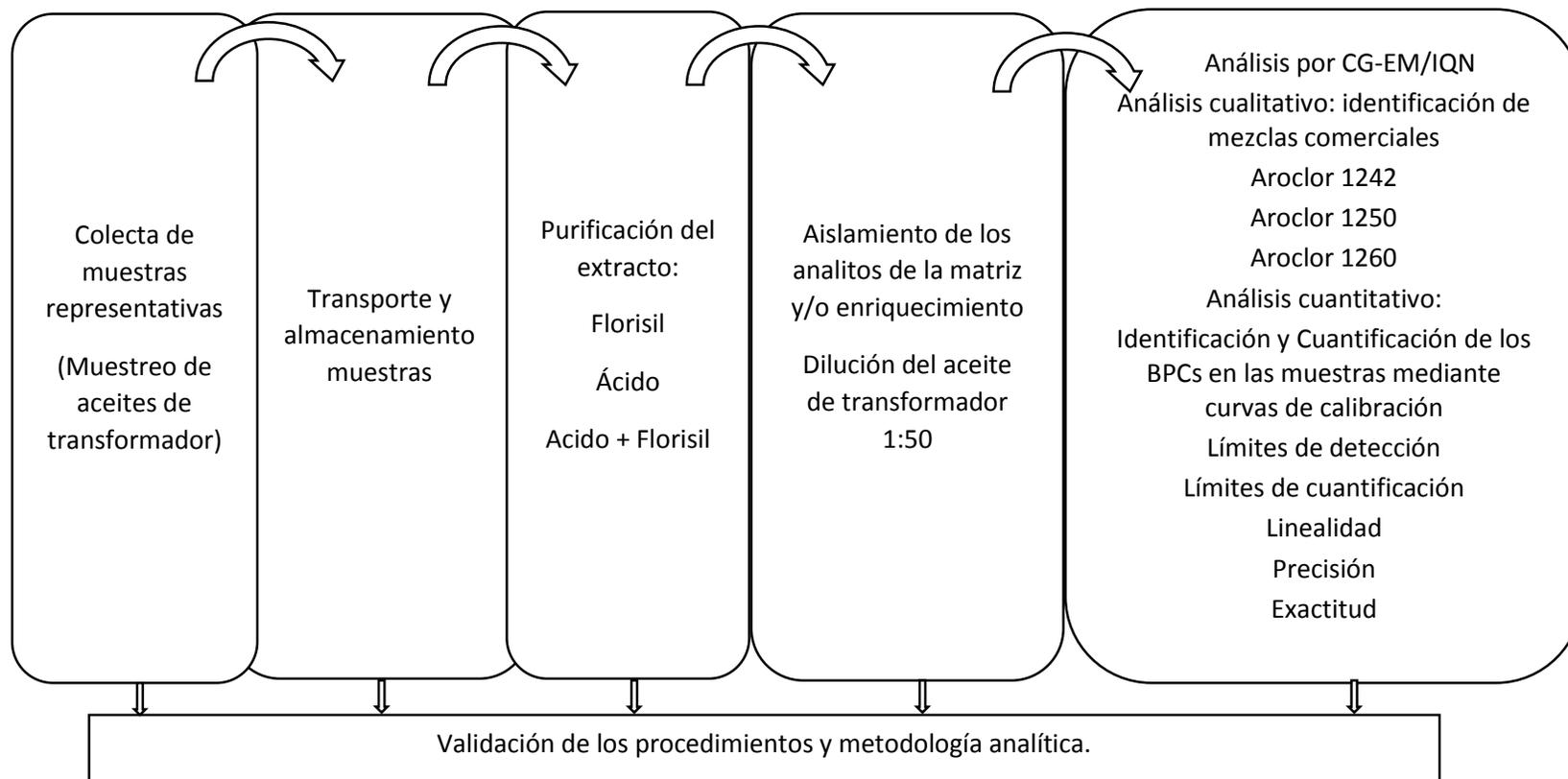


Figura 13. Metodología general en la determinación de BPCs en muestras de aceite de transformador.

### 6.3. Preparación de disoluciones estándar

#### 6.3.1. Disoluciones de trabajo (DT)

Todas las disoluciones se llevaron a cabo en hexano. Los Aroclor se pesaron en una balanza Sartorius A200S (serie 38060214), con sensibilidad de 0.1 mg. Para preparar las disoluciones de trabajo 1, se tomó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  de cada una de las disoluciones de referencia de los Aroclor 1242, 1250, 1260 en hexano (Supelco, 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Cada alícuota se aforó a 1 mL, para tener una concentración final de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Disoluciones de trabajo 1a, 1b y 1c). De cada una de estas disoluciones, se tomaron dos alícuotas. La primera de 10  $\mu\text{L}$  aforada individualmente a 100  $\mu\text{L}$  con hexano (Disoluciones de trabajo 2a, 2b y 2c) para una concentración final de 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . La segunda alícuota, fue de 100  $\mu\text{L}$ , pero en esta ocasión, cada una se mezcló con las otras dos y se ajustó nuevamente a 1 mL para tener una concentración de 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Disolución de trabajo 3, DT3). La figura 14 ilustra este procedimiento.

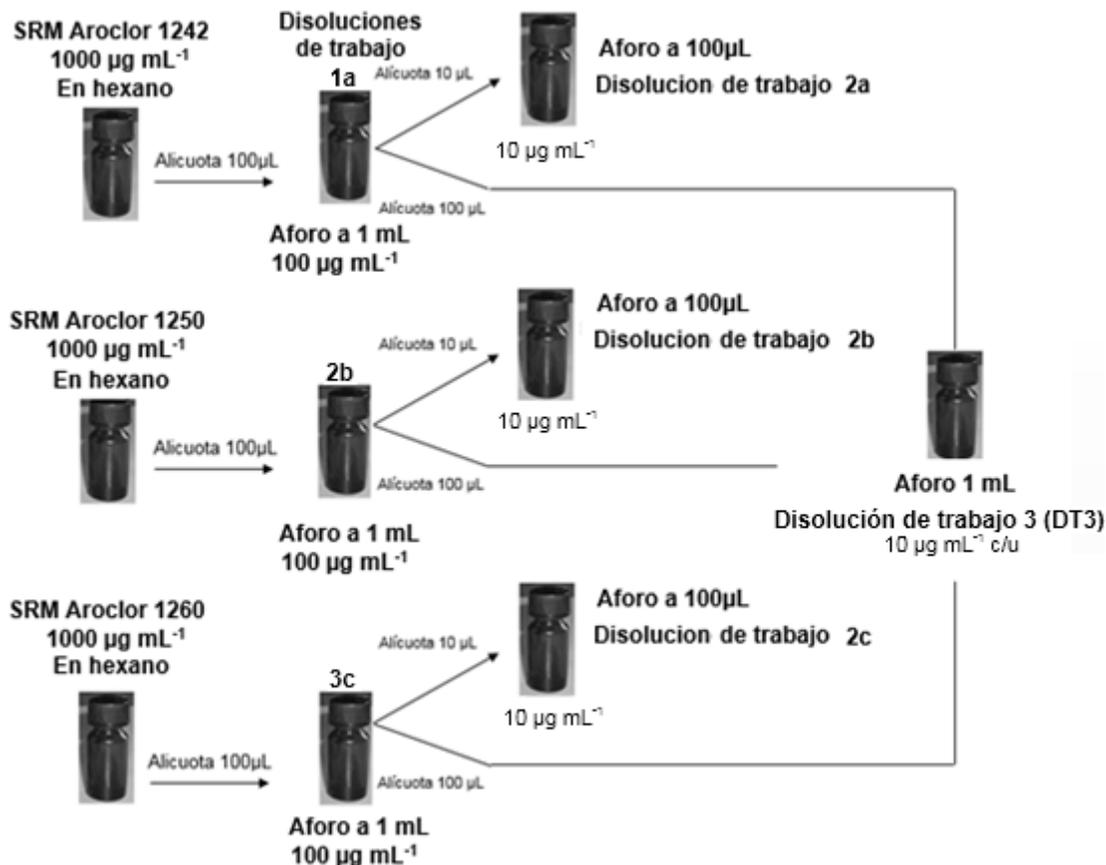


Figura 14. Diagrama para la preparación de las disoluciones de trabajo 1, 2 y 3 de BPCs

### 6.3.2. Disolución de Estándares internos (DT – EI)

Para preparar las disoluciones de estándar interno se tomaron 2 mg de diclorodifenildicloro etileno (DDE, Supelco 1000 mg, 99.2% de pureza) y decaclorobifenilo (Supelco 100 mg, 99.15 de pureza). Se aforaron a 1 mL con hexano por separado para obtener la disoluciones madre (DM) de cada estándar, a una concentración de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$ . De estas DM se tomaron alícuotas de  $50 \mu\text{L}$ , se mezclaron y aforaron a 5 mL con hexano para obtener la disolución de trabajo de estándar interno (DT-EI) a  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  como lo indica la figura 15

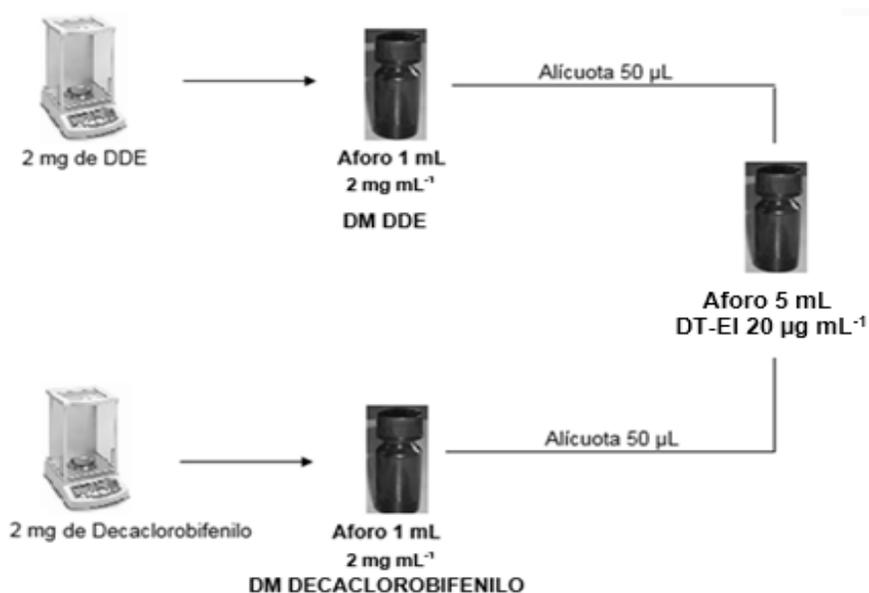


Figura 15. Preparación de las disoluciones madre y de trabajo de los estándares internos (DM = Disolución madre, DT EI = disolución de trabajo de estándar interno).

### 6.3.3. Referencia fortificada (RF)

Para la preparación de la disolución de referencia fortificada, se pesaron 600 mg de aceite libre de BPCs (Supelco, densidad  $0.89 \text{ g/mL}$ ). Se colocaron en un matraz, al que se le adicionó 1 mL de la DT3 de BPCs y hexano para obtener 30 mL de volumen final. De esta disolución se tomaron alícuotas de 5 mL.



Figura 16. Preparación de la disolución de referencia fortificada

#### 6.3.4. Materiales de referencia certificado (MRC)

Se utilizaron materiales de referencia certificado Aroclor 1242, 1250 y 1260 en aceite a 50 mg kg<sup>-1</sup> en aceite de transformador (Supelco). Se tomó una alícuota de 100 mg de cada uno y se aforaron a 5 mL con hexano para obtener las disoluciones de material de referencia certificado a 1 mg mL<sup>-1</sup> como se indica en la Figura 17.

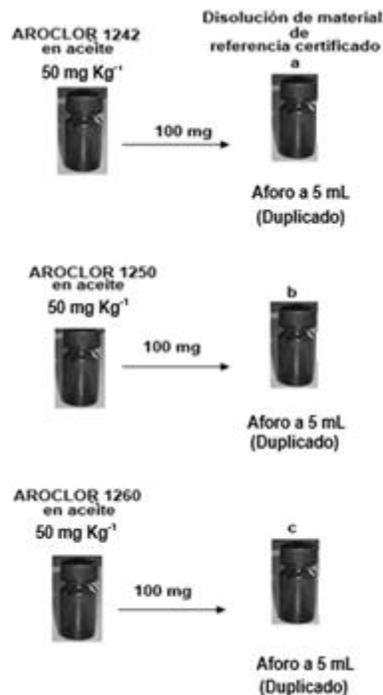


Figura 17. Preparación de las disoluciones de los materiales de referencia certificado.

### 6.3.5. Muestras de aceite de transformador

De las muestras proporcionadas por el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo se tomaron alícuotas de 100 mg y se aforaron a 5mL cada una con hexano como se describe en la figura 20. Para la preparación de las disoluciones, aceite libre de BPCs, material de referencia certificado y muestras se acondicionó la balanza analítica y verificó para el uso en la metodología como se indica en la figura 18.

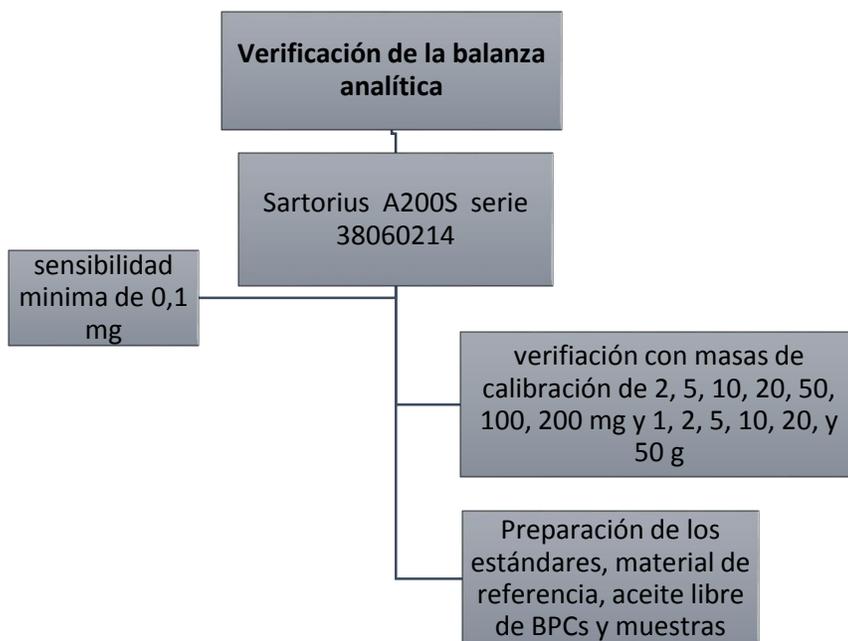


Figura 18. Esquema que muestra la verificación de la balanza utilizada para el desarrollo de la metodología

La tabla VII muestra la verificación de la balanza (Sartorius serie 38060214), con los patrones de masa (Ohaus). El máximo sesgo observado se presentó para las masas de 2 y 5 mg, el resto fue menor a 1 %. Similarmente, las masas de 2 y 5 mg presentaron las mayores variaciones, el resto mostró variaciones menores al 1 %.

Tabla VII. Verificación de la balanza Sartorius modelo A200S. N=3

Masa patrón, (g)	Masa observada (g)			Sesgo	
	Promedio	%	%CV	%	
0.002	0.0021	3.3	2.8	3.3	
0.005	0.0051	1.3	1.1	1.3	
0.01	0.0101	0.7	0.6	0.7	
0.02	0.0200	-0.2	0.3	-0.2	
0.05	0.0501	0.2	0.2	0.2	
0.1	0.1000	0.0	0.0	0.0	
0.2	0.2001	0.0	0.0	0.0	
0.5	0.5003	0.1	0.0	0.1	
1	1.0077	0.8	0.0	0.8	
2	2.0030	0.2	0.0	0.2	
5	5.0027	0.1	0.0	0.1	
10	10.0042	0.0	0.0	0.0	
20	20.0037	0.0	0.0	0.0	
50	49.9978	0.0	0.0	0.0	

#### 6.4. Tratamiento de las disoluciones

En la referencia fortificada se evaluaron los métodos de limpieza: florisil, ácido y ácido más florisil por el método de adición patrón. Después de observar los resultados de los métodos de limpieza se optó por tratar el material de referencia certificado con ácido para después evaluar muestras de aceite de transformador por el mismo y se analizaron en CG-EM/IQN/MIS como se describe en la figura 19.

##### 6.4.1 Evaluación de los métodos de limpieza (eliminación de interferencias)

En la disolución de referencia adicionada con la DT3 de los BPCs se evaluaron tres diferentes tratamientos de limpieza. 1. ácido, 2. Florisil y 3. Ácido+florisil. Utilizando como método el ultrasonido (Wise clean WUC-D06H). Los tratamientos fueron bajo las siguientes condiciones.

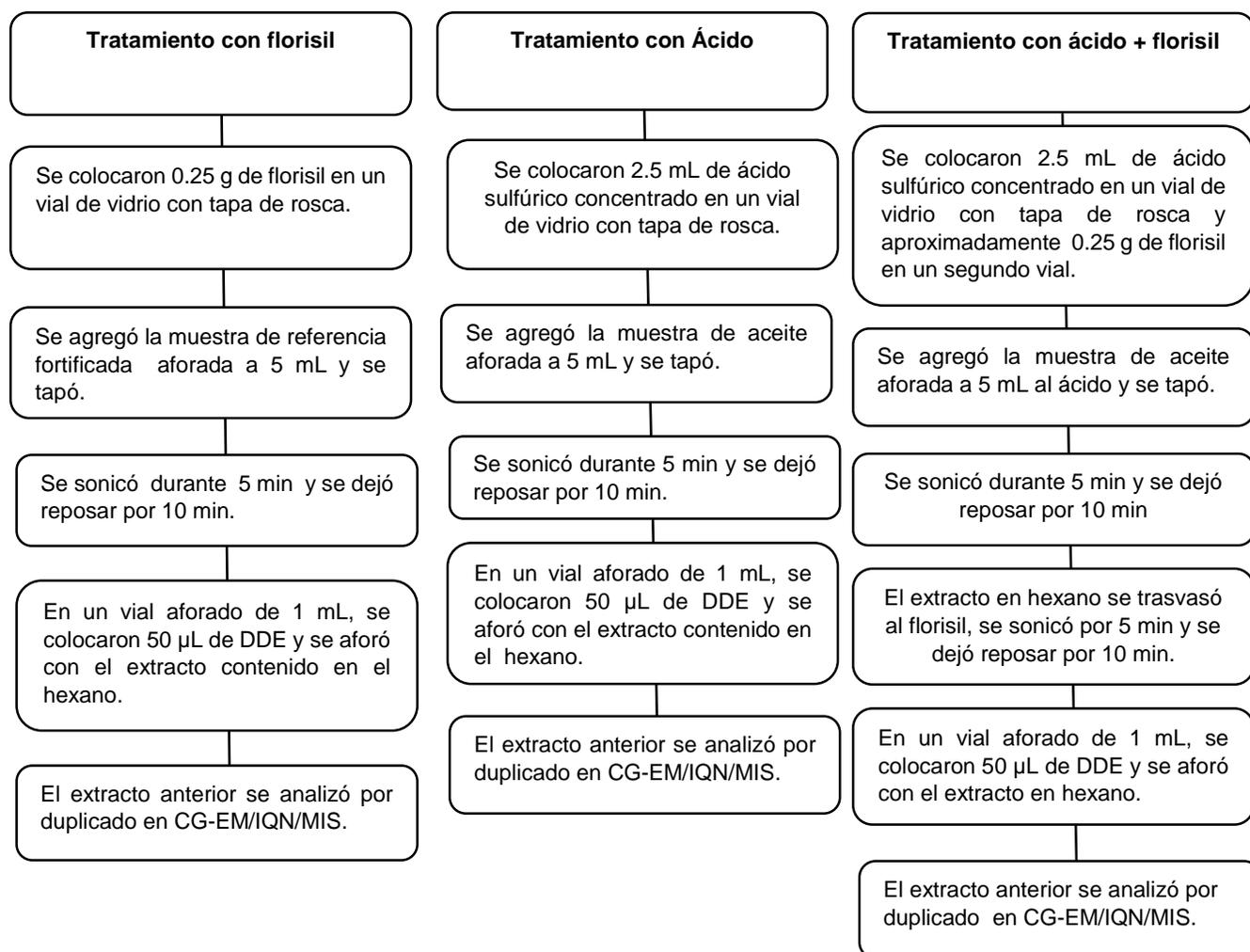


Figura 19. Pruebas de eficiencia en tratamientos de limpieza en aceite mineral fortificado y muestras de aceite de transformador.

Las seis muestras (5mL cada una) de la disolución de referencia fortificada con DT3 de BPCs se manipularon con los tratamientos previos. Dos muestras se trataron con el método que emplea el ácido, dos más con florisil y las dos restantes con el tratamiento que emplea el ácido y el florisil. Los extractos de cada tratamiento se volvieron a tratar dos veces más, para obtener un total de 6 extractos por tratamiento. Antes del análisis instrumental, a los extractos en hexano se les agregó una alícuota 50 µL de la disolución de trabajo de estándar interno (DT-EI) y se aforaron a 1 mL. Estas muestras se inyectaron por duplicado en CG-EM/IQN/MIS. Los porcentajes de recuperación de cada bifenilo característico de cada Aroclor se

calcularon comparando sus áreas relativas en los extractos tratados, con aquellas de la disolución de referencia no tratada, multiplicadas por cien (Ecuación 1).

$$\% \text{ Recuperación}_{\text{pico}} = \frac{Ar_{\text{trat.}}}{Ar_{\text{ref}}} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$$Ar = \frac{A_{BPC}}{A_{\text{Est interno}}}$$

Los porcentajes de recuperación de los Aroclor 1242, 1254 y 1260 se calcularon, promediando los porcentajes de recuperación de las cinco señales que integraron el 1242, dos señales relacionadas con el 1254 y de cuatro señales correspondientes al 1260.

$$\% \text{ Recuperación}_{\text{Aroclor}} = \frac{\sum \% \text{ Recuperación}_{BPC}}{n} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde n = número de picos empleados para la caracterización de cada Aroclor.

#### 6.4.2. Evaluación de exactitud y eficiencia del método

Estas variables son dos parámetros de calidad evaluadas generalmente con materiales de referencia. Para ello, se emplearon tres Aroclor 1242, 1254 y 1260 en aceite de transformador. Cada una de las disoluciones preparadas como se explicó en el punto 6.3.4. y por duplicado, fueron tratadas con ácido. Dicho procedimiento se repitió una vez más para cada material de referencia. Con ello se obtuvieron 12 extractos por Aroclor. A cada extracto se le adicionaron 50 µL de la DT-EI y se aforó a 1 mL con hexano. El análisis se hizo por duplicado en CG-EM/IQN/MIS. La exactitud se calculó en términos del sesgo, dividiendo la diferencia de la concentración recuperada después del tratamiento con ácido de cada Aroclor y el valor certificado, entre el valor del certificado, en porcentaje (Ecuación 3). Los porcentajes de recuperación de los Aroclor 1242, 1254 y 1260 se calcularon, promediando los porcentajes de recuperación de las cinco señales que integraron el 1242, las dos señales de 1254 y las cuatro señales correspondientes al 1260 de

los materiales de referencia. Los porcentajes de recuperación se obtuvieron dividiendo las concentraciones de cada Aroclor obtenido con las del reportado en el certificado, multiplicado por cien (Ecuación 1).

$$Exactitud = 100 - \frac{[MRC_{sin\ trat}] - [MRC_{con\ trat}]}{[MRC_{con\ trat}]} \times 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde [MRC<sub>x</sub>] = la concentración del material de referencia certificado y el subíndice “X” indica si este fue o no tratado con ácido. Con las eficiencias de cada BPC, se obtuvieron las recuperaciones promedio de cada Aroclor (Ecuación 4).

$$\overline{\% \text{ Recuperación Aroclor}} = \frac{\sum \% \text{ Recuperación por pico}}{n} \quad \text{Ecuación 4}$$

### 6.4.3. Efecto matriz

Es bien conocido que el efecto de la matriz sobre la intensidad de las señales (sensibilidad), depende de su complejidad y de las propiedades que censa el detector (Hajslova y Cajka 2007). Algunos residuos de la matriz o co-extractos inevitablemente se encuentran en las muestras purificadas preparadas para su análisis por GC, generando dificultades, tanto en el sitio de inyección como en el detector. Esto provoca que la cuantificación sea inexacta, que disminuya la sensibilidad, e incluso que se presenten falsos positivos. El efecto matriz también se observa en la disminución gradual de la respuesta a los analitos, picos distorsionados y cambios en los tiempos de retención (afectando negativamente la robustez). Tres elementos pueden ser considerados como una forma de control: 1) Eliminación de los sitios activos (difícilmente viable, no sólo debido a la falta de disponibilidad comercial de materiales inertes y a la imposibilidad de controlar la formación de nuevos sitios activos), 2) Optimización de la estrategia de calibración que permite la compensación por pérdida de la sensibilidad (alternativa más factible), 3) Optimización de los parámetros de inyección y separación. Existen otros métodos para el control de este efecto como el uso de estándares marcados con isótopos, el enmascaramiento de los sitios activos; la elección de la técnica de

inyección adecuada, la temperatura, el volumen, el tamaño de revestimiento y el diseño del inyector, el volumen de expansión disolvente; el caudal de la columna y las dimensiones de la columna.

La supresión iónica de los BPCs por efecto de la matriz sobre el espectrómetro de masas en IQN, se calculó comparando las respuestas de las áreas relativas de los BPCs con y sin aceite. Para ello, se calculó la diferencia entre sus áreas relativas con aceite de transformador ( $Ar_{con\ matriz}$ ) y de éstos en hexano ( $Ar_{sin\ matriz}$ ). Esta diferencia, se dividió entre las áreas relativas de los BPCs en hexano por cien (Ecuación 4). La concentración a la que se llevó a cabo este análisis fue  $1\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$  que equivale a  $50\text{ mg Kg}^{-1}$  al considerar la dilución 1:50.

$$Supresión\ Iónica\ Efecto\ matriz = \frac{Ar_{con\ matriz} - Ar_{sin\ matriz}}{Ar_{sin\ matriz}} \times 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

#### **6.4.4. Determinación de BPCs en aceites de transformador**

Una vez establecidas las condiciones analíticas, nuestro procedimiento fue aplicado en cuatro muestras de aceite de transformador (MP1, MP2, MP3, MP4) proporcionadas por el PNUD para la determinación de BPCs. Los nombres originales fueron cambiados por confidencialidad. Las muestras se pesaron por duplicado y se trataron con ácido como lo indica la figura 20.

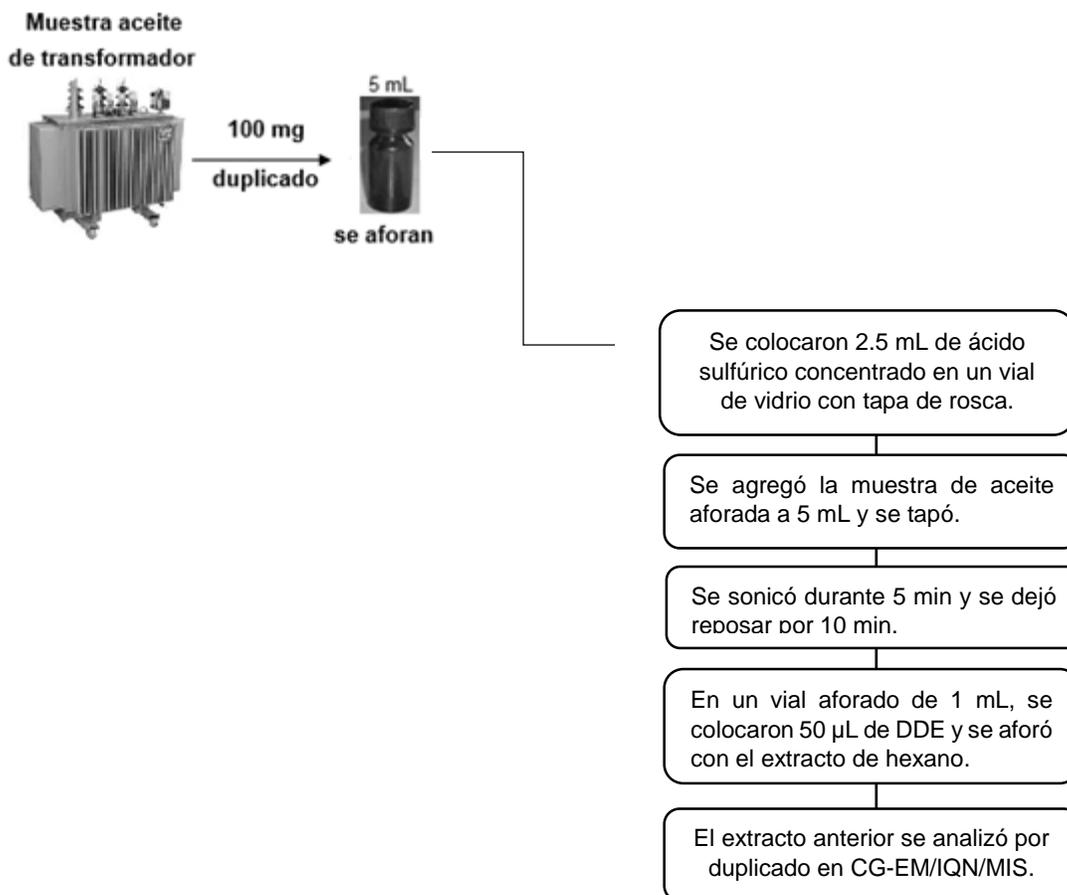


Figura 20. Procedimiento aplicado a las muestras de aceite de transformador.

El ácido se aplicó dos veces sobre cada muestra tratada. De cada uno de los ocho extractos, se tomó una alícuota, se adicionaron 50 µL de la disolución de trabajo de estándar interno y se aforó a 1 mL. El análisis se hizo en CG-EM/IQN/MIS por duplicado. Los BPCs se cuantificaron empleando la curva de calibración y las concentraciones se corrigieron por supresión iónica y recuperación empleando los materiales de referencia.

### 6.5. Análisis cualitativo

El análisis de los BPCs se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6890) con un inyector automático (Agilent Technologies 7683), acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent Technologies 5973N) con cuadrupolo. La inyección se llevó a cabo sin dividir la muestra (Splitless) durante un minuto. Se inyectó 1 µL a 300 °C. Se utilizó una columna capilar (SGE) con fase

estacionaria BPX35, de 60 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de grosor de la película. El programa de temperatura del horno fue  $80^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ,  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$  hasta  $210^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ,  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$  hasta  $310^{\circ}\text{C}$  por 5 min. El tiempo de la corrida fue 45.3 min. Se empleó helio (infra, 99.998% de pureza) como gas acarreador a  $1.5\text{ mL min}^{-1}$ . El espectrómetro de masas se colocó en modo de ionización química negativa (IQN), empleando metano (Infra, alta pureza) como gas de reacción a 40 mL por minuto. La temperatura de la línea de transferencia, de la fuente iones y del cuadrupolo fueron 300, 150 y  $150^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Se utilizó el sistema de adquisición de datos Chemstation y Enhaced, instalado en una computadora HP. El análisis cualitativo se desarrolló en "SCAN" completo para identificar las señales características de cada uno de los tres Aroclor y de los estándares internos. El barrido se llevó a cabo de 35 a 600 Dalton empleando la dilución de trabajo 2. Se obtuvieron los tiempos de retención absolutos y los iones más abundantes de cada bifenilo. Con estos datos se creó el método para el monitoreo de los iones seleccionados (SIM), creando dos grupos y 27 iones en total. Con los tiempos de retención absolutos de los bifenilos en cada Aroclor y de los estándares internos se calcularon los tiempos de retención relativos, dividiendo los tiempos de retención de los bifenilos entre aquellos de los estándares internos.

## 6.6. Análisis cuantitativo

La determinación de la concentración de los BPCs en los ascareles se basó en la curva de calibración creada a partir de la disolución madre de los 3 Aroclor y fortificada con estándar interno. Cada curva se preparó con ocho niveles de concentración: 2.4, 1.8, 1.2, 0.96, 0.72, 0.48, 0.24 y  $0.12\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$ . A cada nivel se le adicionó el estándar interno a una concentración final de  $1\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$ . Los niveles de concentración de la curva de calibración se inyectaron de forma aleatoria por duplicado. Debido a que el tiempo de retención del DDE se presentó a la mitad del cromatograma de los Aroclor y el del decacloro bifenilo hasta el final, se consideró únicamente al DDE como el estándar interno para los análisis cualitativo y cuantitativo. Con este último, se calcularon los factores de respuesta relativos (FRR) de cada BPC.

Se evaluó la linealidad de la curva de calibración con los coeficientes de Pearson (r) y de determinación (r<sup>2</sup>) y la variación de los factores de respuesta relativos en toda la regresión. Se observó heterocedasticidad en la varianza. Por lo tanto, se optó por realizar regresión ponderada (Santos-Medina 2012, Hernández-López, 2011) Con ella, se calcularon las pendientes y los interceptos ponderados así como los límites de detección y de cuantificación ponderados (Miller y Miller, 2002) de acuerdo con las ecuaciones 6 a 11.

Peso dado a un punto en la recta regresión.

$$w_i = \frac{S_i^{-2}}{\sum_i S_i^{-2}} \quad \text{Ecuación 6}$$

Pendiente ponderada de la recta de regresión.

$$b_w = \frac{\sum_i w_i x_i y_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w}{\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde =

$$x_i = C_i / CEI$$

Ordenada al origen ponderada de la recta de regresión.

$$a_w = \bar{y}_w - b \bar{x}_w \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde =

$$\bar{y} = \frac{A}{AEI} \quad Y \quad \bar{x} = \frac{C}{CEI}$$

Media aritmética de los valores de y ponderados.

$$\bar{y}_w = \frac{\sum_i w_i y_i}{n} \quad \text{Ecuación 9}$$

Media aritmética de los valores x ponderados.

$$\bar{x}_w = \frac{\sum_i w_i x_i}{n} \quad \text{Ecuación 10}$$

Desviación estándar de los residuos de “y” y de la recta de regresión ponderada.

$$S\left(\frac{y}{x}\right)_w = \left\{ \frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \right\}^{1/2} \quad \text{Ecuación 11}$$

Donde:

$S_i$  = desviación estándar de la respuesta en la i-ésima dilución,  $y_i = (A/AEI)_i$ .

$S_i^2$  = varianza de la respuesta en la i-ésima dilución,  $y_i = (A/AEI)_i$ .

A = área del compuesto en la i-ésima respuesta en la i-ésima disolución.

AEI = área del estándar interno de la i-ésima respuesta en la i-ésima dilución.

n = número de diluciones (n=8).

$y_i$  = j-ésima respuesta en la i-ésima dilución,  $y_i = (A/AEI)_i$ .

$\hat{y}_i$  = j-ésima respuesta ajustada en la i-ésima dilución,  $y_i = (A/AEI)_i$  ajustada.

$x_i$  = concentración relativa de la i-ésima concentración ( $C_i/CEI$ ).

$\bar{x}$  = valor promedio de la concentración relativa ( $C/CEI$ ), de todas las disoluciones

$\bar{y}$  = valor promedio de las áreas relativa ( $A/AEI$ ), de todas las disoluciones.

$C_i$  = concentración del compuesto en la i-ésima dilución.

CEI = concentración del estándar interno.

Para evaluar límite de detección (cantidad más baja del analito en la muestra que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada (IUPAC 2002) expresada en unidades de concentración del analito) y cuantificación (cantidad mínima del analito en la muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud) del método, se calcularon con las ecuaciones 12 y 13. Fue necesario contar primero con los promedios de los límites de detección y cuantificación instrumental (Tabla X) y las recuperaciones promedio de los Aroclor (Tabla XII). Los límites del método fueron expresados en  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ . Estos deberán ser probados posteriormente.

$$L.D. \text{ metodo Aroclor } (ng \text{ g}^{-1}) = \frac{L.D. \text{ instrumental } (pg \text{ }\mu\text{L}^{-1}) \times Aforo_{(\mu\text{L})}}{Recuperacion \text{ relativa } \times 1000_{(pg \text{ ng}^{-1})} \times Masa \text{ de aceite mineral } (g)}$$

Ecuación 12

$$L.C. \text{ metodo Aroclor } (ng \ g^{-1}) = \frac{L.C. \text{ instrumental } (pg \ \mu L^{-1}) \times \text{Aforo } (\mu L)}{\text{Recuperacion relativa } \times 1000 (pg \ ng^{-1}) \times \text{Masa de aceite mineral } (g)}$$

Ecuación 13

Donde:

$$L.D. \text{ instrumental} = a + 3s_{(y/x)}$$

$$L.C. \text{ instrumental} = a + 10s_{(y/x)}$$

$a = \text{ordenada al origen}$

$s_{(y/x)} = \text{desviación estándar de la ordenada al origen}$

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Análisis cualitativo y cuantitativo

Se inyectó una estándar a  $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  de cada uno de los tres Aroclor individualmente. Se identificaron cinco señales características del Aroclor 1242 (Figura 21), dos del Aroclor 1254 (Figura 22) y cuatro del Aroclor 1260 (Figura 23). La figura 24 muestra el cromatograma de la mezcla de los tres Aroclor a  $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  (4<sup>a</sup> dilución de la curva de calibración instrumental).

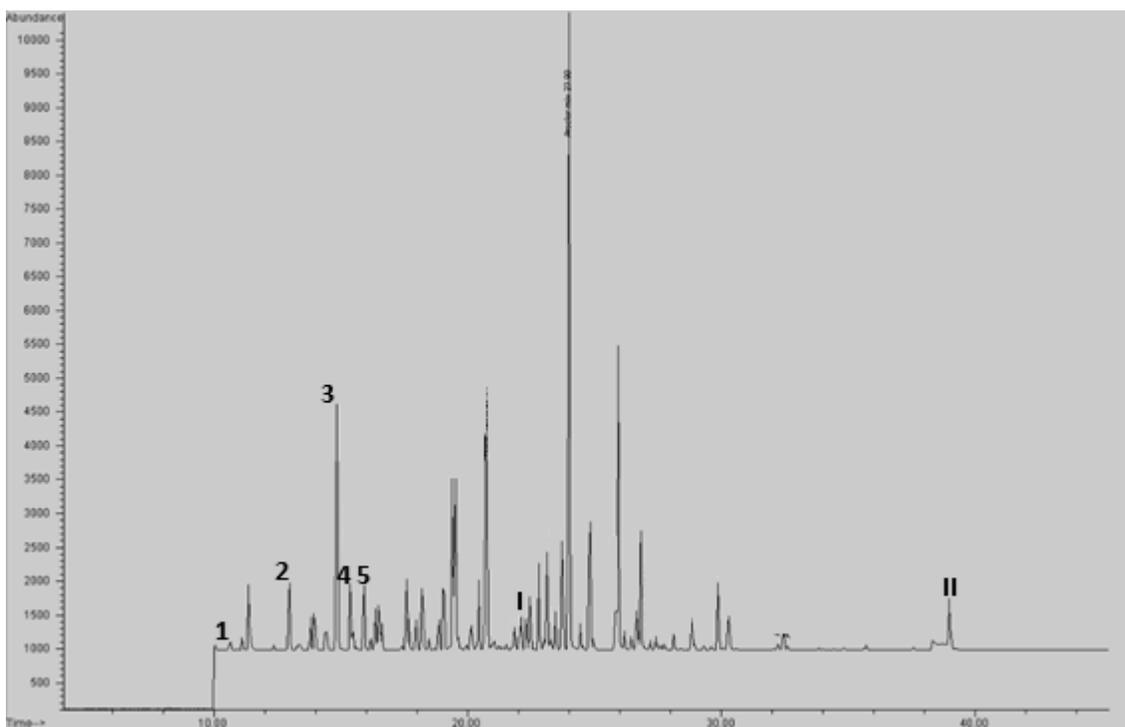


Figura 21. Cromatograma del Aroclor 1242 a  $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ . Los picos numerados se encuentran referenciados a los BPCs presentados en la Tabla VIII

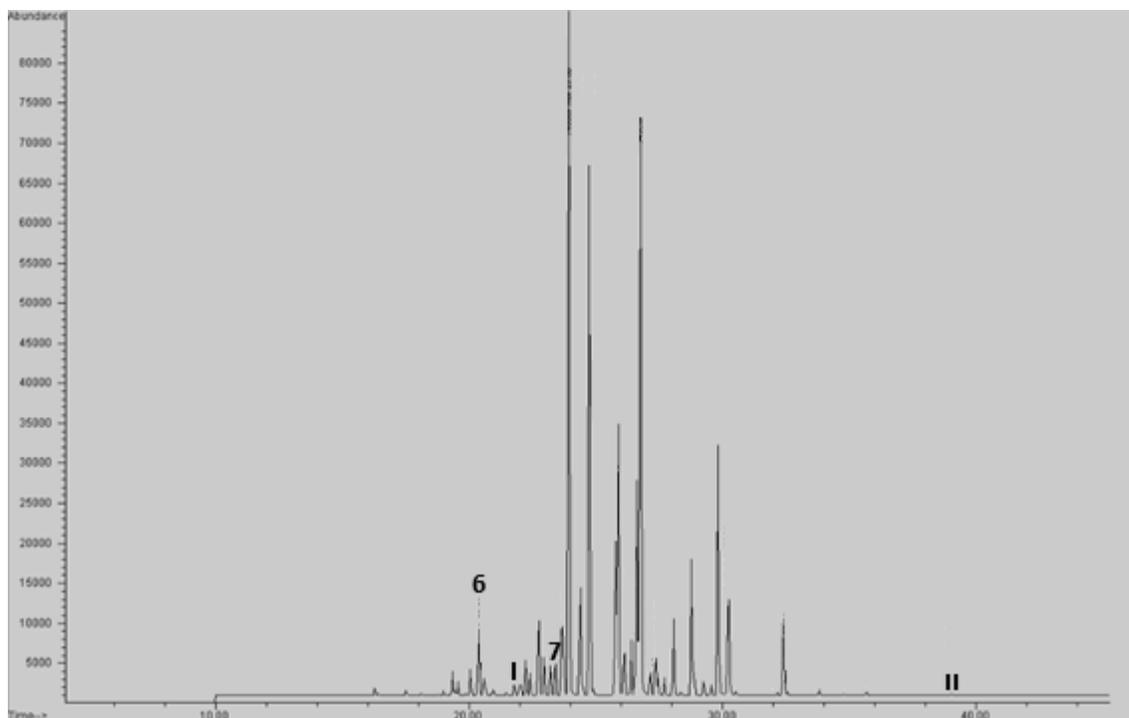


Figura 22. Cromatograma del Aroclor 1254 a  $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ . Los picos numerados se encuentran referenciados a los BPCs presentados en la Tabla VIII

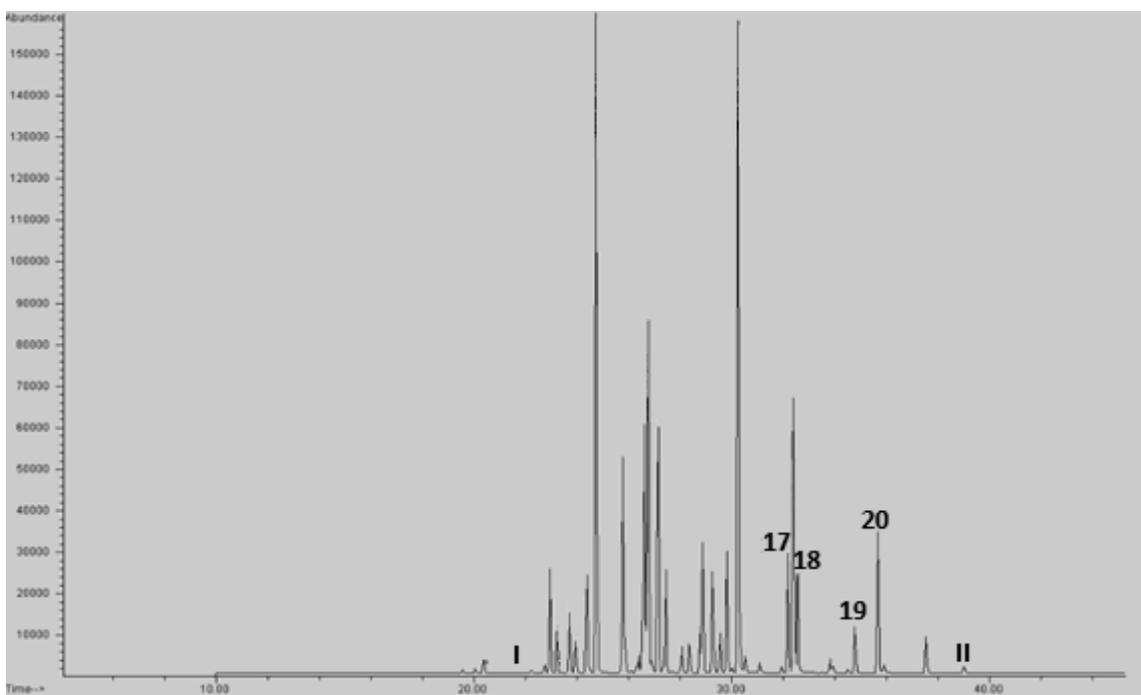


Figura 23. Cromatograma del Aroclor 1260 a  $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ . Los picos numerados se encuentran referenciados a los BPCs presentados en la Tabla VIII

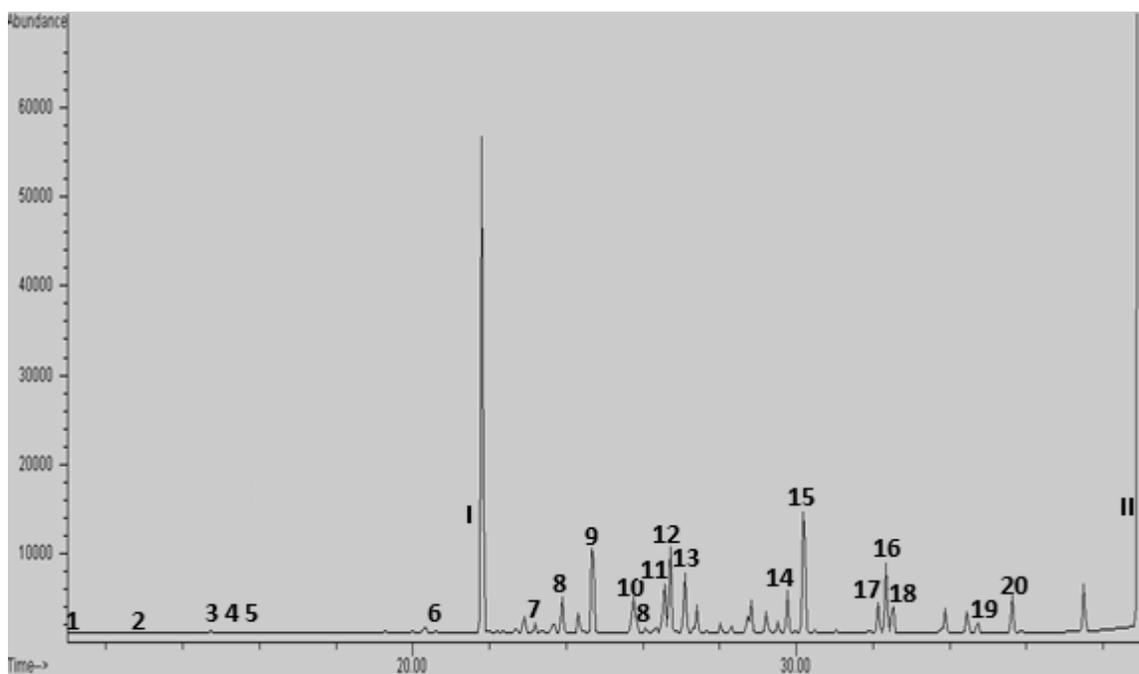


Figura 24. Cromatograma de la mezcla de los tres Aroclor a  $1 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$  (4ª dilución de la curva de calibración instrumental). Los picos numerados se encuentran referenciados a los BPCs Aroclor presentados en la Tabla VIII.

La Tabla VIII muestra el promedio de los tiempos de retención absolutos de 16 inyecciones y las señales características de los Aroclor 1242, 1254, 1260 y de su mezcla. El nombre del Aroclor se encuentra relacionado con sus tiempos de retención absoluto (tr), en minutos y sus tiempos de retención relativos (trr) al DDE (adimensional).

Tabla VIII. Tiempos de retención absolutos (tr) y relativos (trr) al DDE de los iones característicos de los BPCs en los Aroclor 1242, 1254 y 1260, y en su mezcla.

#	Aroclor	Promedio	DE	%CV	Promedio	DE	%CV
		tr, min	tr, min	tr, min	trr	trr	trr
I)	DDE	21.80	0.02	0.08	1.000	-	-
II)	Decacloro bifenilo	38.97	0.01	0.00	1.781	0.003	0.02
1)	Aroclor 1242, 11.28	11.28	0.03	0.23	0.517	0.001	0.24
2)	Aroclor 1242, 12.85	12.85	0.02	0.13	0.589	0.000	0.05
3)	Aroclor 1242, 14.74	14.74	0.00	0.00	0.676	0.001	0.08
4)	Aroclor 1242, 15.26	15.26	0.01	0.08	0.700	0.000	0.06
5)	Aroclor 1242, 15.77	15.77	0.01	0.08	0.724	0.000	0.02
6)	Aroclor 1254, 20.61	20.61	0.00	0.00	0.946	0.001	0.06
7)	Aroclor 1254, 23.37	23.37	0.03	0.12	1.072	0.001	0.13
8)	Aroclor mezcla, 23.90	23.90	0.00	0.00	1.097	0.001	0.08
9)	Aroclor mezcla, 24.72	24.72	0.00	0.00	1.134	0.001	0.08
10)	Aroclor mezcla, 25.75	25.75	0.00	0.00	1.181	0.001	0.08
11)	Aroclor mezcla, 26.57	26.57	0.00	0.00	1.219	0.001	0.08
12)	Aroclor mezcla, 26.73	26.73	0.00	0.00	1.226	0.001	0.08
13)	Aroclor mezcla, 27.09	27.09	0.01	0.05	1.243	0.001	0.06
14)	Aroclor mezcla, 29.76	29.76	0.00	0.00	1.365	0.001	0.08
15)	Aroclor mezcla, 30.23	30.23	0.00	0.00	1.387	0.001	0.08
16)	Aroclor mezcla, 32.35	32.35	0.02	0.05	1.484	0.000	0.03
17)	Aroclor 1260, 32.13	32.13	0.01	0.04	1.474	0.001	0.06
18)	Aroclor 1260, 32.54	32.54	0.00	0.00	1.493	0.001	0.08
19)	Aroclor 1260, 34.75	34.75	0.00	0.00	1.594	0.001	0.08
20)	Aroclor 1260, 35.63	35.63	0.00	0.00	1.635	0.001	0.08

Debido a que la inyección fue automática, la variación en la asignación de la señal para la identificación del Aroclor correspondiente fue menor al 0.3 %. Las figuras 25, 26 y 27 dan un ejemplo de las curvas de calibración de tres señales representativas de los Aroclor 1242, 1254 y 1260.

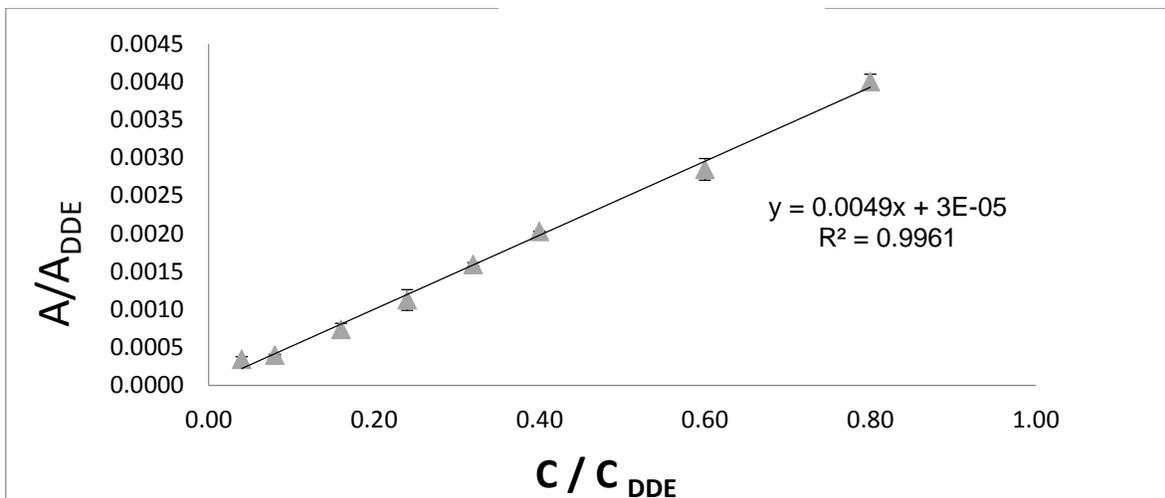


Figura 25. Curva de calibración Aroclor 1242, 12.85 min

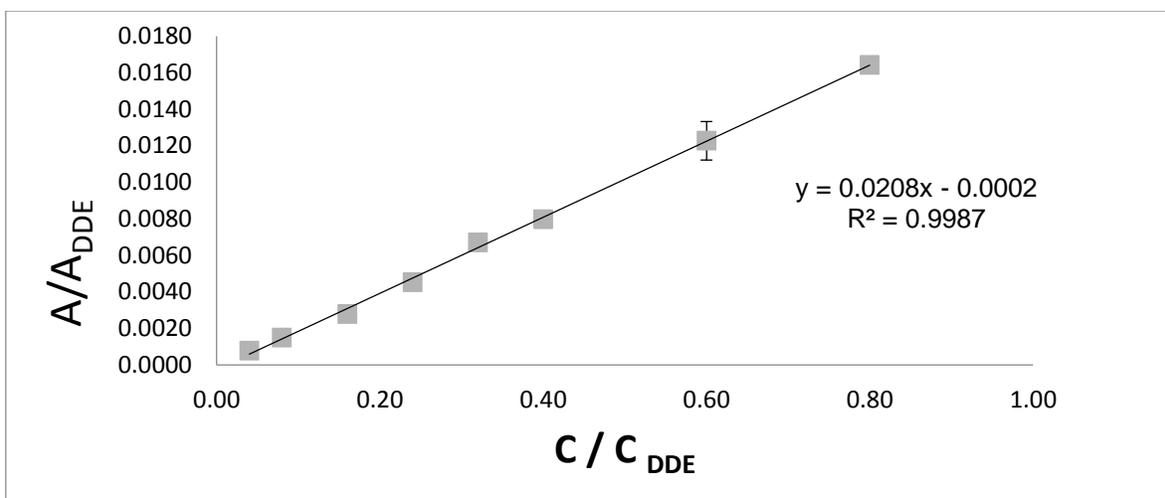


Figura 26. Curva de calibración Aroclor 1254, 23.37 min

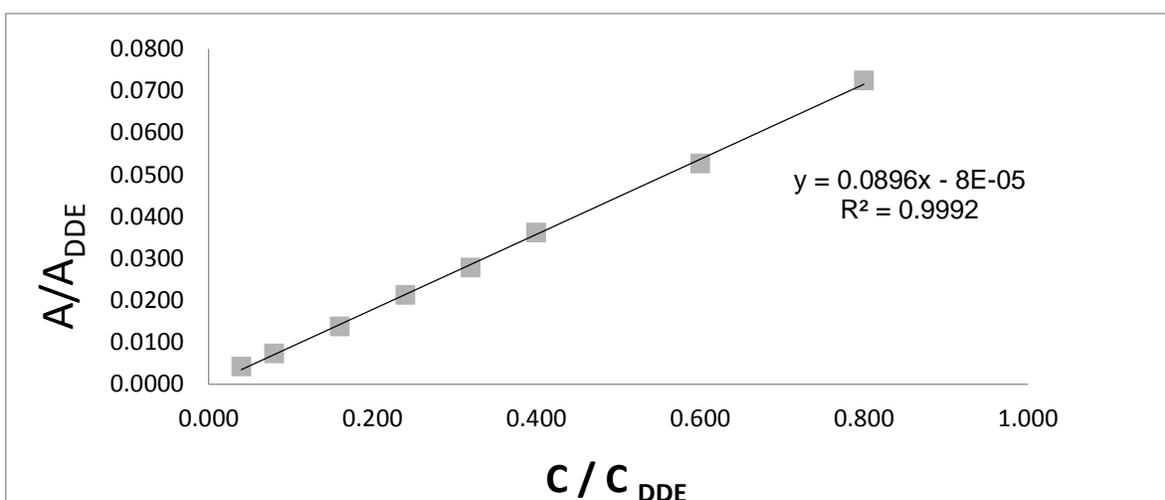


Figura 27. Curva de calibración del Aroclor 1260, 34.75 min

El resto de las curvas de calibración se encuentran en el anexo I. La tabla IX indica los coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) y de determinación ( $r^2$ ). Las correlaciones fueron superiores a 0.99, indicando linealidad en la respuesta de todos los BPCs considerados. Además, se aprecia que las variaciones de la pendiente (FRR) para todas las señales (excepto el Aroclor 1242, 11.28) fueron inferiores al 10 %. Esto significa que la respuesta del CG-EM/IQN/MIS en el intervalo de 40 a 800 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  para los Aroclor individuales y de 120 a 2400 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  para la mezcla de los tres Aroclor (1:1:1) es reproducible y por lo tanto lineal.

Tabla IX. Coeficientes de correlación de Pearson ( $r$ ) y de determinación ( $r^2$ ). Reproducibilidad de los factores de respuesta relativos (FRR) (pendientes) en todo el intervalo lineal de trabajo. Número de niveles de calibración ( $n$ ) considerados para el cálculo.

#	Aroclor	$r$	$r^2$	Reproducibilidad FRR %	$n$
1	Aroclor 1242, 11.28	0.995	0.989	17.6	8
2	Aroclor 1242, 12.85	0.998	0.996	3.8	8
3	Aroclor 1242, 14.74	0.997	0.995	3.6	8
4	Aroclor 1242, 15.26	0.999	0.997	5.4	8
5	Aroclor 1242, 15.77	1.000	0.999	6.1	7
6	Aroclor 1254, 20.61	0.999	0.998	3.1	7
7	Aroclor 1254, 23.37	0.999	0.999	6.0	8
8	Aroclor mezcla, 23.90	0.999	0.998	5.0	8
9	Aroclor mezcla, 24.72	0.999	0.999	4.6	8
10	Aroclor mezcla, 25.75	1.000	0.999	4.5	8
11	Aroclor mezcla, 26.57	0.999	0.998	5.3	8
12	Aroclor mezcla, 26.73	0.999	0.998	4.5	8
13	Aroclor mezcla, 27.09	0.999	0.998	3.6	8
14	Aroclor mezcla, 29.76	0.999	0.999	3.2	8
15	Aroclor mezcla, 30.23	1.000	0.999	3.7	8
16	Aroclor mezcla, 32.35	0.999	0.999	3.7	8
17	Aroclor 1260, 32.13	1.000	0.999	5.5	8
18	Aroclor 1260, 32.54	0.999	0.999	9.5	8
19	Aroclor 1260, 34.75	1.000	0.999	6.8	8
20	Aroclor 1260, 35.63	0.999	0.999	6.8	8

La tabla X muestra las pendientes (FRR), las ordenadas al origen y los límites de detección y de cuantificación ponderados instrumentales para cada señal de

Aroclor. El FRR es un parámetro que permite seleccionar a la señal representativa del Aroclor con la máxima intensidad. Este valor es inversamente proporcional a los límites de detección y de cuantificación. En general, cualquiera de las cinco señales del Aroclor 1242 puede seleccionarse, aunque el bifenilo que eluye en 14.74 min pudiera ser el representativo. En el caso del Aroclor 1254, el que eluye en 23.37 min es el adecuado y en el caso del 1260 cualquiera de sus señales son adecuadas, siendo el que eluye en 34.75 min el menos recomendable.

Tabla X. Pendientes (FRR), ordenada al origen y límites de detección y de cuantificación ponderados instrumentales para cada señal de Aroclor.

#	Aroclor	Pendiente (FRR)	Ordenada al origen	Límites de detección, $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	Límites de cuantificación, $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$
1	Aroclor 1242 11.28	0.004	0.000	58	193
2	Aroclor 1242 12.85	0.005	0.000	11	35
3	Aroclor 1242 14.74	0.014	0.000	2	7
4	Aroclor 1242 15.26	0.005	0.000	25	83
5	Aroclor 1242 15.77	0.004	0.000	7	23
6	Aroclor 1254 20.61	0.011	0.000	27	89
7	Aroclor 1254 23.37	0.020	0.000	16	53
8	Aroclor mix 23.90	0.136	-0.003	16	55
9	Aroclor mix 24.72	0.262	-0.005	3	9
10	Aroclor mix 25.75	0.087	-0.001	33	110
11	Aroclor mix 26.57	0.113	-0.006	27	90
12	Aroclor mix 26.73	0.198	-0.004	52	174
13	Aroclor mix 27.09	0.139	-0.001	51	170
14	Aroclor mix 29.76	0.057	-0.001	30	99
15	Aroclor mix 30.23	0.359	-0.010	51	169
16	Aroclor mix 32.35	0.135	0.002	4	14
17	Aroclor 1260 32.13	0.204	0.000	1	4
18	Aroclor 1260 32.54	0.254	-0.004	23	75
19	Aroclor 1260 34.75	0.089	0.000	5	16
20	Aroclor 1260 35.63	0.212	0.001	12	39

## 7.2. Efecto matriz

La figura 28 ilustra cuatro cromatogramas traslapados que describen el comportamiento del aceite mineral enriquecido con  $50 \mu\text{g } \text{g}^{-1}$  de la mezcla de tres Aroclor. El cromatograma BPCs211 muestra a la disolución de referencia fortificada no tratada. Los otros tres cromatogramas muestran las extracciones secuenciales con ácido. El BPCs210 fue la primera extracción, el BPCs209 fue la segunda y el

BPCs208 la tercera. Este análisis se hizo en ionización química positiva (IQP) en modo “SCAN” completo para detectar hidrocarburos. En el cromatograma se observa claramente que la mezcla compleja no resuelta que forman los hidrocarburos que integran el aceite mineral inhibe la detección de los bifenilos policlorados. También se ilustra que aunque existe una disminución en la intensidad después del tercer tratamiento con ácido sulfúrico (BPCs208) aún se observa a la mezcla no resuelta (<20 min), es decir el procedimiento con ácido no elimina totalmente a los hidrocarburos.

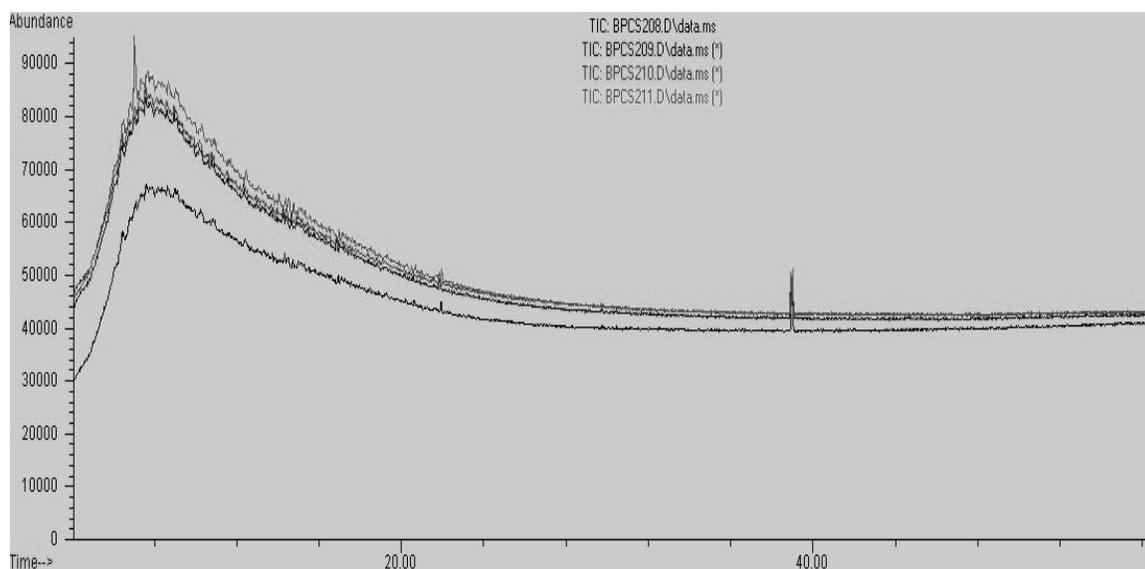


Figura 28. Cromatogramas traslapados que muestran el comportamiento del aceite mineral enriquecido con  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  de la mezcla de tres Aroclor, analizados en ionización química positiva y en “SCAN” completo de 35 a 600 u. BPCs211 – aceite de la referencia no tratado, BPCs210 – primera extracción con ácido, BPCs209 – segunda extracción con ácido y BPCs208, tercera extracción con ácido.

La figura 29 ilustra el análisis de las mismas cuatro muestras en ionización química negativa monitoreando a los iones seleccionados. En este caso no se observan a los hidrocarburos como en ionización química positiva. Lo que confirma la selectividad del método por ionización química negativa. La disminución de la intensidad de los bifenilos es imperceptible, lo que muestra que el tratamiento con ácido no degrada a los BPCs.

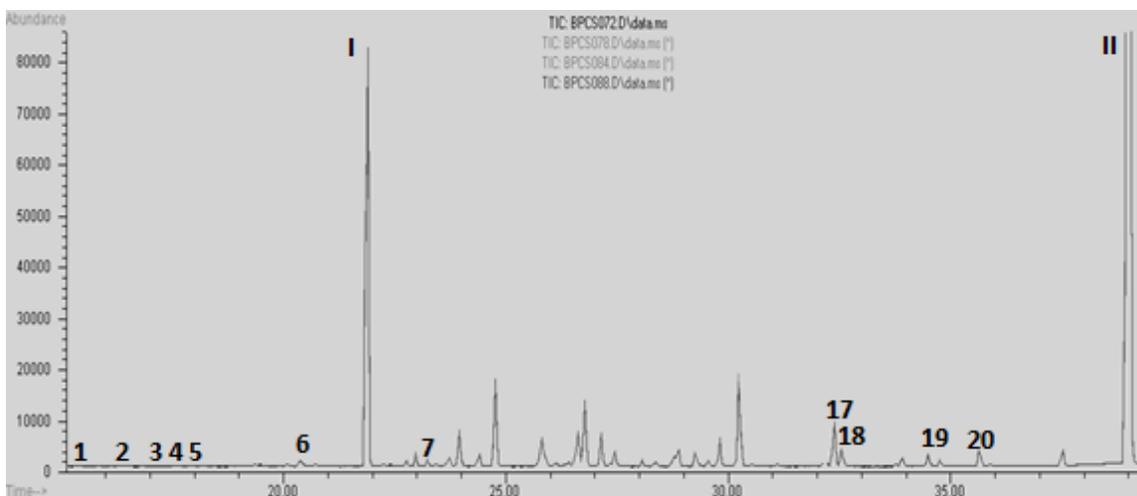


Figura 29. Cromatogramas traslapados de los bifenilos policlorados a  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  de la mezcla de los tres Aroclor en el aceite mineral, analizados en ionización química negativa monitoreando a los iones seleccionados. BPCs211 – aceite de la referencia no tratado, BPCs210 – primera extracción con ácido, BPCs209 – segunda extracción con ácido y BPCs208, tercera extracción con ácido.

Estos resultados muestran que la inyección directa del aceite de transformador con hidrocarburos, decrementó a la intensidad de las señales proporcionadas, sugiriendo un efecto de supresión iónica. Debido a que el detector registra la intensidad de las señales de cada analito después de que son ionizados, los analitos se ven inhibidos en la fuente de ionización por la presencia de los interferentes en la matriz (Annesley, 2003), provocando que la cantidad de moléculas de interés que llegan al detector, reduzca, y por ende disminuya su sensibilidad.

De esta manera la alta selectividad del detector de masas en el modo de ionización química negativa se ve descompensada por la disminución en su sensibilidad debido al efecto matriz disminuyendo la intensidad de las señales de los bifenilos entre 5 y 25 %. La figura 30 ilustra este decaimiento. Estos valores fueron tomados en cuenta para ajustar las intensidades de los bifenilos en los materiales de referencia y en las muestras.

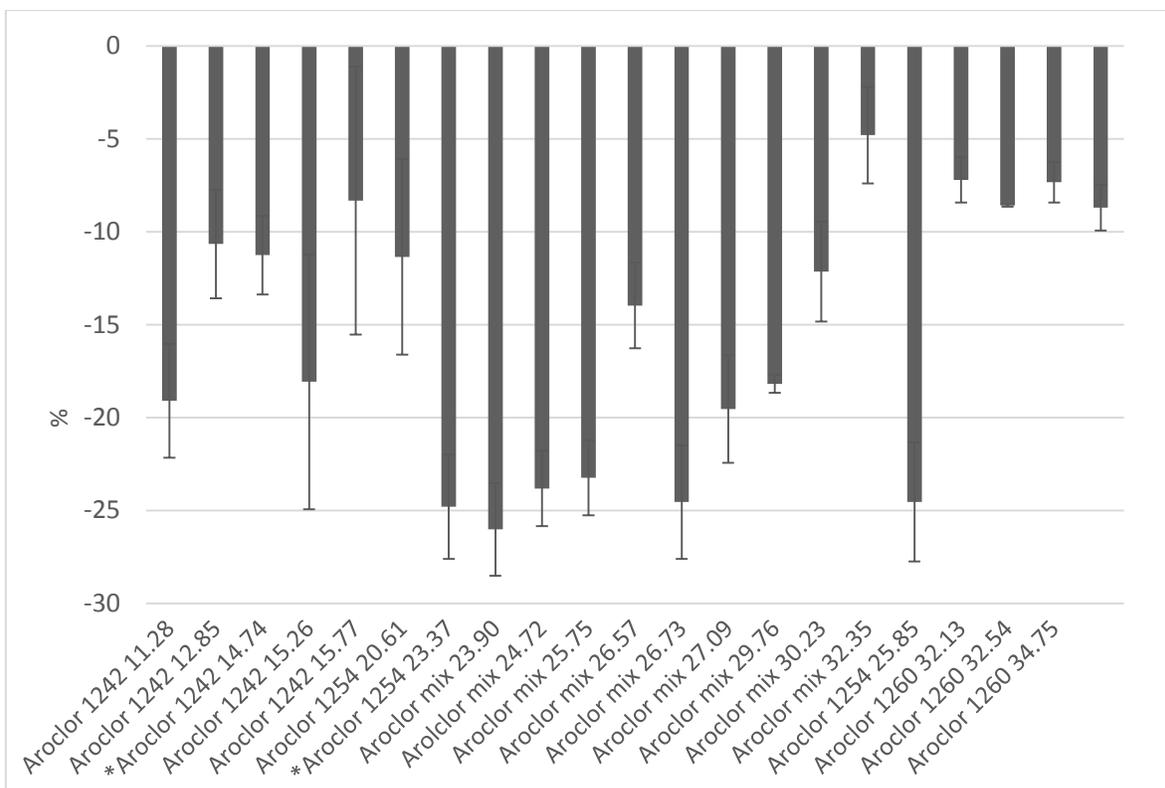


Figura 30. Supresión iónica de los BPCs detectados en EM/IQN/MIS por el efecto matriz. N=2.

### 7.3. Eficiencia del método analítico

La figura 31 ilustra los porcentajes de recuperación de  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  de bifenilos adicionados al aceite mineral libre de éstos, tratado con ácido, florisil y ácido+florisil. El cálculo se basó en la comparación de las áreas relativas entre las muestras tratadas y aquellas no tratadas de la disolución de referencia, es decir, sin considerar la supresión iónica. Las primeras tres barras de cada bifenilo indican los promedios de las tres extracciones consecutivas para cada tratamiento, mientras que la última barra indica el promedio de los nueve tratamientos. Las barras de variación indican las desviaciones estándar. Las recuperaciones oscilaron entre  $88 \pm 3 \%$  y  $112 \pm 11 \%$ .

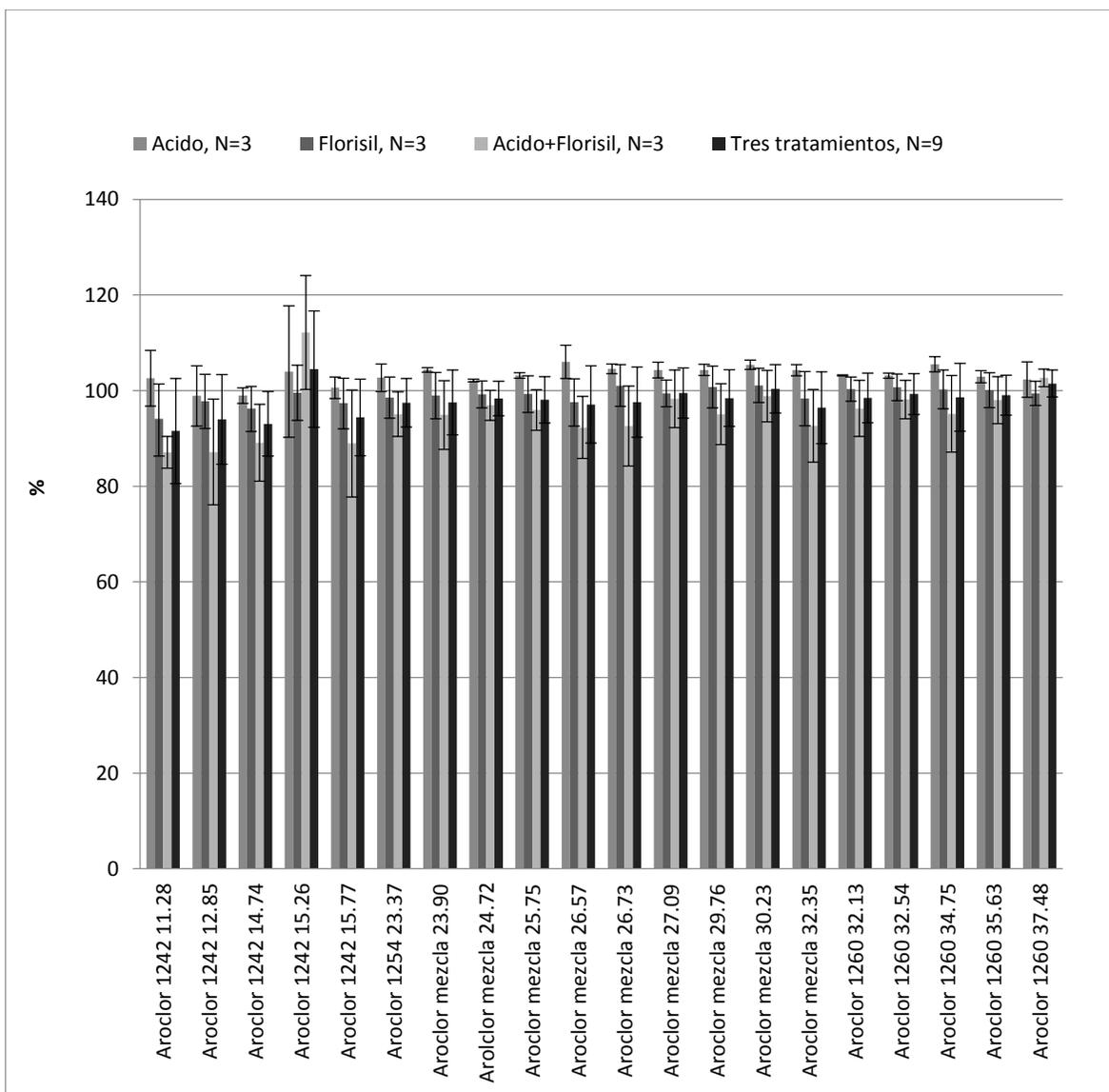


Figura 31. Recuperación de los BPCs en los Aroclor 1242, 1254, 1260 y en su mezcla, por el método de adición patrón a 50 g Kg<sup>-1</sup>. Cálculo sin considerar la curva de calibración instrumental ni la supresión de iones.

No obstante, la figura 32 muestra los porcentajes de los tres Aroclor tomando en cuenta las curvas de calibración y la supresión de iones. Al igual que las eficiencias en la figura 31, los valores también fueron cercanos a 100 % para el caso del tratamiento con ácido y un poco menores en los otros dos tratamientos.

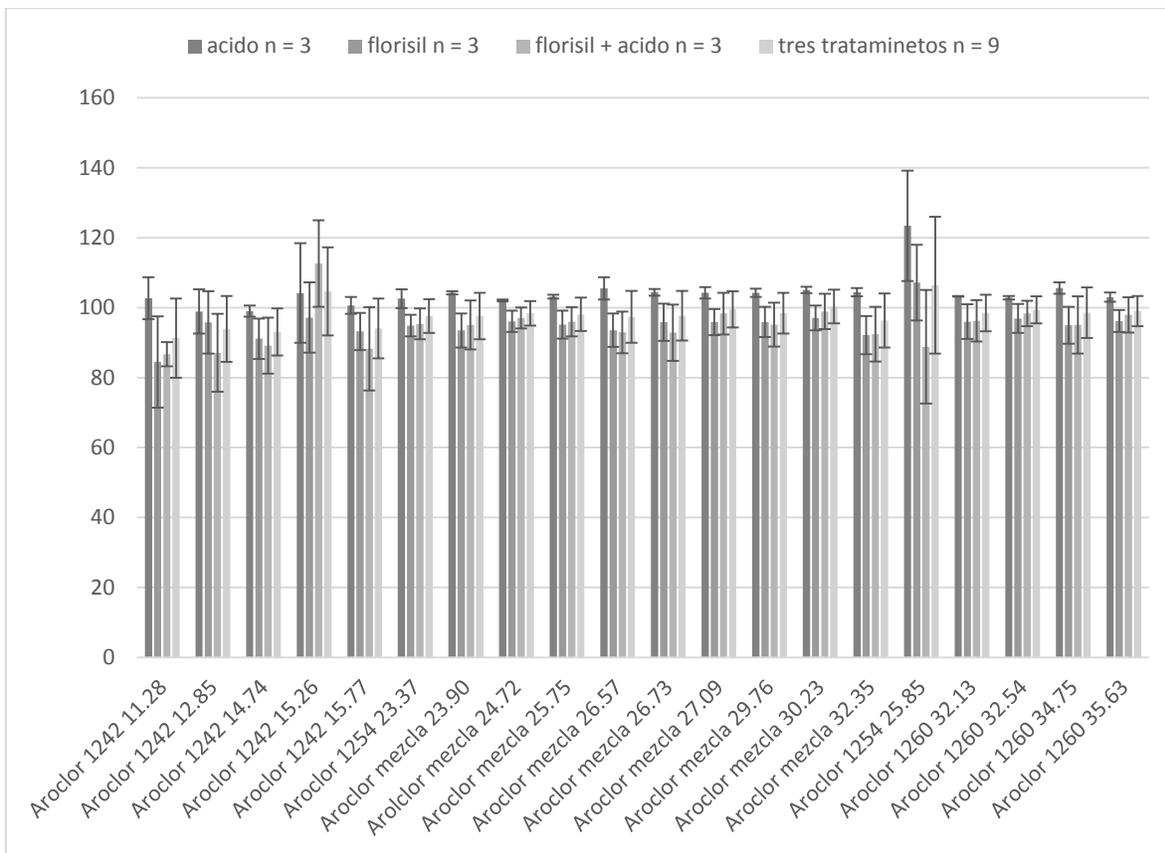


Figura 32. Recuperación de los BPCs en los Aroclor 1242, 1254, 1260 y en su mezcla a 50 g Kg<sup>-1</sup>. Cálculo considerando la curva de calibración instrumental y la supresión de iones.

La figura 33 y tabla XI ilustran los porcentajes de los tres Aroclor tomando en cuenta las curvas de calibración y la supresión de iones. Los valores son promedios de las eficiencias obtenidas para cada BPC en su Aroclor correspondiente.

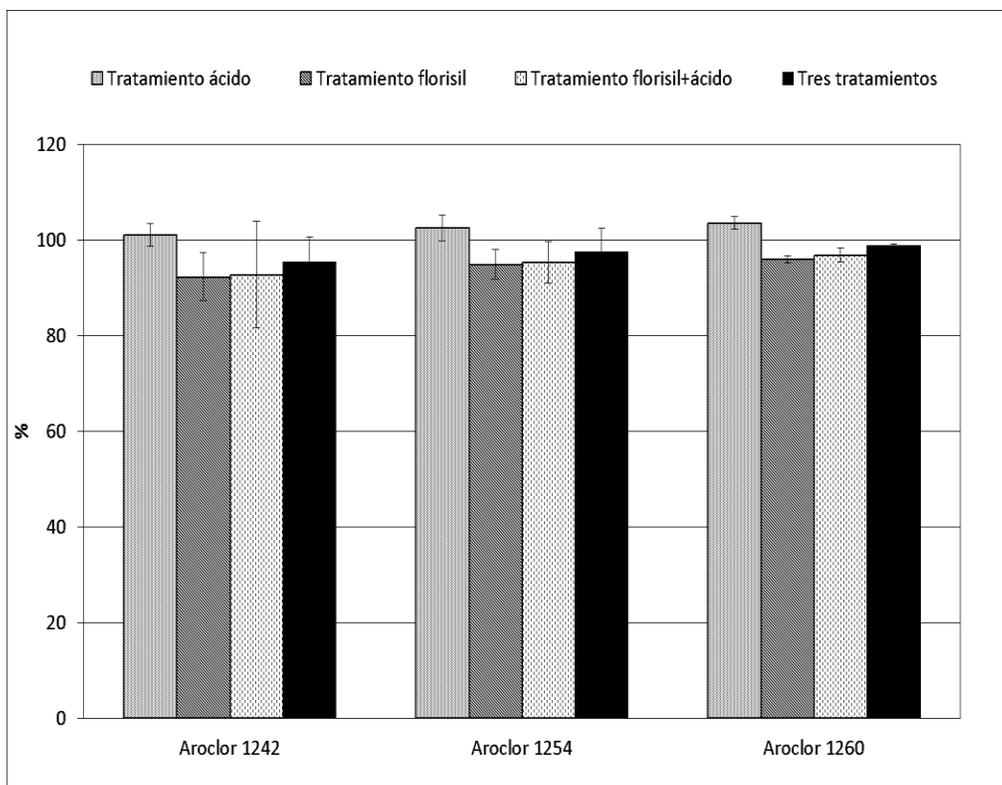


Figura 33. Porcentajes de recuperación de los BPCs adicionados sobre aceite de transformador a  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  y tratados con ácido, florisil y ácido+florisil, considerando la curva de calibración instrumental y la corrección por la supresión iónica.

Tabla XI. Promedios, desviaciones estándar (DE) y coeficientes de variación (CV) de los porcentajes de recuperación de los BPCs adicionados sobre aceite de transformador a  $50 \mu\text{g g}^{-1}$  y tratados con ácido, florisil y ácido+florisil.

a) Acido			
	Promedio, %	DE, %	CV, %
Aroclor 1242	101.1	2.3	2.3
Aroclor 1254	102.6	2.7	2.6
Aroclor 1260	103.7	1.3	1.3

b) Florisil		
Promedio, %	DE, %	CV, %
92.4	5.0	5.4
94.9	3.1	3.3
96.0	0.8	0.8

c) Florisil+ácido			
	Promedio, %	DE, %	CV, %
Aroclor 1242	92.7	11.1	12.0
Aroclor 1254	95.4	4.4	4.6
Aroclor 1260	96.9	1.5	1.6

d) Tres tratamientos		
Promedio, %	DE, %	CV, %
95.4	5.3	5.5
97.6	4.8	4.9
98.9	0.4	0.4

Aunque las recuperaciones de los bifenilos empleando la disolución de referencia fortificada fueron similares entre los tres tratamientos (inciso d, tabla XI), la recuperación con el tratamiento de ácido (inciso a, tabla XI) fue ligeramente superior y más precisa que los otros dos tratamientos. De esta forma, los materiales de referencia certificados y las muestras reales se trataron únicamente con ácido.

### 7.3.1. Exactitud y eficiencia

La exactitud es uno de los parámetros más importantes para determinar el sesgo que existe entre el valor verdadero y el medido por el método analítico. Este valor se utiliza también como una variable de eficiencia. La figura 34 muestra a dicho parámetro en términos del sesgo. Es evidente que la metodología descrita en esta tesis ofrece mayor exactitud para determinar Aroclor 1242,  $-10.1 \pm 1.4$  %; seguido del 1260,  $-12.5 \pm 0.9$  %. Sin embargo presenta problemas para determinar al 1254,  $27.2 \pm 0.4$  %, probablemente porque existe menor número de señales separadas de los otros Aroclor. Una solución podría ser el empleo de otro tipo de fase estacionaria en la columna cromatográfica, o bien la separación por cromatografía de gases bidimensional (Amador-Muñoz *et al.* 2008 a, b)

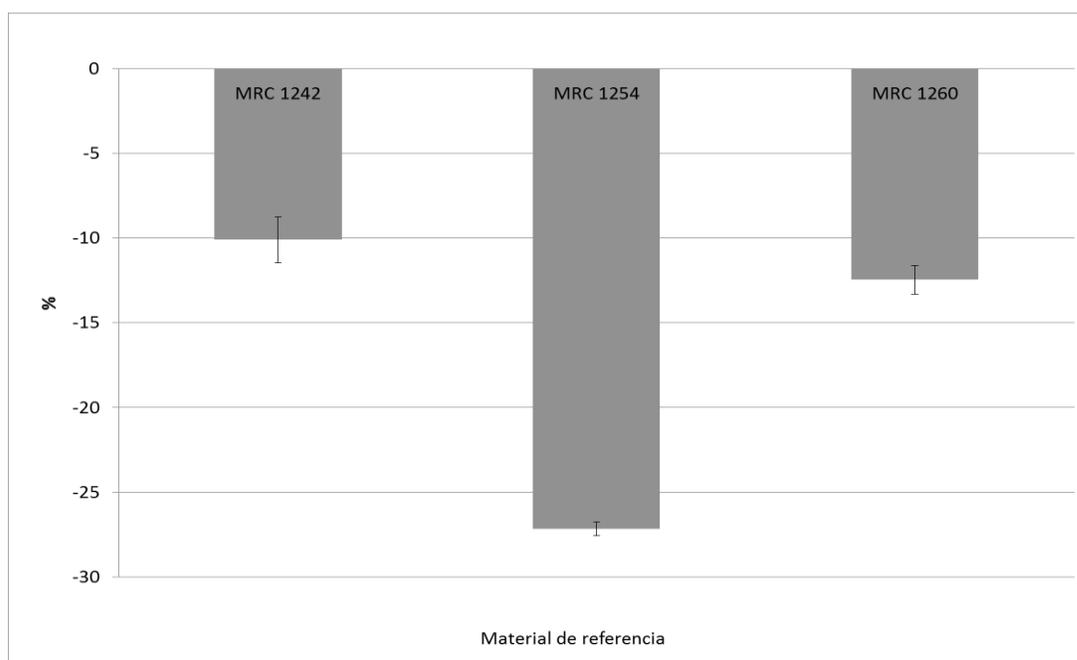


Figura 34. Exactitud en términos del sesgo entre el valor observado y el certificado para los Aroclor 1242 (N=20), 1254 (N=4) y 1260 (N=16).

La figura 35 y tabla XII ilustran la eficiencia del método analítico en términos de los porcentajes de recuperación para los materiales de referencia Aroclor 1242, 1254 y 1260. El Aroclor 1242 mostró en el análisis las mayores recuperaciones con  $89.9 \pm 12.1$  %, seguido del Aroclor 1260 con  $87.5 \pm 6.1$  % y por último el Aroclor 1254 con los menores recobros  $72.8 \pm 1.1$  %. Estos valores se emplearon para ajustar las concentraciones de los BPCs en las muestras reales, debido a que sus concentraciones se calcularon empleando las curvas de calibración instrumental.

Tabla XII. Promedios, desviaciones estándar (DE) y coeficientes de variación (CV) de los porcentajes de recuperación del Aroclor 1242 (N=20), 1254 (N=4) y 1260 (N=16), en el material de referencia certificado.

<b>Material de referencia certificado</b>	<b>Promedio %</b>	<b>DE %</b>	<b>CV %</b>
<b>1242</b>	89.9	12.1	13.5
<b>1254</b>	72.8	1.1	1.5
<b>1260</b>	87.5	6.1	7.0

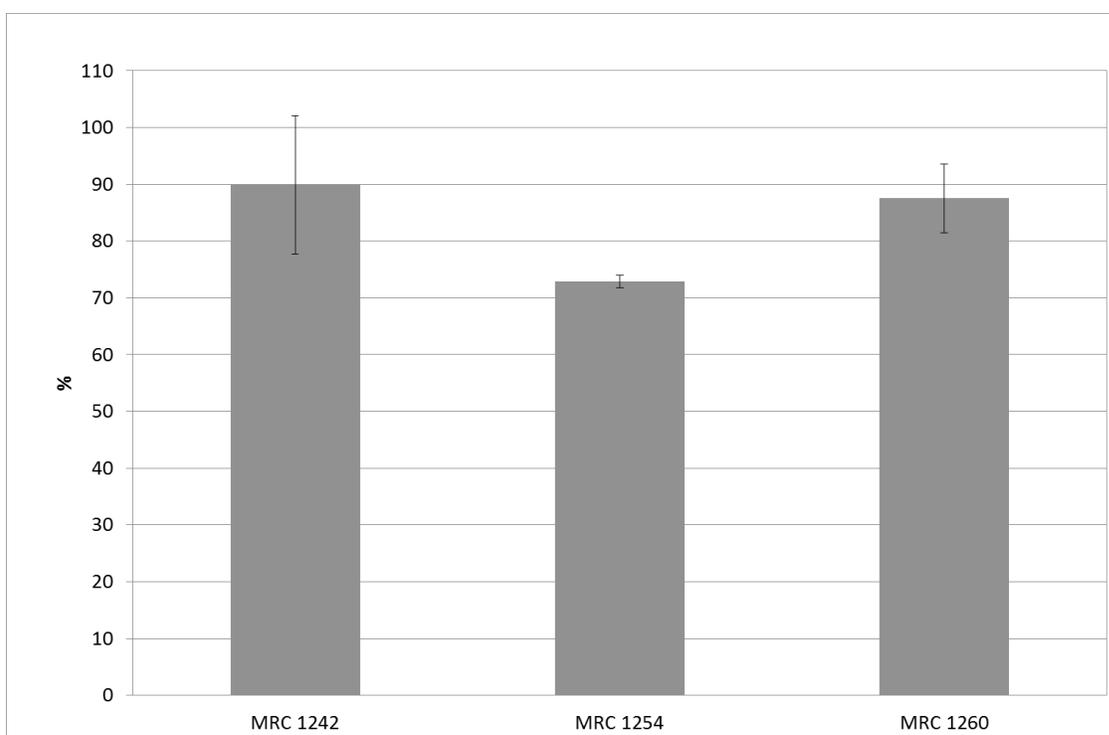


Figura 35. Eficiencia del método analítico en términos de los porcentajes de recuperación del Aroclor 1242 (N=20), 1254 (N=4) y 1260 (N=16), en el material de referencia certificado.

### 7.3.2. Límites de detección y cuantificación del método

Con los porcentajes de recuperación promedio, se calcularon los límites de detección y de cuantificación ponderados del método para cada Aroclor (Tabla XIII).

Tabla XIII. Límites de detección y de cuantificación de los Aroclor 1242,1254 y 1260 (N=16).

#	Aroclor	Límites de detección, $\mu\text{g Kg}^{-1}$	Límites de cuantificación, $\mu\text{g Kg}^{-1}$
1	Aroclor 1242	229	759
2	Aroclor 1254	295	651
3	Aroclor 1260	117	693
4	Aroclor mezcla	339	583

### 7.4. Determinación de BPCs en las muestras de aceites de transformador

Como se ha mencionado, el Programa de las Naciones Unidas, proporcionó cuatro aceites de transformador para la determinación del tipo y de la cantidad de BPCs. Para preservar la confidencialidad de las muestras, los nombres originales se renombraron como MP1, MP2, MP3 y MP4. La figura 36 describe el tipo de BPC encontrado, lo que permitió caracterizar al Aroclor. Los valores se reportan en  $\text{mg Kg}^{-1}$ .

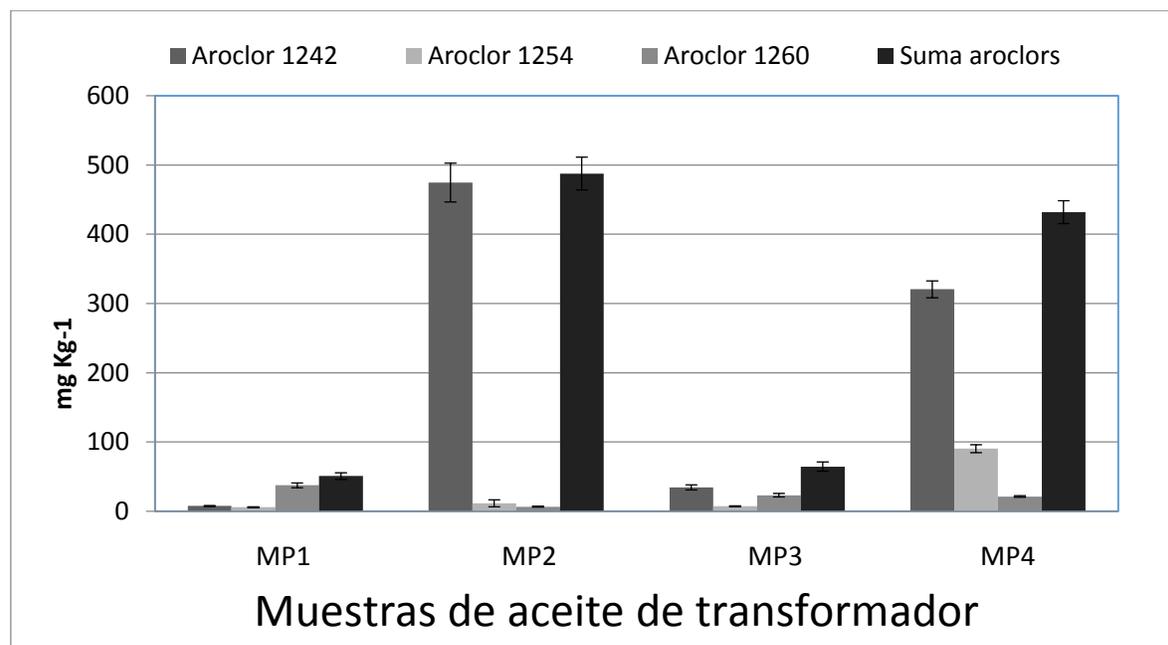


Figura 36. Bifenilos policlorados encontrados en las muestras de aceite de transformador proporcionadas por el PNUD.

Las muestras MP2 y MP4 mostraron 9.8 y 8.6 veces mayor cantidad de la mezcla de Aroclor que los 50 mg Kg<sup>-1</sup> establecidos como máximo permitido por la NOM-133-ECOL-2000. El Aroclor 1242 contribuyó con el 97 % y el 74 % del total de Aroclor hallado, respectivamente. La muestra MP1 mostró similar cantidad de Aroclor que el límite permitido, con mayor proporción del Aroclor 1260 (74 %). Por último, la muestra MP3 fue 1.3 veces superior al límite, con 53 % del total debido al Aroclor 1242.

Tabla XIV. Promedios, desviaciones estándar (DE) y coeficientes de variación (CV) de los bifenilos policlorados en aceites de transformador.

<b>Muestra</b>	<b>Aroclor 1242 mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>DE mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>CV, %</b>	<b>Aroclor 1254 mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>DE mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>CV, %</b>
<b>MP1</b>	8	1	11.1	6	1	11.3
<b>MP2</b>	475	28	5.9	11	5	44.1
<b>MP3</b>	34	4	10.6	7	0	6.9
<b>MP4</b>	321	12	3.8	90	6	6.5

<b>Muestra</b>	<b>Aroclor 1260 mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>DE mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>CV, %</b>	<b>Suma Aroclor mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>DE mg Kg<sup>-1</sup></b>	<b>CV, %</b>
<b>MP1</b>	37	4	9.5	51	5	9.8
<b>MP2</b>	6	1	8.3	488	24	4.8
<b>MP3</b>	23	2	10.7	64	7	10.2
<b>MP4</b>	21	1	5.5	432	16	3.8

## **8. CONCLUSIONES**

### **8.1. General**

Se encontraron BPCs en las cuatro muestras enviadas por el PNUD. Todas rebasaron la NOM-133-ECOL-2000. En tres de ellas, el Aroclor 1242 fue el más abundante. En la cuarta fue el Aroclor 1260.

### **8.2. Particulares**

- 8.2.1. Los porcentajes de recuperación de los BPCs entre los tres tratamientos (ácido, florisil y ácido + florisil) aplicados a la disolución de referencia fortificada no mostraron diferencia significativa siendo similares entre si. Oscilaron entre  $88 \pm 3 \%$  y  $112 \pm 11 \%$ . Sin embargo, el tratamiento con ácido proporcionó recobros ligeramente mayores y menores variaciones.
- 8.2.2. Los BPCs seleccionados mostraron coeficientes de determinación mayores a 0.99 en el intervalo 012 y 2.4 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ . Los límites de detección en los Aroclor puros oscilaron entre 2 y 23 pg  $\mu\text{L}^{-1}$ , mientras que los de cuantificación entre 7 y 75 pg  $\mu\text{L}^{-1}$ .
- 8.2.3. El análisis por CG-EM-IQP/SCAN mostró que el tratamiento indicado en la ASTM no depura a los BPCs de los hidrocarburos en el aceite mineral. Sin embargo, el empleo de la CG-EM-IQN/MIS fue completamente selectiva para su análisis y es necesaria para su determinación, en caso de que se desee utilizar espectrometría de masas para su análisis.
- 8.2.4. El método analítico fue eficiente para recuperar el  $89.9 \pm 12.1 \%$  de BPCs del Aroclor 1242, el  $87.5 \pm 6.1 \%$  de aquellos en el Aroclor 1260 y sólo del  $72.8 \pm 1.1 \%$  en el Aroclor 1254.
- 8.2.5. La exactitud del método en términos del sesgo fue  $-10.1 \pm 1.4 \%$  para el Aroclor 1242, del  $-12.5 \pm 0.9 \%$  para el Aroclor 1260 y del  $-27.2 \pm 0.4 \%$  para el Aroclor 1254.
- 8.2.6. La reproducibilidad del método en términos de sus coeficientes de variación osciló entre el 0.4 y el 12 %.

- 8.2.7. Los límites de detección para el Aroclor 1242, 1254 y 1260 fueron 229, 295 y 117  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ , mientras que los de cuantificación fueron 759, 651 y 693  $\mu\text{g Kg}^{-1}$ .
- 8.2.8. Se optimizó el método de la ASTM 04959-00 (2010). La metodología mencionada en el tratamiento de las disoluciones y en la evaluación de los métodos de limpieza (mediante la estimación de la exactitud y eficiencia del método en los análisis cualitativos y cuantitativos), desarrollada en el laboratorio demostró ser sensible y selectiva para la detección de BPCs en aceite de transformador utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en ionización química negativa (CG-EM-IQN/MIS).

## **9. CONSIDERACIONES**

- 9.1. La complejidad de la matriz provocó la supresión de los iones de los BPCs entre 5 y 25 %. Este parámetro debe considerarse cuando se requiera su análisis en aceite mineral por CG-EM-IQN/MIS.
- 9.2. El sesgo sugiere mayor optimización del método. Algunas alternativas podrían ser mejorar la purificación de los extractos combinando diferentes fases estacionarias en cromatografía de líquidos, o bien por cromatografía de gases bidimensional captura de electrones/espectrometría de masas.

## 10. REFERENCIAS

---

Abramowicz D. A. y Olson D.R. (1995). Accelerated biodegradation of PCBs. *Chemtech* 25, 36-41.

---

Abramowicz D. A., Gujer W., y Zehnder A. J. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science Technology* 15, 49-77.

---

Abramowicz D. A., Ahmed. (2001). Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trends in Analytical Chemistry* 649–661.

---

Abramowicz D. A., Banerjee S., Yalkowsky S. H., y Valvani S. C. (1980). Biodegradation of PCBs. *Environmental Science Technology* 14, 1227

---

Abramowicz D. A., M. Berkaw, K. R. Sowers, y H. D. May. (1996). Anaerobic ortho dechlorination of polychlorinated biphenyls by estuarine sediments from Baltimore Harbor. *Appl. Environmental Microbiology* 62, 2534-2539.

---

Abramowicz D. A. y Bidleman T. F. (1983). Biodegradation of PCBs. *Analytical Chemistry*. 56, 2490

---

Amador-Muñoz (2008). Quantification in comprehensive two dimensional gas chromatography and a model of quantification based on selected summed modulated peaks. *Journal of Chromatography* 1184, 323-340.

---

Amador-Muñoz (2008). Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons based on comprehensive two dimensional gas chromatography isotope dilution mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1201, 161-168.

---

Annesley T. M. (2003). "Ion Suppression in Mass Spectrometry". *Clinical Chemistry* 49 (7), 1041–1044.

---

Burkhard L.P., Andren A. W. y Armstrong A. D. (1985). *Environmental Science Technology* 19, 590-598.

---

Buhler F, Schmidt P. y Schlatter CH. (1988). Kinetics of PCB elimination in man. *Chemosphere* 17, 1717-1726.

---

Chen R. y Pignatello J. (1997). Role of quinone intermediates as electron shuttles in Fenton and photo assisted Fenton oxidations of aromatic compounds. *Environmental Science Technology* 31, 2399-2406

---

Crine J. P. (1988). Hazards, decontamination, and replacement of PCB. A comprehensive guide. *Environmental Science Research*. 37. 20-34.

---

Departamento de Salud y Servicios Humanos (Fecha de consulta: 10 Julio 2014)  
<http://www.usa.gov/gobiernousa/directorios/federal/departamento-salud-servicios-humanos-hhs.shtml>

---

---

Dewailly E., Ayotte P., Bruneau S., et al. (2000). Susceptibility to infections and immune status in Inuit infants exposed to organochlorines. *Environ Health Perspect* 108, 205-211.

---

Diagne R. G., Foster G. D., y Khan S. U. (2002). Comparison of Soxhlet and Microwave-Assisted Extractions for the Determination of Fenitrothion Residues in Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3204–3207.

---

Doyle (2004). Trespass against us: down chemical & the toxic Century, Canada. (Fecha de consulta: 05 de Julio 2014) <http://trespassagainstus.com>

---

Durfee. (1976). Production and usage of PCB's in the United States. In: *Proceedings of the National Conference on Polychlorinated Biphenyls*, EPA-560/6 75-107.

---

Emmett E., Maroni M., Schmith J.M., et al. (1988). Studies of transformer repair workers exposed to PCBs: I. Study design, PCB concentrations, questionnaire, and clinical examination results. *American Journal of Industrial Medicine* 13, 415-427.

---

EPA (1977). U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR 129.105

---

EPA (1976). PCBs in the United States: Industrial use and environmental distribution Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances. NTIS PB252012.

---

EPA (1979a). U.S. Environmental Protection Agency. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in manufacturing, processing, distribution in commerce, and use prohibition; Final rule. *Federal Register* 40 CFR Part 761.

---

EPA (1979b). U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR 761.60-761.65. 1979g

---

EPA (1979c). U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR 761.20

---

EPA (1980). Ambient water quality criteria for polychlorinated biphenyls. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Criteria and Standards Division, Office of Water Regulations and Standards. EPA 440/5-80-068.

---

EPA (1988a). U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR Part 761.

---

EPA (1988b). U.S. Environmental Protection Agency. Code of Federal Regulations. 40 CFR 148.12

---

EPA (1995). Method 8082. Polychlorinated biphenyls (PCBs) by capillary column gas chromatography. U.S. Environmental Protection Agency.

---

EPA (1999). Method 1668, Revision A: Chlorinated biphenyl congeners in water, soil, sediment, and tissue by HRGC/HRMS. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. EPA-821-R-00-002.

---

---

Falandysz J., Wyrzykowska B., Warzocha J., Barska I., Garbacik-Wesolowska A., y Szefer P.. (2004). Organochlorine pesticides and PCBs in perch *Perca fluviatilis* from the Odra/Oder river estuary, Baltic Sea. *Food Chemistry* 87, 17–23

---

Fein G.C., Jacobson J.L., Jacobson S.W., et al. (1984a). Intrauterine exposure of humans to PCBs: Newborn effects. U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN. EPA 600/53-84-060. NTIS PB84, 188-887.

---

Fein G.G., Jacobson J.L., Jacobson S.W., et al. (1984b). Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: Effects on birth size and gestational age. *Journal Pediatric* 105, 315-320.

---

Ferry J.G. (1992). Biochemistry of methanogenesis. *Critical Review Biochememestry and Molecular Biology* 27, 473-503.

---

Gage J.C. y Holm S. (1976). The influence of molecular structure on the retention and excretion of polychlorinated biphenyls by the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology* 36, 555-560.

---

Hatton, Grayson M., y Eckroth D. (1990). Chlorinated biphenyls and related compounds, *Encyclopedia of chemical technology*, Vol. 5, 844-848.

---

Hernández López Alfonso Enrique (2011) Validación de un método analítico para la determinación de hidrocarburos aromáticos emitidas por la combustión de diésel y biodiesel por desorción térmica, Tesis de Licenciatura. Facultad de Química.

---

Hess P., de Bóer J. y Cofino W.P. (1995). Critical review of the analysis of non-and mono-orthochlorobiphenyls. *Journal Chromatography* 703, 417-465.

---

Hutzinger, Safe S., y Zitko V. (1983). *The chemistry of PCBs*. Robert E. Krieger Publishing Company.

---

IARC (2014). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. World Health Organization. 18, 374-435.

---

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (2002). Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis. *Pure and Applied Chemistry* 74(5) 835-855

---

Jakubowska N. y Polkowska Z. (2005). Analytical application and environmental liquid sample preparation. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 35 217–235.

---

Kataoka H. (2002). Automated sample preparation using in-tube solidphase microextraction and its application. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373(1-2), 31–45.

---

Kiguchi O. y Katsumi S. (2007). Simultaneous extraction of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls from

---

---

contaminated soil using pressurized liquid extraction. Akita research center for public health and environment. *Journal of chromatography* 1144, 262-268

---

Kimbrough R.D. y Doemland M.L. (1999a). Mortality in male and female capacitor workers exposed to polychlorinated biphenyls. *Journal of Occupational Environmental Medicine* 41(3), 161-171.

---

Kimbrough R.D. (1999b). Human health effect of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs). *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 27, 87-111.

---

Kimbrough R.D. (1995). Polychlorinated biphenyls (PCBs) and human health: An update. *Critical Reviews in Toxicology* 25, 133-166.

---

Langer P., Tajtakova M., Fodor G., et al. (1998). Increased thyroid volume and prevalence of thyroid Disorders in an area heavily polluted by polychlorinated biphenyls. *European Journal of Endocrinology* 139, 402-409.

---

Lebel G., Dodin S., Ayotte P., et al. (1998). Organochlorine exposure and the risk of endometriosis. *Fertil Steril* 69(2), 221-228.

---

Mason T., Collings A., y Sumel A., (2004). Sonic and ultrasonic removal of chemical contaminants from soil in the laboratory and on the large scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3-4), 205-210

---

Mendiola J., Herrero M., Cifuentes A., e Ibañez E. (2007). Use of compressed fluids for sample preparation: Food applications. *Journal of Chromatography* 1152, 234-246.

---

Miller J. N. y Miller J. C. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*, Segunda edición, 135-140.

---

Monsanto material safety data (1971). Polychlorinated biphenyls (PCBs). St. Louis, MO: Monsanto Company. Lot KI-02-6024

---

Mousa A., Quensen III J. F., Chou K., y Boyd S. A. (1996). Microbial dechlorination alleviates inhibitory effects of PCBs on mouse gamete fertilization in vitro. *Environmental Science Technology* 30, 2087-2092

---

Murphy. (1987). Equilibration of polychlorinated biphenyls and toxaphene with air and water. *Environmental Science Technology* 21, 155-162.

---

National Fire Protection Association (2010). Hazardous chemicals data 768.

---

Nies L., y Vogel T. M. (1990). Effects of organic substrates on dechlorination of Aroclor 1242 in anaerobic sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 2612-2617.

---

Organization Mundial de la Salud Environmental Health Criteria (1192). 140: Polychlorinated biphenyls and terphenyls. Second Edition. WHO, Geneva

---

Osha 190.34 (Fecha de consulta: 15 Julio 2014).

---

---

[https://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show\\_document?p\\_id=12716&p\\_table=standards](https://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_id=12716&p_table=standards)

---

Pérez I. (2008). Degradación fotoquímica de contaminantes emergentes mediante procesos solares. Evaluación analítica. Universidad de Almería, Departamento de Hidrogeología y Química Analítica. Andalucía España 20-158.

---

Reverchon E. y De Marco I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids* 38, 146–166.

---

Rice D. (1996). PCBs and behavioral impairment: Are there lessons we can learn from lead. *Neurotoxicology and Teratology* 18(3), 229-232.

---

Sabljić A. y Güsten H. (1989). Predicting Henry's law constants for polychlorinated biphenyls. *Chemosphere* 19, 1503-1511.

---

Safe H. (1994). Polychlorinated biphenyls (PCBs): Environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Critical Review of Toxicology* 24, 87-149.

---

Safe H. y Hutzinger O. (1987). Polychlorinated biphenyls (PCBs): mammalian and environmental toxicology. *Environmental Toxin Series 1*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany 50-65.

---

Santos Medina Graciela Lizatt (2012). Estandarización de un nuevo método de extracción a micro escala empleando una celda asistida por ultrasonido para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en partículas emitidas por combustión de diésel y biodiésel, Tesis de licenciatura. Facultad de Química.

---

Skoog D. (2001). Principios de análisis instrumental. 5a edición. 269-291, 537-577, 759-785.

---

Svensson B.G., Hallberg T., Nilsson A., et al. (1994). Parameters of immunological competence in subjects with high consumption of fish contaminated with persistent organochlorine compounds. *International Archives Occupational Environmental Health* 65(6), 51-358.

---

Tekel J., Hudecova T., y Pecnikova K. (2001). Isolation and purification techniques for pesticide residue analyses in samples of plant or animal origin. *European Food Research and Technology* 213(4-5), 250–258.

---

Toxicological profile for polychlorinated biphenyls EPA (2000).

---

Tryphonas H., McGuire P., Fernie S., et al. (1998). Effects of Great Lakes fish consumption on the immune system of Sprague-Dawley rats investigated during a two-generation reproductive study: I. Body and organ weights, food consumption, and hematological parameters. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 27, 28-39.

---

Waid J. S. (1986) PCBs and the environment Vol. II. 79-100

---

Westcott J.W. (1981) *Journal Chromatography*. 210, 331

---

---

Zwir-Ferenc A. y Biziuk M. (2004). An analysis of pesticides and polychlorinated biphenyls in biological samples and foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 34(2), 95–103.

Zwir-Ferenc A. y Biziuk M. (2004). Solid phase extraction technique –Trends, opportunities and applications. *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 677–690.

---

ANEXO I  
 "CURVAS DE CALIBRACIÓN"

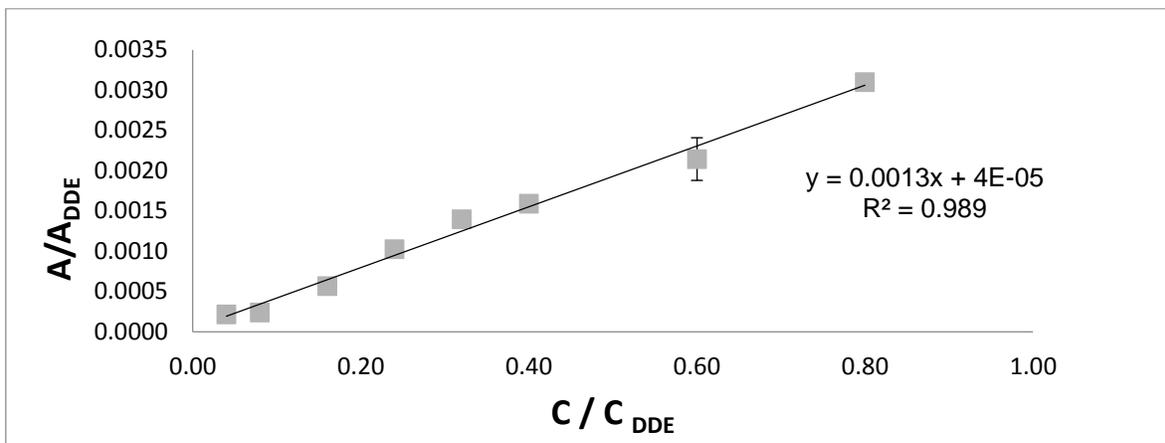


Figura 1a. Curva de calibración Aroclor 1242, 11.28 min

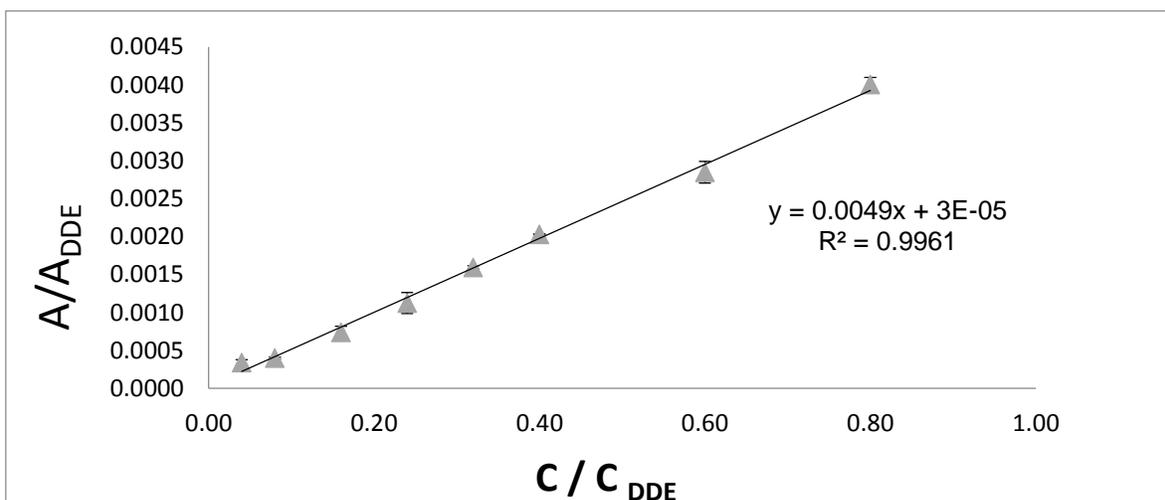


Figura 2a. Curva de calibración Aroclor 1242, 12.85 min

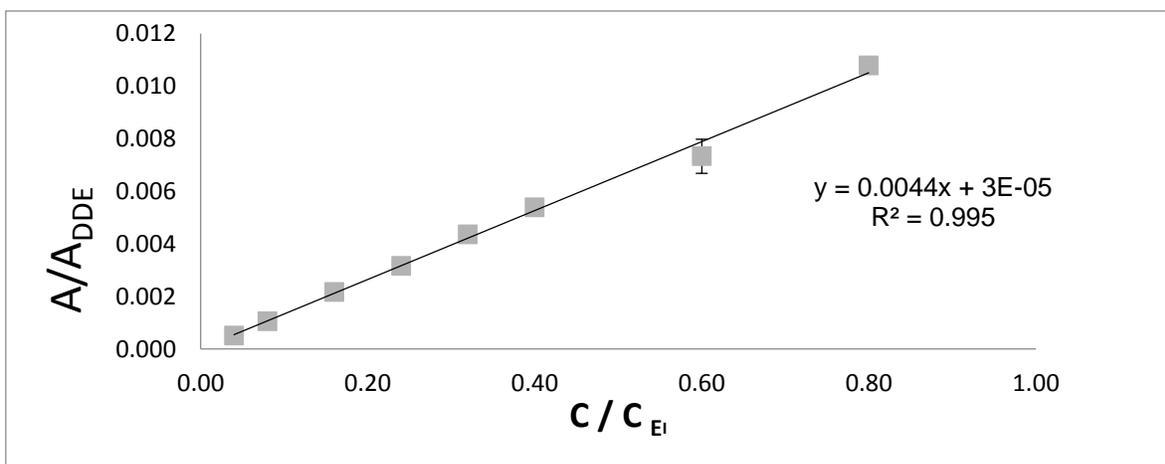


Figura 3a. Curva de calibración Aroclor 1242, 14.74 min

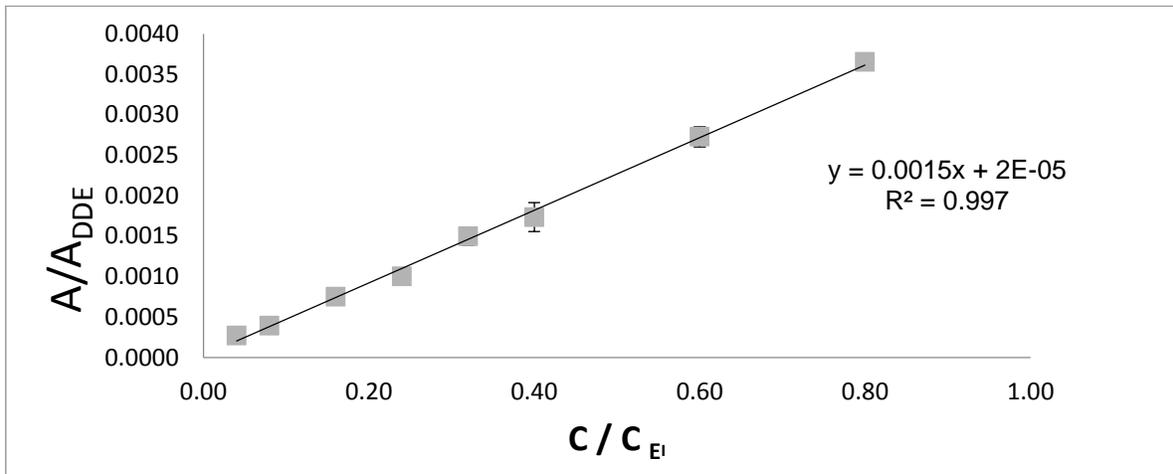


Figura 4a. Curva de calibración Aroclor 1242, 15.26 min

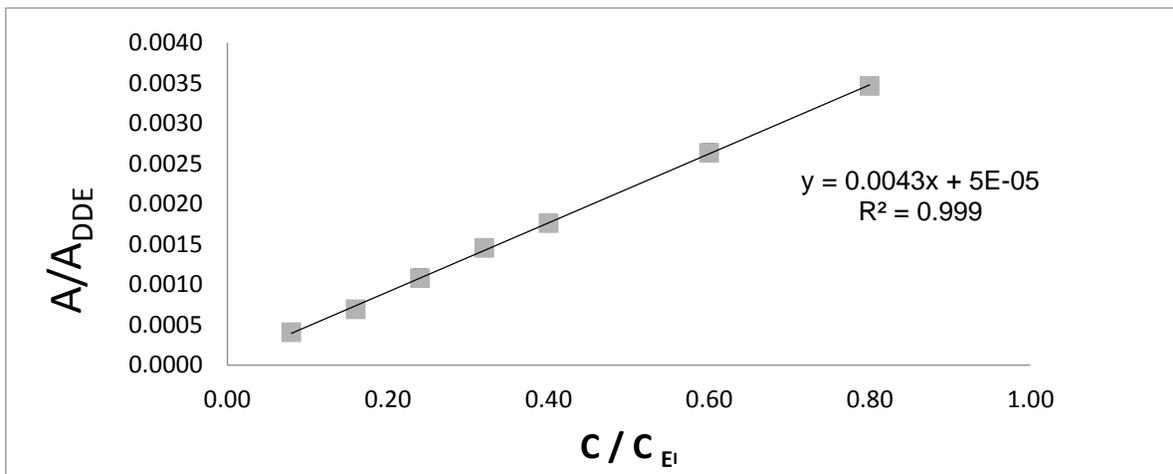


Figura 5a. Curva de calibración Aroclor 1242, 15.77 min

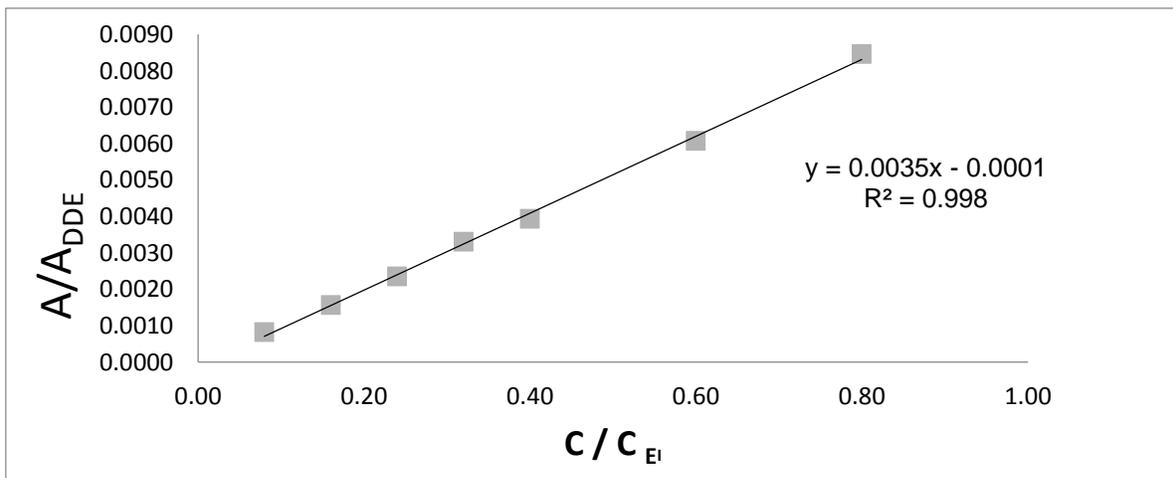


Figura 6a. Curva de calibración Aroclor 1254, 20.61 min

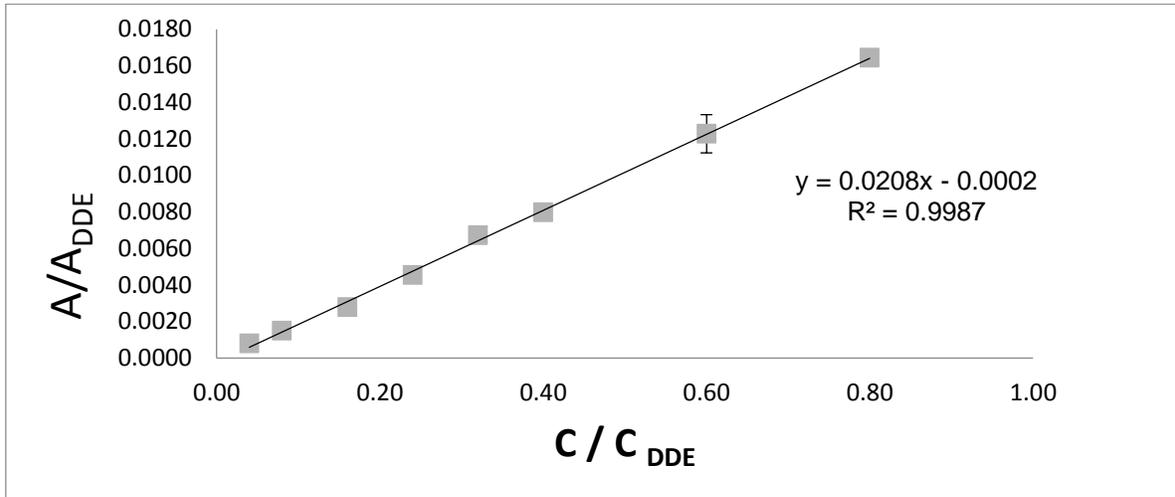


Figura 7a. Curva de calibración Aroclor 1254, 23.37 min

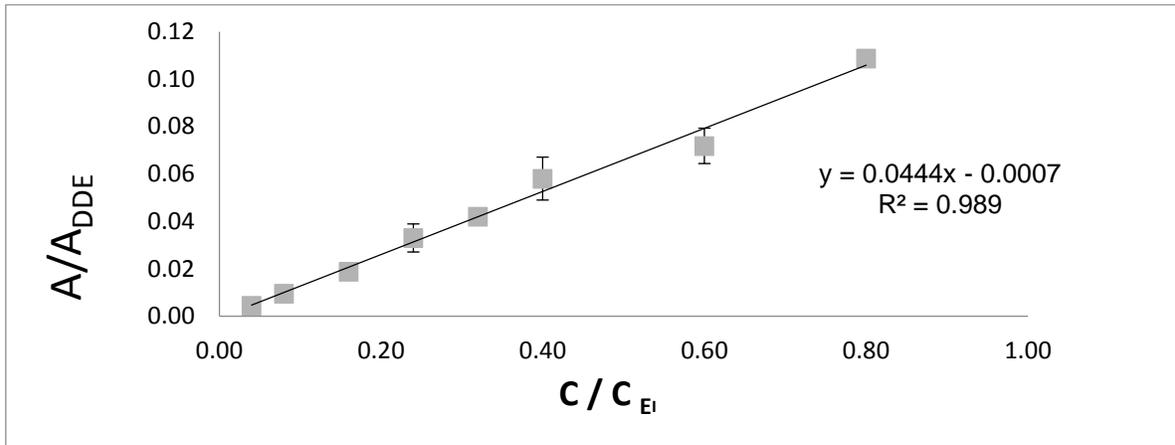


Figura 8a. Curva de calibración Aroclor 1254, 25.85 min

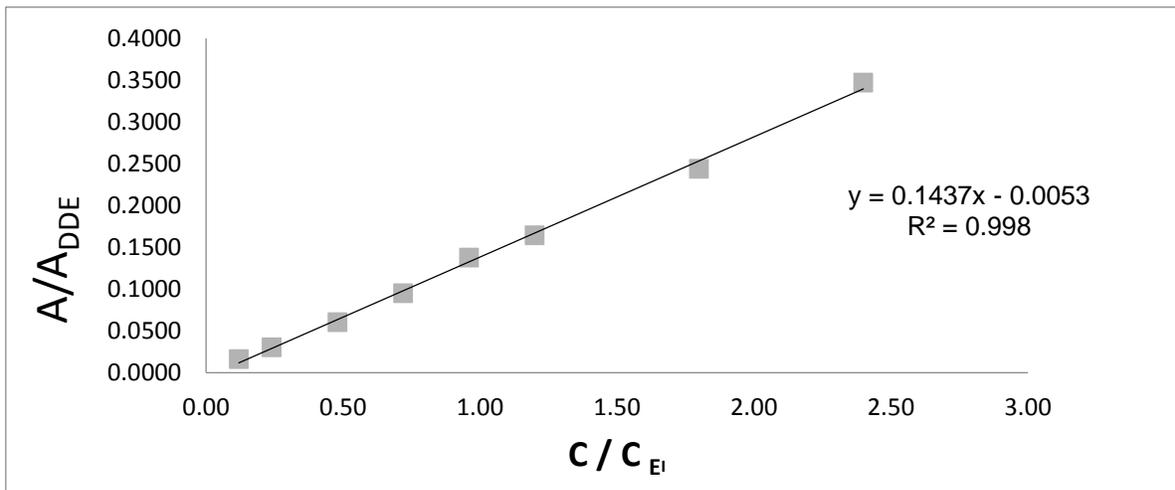


Figura 9a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 23.90 min

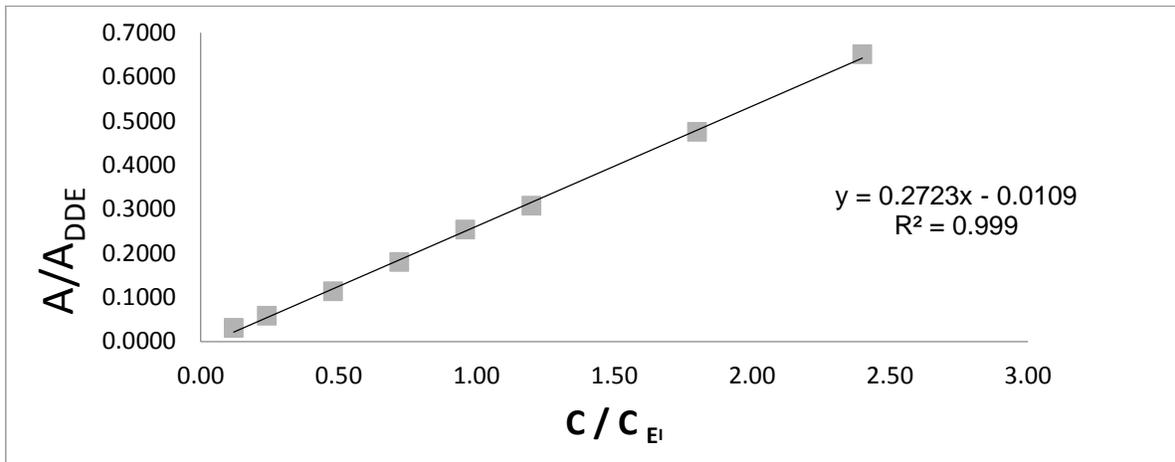


Figura 10a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 24.72 min

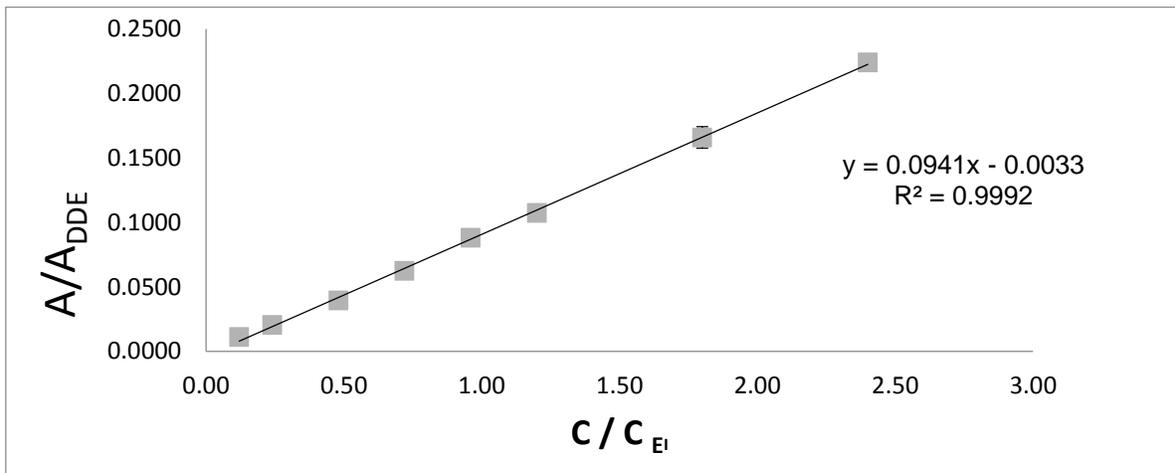


Figura 11a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 25.75 min

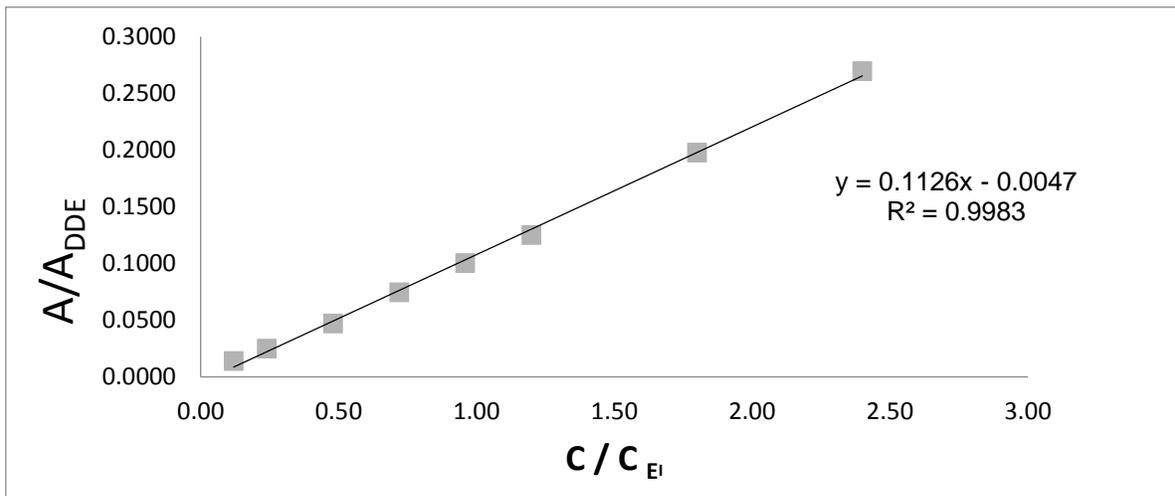


Figura 12a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 26.57 min

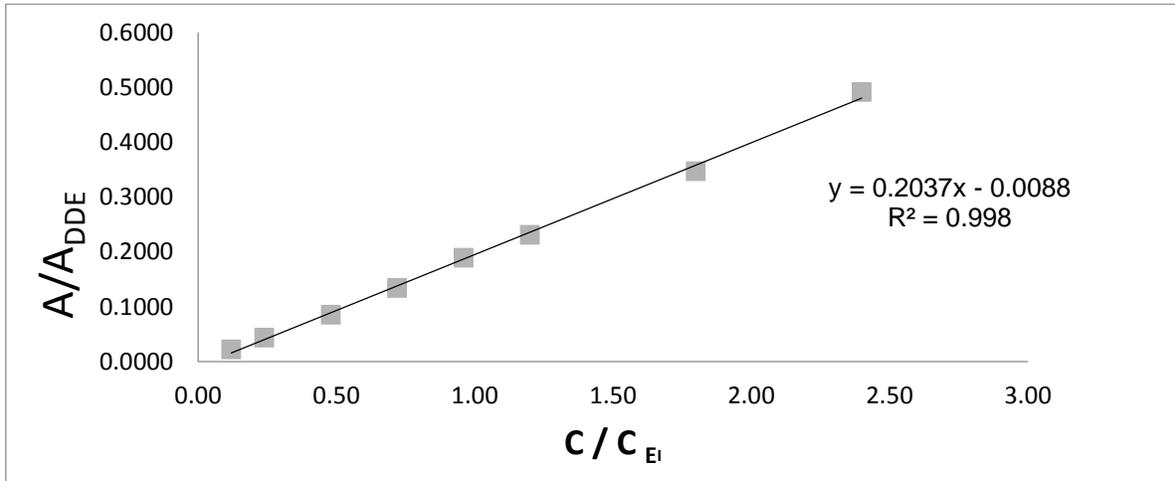


Figura 13a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 26.73 min

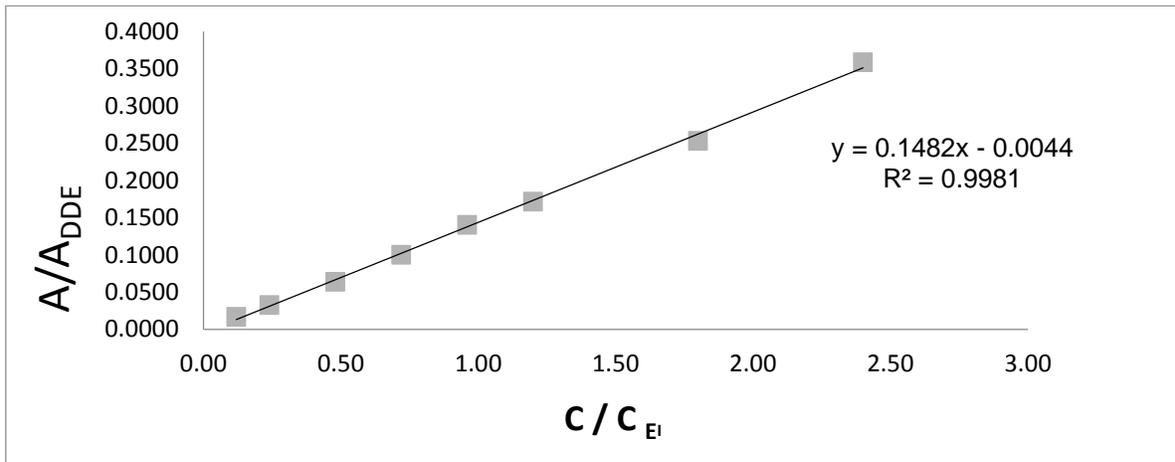


Figura 14a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 27.09 min

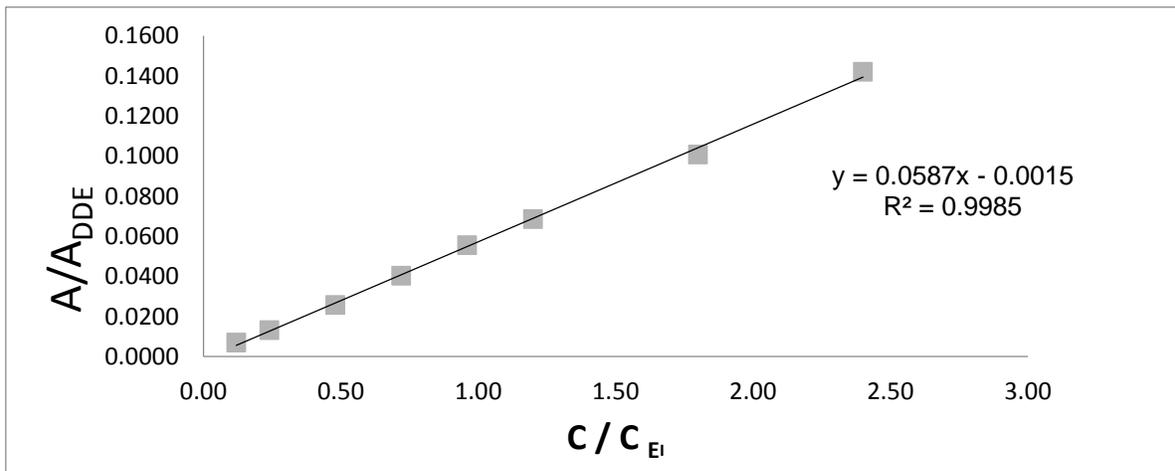


Figura 15a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 29.76 min

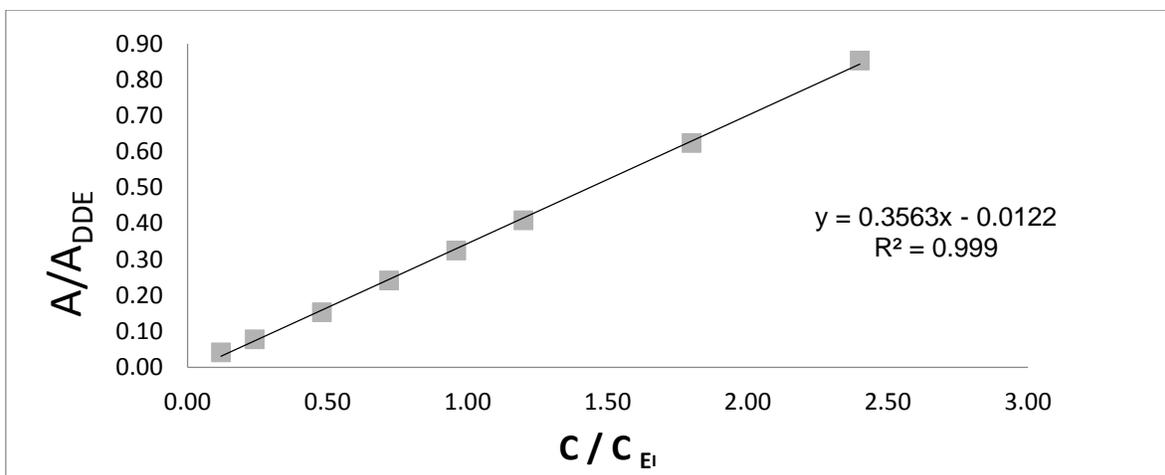


Figura 16a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 30.23 min

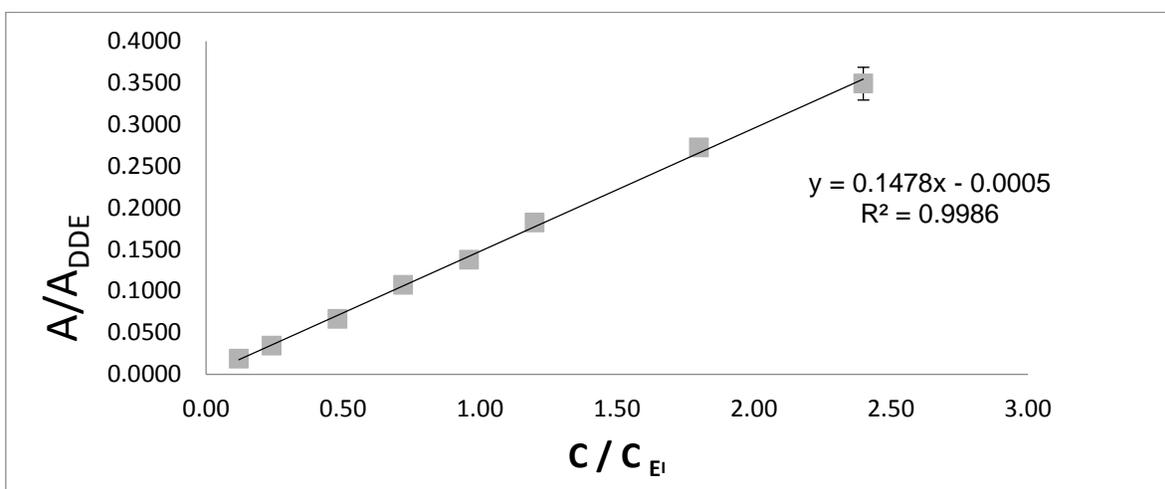


Figura 17a. Curva de calibración Mezcla de 3 Aroclor, 32.35 min

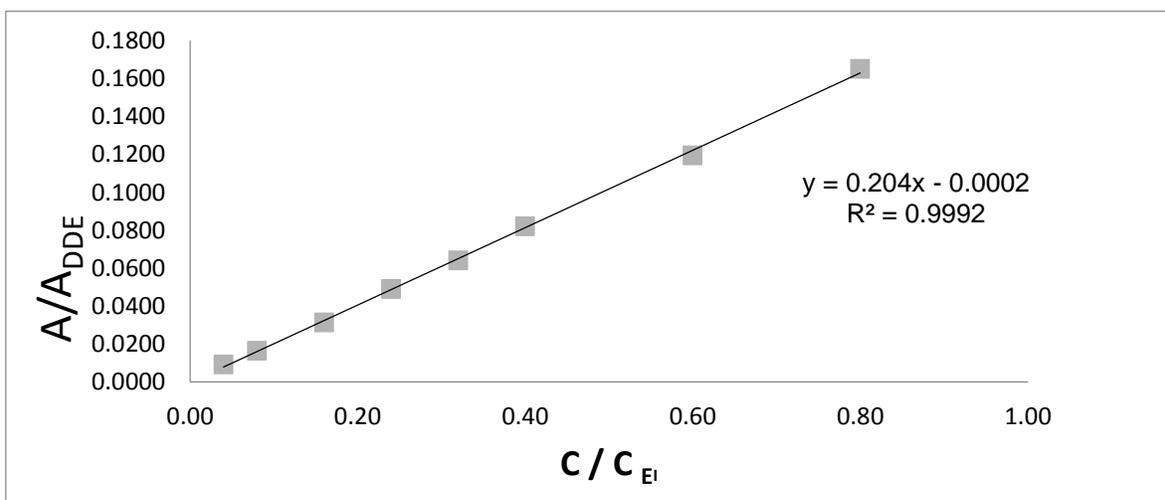


Figura 18a. Curva de calibración Aroclor 1260, 32.13 min

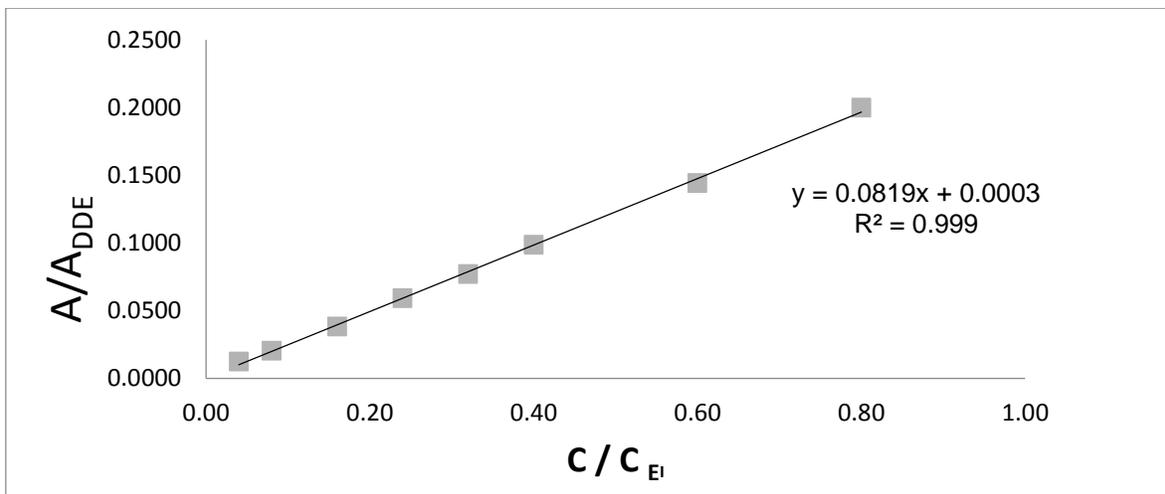


Figura 19a. Curva de calibración Aroclor 1260, 32.54 min

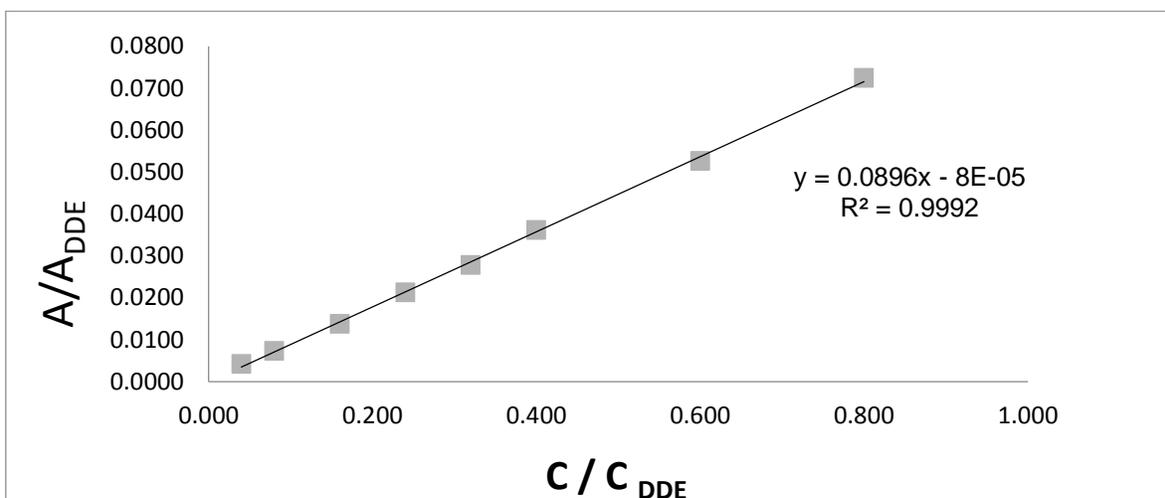


Figura 20a. Curva de calibración Aroclor 1260, 34.75 min

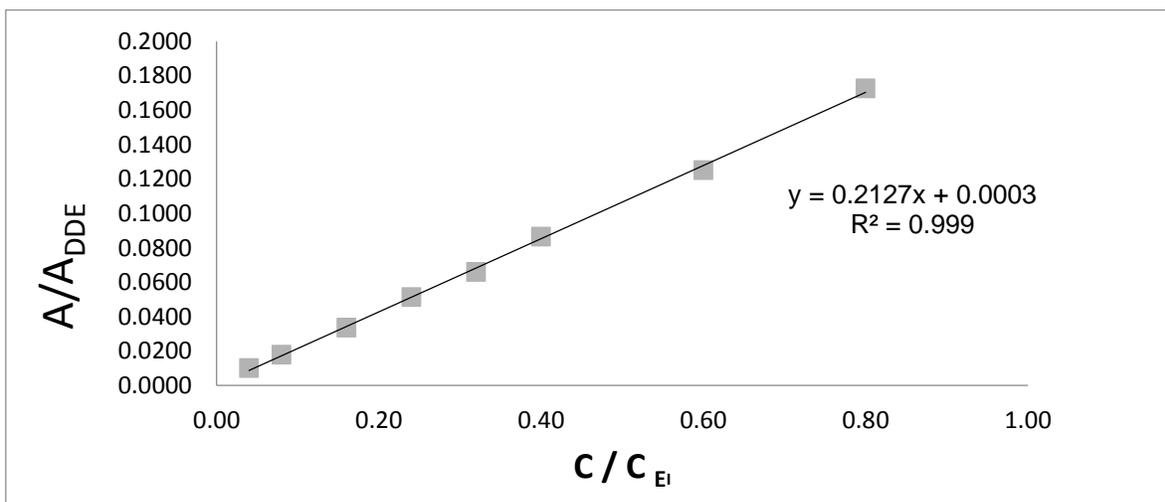


Figura 21a. Curva de calibración Aroclor 1260, 35.63 min