



UNIVERSIDAD CENTRAL "MARTA ABREU" DE LAS VILLAS

FACULTAD QUIMICA-FARMACIA
DEPARTAMENTO DE LICENCIATURA EN QUIMICA

Trabajo de Diploma

Validación parcial de un método por GC para la determinación de PCBs y su aplicación en el tratamiento de aceites de transformadores

Autor: Anileydi Páez López

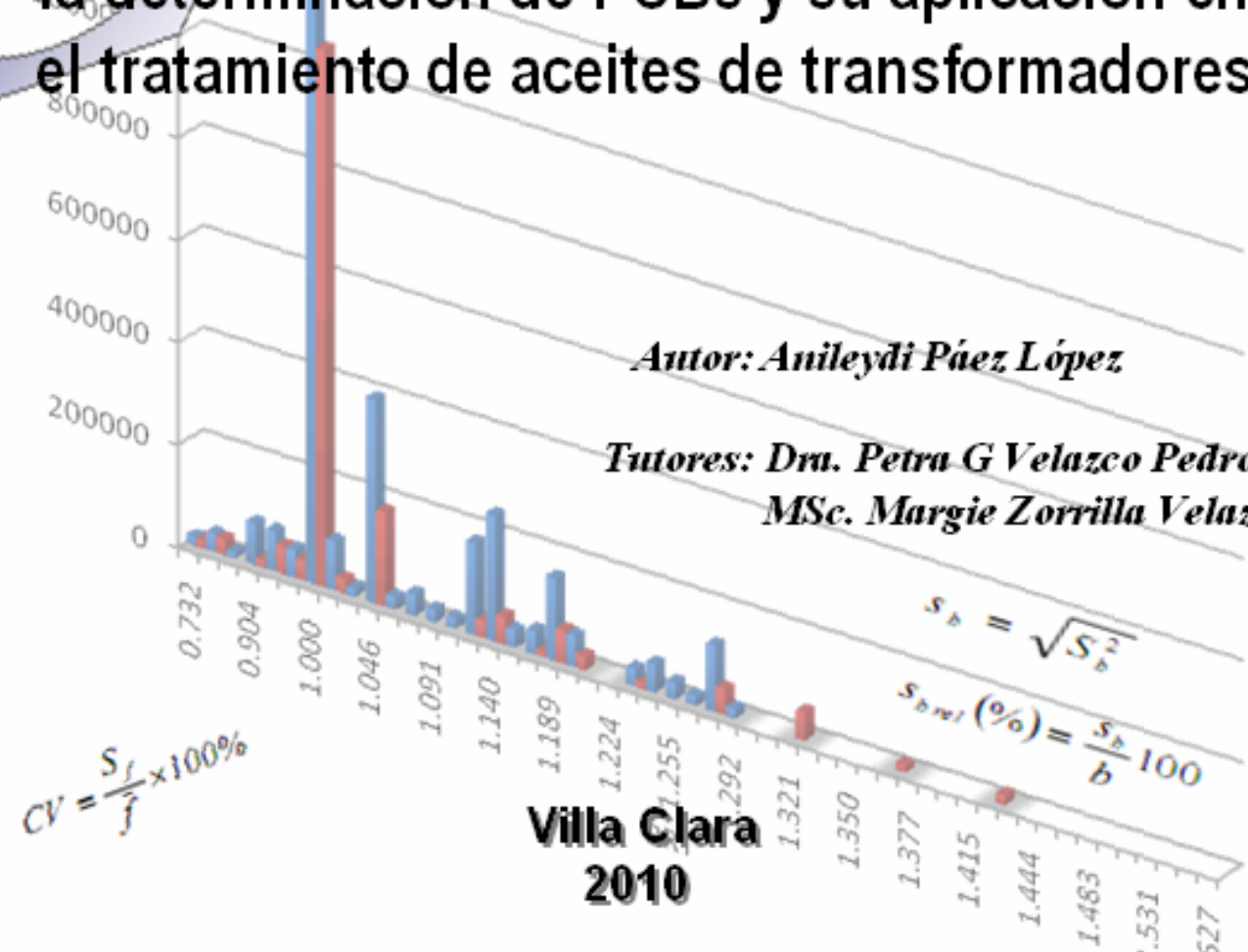
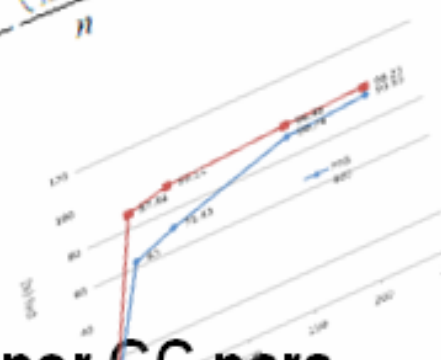
*Tutores: Dra. Petra G Velazco Pedroso
MSc. Margie Zorrilla Velazco*

$$CV = \frac{S_f}{\bar{f}} \times 100\%$$

Villa Clara
2010

$$s_b = \sqrt{S_b^2}$$

$$s_{b\text{rel}} (\%) = \frac{s_b}{b} 100$$



UNIVERSIDAD CENTRAL “MARTA ABREU” DE LAS VILLAS
FACULTAD QUIMICA-FARMACIA
DEPARTAMENTO DE LICENCIATURA EN QUIMICA

Validación parcial de un método por GC para la determinación de PCBs y su aplicación en el tratamiento de aceites de transformadores

Autor: Anileydi Páez López.

Tutores: Dra. Petra G Velazco Pedroso.

MSc. Margie Zorrilla Velazco.

**Villa Clara
2010.**

Pensamiento

“...El deterioro acelerado del medio ambiente, es hoy día el peligro a largo plazo más grave que enfrenta toda la especie humana en su conjunto, se trata de la peor amenaza que tiene planteada ante si la humanidad.”

Fidel

Dedicatoria

A mi Dios quien ha sido mi fortaleza y mi refugio en los momentos más oscuros.

A mi familia quien me ha dado todo el apoyo en estos años.

A mis abuelos quienes han representado los mejores recuerdos de mi niñez.

En especial a mis padres que desde pequeña con su esfuerzo y dedicación pusieron en mí todo su empeño..... gracias.

A todos ellos: gracias por todo lo que soy hoy.

Agradecimientos

A mis tíos por su apoyo a lo largo de mis años de estudiante.

A mis Tutoras; Petra y Margie por su ayuda incondicional.

A mi mejor amiga Yisel por tantos años que nos conocemos y me ha apoyado.

A muchos hermanos espirituales por sus indispensables plegarias.

A mi novio y amigo; Emilio y a su familia por todo el apoyo en esta dura etapa.

A mis amigas Mirtha y Elizabeth; gracias por el apoyo prestado.

A Edgar: gracias por tu ayuda, que Dios te bendiga por eso.

A mis compañeros de aula..... y para aquellos que ya no están.

Resumen

Se realiza la validación de un método analítico por Cromatografía Gaseosa con detector de ionización de llama (FID) para determinación de los bifenilos policlorados (PCBs) presentes en aceites de transformadores. La calibración se realizó utilizando el patrón comercial Aroclor 1254 y un estándar interno (2,2',5,5'-tetraclorobifenilo). El método presenta buena linealidad en un rango amplio de concentración, buena precisión evaluados a través de repetibilidad en la inyección y reproducibilidad intermedia. Los valores del límite de detección y cuantificación encontrado se encuentran por debajo de las concentraciones permitidas para este tipo de compuesto.

Se aplica dicho método cromatográfico en la optimización de las condiciones del proceso de tratamiento de los PCBs en aceites de transformadores, utilizando diseño de experimentos y la estadística matemática.

Abstract

The validation method for the determination of PCBs was developed, in gas chromatography (GC) with detection by FID. The calibration was carried out with Aroclor 1254 and an internal standard (2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl). The method presents good linearity in a wide range of concentration, good precision evaluated through repetition in the injection and intermediate reproducibility. The values of the detection and quantification limits are good and below the concentrations allowed for this type of compound. This method is applied in the control and optimization of the treatment method for the elimination and removal of the same ones in oils of transformers, using design of experiments and the mathematical statistic.

Tabla de Contenido

Pensamiento.....	i
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Resumen.....	iv
Introducción	1
Capítulo I. Revisión Bibliográfica	4
1.1. ¿Qué son los Contaminantes Orgánicos Persistentes?	4
1.2. ¿Qué son los bifenilos policlorados (PCBs)?	4
1.3. Propiedades físico-químicas de los PCBs	5
1.3.1. Datos físico-químicos	6
1.4. Clasificación de los PCBs por concentraciones.....	6
1.5. Efectos biológicos	7
1.6. Comportamiento medioambiental	8
1.7. Propiedades toxicológicas.....	9
1.8. Legislación internacional y nacional sobre PCBs	10
1.9. Situación actual de los PCBs	11
1.9.1. A nivel mundial.....	11
1.9.2. En el país.....	12
1.9.3. En la provincia de Villa Clara	13
1.10. Análisis de PCBs	14
1.11. Métodos de tratamiento para los PCBs	16
1.11.1. Incineración.....	17
1.11.2 Tratamientos químicos.....	17
1.11.3 Métodos con energía radiante.....	21
1.11.4. Métodos biológicos	21
1.12. Métodos de determinación de PCBs	23
Capítulo II. Validación de métodos analíticos	26
2.1. Características del método.....	26
2.2. Criterios fundamentales de validación.....	26
2.2.1. Linealidad	26
2.2.2. Precisión.	30
2.2.3. Exactitud.....	32
2.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación	34
2.2.5. Robustez	37
2.2.6. Selectividad y especificidad.....	37
Capítulo III. Materiales y métodos	38
3.1. Muestreo de PCBs.....	38
3.2. Validación del método.....	38
3.2.1. Protocolo de validación.....	38
3.2.2. Control de la calidad.....	40

3.3. Tratamiento de PCBs presentes en aceites de transformador Sovtol por un método de declorinación utilizando KPEG	44
3.3.1. Reactivos y disoluciones.....	45
3.3.2. Equipos y cristalería utilizados	45
3.3.3. Cálculo del % de eficiencia en la remoción destrucción (DRE).....	45
3.3.4. Aplicación de diseño de experimentos en el tratamiento de PCBs	46
Capítulo IV. Resultados y discusión.....	48
Conclusiones.....	63
Recomendaciones	64
Referencias bibliográficas.....	65

Introducción

La agresión medioambiental en el mundo existe por diversas causas, experimentando cada vez más un mayor deterioro debido al uso indiscriminado de los recursos naturales y en especial los no renovables y contaminantes, así como por la insuficiente atención, en general, que se da a la solución de los efectos negativos que este uso produce sobre la naturaleza y en especial los seres vivos.

En nuestros días, crece el interés en relación con los problemas del medio ambiente para evaluar sus efectos, trabajando responsablemente en la formación de los recursos humanos y búsqueda de los recursos materiales y económicos, indudablemente necesarios para resolver tales problemas.

Entre los agresores medioambientales que han sido identificados en nuestro contexto de actuación se encuentra el vertimiento irresponsable de sustancias como los aceites de transformadores eléctricos que ya han agotado su vida útil, ellos son significativos portadores de bifenilos policlorados (PCBs).

Los PCBs presentan propiedades tales como: su estabilidad extrema y otras características que permiten que haya sido empleado como refrigerante, lubricantes en transformadores y otras aplicaciones. Estos compuestos también se generan y liberan al medioambiente como subproductos indeseados en la fabricación e incineración de sustancias químicas.

Precisamente esto se entronca con los problemas medioambientales ya que son estas mismas cualidades las que hacen al PCB peligroso para el ambiente, especialmente por su resistencia extrema a la ruptura química y biológica a través de procesos naturales. Su estabilidad química, que ha contribuido a su uso industrial extenso, es también uno de los aspectos que causa la preocupación más grande. Esta resistencia inusual, más su tendencia a permanecer y acumularse en organismos vivos, genera la presencia de PCB en el ambiente y una amplia dispersión con sus consecuentes efectos.

Durante décadas, la estabilidad extrema, la baja inflamabilidad y la baja conductividad de los PCBs les hicieron el aislante líquido normal en los transformadores, y dado que estos son un componente esencial de las redes de distribución de electricidad, la contaminación de PCBs es omnipresente.

La gestión de estos compuestos no es solo una exigencia medioambiental y salud en el trabajo sino que está perfectamente regulada internacionalmente.

Los PCB están incluidos en el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes órgano tóxico persistente los que representan un serio peligro para la salud humana y el medioambiente.

A pesar de esta y otras regulaciones, grandes cantidades de PCB y materiales y residuos contaminados con PCB, sobre todo transformadores y condensadores, se encuentran aún en muchos lugares de trabajo, generando un grave riesgo para la salud de los trabajadores y el medio ambiente.

En nuestro país todavía se encuentran transformadores de baja y media tensión que contienen aceite refrigerante de PCB y que, en muchos casos, chorrean ese lubricante por falta de mantenimiento. Pero el principal riesgo ocurre si los transformadores se inflaman, en ese caso, el PCB se transforma en un producto químico denominado dioxina.

Las dioxinas son las sustancias más dañinas que se conocen. Son cinco millones de veces más tóxicas que el cianuro y se ha comprobado que son cancerígenas.

En el inventario realizado en Santa Clara existen decenas de aplicaciones y cientos de toneladas de aceites contaminados con PCB pertenecientes a diferentes Organismos e Industrias. Situación similar se presenta en toda la región central y a nivel nacional.

El tratamiento adecuado a residuales tóxico y peligroso de la industria está dirigido a minimizar o eliminar el impacto que estos ocasionan a la salud, a los diferentes ecosistemas y a la propiedad.

Precisamente a partir de estas consideraciones es que situamos como problema científico el siguiente.

Problema científico a investigar

Es necesario disponer de un método analítico de determinación de PCBs fiable y aplicarlo a la optimización del proceso de tratamiento de estos compuestos altamente tóxicos y así, minimizar su impacto negativo sobre la salud y el medio ambiente.

Para solucionar este problema científico se ha arribado a la siguiente:

Hipótesis de trabajo

Es posible lograr un método por Cromatografía Gaseosa que resulte fiable para la determinación y control de los PCBs presentes en aceites de transformadores realizando la validación parcial del mismo.

Como objetivo general del trabajo a alcanzar para solucionar el problema científico y dar cumplimiento a nuestra hipótesis de trabajo se fija el siguiente:

Objetivo General

✚ Desarrollar el proceso de validación parcial de un método de GC que garantice la determinación fiable de PCBs en aceites de transformadores durante el control y el proceso de tratamiento de los mismos.

Se establecen como:

Objetivos específicos

✚ Determinar los parámetros de validación que garanticen la fiabilidad del método cromatográfico referido.

✚ Aplicar el método cromatográfico a la determinación de los PCBs durante el proceso de tratamiento de los mismos.

✚ Evaluar la eficacia del funcionamiento del método mediante la aplicación del diseño experimental.

Capítulo I. Revisión Bibliográfica

1.1. ¿Qué son los Contaminantes Orgánicos Persistentes?

Los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) constituyen un grupo de productos químicos de gran estabilidad que son usados como plaguicidas y en diversas aplicaciones de carácter industrial. También son generados de manera no intencional como subproductos de la combustión de determinadas actividades y/o procesos industriales. (Pérez, 2002).

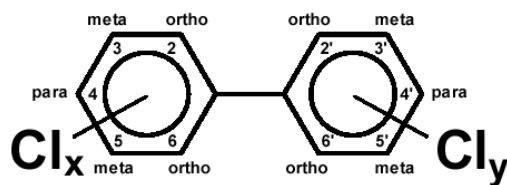
Amplios estudios científicos corroboran que los COPs son los contaminantes más peligrosos que se pueden liberar al medioambiente ya son altamente tóxicos y causan gran variedad de efectos a los seres humanos y a la fauna silvestre; son persistentes, con lo cual permanecen en el medio ambiente por prolongados períodos de tiempo, antes de degradarse a formas menos peligrosas; son semivolátiles y como tales poseen la capacidad de evaporarse y desplazarse a grandes distancias, a través del agua y el aire y se acumulan en el tejido adiposo de los seres vivos, los cuales son parte de la cadena alimenticia. Dentro de los 12 COPs iniciales, sobre los cuales se ha reconocido la necesidad de adoptar medidas con carácter inmediato, se encuentran los Bifenilos Policlorados (PCBs).

1.2. ¿Qué son los bifenilos policlorados (PCBs)?

El término bifenilos policlorados, o PCBs, hace referencia a una clase de productos químicos orgánicos de síntesis que, en gran medida, son químicamente inertes. La primera síntesis de PCBs fue realizada por Schmitt-Schulz en Alemania en 1881, iniciándose la producción industrial por la empresa Monsanto en 1929 para su uso comercial. La molécula de PCBs fue producida por medio de un proceso químico que liga los átomos de cloro a una molécula de bifenil (hidrocarburo). (López *et al.*, 2001)

Debido a la poca selectividad del proceso de formación de PCBs se obtiene de esta una mezcla compleja de isómeros llamados congéneres cuya composición depende de la proporción de cloro y bifenilo que se aplique a la síntesis de dicha sustancia.

La siguiente estructura es la que representa una molécula de PCBs y cada una de las posiciones de los anillos se puede sustituir por un átomo de cloro (es decir, cada molécula de PCBs puede contener hasta 10 átomos de cloro). Su fórmula química es $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ en la que n representa el número de átomos de cloro entre 1 y 10, que incluye a todos los compuestos con una estructura de bifenilo (es decir, dos anillos de benceno enlazados entre sí que están clorados en grados diversos).



En teoría existe un total de 209 congéneres de PCBs posibles pero de ellos solo unos 130 pueden encontrarse en productos comerciales. [<http://www.medioambiente.gov.ar/residuos-peligrosos/pcb.htm>]

Comercialmente los PCBs se conocen con el nombre de Aroclor seguido por una designación de cuatro números donde los dos primeros dígitos (12) indican que el PCB se basa en la molécula de bifenilo y los dos últimos dígitos se refieren al por ciento de cloro en el producto. Las mezclas con bajo contenido de cloro como el Aroclor 1216 son aceites limpios de baja viscosidad mientras que las mezclas de alto contenido de cloro como el caso del Aroclor 1260 que constituyen una mezcla complicadas de una alta consistencia resinosa.

1.3. Propiedades físico-químicas de los PCBs

Los PCBs son moléculas muy estables y por lo tanto, resisten la descomposición química, biológica y térmica, son también buenos conductores de calor y aislantes eléctricos. (Martinelli, 2003).

Mussini (1998) describe en su artículo a los PCBs como sustancias de viscosidad variable que van de líquidos a sólidos; de consistencia resinosa cuando contienen altas cantidades de cloro; tienen una elevada estabilidad química; no son hidrolizables; son resistentes al calor y a la oxidación. En estado líquido pueden ser incoloros hasta amarillos, de olor fétido y textura viscosa. Al mezclarlos con otros compuestos pueden modificar sus propiedades físicas, químicas y mecánicas. Tienen puntos de inflamación elevados debido a la presencia de cloro; no son solubles en agua, pero sí en solventes orgánicos, aceites y grasas vegetales o sintéticas.

Dado que los PCBs constituyen una mezcla compleja de congéneres, sus propiedades físicas dependen de la composición de la mezcla, estas varían de acuerdo al grado de cloración y posición de los átomos de cloro en la molécula de bifenilo. Por ejemplo, el 3,4- diclorobifenilo tiene un punto de ebullición que varía entre 195-200°C mientras que el 4,4'- diclorobifenilo presenta un punto de ebullición entre 315-319°C.

Las propiedades físico-químicas de los PCBs, tan útiles para la industria, han tenido, sin embargo, consecuencias negativas para el medio ambiente y la salud:

1.3.1. Datos físico-químicos

- ✚ Masa molecular relativa: 189-499 g/mol
- ✚ Densidad: 1.2-1.6 g/cm³
- ✚ Punto de ebullición: 320-420°C
- ✚ Presión de vapor: $0.2-1.33 \cdot 10^{-3}$ Pa
- ✚ Solubilidad: Ligeramente solubles en agua, muy liposolubles, se disuelven en la mayoría de disolventes orgánicos
- ✚ Baja polaridad
- ✚ Baja volatilidad
- ✚ Alta constante dieléctrica
- ✚ Alta viscosidad
- ✚ Alta estabilidad química y térmica
- ✚ Su elevada estabilidad química hace difícil su degradación por parte de los seres vivos, siendo muy persistentes y tóxicos.
- ✚ No se disuelven en agua, aunque sí en grasas, por lo que se bioacumulan en las grasas de animales y personas expuestas.
- ✚ Su facilidad para volatilizarse hace que se dispersen rápidamente al medio ambiente.

1.4. Clasificación de los PCBs por concentraciones

Muchos países han establecido sistema de clasificación de líquidos y materiales que contienen PCBs. Estos sistemas pueden ser de gran utilidad para establecer un orden de prioridades entre las actividades de gestión de los PCBs, así como para determinar unas condiciones de utilización y trabajo seguras.

A continuación se presentan dos tipos distintos de sistemas de clasificación de PCBs. El sistema de ppm se basa en los reglamentos vigentes en los Estados Unidos. El sistema de porcentaje por peso se basa en los reglamentos suecos.

0.1 por ciento por peso = 1000 ppm.

Partes por millón (ppm)

- > 500 ppm = reglamentada como sustancia “pura PCBs”.
- 50 a 500 ppm = reglamentada como sustancia contaminada por PCBs.
- 5 a 50 ppm = posiblemente reglamentada como contaminada por PCBs.
- < 5 ppm = sin PCBs.

Porcentaje por peso

- 0.1 por ciento por peso = reglamentada como sustancia contaminada por PCBs.
- Los reglamentos del PCBs son generalmente aplicables a los equipos que contienen:
- > 500 litros de > 0.1 por ciento por peso de PCBs líquido; o
- > 0.5 kg de PCB líquido al 100%

1.5. Efectos biológicos

Blount (1996) refiere que las principales vías de ingestión de PCBs en los humanos son la inhalación y la comida, sobre todo en alimentos propensos a estar contaminados como pescados y mariscos.

Inhalación: Debido a la baja presión de vapor de estos compuestos, sólo un 25% aproximadamente del total ingerido es por esta vía.

Cadena alimenticia: La entrada en la cadena alimenticia se da en el mar, cuando el plancton puede asimilar PCBs desde los sedimentos marinos. Como ocurre con la mayoría de los contaminantes, mediante el proceso de bioamplificación o biomagnificación se va incrementando la concentración de PCBs a lo largo de la cadena alimenticia (plancton, marisco, pescado pequeño, mamíferos marinos), y usualmente el hombre, al ser el último de la cadena, es el que recibe mayores cantidades de PCBs. Debido al origen marino, la principal fuente de ingestión de PCBs en la dieta humana es el pescado en general y especialmente el expuesto a mayores concentraciones, el cual puede llegar a ser el 4-5% del total.

[\[http://www.utoronto.ca/safety/pcb.htm\]](http://www.utoronto.ca/safety/pcb.htm)

Se ha demostrado que los PCBs ocasionan una gran diversidad de efectos muy graves sobre la salud humana, se caracterizan como probables cancerígenos para los seres humanos; además, dañan al sistema inmunológico, a la reproducción, al desarrollo, al sistema neurológico, al hígado, etc. (Santamaría, 2000).

1.6. Comportamiento medioambiental

El carácter más o menos volátil de los PCBs permite su paso desde el suelo a la atmósfera donde pueden volver otra vez al suelo o a la hidrosfera, o pasar a formar parte de la cadena alimenticia por inhalación. Su estabilidad permite que se difundan grandes distancias antes de ser asimilados o degradados. [<http://www.zeus.dci.ubiobo.cl/electricidad>]

- *Hidrosfera*: Los PCBs pueden llegar a la hidrosfera por solubilización de restos en sedimentos, excreción de organismos marinos y por deposición húmeda o seca desde la atmósfera.
- *Atmósfera*: Estos compuestos llegan a la atmósfera por evaporación desde el suelo en zonas contaminadas, donde pueden adherirse a la superficie de aerosoles y dispersarse o volver al suelo o a la hidrosfera. El grado de evaporación depende del tipo de suelo y de su humedad, normalmente a suelo más seco se evaporan más rápidamente.
- *Suelo*: Se acumulan en el humus debido a su carácter lipófilo, desde donde pueden movilizarse con dificultad hacia la atmósfera o el agua.

Estos compuestos son muy estables, por lo que no son modificados químicamente por la acción de ácidos ni bases fuertes. **En la atmósfera**, pueden ser atacados por radicales hidroxilos dando lugar a compuestos de degradación, y si son irradiados con UV de la longitud de onda adecuada pueden perder sus cloros, aumentando su velocidad de degradación.

En el agua, un litro de bifenilos policlorados crea una capa superficial de más de 8.000 m² y contamina aproximadamente un millón de litros de agua potable; en lagos, lagunas, ríos y mares afectando a la fauna presente, biomagnificándose en la cadena alimenticia, esto es, que su movimiento a través de la misma genera incrementos de concentración.

Según Jones (2000) las emisiones de PCBs desde transformadores durante el proceso normal de operación es insignificante y la principal fuente de PCBs surge de filtraciones al suelo de fluidos dieléctricos que contienen PCBs desde grandes transformadores eléctricos que están en malas condiciones.

1.7. Propiedades toxicológicas

Los PCBs debido a la alta liposolubilidad que presentan, se caracterizan por su capacidad de acumulación en el tejido adiposo de humanos y animales, cuando estos últimos se encuentran expuestos por largo tiempo ante fuentes portadoras de los mismos.

Los PCBs, una vez ingeridos, se acumulan principalmente en tejidos ricos en lípidos, como puede ser el tejido adiposo, el cerebro, hígado, etc. Se produce una transferencia de la madre al feto durante la gestación, y esta contaminación del feto puede dar lugar a una ralentización del neurodesarrollo y afectar a la función tiroidea al situarse en receptores específicos para estas hormonas.

Valle y Cruz (1997) plantean que los síntomas derivados de una intoxicación por PCBs son náuseas, vómitos, pérdida de peso, dolores en el bajo vientre, incremento de secreciones oculares, ictericia, edemas, cansancio, pigmentación de las uñas, etc., además de efectos hepatotóxicos a medio y largo plazo. También se está investigando su relación con trastornos del desarrollo en niños expuestos a los PCBs de forma prenatal, con la observación de coeficientes de inteligencia menores frente a niños sometidos a menores niveles de PCBs.

ATSDR (2004) en su reseña toxicológica plantea que en la fauna los PCBs pueden producir carcinogénesis y efectos mutagénicos y teratogénicos (malformaciones del feto). En las plantas, los efectos se refieren principalmente a una disminución de la velocidad de la división celular y la fijación de CO₂ en algas, además de una inhibición del crecimiento.

Díaz *et al.* (2000), haciendo un resumen sobre los efectos de los PCBs, plantea que la exposición aguda a niveles elevados de PCBs se ha asociado con erupciones cutáneas, prurito y quemaduras, irritación de los ojos, cambios pigmentarios de piel y uñas, trastornos de la función hepática y del sistema inmunológico, irritación del tracto respiratorio, cefaleas, mareos, depresión, pérdida de memoria, nerviosismo, fatiga e impotencia.

El grado de toxicidad de los PCBs es directamente proporcional al grado de cloración de la molécula, y dentro de esta escala los PCBs coplanares con menos átomos de cloro (126 y 169) son más tóxicos que sus congéneres no coplanares, como se indica en la Tabla 1, donde PCBs coplanares son más tóxicos que un congénere no coplanares con 7 cloros (PCB 170). [<http://es.wikipedia.org/wiki/Bifenilospoliclorados>]

Se define el TEF como el Toxic Equivalency Factor o Factor de Equivalencia Tóxica. Estos factores se refieren al compuesto de referencia 2,3,7,8-T4CDD, una tetraclorodibenzodioxina.

Tabla 1: TEF según la OMS para algunos PCBs coplanares.

PCB	Fórmula	TEF (OMS.1994)
PCB-77	3.3'.4.4'-Tetraclorobifenilo	0.005
PCB-126	3.3'.4.4'.5-Pentaclorobifenilo	0.1
PCB-169	3.3'.4.4'.5.5'-Hexaclorobifenilo	0.01
PCB-170	2.2'.3.3'.4.4'.5-Heptaclorobifenilo	0.00001

Un factor de toxicidad de, por ejemplo 0.5 indica que para un determinado compuesto el efecto tóxico producido por 10 ng es el mismo que el producido por 5 ng de 2.3.7.8-T4CDD.

1.8. Legislación internacional y nacional sobre PCBs

Agote (2003) plantea en su artículo que aunque en principio ha cesado la producción de PCB, hay y seguirá habiendo emisiones en el medio ambiente debido a las cantidades significativas de PCB que están en uso o almacenadas. Los transformadores y condensadores eléctricos son una de las fuentes más importantes de PCB. El periodo probablemente largo en que continuarán utilizándose así como su persistencia una vez liberados en el medio ambiente significa que los PCB podrían representar una amenaza durante décadas.

Según el *Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP).2001* la mayoría de los doce productos químicos incluidos en él están sujetos a prohibición inmediata, pero los equipos existentes con PCBs podrán ser conservados hasta el año 2025.

Además del Convenio de Estocolmo existen varios instrumentos internacionales previstos para controlar la dispersión de los PCBs en el medio ambiente y promover un manejo ambientalmente racional de estos productos. Entre ellos figuran:

- Convenio de Basilea sobre el Control de los Movimientos Transfronterizos de los Desechos Peligrosos y su Eliminación (1989) Instrumento jurídico global relativo al manejo ambientalmente racional de desechos peligrosos, incluidos los PCBs, y el control de sus movimientos transfronterizos.
- Declaración de Washington, noviembre de 1995 (100 gobiernos nacionales) Acuerdo sobre un Programa Global de Acción destinado a suprimir el uso de los COP, incluidos los PCBs. Directiva EC 96/59 de las Comunidades Europeas sobre la eliminación de los PCBs y los PCT y la supresión de su uso para el año 2010.

- Directiva EC 96/59 del Consejo Europeo sobre la eliminación de los PCB y los PCT. Trata de armonizar las legislaciones de los Estados miembros de la UE relativas al manejo de PCB y PCT para su supresión progresiva hasta completarse en el año 2010.
- Nuevo Protocolo (1998) sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) a la Convención sobre la contaminación atmosférica transfronteriza a largas distancias de la Comisión Económica para Europa (CEPE) de las Naciones Unidas Cuarenta y dos países del hemisferio norte y la Comunidad Europea podrán firmar el Protocolo sobre COP que comprende 16 sustancias.

Cuba, como signataria del Convenio de Estocolmo y otros convenios internacionales sobre contaminantes orgánicos persistentes ha establecido varias resoluciones a través del Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente con respecto a los PCBs, entre ellas se encuentran:

- La **Resolución 15/96** dispone sobre la puesta en vigor del Convenio de Basilea sobre el Control de los Movimientos Transfronterizos de Desechos Peligrosos y su Eliminación y otras Disposiciones para la gestión ambientalmente racional de éstos desechos en Cuba.
- La **Resolución 53/00** donde se agrupan un número de desechos peligrosos por categorías; dichos desechos fueron omitidos en el listado oficial del convenio de Basilea; quedando de esta manera completo el listado.
- La **Resolución 41/2001** en la que se prohíbe el uso industrial de bifenilos policlorados.
- La **Resolución No.96/ 2004** sobre la prohibición, importación y comercialización interna de Bifenilos Policlorados (Askareles) y equipos eléctricos con contenidos de esta sustancia superiores a 50 ppm, ya que son persistentes en el medio ambiente y se bioacumulan en la cadena alimentaria y en el tejido humano, se transportan a grandes distancias, siendo altamente tóxicos y peligrosos para la salud humana, debido a sus efectos carcinogénicos.

A pesar de estas regulaciones, grandes cantidades de PCBs, materiales y residuos contaminados con PCBs, sobre todo transformadores y condensadores, se encuentran aún en muchos lugares de trabajo, generando un grave riesgo para la salud de los trabajadores y el medio ambiente. (Astorquiza, 2000).

1.9. Situación actual de los PCBs

1.9.1. A nivel mundial

Según un reporte realizado por (UNEP, 1998) entre 1929 y 1989 la producción total mundial de PCB (excluida la Unión Soviética) fue de 1.5 millones de toneladas, lo que hace un promedio de unas 26.000 toneladas al año. Incluso después de que en 1976 se prohibiese en Estados Unidos la fabricación, venta y distribución de PCB, entre 1980 y 1984 la producción mundial se mantuvo en 16.000 toneladas al año y entre 1984 y 1989, en 10.000 toneladas.

En la ex - Checoslovaquia, los PCBs fueron producidos desde 1959 hasta 1984 en una planta química al este de Slovakia bajo el nombre comercial de Delor. De las 21 482 t producidas (+ 1 600 t de residuos de PCBs), el 46% fue exportado y el remanente fue designado para el mercado de la propia ex – Checoslovaquia. La contribución estimada a la contaminación en Slovakia es aproximadamente del 5% y la de los incineradores de residuos industriales y municipales es del 9%. [<http://www.racetox.chemi.muni.cz>]

Por otra parte Barbarasa (2004) reporta que 180 000 t fueron producidas en la ex – Unión Soviética durante 1939 – 1993 con el nombre de Sovol y Sovtol y que en Moldova están almacenados: 23 920 t de diferentes aceites dieléctricos contaminados con PCBs distribuidos en 26 300 transformadores y 17 000 capacitores.

Son muchos los países que no poseen instalaciones adecuadas para la eliminación o el tratamiento de PCBs. Según un inventario realizado por UNEP (1998) sobre la capacidad mundial de destrucción de PCBs existen entre Europa y Asia un total de 45 instalaciones capaces de tratar desechos con PCBs y solo 10 entre África, América Latina y el Caribe, América del Norte y Asia Occidental, mostrando la desventaja de los países menos desarrollados en esta materia.

1.9.2. En el país

Según inventario realizado por el CITMA (2004) el uso nacional de aplicaciones con contenido de PCB se concentra mayoritariamente en transformadores y capacitores eléctricos, los cuales son instalados indistintamente en las redes de suministro de energía de los sectores residenciales, industriales, comerciales y agropecuarios, en función de la satisfacción de las demandas requeridas.

La Unión Eléctrica perteneciente al Ministerio de la Industria Básica, constituye el propietario de alrededor del 90% de los transformadores eléctricos existentes en el ámbito nacional, lo cual esta motivado fundamentalmente por el carácter y la naturaleza de las actividades que desarrollan un gran número de instalaciones pertenecientes a este sector, aunque se identifican

otros sectores que son propietarios de algunas de estas aplicaciones, como resultado de la importación de plantas completas.

Este inventario se desarrolló sobre un universo de trabajo que abarcó a 567 entidades, se identificaron 40 entidades nacionales, que poseen en su conjunto 453 aplicaciones en desuso con contenido de PCBs, de las cuales, el 65.3% (296) corresponden a capacitores eléctricos; el 30% (136) a transformadores eléctricos y el 4.7% (21) a otras aplicaciones que incluyen, cajas selectoras; líquidos de termotransferencia y tanques almacenados con contenido de aceites con PCB.

A los 136 transformadores en desuso identificados en el ámbito nacional, le corresponde el 92.4% (118.1 toneladas) de la masa total de fluido asociada a todas las aplicaciones identificadas (127.7 toneladas), lo cual está en correspondencia con las elevadas cantidades de fluido que almacenan estos dispositivos, en comparación con los capacitores eléctricos.

También se identificaron varios sitios contaminados localmente, como resultado de la fuga de fluido, originadas fundamentalmente por el deterioro de la base, juntas y paredes de los transformadores eléctricos.

Existen un conjunto de aplicaciones, de las cuales no hay una certeza absoluta, pero si se presume que las mismas posean fluidos con contenido de PCBs, en atención a determinadas características, que incluyen el nombre del fabricante; el periodo de tiempo fuera de servicio; la fecha de instalación y su analogía con otras aplicaciones existentes en el lugar. Por lo tanto, el universo de aplicaciones nacionales en desuso con contenido de PCBs, alcanza la cifra de 498 aplicaciones, lo que representa alrededor de un 9%.

1.9.3. En la provincia de Villa Clara

Según el inventario del CITMA (2004) en nuestra provincia existe un total de 10 aplicaciones entre transformadores (6) y capacitores (4) en desuso con una masa total de fluido asociada de aproximadamente **5.3 Ton**. Este valor no puede confirmarse categóricamente como el estimado real ya que existen sin cuantificar transformadores de los cuales no se conoce con precisión la cantidad de fluido que poseen.

Como tendencia general, la gran mayoría de estas aplicaciones se encuentran dispersas en diferentes áreas, sin contar con las condiciones adecuadas para su almacenamiento/confinamiento, pues muchas de ellas se encuentran sobre piso de tierra a la

intemperie, favoreciendo los procesos de corrosión por la acción de la temperatura y las precipitaciones.

Adicionalmente, muchas de estas aplicaciones, no disponen de los elementos de contención necesarios para evitar la dispersión de derrames eventuales de fluido y carecen de condiciones para limitar el acceso a las mismas, incluyendo la disponibilidad de elementos informativos que indiquen los riesgos y los peligros asociados a la manipulación inadecuada de estos equipos, y en particular, de su fluido acompañante. Además en la mayoría de las aplicaciones identificadas, no fue posible obtener los valores de concentración de PCBs, debido al deterioro de las chapas de identificación, lo cual exige el desarrollo de un proceso ulterior, orientado a la determinación de la concentración de PCBs en las aplicaciones identificadas, a través del desarrollo de procedimientos de muestro y análisis.

De la mayoría de las aplicaciones existentes en desuso o fuera de servicio se desconoce el tipo de fluido que contiene, cantidad de aceite y concentración de PCBs; casi todos se encuentran a la intemperie y bajo condiciones inadecuadas de almacenamiento lo que representa un peligro potencial para la salud humana y el medio ambiente ya que se encuentran en zonas urbanas, cerca de cuencas de captación de agua y afluentes de ríos.

Es de destacar que en este inventario preliminar se obviaron los transformadores que actualmente se encuentran en uso y que contienen aceites con PCBs y muchos que se desconocen si contienen o no PCBs; todos estos transformadores también deben tenerse en cuenta al plantear la propuesta de gestión pues en algún momento saldrán de servicio por diferentes motivos y las entidades poseedoras de los mismos deben saber qué manejo deben proporcionarles.

1.10. Análisis de PCBs

Es importante identificar correctamente los líquidos de PCBs en condensadores y transformadores. Una vez obtenidas las muestras del transformador en cuestión sería ideal poderlas someter rápidamente a un análisis de PCB. No existen pruebas rápidas para identificar los aceites contaminados con PCBs. [<http://www.nttworldwide.com>]

Estos tipos de análisis son indispensables si se requieren dosificaciones precisas de PCBs. Sin embargo, los análisis cuantitativos no suelen ser necesarios en la primera fase de identificación del contenido de un transformador. Afortunadamente, existen dos tipos de métodos rápidos,

aunque no necesariamente certeros, según Alencastro (2004) que pueden señalar la presencia o contenido de PCBs, ellos son: la prueba de la densidad y la prueba del cloro.

Los PCBs cuantitativamente se determinan principalmente por técnicas cromatográficas, por lo que se requiere un tratamiento previo de la muestra. El primer paso consiste en un procedimiento de extracción a partir de la muestra de la parte lipófila, procedimiento que puede llevarse a cabo mediante microextracción en fase sólida, extracción sólido - líquido, Soxhlet, disco de fase sólida o microondas. Posteriormente se requiere un proceso de limpieza para eliminar las interferencias. Dicho proceso puede llevarse a cabo mediante cromatografía de permeación en gel (GPC), Florisil o ácido sulfúrico concentrado. Este análisis propiamente dicho se lleva a cabo mediante un cromatógrafo de gases con detector de captura electrónica (GC-ECD), con detector de masas (GC-MS) o HPLC. [<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp17-c7.pdf>]

Según el Report EPS 1/RM/31 (1997) también es muy usada la separación en columnas Carbowack C/Celite, Florisil, alúmina, o columna pyrenyl - sílica.

Todo esto ha llevado a la necesidad de buscar métodos más simples de análisis, como pueden ser técnicas biológicas como bioensayos e inmunoensayos, estos métodos se reportan en un artículo publicado por la EPA (2000).

La extracción en fase sólida de PCBs de aceites de transformadores y residuos de aceites y su posterior análisis por cromatografía gaseosa ha dado muy buenos resultados y tiene las ventajas de que se evita el uso de ácido sulfúrico en la determinación, es usada menos cristalería y son reducidos casi al mínimo los problemas de utilización de solventes costosos y disposición final (11 mL de solvente orgánico contra 100 mL más 5 mL de ácido) según un método reportado en [<http://www.sigma-aldrich.com>]

Para análisis de rutina de muestras de PCBs, Renan y Gallardo (2002) proponen un método de determinación usando cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica, donde el PCBs se encuentra en diferentes matrices: suelo, agua y aceite y da detalles sobre el proceso de limpieza preliminar en cada caso.

La EPA (Environmental Protection Agency) ha estandarizado dos métodos para la determinación de PCB en aceites de transformadores:

1. **EPA-600/4-81-045.1982** The Determination of Polychlorinated Biphenyls in Transformer Fluid and Waste Oils.

2. **EPA-SW-846 Method 9079.1996** Screening Test Method For Polychlorinated Biphenyls in Transformer Oil.

Otros países han editado sus propias normas para la determinación de bifenilos policlorados en líquidos aislantes empleado la cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica un ejemplo es la **Norma CISCOE 03/10/00**.

Finch (1990) y Mahon (2002) proponen métodos más rápidos, sencillos y económicos para la determinación de PCBs en los aceites de transformadores, uno de ellos es el L2000 PCBs Analyzer, que puede ser usado en el campo o en el laboratorio y es efectivo en un rango de 5 a 5000 ppm de PCBs. Claro, la determinación de la presencia de PCBs por esta vía nos puede dar un falso positivo debido a que junto con los PCBs a los aceites se le adicionan muchas veces otras sustancias para disminuir su viscosidad, dichas sustancias contienen cloro en su estructura y como estos equipos son sensibles a los iones cloruros pueden dar un valor de concentración que no es real. Por eso es necesario, si se utiliza este equipo y reporta un valor de concentración, corroborar con otros métodos analíticos más precisos, como son los basados en la cromatografía gaseosa ya mencionados anteriormente.

1.11. Métodos de tratamiento para los PCBs

Una vez que se encuentren identificadas las fuentes generadoras de PCBs, y ya tomadas todas las medidas para su manipulación y almacenamiento temporal seguro, el siguiente paso será la disposición final que se les dará a estos desechos.

Desde la determinación de la toxicidad y de los efectos nocivos de los PCBs sobre el ambiente, han surgido numerosas investigaciones que lleven a la destrucción de estos compuestos, de manera efectiva y económicamente viable. Sin embargo ninguno de ellos se ha posicionado como la mejor alternativa en todos los sentidos. Algunos de los más importantes métodos de eliminación de los PCBs son los siguientes:

- ✓ Incineración (convencional y moderna)
- ✓ Tratamientos químicos
- ✓ Métodos con energía radiante
- ✓ Métodos biológicos

1.11.1. Incineración

En la actualidad, los desechos con PCBs se destruyen en su gran mayoría por incineración. Esto se debe a que la incineración a alta temperatura es una tecnología bien establecida y fácilmente disponible en muchos países industrializados. Es importante señalar que ciertos países industrializados ya no autorizan incineradores, siendo ejemplos destacados los de Japón y Australia; estos países están obligados a hallar otras tecnologías de destrucción según un artículo publicado por AVR-Industrial Waste (2004) el cual propone alternativas de tratamiento.

Según Mc Dowael *et al.* (2003) los principales productos de la incineración a alta temperatura son el dióxido de carbono y el agua, así como una ceniza inorgánica. El cloro presente se convierte en cloruro de hidrógeno gaseoso, que se extrae junto con otros componentes que pueden formarse como productos secundarios de la combustión, utilizando un equipo de control de la contaminación atmosférica.

Seok, *et al.* (2005) realizan una investigación sobre la destrucción termoquímica usando un reactor a batch y dos tipos diferentes de reactores continuos, uno vertical y otro horizontal, con ellos se logra la destrucción en un 99.99% de los PCBs.

Mendoza *et al.* (2006) reporta una prueba a escala semi-industrial llevada a cabo por tratamiento térmico con mezclas de aceites usados y Askareles a una concentración de 50000 y 100000 ppm de PCBs bajo una atmósfera reductiva. La eficiencia de la destrucción fue mayor de 99.9999%, solamente fue detectado el congéner PCDD/F el cual tiene un factor de toxicidad equivalente de 0.001.

1.11.2 Tratamientos químicos

Procesos de decloración

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

➤ ***Decloración química***

La decloración química se basa en reacciones o bien con un metal alcalino enlazado a un cuerpo orgánico (naftalina sódica o polietilenglicol de sodio), o con un óxido o hidróxido de metal alcalino.

Los procesos químicos están ya bien sistematizados y se utilizan comercialmente para el tratamiento de PCBs líquidos y de aceites contaminados con PCBs. El contenido de cloro se convierte en sales inorgánicas que pueden extraerse de la fracción orgánica por filtración o

centrifugación. Las reacciones se realizan en atmósfera inerte (para evitar todo riesgo de incendio) y en ausencia de agua (los desechos se deshidratan previamente por calentamiento). (Domènech *et al.*, 2000).

➤ **Decloración con sodio metálico**

La tecnología más frecuente se basa en el uso de sodio metálico para declorar las moléculas de PCB y dar un aceite que puede reutilizarse, en el transformador o de cualquier otra manera. El sodio es un metal reactivo que se oxida con facilidad; reacciona violentamente con el agua dando gas hidrógeno y con riesgo de incendio. Tiene fuerte afinidad por ciertos elementos, incluido el cloro. Ésta es la propiedad que se explota en la tecnología de descontaminación por sodio metálico: el sodio reacciona con los átomos de cloro de las moléculas de PCB dando cloruro sódico. Esta tecnología tiene sobre la incineración la ventaja de que no sólo es menos costosa sino que además permite recuperar y reutilizar el aceite. (UNEP, 2000).

➤ **Decloración con KPEG**

Para llevar a cabo la declorinación de los PCBs se recomienda el uso del polietilenglicolato de potasio (KPEG).

El tratamiento de los aceites por este método puede dividirse en dos etapas fundamentales las cuales se exponen a continuación:

Primera etapa: Reacción de formación del reactivo de descomposición KPEG.

Se hace reaccionar el hidróxido de potasio con un segundo reactivo, el PEG, un polímero de fórmula $\text{OH}-(\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_n\text{H}$ que tiene un peso molecular medio que se extienden aproximadamente de 100 a 20.000. Este reactivo podría ser líquido o sólido.

El KOH se añade cuando el PEG alcanza la temperatura de 70°C. La reacción tiene lugar en presencia de oxígeno, es decir, se utiliza un reactor abierto. El oxígeno es necesario para la formación del reactivo de descomposición. Cuando el hidróxido de metal alcalino y el polietilenglicol reacciona en presencia de oxígeno, la formación del reactivo de descomposición se observa rápidamente, pues la mezcla de reacción, que está inicialmente clara, toma un color ámbar oscuro. Este cambio de color no ocurre en ausencia de oxígeno. El tiempo de la reacción es de 2 horas aproximadamente.

No es necesario burbujear oxígeno en la mezcla de reacción, debido a que el oxígeno atmosférico satisface los requerimientos de la reacción. Para el aumento y control de temperatura y acelerar la velocidad de la reacción no son requeridos equipos especializados.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



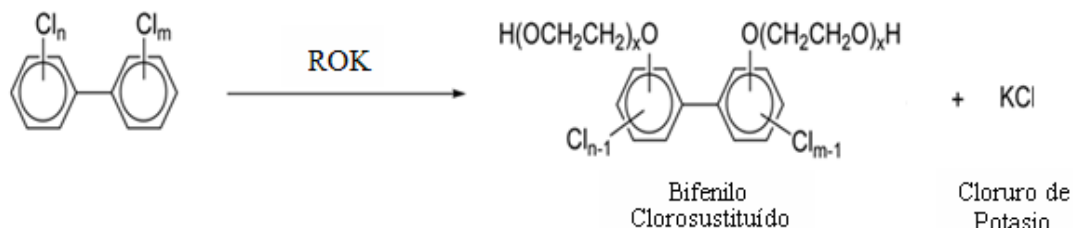
Polietilenglicol

Polietilenglicolato de Potasio

Segunda etapa: Deshalogenación de PCBs con KPEG

En un segundo reactor enchaquetado y conectado a un termostato se calienta el reactivo de descomposición (KPEG) hasta 90°C y luego se añaden los gramos correspondientes de aceite contaminado con PCBs. El reactivo (KPEG) deshalogena el contaminante para formar un éter de glicol y/o un compuesto hidrolizado y una sal de metal alcalino, que son subproductos solubles en agua.

La reacción que tiene lugar es la siguiente:



El proceso KOH/PEG es una típica reacción de sustitución nucleofílica aromática donde el polietilenglicolato de potasio ataca selectivamente los sitios activos (grupos halogenados) de la molécula de policlorobifenilo. Durante la reacción de PEG/KOH con PCBs, el PEG sirve como un nucleófilo bajo condiciones básicas el cual ataca al carbono en el benceno parcialmente cargado positivamente, resultando así la liberación del cloro.

El mecanismo de reacción es relativamente fácil: el polietilenglicol, debido a su alta lipofisidad, actúa como una fase de transferencia catalítica, moviendo las moléculas de policlorobifenilos desde la fase apolar (aceite) a la fase polar (PEG/base) donde la reacción puede ocurrir: el alcóxido es rodeado por las largas cadenas del PEG libre lo que permite su transferencia a la fase apolar.

La remoción de los PCBs se ve fuertemente afectada por su grado de clorinación: los PCBs menos clorinados son más difíciles de remover, mientras que los mas clorinados (los más contaminantes) son más fáciles de eliminar.

La aceleración de la reacción de declorinación para los PCBs más clorinados puede ser atribuida a dos factores:

✚ La alta probabilidad de colisión entre el PEG-alcóxido con uno de los átomos de cloro en la molécula de PCB.

✚ La fácil eliminación de un átomo de cloro desde el anillo aromático, debido a la presencia de un alto número de grupos electrón aceptor.

La fuerte reactividad observada de los PCBs altamente clorados es particularmente favorable desde el punto de vista ecológico y medioambiental ya que estos son los más peligrosos para el cuerpo humano.

Debido a la alta viscosidad de los aceites con altos contenidos de PCBs es importante el uso de velocidades de agitación relativamente altas. Estudios realizados anteriormente confirman que velocidades por debajo de los 1000 rpm no favorecen el proceso de deshalogenación. Otro aspecto importante es la relación KPEG/aceite, esta relación varia considerablemente con la concentración de PCBs en el aceite.

➤ **Hidrotratamiento**

El hidrotratamiento es el tratamiento de los aceites (es decir de los desechos líquidos) con gas hidrógeno a alta temperatura y en presencia de un catalizador. Los hidrocarburos clorados se descomponen en metano y ácido clorhídrico, que se convierte en una solución salina mediante escobillado con sosa cáustica. Para un buen funcionamiento es esencial mantener un estricto control del proceso. (Saldivia, 1993).

Murena (2000) reporta los resultados obtenidos por hidrodeclorinación catalítica de PCBs en aceites de transformadores comerciales. Se describen los parámetros de operación del reactor

a batch y se evalúa la eficiencia de la destrucción en función de las condiciones de operación. Los resultados muestran que los PCBs son transformados en bifenilo y ácido clorhídrico.

Según Luscombe (2001) la reducción química en fase gaseosa es una tecnología registrada desarrollada y utilizada por Eco Logic e incluye la reducción química en fase gaseosa de compuestos orgánicos mediante el hidrógeno a temperaturas de 850 °C o superiores. En el proceso, en un nivel menor de eficiencia, se produce además una reacción incidental de agua (como vapor) con metano, formando monóxido de carbono y dióxido de carbono.

1.11.3 Métodos con energía radiante

La energía radiante puede promover la reacción química, y por tanto, la destrucción de los PCBs. La adición de soluciones de 2-propanol ó isooctano a aceites de transformadores fue probada que incrementa la velocidad de declorinación de los PCBs por radiólisis gamma. (Mincher *et al.*, 2000).

La fotodegradación del 4-clorobifenilo en hexano por radiación UV fue investigada por Qin *et al.* (2006). Con irradiación, el bifenilo es también descompuesto a hidrocarburos como productos finales, la reacción sigue una cinética de primer orden.

Usando también la radiación UV (Wong *et al.*, 2006), se estudió la fotólisis de cinco PCBs individualmente y combinaciones de ellos en etanol, metanol y 2-propanol. El metanol fue seleccionado como el solvente óptimo y se demuestra que la adición de hidróxido de sodio incrementa la velocidad de la fotólisis en la mezcla de PCBs.

Al-Sheikhly and Jones (2003) reportan un método para el tratamiento de aceites contaminados con PCBs en transformadores eléctricos usados. El método consiste en la aplicación de radiaciones de electrones, gammas y ultravioleta a dichos aceites y la comparación de la eficiencia de la declorinación por los tres métodos. La declorinación completa la confirman determinando las concentraciones de PCBs en el aceite usando cromatografía líquida y gaseosa. El autor demuestra que los tres métodos son efectivos para la declorinación.

1.11.4. Métodos biológicos

Kimbara *et al.* (1998) reporta la eliminación de residuos de PCBs usando microorganismos, específicamente con *Comamonas testosteroni* TK 102 y *Rhodococcus opacus* TSP 203 después de haberle realizado un pre-tratamiento a la muestra con radiación UV. Los PCBs son degradados a niveles menores de 0.001 ppm en aproximadamente 10 días.

Strand (2002) plantea que la biodegradación de las mezclas de PCBs requieren de gran especificidad y múltiples tipos de ataques, que estas se degradan por tres vías fundamentales: aeróbicamente como un sustrato de cultivo, aeróbicamente por cometabolismo y anaeróbicamente por deshalogenación reductora. No obstante, numerosos autores reportan que los átomos de cloro de las moléculas de PCB pueden ser eliminados por procesos anaerobios seguidos por la oxidación por bacterias aerobias, resultando en la degradación de la mayoría de las estructuras de PCBs.

Otras técnicas novedosas

Existen otros métodos que se están experimentando a escala de laboratorio y que han tenido resultados satisfactorios, entre ellos se encuentran:

➤ **Oxidación con agua supercrítica**

Por encima de su punto crítico el agua se transforma en un medio único de reacción donde los hidrocarburos y el oxígeno molecular tienen una solubilidad infinita. Con estas propiedades, el agua en condiciones supercríticas es atractiva para la oxidación de fenoles, clorofenoles y bifenilos policlorados.

En el año 2000 Bravo y García, indistintamente, hacen estudios del tratamiento de PCBs en aguas por oxidación con agua supercrítica. Los principales productos de oxidación son: ácido acético, alcoholes, óxidos de carbón y residuos orgánicos. Para lograr una oxidación completa utilizan catalizadores. Una ventaja del sistema de oxidación catalítica con agua supercrítica es la ausencia de formación de coque y de envenenamiento del catalizador.

Las principales desventajas de este sistema son los requerimientos de altas temperaturas (450-500°C), altas presiones (240-300 atm) y oxígeno molecular puro, así como también problemas de corrosión. Todo lo relacionado anteriormente hace que esta sea una tecnología costosa por lo que está en fase de experimentación. Este método fue experimentado anteriormente por Sako *et al.* (1999) y aplicado a PCBs presentes en aceites de transformadores usando hidróxido de sodio como catalizador alcalino.

➤ **Ultrasonido**

Hua (1998) reporta el uso del ultrasonido para la descontaminación de aguas residuales contaminadas con bifenilos policlorados.

El resultado de los estudios realizados hasta estos momentos demuestra que se descomponen con mayor facilidad los bifenilos policlorados más sustituidos.

La destrucción sonolítica de PCBs en aguas es reportada también por Zhang *et al.* (2000). Las soluciones saturadas en Ar fueron sonificadas a 20 kHz y con una intensidad acústica de 30.8 W cm⁻². La formación de bifenilo, el que es detectado por espectrometría de masa, indica la declorinación durante la sonificación.

En general, la mayoría de estos métodos de tratamiento presentan importantes riesgos. Al tratarse de sustancias peligrosas, cualquier tipo de tratamiento va a tener inconvenientes en mayor o menor grado, e incluso algunas opciones cuyo riesgo es demasiado elevado, como la incineración, deben descartarse directamente. En cualquier caso, el sistema o conjunto de sistemas que deben de aplicarse requiere de un estudio pormenorizado de todas las alternativas con el fin de encontrar la solución que conlleve el menor riesgo para el medio ambiente y la salud ciudadana. También se debe tener en cuenta la viabilidad técnica y financiera.

1.12. Métodos de determinación de PCBs

Los bifenilos policlorados son compuestos que son ampliamente utilizados como líquidos en transformadores y condensadores. También se llaman Askarel. En los años ochenta fue confirmado que los PCBs eran agentes contaminadores orgánicos de gran toxicidad. En esta década, cerca de 70 a 90 congéneres de PCBs eran ya presentes en el ambiente. Aunque la utilización de los PCBs está prohibida en equipos más nuevos muchos equipos viejos siguen todavía funcionando, siendo gradualmente sustituidos. La naturaleza lipofílica y la persistencia de estos compuestos contribuyen a su potencial de bioacumulación.

El método analítico más utilizado para el análisis de los PCBs es la cromatografía gaseosa con un detector de captura electrónica y el proceso de purificación es realizado en cromatografía de columna abierta utilizando como fase estacionaria el florisilo, el alúmina o la silicona como fases estacionaria y con la colección de tres fracciones para el análisis. (Oliveira *et al.*, 2001).

Los mejillones como indicadores de PCBs fueron utilizados en un estudio de validación donde los autores (Oliveira *et al.*, 2001) utilizaron en su estudio un cromatógrafo de gases con doble espectrómetro de masas para la cuantificación de PCBs en mejillones.

El PCBs fue cuantificado como los productos comerciales mas comúnmente utilizados: ArochlorTM 1242, ArochlorTM 1254, ArochlorTM 1260.

Con el objetivo de mejorar el trabajo de laboratorio reduciendo el tiempo de análisis que implica una técnica de GC/EDC. Chang y Klee (1998) proponen la utilización del Agilent 6890 utilizando un microdetector de captura electrónica para la determinación de pesticidas organoclorados, demostrando en su estudio que presenta un funcionamiento mejorado en ambos ámbitos fundamentales como: trabajo lineal creciente, sensibilidad creciente, estabilidad creciente y resistencia a la contaminación.

Un método para la determinación de de siete residuos de PCBs en plasma fue desarrollado mediante una técnica de cromatografía gaseosa / espectrometría de masas. (Charlier *et al.*, 2003). Los analitos fueron aislados de plasma humana mediante una extracción líquido – líquido seguida de una extracción de fase sólida y separación en una columna de tipo HP-5 Trace.

Se han reportado modificaciones en el análisis de la cuantificación de PCBs en muestras ambientales de la industria de acero (Aries *et al.* 2004) donde las muestras son analizadas mediante la cromatografía de gas de alta resolución/espectrometría total de alta resolución. El procedimiento entero fue validado por análisis de un sedimento certificado de referencia (N= 3).

Los PCBs como agentes contaminadores ambientales se han identificado por todo el mundo en matrices diversas. Algunas de las aplicaciones de PCBs se han dado lugar permitiendo su directa introducción en el ambiente, una vez en él, este se degrada muy lentamente y experimenta la biomagnificación a través de la cadena alimentaria. Se ha demostrado que el camino primario de PCBs a la exposición humana es a través de los alimentos, por lo cual en muchos países se desarrollan métodos de análisis para cuantificar PCBs en alimentos.

Dentro de los análisis a muestras de suelo contaminadas con PCBs, Bianco *et al.* (2008) evaluaron los niveles de este, utilizando dos métodos analíticos. Uno de ellos es la utilización de dos columnas cromatográficas paralelas y con dos detectores de captura electrónica.

El otro se realizó utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masa de alta resolución (GC-HRMS) utilizando como técnica de ionización la de impacto electrónico. La utilización de ambos métodos permitió que al utilizar GC- HRMS se detectaran algunos congéneres no detectados por GC- ECD.

Una clase de bifenilos policlorados coplanares (co-PCBs) son conocidos como dioxinas. Dentro de los métodos de análisis utilizados para la determinación de co-PCBs se encuentra la cromatografía gaseosa de alta resolución con espectrometría de masas (GC/MS) (Okuyama *et al.*, 2002), pero este es un método caro que requiere además de equipos especializados.

La determinación de bifenilos policlorados requiere de un método de alta sensibilidad y selectividad ya que los componentes se encuentran en pequeñas cantidades y se encuentran con otros componentes interferentes. El análisis cualitativo y cuantitativo de PCBs se realiza muy a menudo utilizando la cromatografía gaseosa de alta resolución con un detector de captura electrónica (HRGC- ECD). El detector de captura electrónica es lo suficientemente sensible para la determinación de congéneres de PCBs, los cuales pueden ser separados a través de una fase estacionaria apropiada con las condiciones cromatográficas apropiadas. Herceg y Krauthacker (2002) evaluaron un método para la determinación de 20 congéneres de PCBs en muestras de aire. El análisis cuantitativo y cualitativo fue realizado utilizando HRGC- ECD. Los congéneres de PCB fueron separados utilizando columnas capilares de diferente longitud, obteniéndose resultados confiables.

Se han realizado estudios de predicción de tiempos de retención para los PCBs en cromatografía gaseosa utilizando descriptores moleculares mono dimensionales (Mecozzi *et al.*, 2003). además de la determinación de los átomos de cloro respecto a los anillos aromáticos, demostrando que un modelo matemático puede ser una herramienta útil para la identificación de estos agentes contaminadores en muestras verdaderas.

Szyrwinska y Lulek (2006) presentan una validación correspondiente a un procedimiento de análisis para la determinación de PCBs en muestras de sedimento utilizando la cromatografía de gases con un detector de captura electrónica obteniendo buenos resultados con un coeficiente de correlación mayor que 0.99.

Hong *et al.* (2004) Proponen un método para la determinación de hidroxi- PCBs en orina.

Capítulo II. Validación de métodos analíticos

Se entiende por validación las mediciones realizadas para comprobar y describir que un método opera en todo momento de acuerdo con las expectativas y los requisitos impuestos respecto a su precisión, uso, implantación y fuentes de error (NC TS -368: 2004).

La necesidad de efectuar un proceso de validación se justifica porque:

- Proporciona un alto grado de confianza y seguridad en el método y en la calidad de los resultados, lo que proporciona la disminución del número de fallos y repeticiones con el consiguiente ahorro de tiempo y recursos.
- Permite un conocimiento profundo de las características del método.
- Posibilita el cumplimiento de las exigencias legales.

2.1. Características del método

Las características más importantes de funcionamiento de un método analítico son:

Practicabilidad: Constituye la facilidad de realizar el método en la práctica por lo cual se evalúa en la fase de desarrollo del método y se determina por el tiempo, coste, tamaño de muestra, cualificación de personal, tipo de equipo o instrumentación, condiciones de seguridad, entre otros.

Idoneidad: Conjunto de parámetros que garantizan que el sistema responde en el momento del análisis a los requisitos fijados en la validación (requisitos que se consideran dentro de las buenas prácticas de laboratorio), ejemplo de ello son: factores de resolución, simetría de una señal, tiempo de retención, coeficiente de variación del sistema, etc., que son los parámetros propios de cada método, en este caso del cromatográfico.

Fiabilidad: Demuestra la capacidad de un método analítico para mantener a lo largo del tiempo los criterios fundamentales de validación. Los parámetros que expresan fiabilidad de los métodos analíticos son: linealidad, precisión, exactitud, sensibilidad, selectividad y especificidad.

2.2. Criterios fundamentales de validación

2.2.1. Linealidad: Capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un intervalo determinado. Dentro de este término se incluye la proporcionalidad entre la concentración del analito y la

respuesta, así como el intervalo o rango de concentraciones de analito para los cuales el método es satisfactorio.

El ensayo de linealidad puede efectuarse sobre soluciones patrón del analito como sobre muestras problemas que contengan concentraciones crecientes de los mismos.

El estudio de linealidad debe hacerse con disoluciones (de 3 a 10) de un patrón primario (o estándar de referencia) o de un patrón secundario (o estándar de trabajo).

El intervalo lineal dinámico del sistema instrumental debe ser más amplio que el intervalo de concentraciones a estudiar, por lo que debe efectuarse un tanteo previo con patrones que abarquen un rango más amplio que el intervalo de concentraciones a establecer.

Tratamiento estadístico

Método de ajuste de regresión lineal por mínimos cuadrados: $y = b \cdot x + a$, donde “y” es la respuesta (lectura), “x” es la concentración del analito, “b” es la pendiente y “a” es el intercepto. Se calculan los parámetros “b” y “a”, así como el coeficiente de correlación “r”, a través de las siguientes ecuaciones. El criterio de aceptación es que $r > 0.99$.

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - \frac{\sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n}}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{n}}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i - b \sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

El coeficiente de correlación representa el grado de relación entre las variables “x”, que es la concentración del analito y “y” que representa la respuesta (lectura). Su valor máximo es la unidad.

Si “r” es cercano a cero el ajuste es pobre y la relación es débil o no existe; si “r” es cercano a la unidad, el ajuste es bueno y esto es indicativo de una fuerte relación entre “x” y “y”, significa que existe una correlación con una probabilidad elevada. Existen tablas de “r” que dan el grado de precisión del valor obtenido y el calculado. El cual se calcula en base a la expresión siguiente:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - \frac{\sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n}}{\sqrt{\left[\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}{n} \right] \left[\sum_{i=1}^n y_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n y_i \right)^2}{n} \right]}} \quad (1.1)$$

También se usa el coeficiente de determinación r^2 , el cual debe ser superior al que señala la tabla de “r” para n-2 grados de libertad.

Existen otros procedimientos para verificar la linealidad como son:

a) Coeficiente de variación de los factores respuesta (f).

El factor respuesta es la relación entre la lectura y la concentración, $f_i = y_i/x_i$. En una calibración lineal los factores respuesta deben ser semejantes entre sí y cercanos al valor de la pendiente.

El coeficiente de variación de los factores respuesta se calcula a través de la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{S_f}{\bar{f}} \times 100\%$$

Donde:

$$\Rightarrow \bar{f} = \frac{\sum_{i=1}^n f_i}{n} \quad \text{y} \quad S_f = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (f_i - \bar{f})^2}{n-1}}$$

Se considera que un valor de CV mayor que el 5% indican falta de linealidad.

b) Significación estadística de la pendiente “b” de la recta de regresión.

La pendiente “b” se llama también coeficiente de regresión. Al ser mayor el valor de “b” mayor es la sensibilidad del método. La expresión matemática de la linealidad es la varianza de la pendiente

$$S_b^2 = \frac{S_{y,x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = \frac{S_{y,x}^2}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}{n}}$$

Siendo $S_{y,x}^2$ la varianza del error experimental total, varianza residual o varianza de regresión de “y” sobre “x”, debida a la variación dentro de las series más la variación debida a la falta de

ajuste entre la recta de regresión y los datos experimentales.

El valor de $S_{y,x}^2$ se obtiene a partir de la siguiente expresión:

$$S_{y,x}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 - \frac{\left[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \right]^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}{n-2} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i^2 - a \sum_{i=1}^n y_i - b \sum_{i=1}^n x_i y_i}{n-2}$$

Para expresar la linealidad también se utiliza la desviación estándar de la pendiente S_b o la desviación estándar relativa S_{rel} (%) a través de las siguientes expresiones:

$$S_b = \sqrt{S_{y,x}^2}$$

$$S_{b,rel} (\%) = \frac{S_b}{b} 100$$

Los límites de confianza de la pendiente se expresan de la siguiente forma:

$$b = b \pm t S_b$$

Siendo “t” el valor de “t” de Student para n-2 grados de libertad y probabilidad escogida 95%
Para determinar el grado de significación de la pendiente se aplica un test “t de Student”

H0: b = 0, H1: b ≠ 0

$$t_{exp} = \frac{|b|}{S_b}$$

Siendo $t_{exp} > t_{tab}$ para $v = n-2$, se demuestra que $b > 0$ y se acepta su valor.

Pruebas de proporcionalidad (pruebas del intercepto).

El valor de de la intersección con el eje de ordenadas u ordenadas en el origen (“a”) indica el error sistemático del método. En el caso ideal debe ser cero. Los límites de confianza de “a” deben incluir el cero para que cumpla la condición de proporcionalidad.

La varianza del intercepto se determina mediante la siguiente ecuación:

$$S_a^2 = S_b^2 \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n} = \frac{S_{y,x}^2 \sum_{i=1}^n x_i^2}{\left[\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}{n} \right]} = \frac{S_{y,x}^2 \sum_{i=1}^n x_i^2}{\left[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right]}$$

Siendo $S^2_{x,y}$ la varianza o error experimental total.

S_a la desviación estándar del intercepto: $S_a = \sqrt{S_a^2}$

Límites de confianza de “a”: $a = a \pm t S$

Los límites de confianza de “a” deben incluir el cero para que cumpla la condición de proporcionalidad.

$$t_{\text{exp}} = \frac{|a|}{S_a}$$

La significación estadística de “a” se comprueba mediante un test “t de Student”.

H0: $a = 0$, H1: $a \neq 0$

Siendo $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$ para $v = n-2$, se demuestra que $a = 0$ y se acepta su valor.

2.2.2. Precisión.

Se define como el grado de concordancia entre los valores de la serie repetida de los ensayos analíticos efectuados sobre una muestra homogénea, o distribución de los valores analíticos alrededor de una media. Expresa la capacidad del método para dar resultados semejantes cuando se aplica repetidamente a una muestra.

Cuando el estudio de precisión requiere la repetición del análisis sobre una muestra incluyendo todo el procedimiento analítico, desde la preparación de la muestra hasta la lectura instrumental, se le denomina precisión del método. Si el estudio consiste en hallar la variabilidad de respuesta de una disolución patrón entonces se le denomina precisión del sistema instrumental.

La precisión mide el error aleatorio, o indeterminado de un análisis. Los parámetros de calidad de la precisión son la desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación y varianza. Estos parámetros se definen a continuación:

- ❖ Desviación estándar absoluta, S $s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$
- ❖ Desviación estándar relativa, RSD $\text{RSD} (\%) = (s / \bar{x}) * 100$
- ❖ Varianza, S^2

Dentro del término precisión del método se pueden distinguir tres tipos de estudios:

Repetibilidad: Es la medida de la precisión de un método realizado bajo las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos y en el curso de la misma serie de análisis realizados en un corto intervalo de tiempo.

Algunos autores plantean que la repetibilidad puede ser evaluada usando:

- I. Un mínimo de 9 determinaciones de la sustancia de interés variando los niveles de concentraciones especificados para el procedimiento, por ejemplo 3 concentraciones diferentes con 3 réplicas de cada una. (Apers y Tenius, 2006).
- II. Un mínimo de 6 determinaciones y calcular la media aritmética, desviación estándar (S), desviación estándar relativa y coeficiente de variación (CV).

Específicamente para los métodos cromatográficos puede evaluarse también:

Repetibilidad en la inyección: La sensibilidad es la habilidad de detectar pequeños cambios de concentración del analito en la muestra. La sensibilidad puede ser parcialmente controlada por monitoreo de la reproducibilidad de las inyecciones.

La expresión numérica de la precisión de un método analítico se expresa a través de los parámetros: Desviación estándar o Coeficiente de variación o mediante la expresión del Límite de Confianza del resultado obtenido. El estudio de precisión debe hacerse sobre muestras homogéneas.

Precisión intermedia: (reproducibilidad intralaboratorio) Precisión en condiciones intermedias entre repetibilidad y reproducibilidad. Por ejemplo, precisión con el mismo método, diferentes operadores, diferentes instrumentos y durante un intervalo de tiempo largo en el mismo laboratorio. El procedimiento estándar se basa en analizar 6 muestras diarias durante 6 días. (Apers y Tenius, 2006).

Reproducibilidad: Es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuados sobre una misma muestra pero en condiciones diferentes. Cuando la medida se realiza en laboratorios diferentes se habla de precisión entre laboratorios, por ejemplo en estudios colaborativos, estandarizaciones de metodologías, etc. (NC TS -368: 2004).

En la Regulación 41 del CECMED se plantea que los resultados de los estudios de precisión se expresarán en términos de CV (%), cuyo valor para la repetibilidad no excederá el 3% y para la reproducibilidad no excederá el 5% de la variabilidad total en ensayos físico- químicos.

Generalmente se aceptan variabilidades menores para algunos métodos como los cromatográficos (2%). (Regulación No.41- 2007; CEMCED).

Criterios de aceptación de la precisión:

1. En función de las características de la muestra (materia prima, producto intermedio o producto final) se fija el intervalo de aceptación del resultado y el número de réplicas.

2. Criterio de Horwitz

$$C. V_{teórico} = 2^{(1 - 0.5 \log C)}$$

Siendo C la concentración expresada en g/mL.

De la expresión exponencial se deduce que cuanto menos concentrado es el analito mayor será la dispersión de los resultados (el C. V).

La relación entre la precisión del método y la del sistema instrumental:

$$C. V_{método} = C. V_{sistema\ instrumental} + C. V_{otros} \text{ (Principio de aditividad de varianzas)}$$

Ya que la precisión del sistema instrumental debe ser más pequeña que la del método (debe estar por 1- 2% y se comprueba mediante la cualificación del mismo). Siendo los sumandos aproximadamente del mismo orden se debe cumplir que: $C. V_{método} = C. V_{sistema\ instrumental}$

2.2.3. Exactitud

Según la IUPAC la exactitud se define como el grado de concordancia de un resultado (o la media aritmética de un grupo de resultados) con el valor verdadero estimado o aceptado del componente químico que se está midiendo. Sobre este parámetro influye cada una de las etapas del proceso analítico, desde la toma de la muestra hasta la obtención del resultado, siendo en la mayoría de los casos la propia medida analítica la de menor influencia. Los errores sistemáticos dan lugar a desviaciones, siempre en el mismo sentido de los resultados obtenidos respecto al valor verdadero; se deben a varias causas entre las que se encuentran defectos en el método, prácticas de análisis deficientes, mal funcionamiento de los instrumentos, patrones incorrectos, efectos de matriz, presencia de contaminación, errores en la curva de calibrado, etc. El error sistemático es aquel componente del error de medida que permanece constante o varía de una manera predecible, durante el curso de un número de medidas repetidas de la misma muestra (International, Method Validation Programs; 2002). Matemáticamente la exactitud se expresa en forma de porcentaje de recuperación de la cantidad de analito presente en la

muestra, o bien en forma de diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero. El criterio de aceptación establecido es: R = 97- 103%.

Estadísticamente suele efectuarse una prueba t de Student para determinar si el valor medio hallado y el valor considerado verdadero no difieren significativamente para un grado de probabilidad determinado.

Si $t_{\text{cal}} < t_{(N-1; \alpha)}$ cuando $\alpha = 0.05$ el método puede ser considerado exacto. (Apers y Tenius, 2006).

La determinación de la exactitud puede llevarse a cabo según:

1. Análisis repetitivo de una muestra de concentración única conocida. Se analiza varias veces la muestra de concentración conocida de analito patrón y se evalúa la exactitud expresando los resultados en porcentaje respecto al teórico (recuperación), además se efectúa una prueba t.
2. Análisis repetitivo de varias muestras de concentraciones diferentes conocidas.
3. Método de adición del patrón.
4. Comparación con otro método analítico ya validado.

Expresión de la exactitud

1. Porcentaje de recuperación: $\% \text{ Recuperación} = \frac{\bar{X} - \mu}{\mu} * 100$

2. Test “t de Student”:

Consiste en la comprobación de la hipótesis de igualdad de los valores X y μ (referido en la muestra estándar empleada para evaluar el método). También puede aplicarse este criterio al valor promedio obtenido para el % de recuperación, contrastándolo con el 100% de recuperación.

Criterio “t de Student” para evaluar la exactitud:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\mu - \bar{X}|}{\frac{S}{\sqrt{n}}} \quad t_{\text{exp}} = \frac{|100 - \% \text{ Recuperación}|}{\frac{CV}{\sqrt{n}}}$$

Siendo $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$ (para la probabilidad escogida y n-1 grados de libertad).

Procedimiento experimental

- La determinación puede hacerse en disoluciones patrones preparadas en los niveles de concentraciones seleccionados (para un número de réplicas entre 6 y 10). Esta selección debe realizarse generalmente en el nivel inferior del rango de trabajo, en el centro y en el nivel superior. Se aplica el criterio “t” en cada nivel o se aplica el criterio “G de Cochran” para determinar la homogeneidad de varianzas de varios grupos muestrales del mismo tamaño (n). Si $G_{exp} < G_{tab}$ las varianzas son equivalentes y se procede a aplicar el criterio “t” para el valor medio de los % de recuperación de la totalidad de experimentos.
- Se realizan las determinaciones en disoluciones patrones preparadas simulando la matriz de la muestra (agregando el macrocomponente esencial o más de uno). Se aplica el criterio “t”.
- Se puede tomar una matriz verdadera, es decir, a una muestra añadir una cantidad conocida del analito, repitiendo el procedimiento sin añadir analito. La diferencia permitirá calcular el % de recuperación y aplicar el criterio “t de Student”. La adición de patrón se realiza al comenzar el procedimiento de análisis, o sea, que contempla todas las etapas del análisis, de lo contrario sólo se comprueba la exactitud instrumental.
- Por último se puede hacer una comparación de medias de dos grupos de determinaciones: con el método estudiado y con otro método de referencia ya validado, aplicando ambos a la misma muestra de referencia o patrón. En este caso se aplica un test de “F” para comprobar la homogeneidad de las varianzas de ambos grupos y después un test de “t” para determinar la no existencia de diferencias significativas entre los valores medios de ambos grupos.

2.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo.

Límite de detección

Es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones experimentales establecidas.

Límite de cuantificación o determinación

Es la menor concentración o cantidad de analito de una muestra que puede ser determinada con aceptable precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecidas. Numéricamente es mayor que el límite de detección y representa la menor cantidad de analito

que puede analizarse con un coeficiente de variación aceptable. Concentraciones menores pueden detectarse pero no cuantificarse.

Varios son los procedimientos que según la literatura consultada pueden utilizarse para la determinación de los límites de detección y cuantificación. (Apers y Tenius, 2006; NC TS -368. 2004).

Basado en la evaluación visual

El límite de detección es determinado por el análisis de muestras con concentraciones decrecientes conocidas del analito, estimando el nivel mínimo al cual puede ser detectado. El límite de cuantificación es generalmente determinado por este procedimiento evaluando la menor cantidad de analito que puede ser cuantificado con aceptable precisión y exactitud. (NC ISO 5725-1. 2005).

Basado en la relación señal – ruido:

Este procedimiento es solo aplicado a técnicas analíticas que presentan línea base de ruido. La determinación de la relación señal- ruido puede ser llevada a cabo por comparación de la señal de una muestra con una baja concentración conocida del analito con la respuesta de muestras en blanco y estabilizando la concentración mínima a la cual puede ser detectado el analito. Una relación señal-ruido entre 3 ó 2: 1 es generalmente considerada aceptable para estimar el límite de detección. Por su parte el límite de cuantificación se establece para una señal- ruido 10.1.

Basado en el valor de la ordenada de origen expresado en unidades de concentración:

Si la recta de calibración del ensayo de linealidad se ha confeccionado con un rango de concentraciones bajo, se admite utilizar el término independiente **b** para estimar aproximadamente el límite de detección. El límite inferior de la respuesta se toma como $3 |b| / m$. Basado en la desviación estándar de la respuesta y en la pendiente.

El límite de cuantificación o detección puede ser expresado como:

$$C_L = K * S_{bl} / b$$

Donde:

C_L = Límite de detección o cuantificación.

K= Constante (K=3 para límite de detección y K=10 para límite de cuantificación)

S_{mL} = Desviación estándar de la respuesta de los n blancos.

m= pendiente de la recta de calibración.

La pendiente puede ser estimada por la curva de calibración del analito. (Apers y Tenius, 2006)

Basado en la desviación del blanco

Analizando un número apropiado (al menos 10) de muestras blanco y calculando la desviación estándar de la respuesta. Este procedimiento es utilizado en métodos con corrección de lectura.

Frente al blanco como por ejemplo la espectrofotometría UV- VIS, espectrofluorimetría, etc, en los que la lectura de la disolución problema se obtiene por comparación con un blanco. (ICH harmonised tripartite guideline, 2007).

Basada en la curva de calibración

Realizando una curva de calibración específica para este estudio usando muestras que contengan al analito en el intervalo del límite de detección y cuantificación. La desviación estándar residual de una línea de regresión o la desviación estándar del intercepto y de la línea de regresión pueden ser usadas como desviación estándar. (NC ISO 5725-1: 2005)

Basada en ecuaciones matemáticas

A partir de la curva de calibración y aplicando ecuaciones matemáticas es posible también calcular EL LoD y LoQ del método. Vogelgesang y Hädrich (1998) proponen ecuaciones matemáticas para el cálculo de estos.

$$LoD = \frac{(y_{crit} - a)}{b}$$

Las ecuaciones son las siguientes:

Donde a representa el intercepto, b la pendiente y Y_{crítica} representa la señal de área crítica la cual se calcula de la siguiente manera:

$$y_{crit} = a + S_y \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

Donde a es el intercepto, S_y el error estándar del modelo de regresión, (t_{f; α}) distribución de t con f = n – 2 dl y α = 0.05, $\bar{x}$ =valor medio de la concentración de todos los análisis y n representa el número de determinaciones realizadas.

$$LoQ = \frac{(y_{DTM} - a)}{b}$$

Donde Y_{DTM} es el punto más bajo de la distribución gaussiana cercana a 2*LoD.

$$y_{DTM} = \bar{y} + b \cdot [2 \cdot LoD - \bar{x}] + S_{y/x} \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{2 \cdot LoD - \bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

2.2.5. Robustez

La robustez consiste en la investigación de la influencia de pequeños cambios en las condiciones analíticas sobre la fiabilidad del método, lo que permite diferenciar aquellos factores que originan fluctuaciones menores y los que necesitan una atención especial por cuanto son origen de variaciones significativas. Se puede realizar el estudio de robustez mediante diseño experimental o simplemente mediante un análisis de varianza de grupos con diferentes condiciones (como en la repetibilidad). Dentro de los factores a investigar durante un estudio de robustez en un método cromatográfico, se encuentra: envejecimiento de la columna, tipo de columna, temperatura de la columna, pH del buffer en la fase móvil, reactivos, etc.

2.2.6. Selectividad y especificidad.

Selectividad: Capacidad de medir simultáneamente sustancias químicas diferentes presentes en una muestra ofreciendo un resultado exacto.

Especificidad: Capacidad de un método analítico para medir exacta y específicamente el analito, sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados o excipientes que puedan estar presentes en la matriz.

La selectividad y especificidad se comprueba, comparando los resultados del análisis de muestras conteniendo impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas o excipientes con los resultados del análisis de muestras que no contienen dichas sustancias.

Capítulo III. Materiales y métodos

Las muestras para el análisis y tratamiento de PCBs fueron colectadas en diferentes transformadores de la Empresa de Ciclos Minerva de Villa Clara.

3.1. Muestreo de PCBs

Para la toma de la muestra se tuvo en cuenta los aspectos señalados en la norma cubana (NC ISO 445.1997) para el muestreo de líquidos. De (2 – 5 mL) de aceite se recolectan desde el fondo del grifo por gravedad, en recipientes pequeños (aproximadamente 15 mL de capacidad), limpios y transparentes con una tapa a prueba de derrames (se prefiere tapa con recubrimiento de teflón o papel de aluminio lavado con disolventes) tomándose todas las medidas de seguridad necesarias para evitar el derrame del líquido en el suelo y se rotulan apropiadamente para los posteriores análisis.

Se utiliza como equipo de protección personal guantes PVC o acrilonitrilo.

3.2. Validación del método

Después de realizar un estudio bibliográfico sobre los métodos de determinación de PCBs, fue seleccionado el método de cromatografía gaseosa. El cual será sometido a un proceso de validación parcial pues fueron introducidos cambios específicamente en el detector a utilizar y en el tiempo de desarrollo del cromatograma.

Para realizar este estudio de validación se tiene en cuenta los aspectos más críticos que pueden tener alguna influencia sobre el método a utilizar.

3.2.1. Protocolo de validación

- 1- **Factores críticos:** Se identificaron como los factores de mayor influencia sobre las características del funcionamiento del método cromatográficos los siguientes: rango de linealidad del método, desviación en la repetibilidad de la inyección, estabilidad del tiempo de retención (RT), tiempo de desarrollo y temperatura.
- 2- **Parámetros a estudiar:** Linealidad, Precisión (repetibilidad en la inyección), reproducibilidad intermedia y Límite de detección (LoD), Límite de cuantificación (LoQ).
- 3- **Muestras:** Se tiene en cuenta la forma de preparación de las muestras así como las especificaciones de calidad del patrón utilizado para la validación.

La elección de estándares para la cuantificación de PCBs se basa en un número de factores entre ellos el tipo de muestra, la disponibilidad de los compuestos de referencia, etc.

Las mezclas comerciales de Aroclors proveen muchos de los congéneres que se han determinado en muestras ambientales lo cual permite seleccionar una mezcla comercial de este tipo teniendo en cuenta la persistencia y toxicidad de los congéneres presentes en la misma, así como, las sugerencias del buro del comité de referencias sobre los congéneres a usar que se muestran en la en la figura 1.

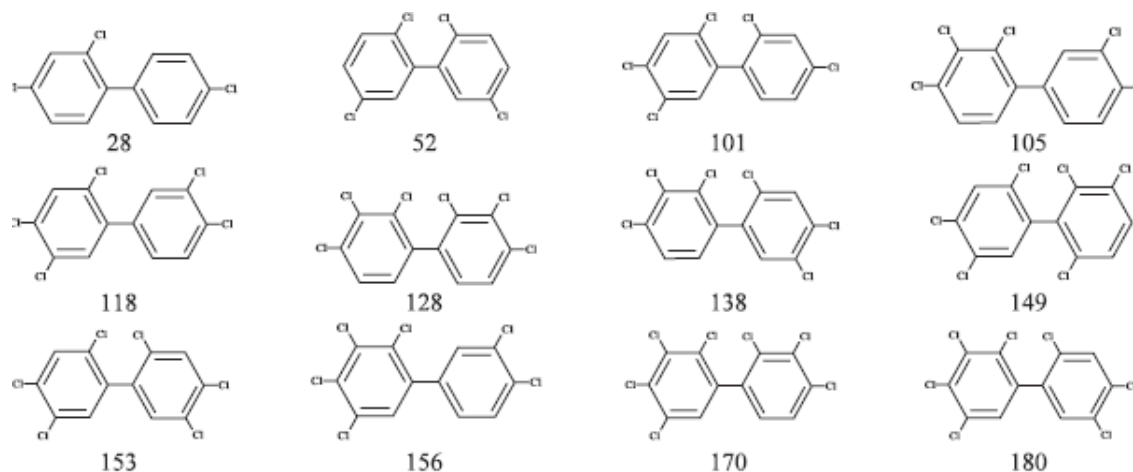


Fig.1. PCBs seleccionados para su inclusión en la certificación de programas BCR. La figura muestra debajo de la estructura el número de identificación designado por la IUPAC.

La muestra de referencia es el Aroclor 1254 (1000 µg/mL) seleccionando la misma a partir de estudios bibliográficos. Zabelina *et al* (2004) refleja en su artículo que dicho patrón es el que más similitudes presenta con las muestra de Sovtol teniendo en cuenta el número e igualdad de congéneres que ambos contienen.

a) Realizar la determinación del rango de concentración de respuesta lineal del método Analítico: Se utiliza el rango de 5 a 1000 ppm porque es el rango en que se mueven las muestras a probar.

4- Equipos e instrumentos:

-  Campana de extracción de gases
-  Cromatógrafo Gaseoso (GC-FID) Agilent 7890A

5- Método analítico: Se utiliza la cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama (FID) para la realización de los experimentos.

a) Reactivos necesarios para el desarrollo del método analítico:

- ✚ n- Hexano grado Pesticida
- ✚ Patrón de Aroclor 1254 de 1000 µg/mL en n-hexano

b) Cristalería:

- ✚ Microjeringuilla de 10 – 500 µL
- ✚ Matraces aforados de 5 y 10 mL calibrados

c) Preparación de la muestra:

Se preparan disoluciones de 5.10.25.50.100.250, y 1000 µg/mL en n-hexano a partir del patrón de Aroclor 1254.

d) Procedimiento: Las disoluciones preparadas como se indica anteriormente fueron inyectadas en el cromatógrafo de gases manualmente cinco veces cada una. Los cromatogramas fueron registrados usando el software ChemStation.

e) Expresión matemática de los resultados: Para el procesamiento de los resultados se utilizaron los programas estadísticos Statgraphic Centurion XV y Excel 2007.

f) Límites de aceptación: Según las normas internacionales para aceite de transformador la concentración límite permisible para PCBs es de 50 ppm

3.2.2. Control de la calidad:

Linealidad

Para el estudio de la linealidad de este método fue seleccionado el intervalo de concentración de 5 a 1000 ppm de Aroclor 1254 y se construyó una curva de calibración. *Procedimiento:* En una serie de frascos volumétricos se prepararon disoluciones de trabajo de concentraciones de PCBs de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 µg/mL. Seguidamente se inyectaron las muestras en el equipo y se registraron los cromatogramas correspondientes.

Al realizar la integración de los picos resultantes se obtiene como señal analítica el área bajo la curva, que se representa gráficamente en función de las concentraciones de cada disolución, obteniendo así la curva de calibración.

Fueron determinados los parámetros de la ecuación de la recta de mejor ajuste

$y=mx +b$ así como los parámetros referidos en el epígrafe 2.2.1 pertenecientes al estudio de linealidad. Como son:

- ❖ Coeficiente de correlación lineal, r.

- ❖ Intervalo de confianza de la pendiente.
- ❖ Intervalo de confianza del intercepto.
- ❖ Valor de P de la pendiente.
- ❖ Valor de P del intercepto.

También se realizó una prueba t de Student para evaluar la sensibilidad de calibrado y un análisis de varianza del modelo de regresión lineal calculando el valor de F de Fisher para comprobar si el modelo de regresión lineal es significativo estadísticamente.

Criterios de aceptación:

- Coeficiente de correlación lineal: $r \geq 0.99$
- Pendiente: $m \neq 0$
- Intervalo de confianza del intercepto: a (que contenga el cero).

Límite de detección y límite de cuantificación:

El LoD y LoQ del método de calibración fueron calculados a partir de las ecuaciones de Vogelgesang, J y Hädrich, J (1998), teniendo en cuenta los datos obtenidos en la curva de calibrado. Las fórmulas en cuestión se exponen a continuación:

$$(1) \quad LoD = \frac{(y_{crit} - a)}{b}$$

Donde: (y_{crit}) señal de área crítica, (a) intercepto y (b) pendiente.

$$y_{crit} = a + S_y \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

($t_{f;\alpha}$) distribución de t con $f = n - 2$ dl y $\alpha = 0.05$, $\bar{x}$ = valor medio de la concentración de todos los análisis, S_y error estándar del modelo de regresión.

$$(2) \quad LoQ = \frac{(y_{DTM} - a)}{b}$$

Donde Y_{DTM} es el punto más bajo de la distribución gaussiana cercana a $2 \cdot LoD$

$$y_{DTM} = \bar{y} + b \cdot [2 \cdot LoD - \bar{x}] + S_{y/x} \cdot t_{f,\alpha} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{2 \cdot LoD - \bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

$\bar{y}$ valor medio de los valores respuestas de los análisis.

Estabilidad del tiempo de retención

Para estimar la estabilidad del RT en las determinaciones de PCBs se escogió para ello un grupo representativo de los mismos (los congéneres seleccionados para la calibración). Se evalúa primeramente la movilidad del RT (MRT) mediante el % C.V del RT de los congéneres seleccionados para determinar la estabilidad en la columna de la movilidad del RT. Tanto para el estándar interno (E. I) como para el resto de los congéneres fueron determinados sus RT correspondientes en el rango de concentraciones siguientes: 1000.500.250.100.50.25 y 5 µg/mL. A cada una de las determinaciones se le realizaron tres replicas.

Criterio de aceptación:

Storr-Hansen (1993) establece un valor de tolerancia permitida para PCBs de 0.02% y del 1% para el standard interno (E. I).

Para determinar la desviación del RRT se determinó primeramente mediante la evaluación del MRT si el RT del E. I era lo suficientemente estable como para referir el tiempo de retención del resto de los congéneres al mismo. Al comprobar lo anteriormente dicho se refirieron los RT de los congéneres al standard interno a partir de los resultados de la movilidad del RT.

El tiempo de retención relativo (RRT) es definido como la relación entre el RT de cada congéner y el estándar de referencia (SR). (Eq.3)

$$(3) \quad RRT = \frac{RT_C}{RT_{SR}}$$

Donde RT_C es el tiempo de retención de cada congéner y RT_{SR} el tiempo de retención del estándar de referencia.

El RRT de cada congéner fue comparado con el promedio (Eq.4) de cada una de las determinaciones del mismo.

(4)

$$\overline{RRT} = \sum_{i=1}^n \frac{RRT}{n}$$

La desviación del RRT se obtiene mediante la diferencia entre la ecuación 3 y 4.

Criterio de aceptación:

Van Hoof y Hsieh (1996) establecen que diferencias mayores que ± 0.02 implica que el congéner presenta gran movilidad y que además su cuantificación no es representativa.

Precisión

Reproducibilidad intermedia:

Para el estudio de reproducibilidad intermedia se realizaron 6 determinaciones de un punto de la curva de calibración (500 ppm) en diferentes días, con el mismo equipo y por el mismo analista.

Para la evaluación de este parámetro se realizó un análisis mediante la comparación de la media y de la desviación estándar de los valores obtenidos en las determinaciones de los dos días para comprobar si existe o no diferencias significativas entre los mismos.

Se calcularon los siguientes parámetros:

- ✚ La media de las n determinaciones efectuadas en los dos días X_{mPI} .
- ✚ La desviación estándar de las n determinaciones S_{PI} .
- ✚ El coeficiente de variación de las n determinaciones CV_{PI} .
- ✚ El valor de la F_{cal} de Fisher a partir de un análisis de varianza para conocer si existieron o no diferencias significativas entre los resultados de los diferentes días.
- ✚ El estadígrafo G de Cochran (G), que se calcula partiendo del test de F de Fisher con el objetivo de conocer la homogeneidad de varianza en cada día por separado, para ello se computó la varianza de cada día (j) y se dividió la mayor (máxima varianza) entre la suma de todas ellas.

Cálculo del estadígrafo de Fisher “F”. CEMCED, MINSAP. (2007)

$$F = S_1^2 / S_2^2$$

Cálculo del estadígrafo de Cochran “G”. CEMCED, MINSAP. (2007)

$$G = [(S_{m\acute{a}x})^2 / \sum (S_i)^2]$$

Para el análisis de la precisión intermedia del método propuesto se consideraron como criterios los siguientes:

✚ Si $F_{cal} < F_{tab}$, se puede concluir que los resultados obtenidos en los diferentes días no difieren entre sí y el método es preciso.

✚ Si $G_{cal} < G_{tab}$, la variación del método puede considerarse igual para los rangos considerados y es un criterio a favor de la precisión del mismo.

✚ Se tomó como criterio de reproducibilidad que el CVr sea menor que un 5%. CEMCED, MINSAP. (2007)

Repetibilidad en la inyección:

Para la repetibilidad en la inyección se utiliza el punto de 250 µg/mL y se inyecta la muestra tres veces determinando el promedio del área bajo la curva para los nueve picos cromatográficos integrados manualmente (los más intensos y mejor resueltos) y referidos a tiempo de retención relativo de un “estándar interno” referido al pico más intenso (E. I) correspondiente al congénere **52** (2.2'.5.5'- tetraclorobifenilo) que aparece a los 15 minutos aproximadamente.

La repetibilidad en la inyección se evaluó mediante la determinación del porcentaje de la desviación estándar relativa (RSD). Este último valor se determinó mediante el porcentaje de la relación entre el valor de la desviación estándar y la media aritmética de cada una de las determinaciones.

$$(5) \quad RSD (\%) = \left(s / \bar{x} \right) * 100$$

Criterio de aceptación:

Se determinó un valor límite para el % RSD que este sea menor que 2 %.

3.3. Tratamiento de PCBs presentes en aceites de transformador Sovtol por un método de declorinación utilizando KPEG

Para llevar a cabo la declorinación de los PCBs presentes en la muestra de aceite de transformador se escogió el método que involucra el uso del polietilenglicolato de potasio.

Primera etapa: Reacción de formación del reactivo de descomposición KPEG.

El KOH se añade cuando el PEG alcanza la temperatura de 70°C. La reacción tiene lugar en presencia de oxígeno, es decir, se utiliza un reactor abierto. El oxígeno es necesario para la formación del reactivo de descomposición.

Cuando el hidróxido de metal alcalino y el polietilenglicol reacciona en presencia de oxígeno, la formación del reactivo de descomposición se observa rápidamente, pues la mezcla de reacción, que está inicialmente clara, toma un color ámbar oscuro

Segunda etapa: Deshalogenación de PCBs con KPEG

En un segundo reactor enchaquetado y conectado a un termostato se calienta el reactivo de descomposición (KPEG) hasta 90°C y luego se añaden los gramos correspondientes de aceite contaminado con PCBs. El reactivo (KPEG) deshalogena el contaminante para formar un éter de glicol y/o un compuesto hidrolizado y una sal de metal alcalino, que son subproductos solubles en agua.

3.3.1. Reactivos y disoluciones

Todas las disoluciones fueron preparadas a partir de reactivos puros para análisis y de calidad espectroscópica y cromatográficas, utilizando agua destilada o desionizada en correspondencia a las necesidades del experimento.

✚	n- Hexano para cromatografía.	✚	Polietilenglicol 600, p. a
✚	Hidróxido de potasio, p. a.	✚	Nitrógeno purificado.
✚	Polietilenglicol 300, p. a		

3.3.2. Equipos y cristalería utilizados

✚	Destilador de agua MULDESTOR	✚	Baño ultrasónico. 35 kHz.
✚	Campana de extracción de gases		Mod.Selecta
✚	Termostato Julabo	✚	Reactor enchaquetado de vidrio de 1L.
✚	Cromatógrafo Gaseoso (GC-FID) Agilent 7890A	✚	Vasos precipitados 100.250 mL
✚	Balanza Analítica Sartorius ± 0.1 mg	✚	Embudos separadores de 50.00 mL
✚	Agitador mecánico de varilla tipo IKA RW 20	✚	Pipeta de 5 mL
✚	Termómetro de inmersión de 0 a 100°C	✚	Micro jeringa de 10 μ L
		✚	Probeta de 25 mL
		✚	Cronómetro.

3.3.3. Cálculo del % de eficiencia en la remoción destrucción (DRE)

Al integrar cada uno de los picos correspondientes a los congéneres de PCBs presentes en la muestra de aceite de transformador, se obtiene como señal analítica el área bajo la curva de cada uno de estos.

Dicha magnitud física (área) es proporcional a la concentración del analito en la muestra por lo cual el % de la eficiencia de la remoción destrucción (DRE) puede calcularse por comparación entre el área antes del tratamiento y al finalizar el mismo.

$$DRE = \frac{A_{in} - A}{A_{in}} * 100$$

Donde:

A_{in}: Valor del área total de los picos del cromatograma del aceite Sovtol antes del tratamiento.

A: Valor del área total de los picos del cromatograma del aceite Sovtol luego del tratamiento.

3.3.4. Aplicación de diseño de experimentos en el tratamiento de PCBs

Para el estudio del tratamiento de los PCBs se utilizó un diseño de experimentos de tipo 2³ donde se estudió el comportamiento de tres variables: la relación en masa KPEG/aceite, el largo de cadena del PEG probando con dos tipos de masa molar (MM) diferentes y el uso del ultrasonido (US) aplicando una frecuencia de 35 kHz. Siendo la variable respuesta el % DRE.

Dentro de los parámetros que se mantuvieron constantes para llevar a cabo el diseño se encuentran: la velocidad de agitación en el proceso de declorinación que se mantuvo en 1000 rpm y el tiempo total de la reacción fue de 2 horas.

Diseño 2³

A continuación se muestra la matriz del diseño 2³ aplicado al tratamiento de los PCBs presentes en aceites de transformadores.

Variables

X1= relación en peso (g/g) KPEG/aceite	X2= Masa molar del PEG. (g/mol)	X3= Uso del ultrasonido.
-1 (15: 1)	-1 (300)	-1 (sin ultrasonido)
+1 (30: 1)	+1 (600)	+1 (con ultrasonido)

Matriz 2³

(X1)	(X2)	(X3)
+1	+1	+1
+1	-1	+1
-1	+1	+1
-1	-1	+1
+1	+1	-1
+1	-1	-1
-1	+1	-1
-1	-1	-1

Los resultados del diseño fueron procesados utilizando el programa Statgraphic Centurion XV.

Monitoreo y control de PCBs

Para llevar a cabo el monitoreo y control de PCBs para así comprobar a eficacia del tratamiento de dechlorinación seleccionado mediante la utilización de KPEG se aplicó un método de cromatografía gaseosa ya validado descrito anteriormente.

Las condiciones cromatográficas empleadas fueron las siguientes:

Columna capilar: HP-5 (30m x 320µm x 0.25µm i. d) 5% phenyl 95% de dimethylpolixilosane.

Gas portador: Nitrógeno.4 mL/min

Gases auxiliares: Hidrógeno y aire

Temperatura del inyector: 250°C

Temperatura del detector: 300°C

Programación de la rampa de temperatura para el horno:

Rate (°C/min)	Value (°C)	Hold time (min)	Run time (min)
	110	1	1
5	180	2	17
2	230	2	44
5	280	0	54

El volumen de muestra utilizado para la inyección fue de 1µL (modo splitless)

Para el procesamiento de los resultados se utilizaron los programas estadísticos Statgraphic Centurion XV y EXCEL 2007.

Capítulo IV. Resultados y discusión

Se comienza por determinar algunos parámetros fundamentales de validación del método cromatográfico utilizado para la determinación de PCBs en aceites de transformadores que permitan demostrar la fiabilidad del mismo para ser empleado como método de control y monitoreo durante el estudio del proceso de tratamiento.

Para realizar este trabajo se procedió primeramente a optimizar las condiciones cromatográficas pues con la programación inicial de la rampa de temperatura igual a: 50 °C *por 1 min.* 15 °C/min a 140 °C, *mantenida por 15 min.* 2.0 °C/min a 270 °C el tiempo total de la corrida del cromatograma resultaba elevado e igual a 87 minutos.

Este estudio se realizó con el Aroclor 1254 de 100µg/mL de concentración. Los experimentos se realizaron en un Cromatógrafo de Gases Agilent 7890 A con detector de ionización de llama (FID).

Condiciones cromatográficas:

✚ Columna capilar: HP-5 (30 m x 0.32 mm. 0.25 µm i. d.) 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane

✚ Temperatura del inyector: 250°C

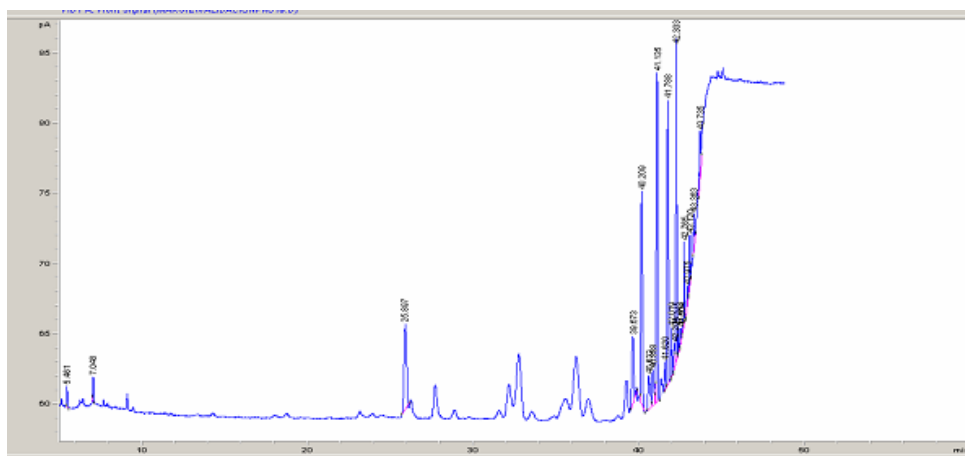
✚ Temperatura del FID: 300°C

✚ Gas portador: Nitrógeno. 4 mL/min

1 µl de muestra fue utilizada para la inyección

Solo se varía la programación de la rampa de temperatura manteniendo constante el resto de las condiciones cromatográficas.

Variación de temperatura 1: 50 °C por 1 min. 15 °C/min a 140 °C, mantenida por 15 min. 15 °C/min a 160 °C por 15 min y a 20 °C/min a 270 °C por 5 minutos. Esta corrida daba un tiempo final de 48.8 min. Los resultados aparecen en la Figura 1.



Este cromatograma presenta picos muchos más resueltos y solo un pico no aparece en la meseta del cromatograma. Se decidió entonces, aumentar la temperatura ya que a la temperatura inicial de 50 °C no aparecían picos significativos de PCBs; todos comenzaban a aparecer a partir de los 20 min de corrida.

Variación de temperatura 3: 110 °C por 1 min. 5 °C/min a 180 °C mantenida por dos minutos. 2 °C/min a 230 °C por 2 min y a 5 °C/min a 280 °C. Esta programación de temperatura del horno daba un tiempo final de 54 min. El cromatograma obtenido con estas condiciones aparece en la Figura 3.

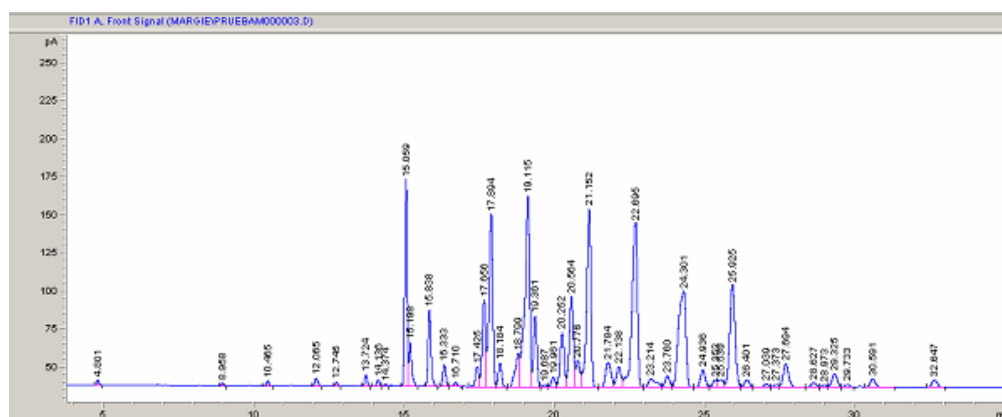


Fig.3. Cromatograma de PCBs (variación de rampa de temperatura # 3)

Como se puede observar de la figura 3 el cromatograma obtenido presenta buena resolución de los picos teniendo en cuenta que son muestras muy complejas, con varios picos de diferentes congéneres de PCBs muy difíciles de separar por su similar contenido de cloro y masa molar logrando disminuir el tiempo de corrida total del cromatograma.

Con el propósito de determinar los congéneres presentes en el patrón seleccionado se preparó una solución de Aroclor 1254 de 500µg/mL y se obtuvo el cromatograma del mismo. En la figura 4 se muestra la elución de 40 picos cromatográficos. 21 de los cuales presentan una intensidad mayor que 1% del área total por tanto estos representan el área de integración del espectro cromatográfico. Usando la biblioteca NIST02 del software Chemstation fueron identificados los compuestos de la mezcla estándar del Aroclor 1254.

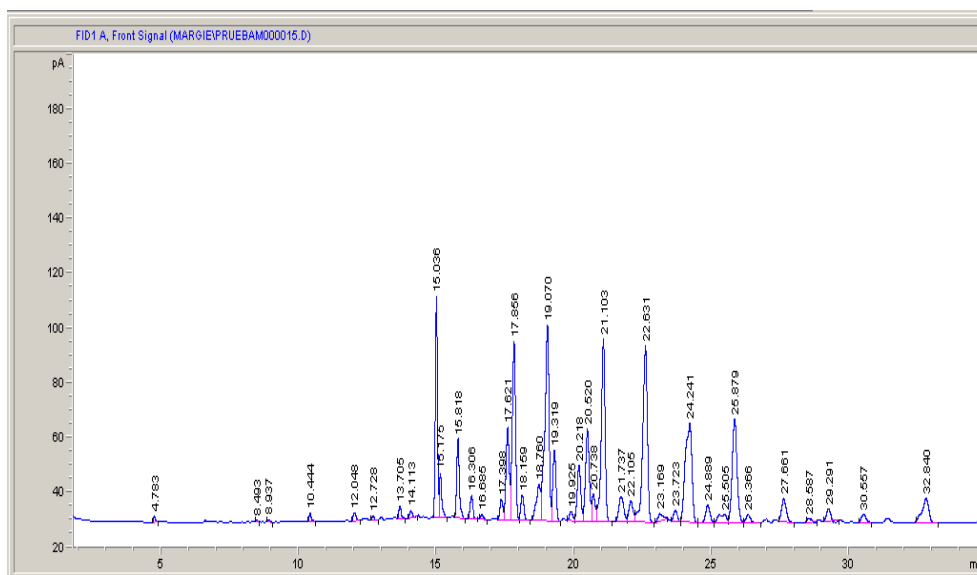


Fig.4. Cromatograma correspondiente al Aroclor 1254.

Los congéneres identificados en la mezcla, a partir del cromatograma obtenido y las condiciones cromatográficas referidas a inicio del capítulo se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Congéneres identificados en la mezcla de Aroclor 1254.

CEN PCB Mezcla de Congéneres de PCBs.

IUPAC No.	Congéner	RT	RRT	Área
18	2.2'.5-triclorobifenilo	11.391	0.79	148.47
31; 28	2.4'.5-triclorobifenilo; 2.4.4'-triclorobifenilo	13.028	0.91	295.86
52	2.2'.5.5'-tetraclorobifenilo	14.332	1.00	130.37
44	2.2'.3.5-tetraclorobifenilo	15.064	1.05	134.61
101	2.2'.4.5.5'-pentaclorobifenilo	17.973	1.25	114.60
149; 118	2.2'.3.4'.5'.6-hexaclorobifenilo;	21.328	1.49	222.23
	2.3'.4.4'.5-pentaclorobifenilo			
153	2.2'.4.4'.5.5'-hexaclorobifenilo	22.726	1.59	103.87
138	2.2'.3.4.4'.5'- hexaclorobifenilo	24.460	1.71	103.76
180	2.2'.3.4.4'.5.5'- heptaclorobifenilo	28.994	2.02	93.97
194	2.2'.3.3'.4.4'.5.5'-octaclorobifenilo	35.655	2.49	86.44

Como puede observarse, en la tabla 1 se muestran los congéneres, el número de identificación de la IUPAC y el RT al cual eluyen cada uno de los congéneres de PCBs.

La distribución de estos congéneres es de 3 tri-.2 tetra-.2 penta-.3 hexa-.1 hepta- y 1 octaclorobifenilo. Las mayores áreas aparecen entre los tri- y pentaclorobifenilos. Dentro de estos fueron identificados 8 congéneres los cuales son recomendados por el Comité de Referencia Bureau (BCR) como estándar en los programas de certificación ellos son el 28.52.101.118.153.138.149.180. Los congéneres también recomendados y que no aparecen son: 128.156, y 170.

Procedimiento para la determinación de los parámetros de validación:

Linealidad: Se realiza el cromatograma de cada uno de los patrones previamente preparados (1000.500.250.100.50.25.10.5µg/mL) con al menos tres réplicas a cada concentración.

Para la obtención de la curva de calibración con el Aroclor 1254 se seleccionaron 9 picos los cuales fueron integrados manualmente. En la figura 5 se muestran dichos picos con sus respectivos tiempos de retención y área.

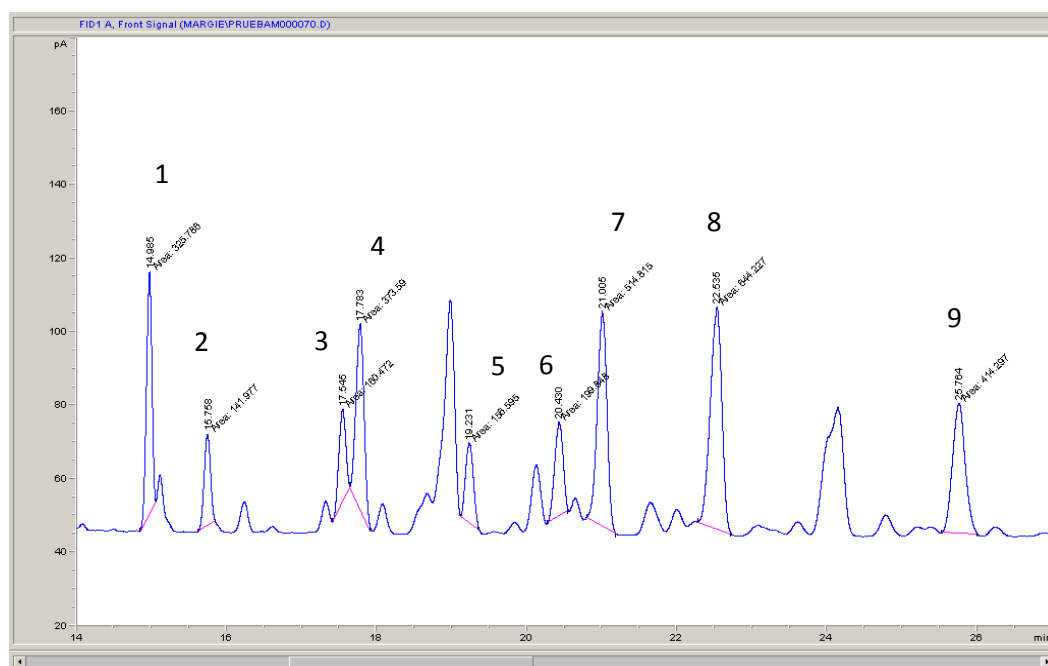


Fig. 5. Los 9 picos usados para la calibración (Aroclor 1254.500µg/mL)

La figura siguiente muestra la curva de calibración obtenida en función del área total de los picos frente a la concentración del patrón la cual corresponde a una línea recta cuya ecuación es la siguiente: $y = 6.0916 x + 0.0102$ con un coeficiente de correlación (R) de 0.9992 lo cual es indicativo de que existe una fuerte relación entre las variables (área y concentración).

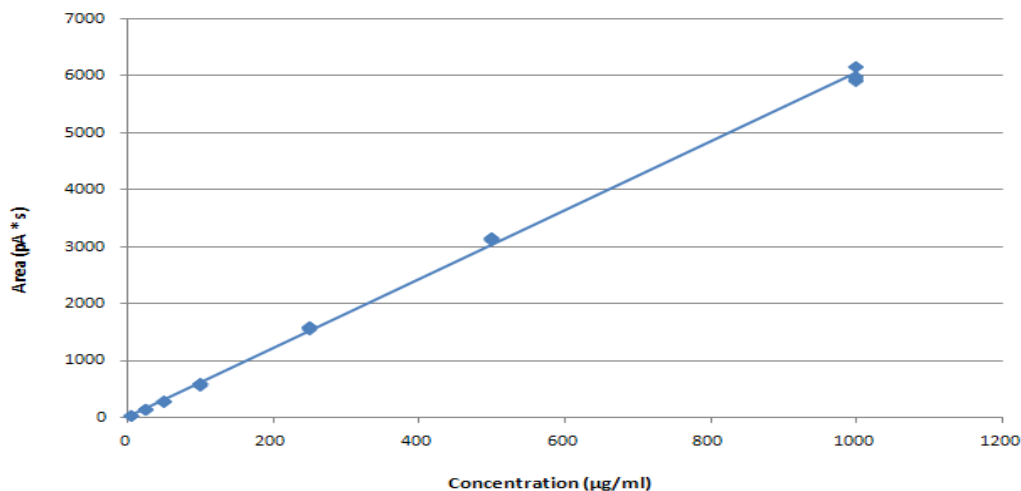


Fig. 6. Curva de calibración del Aroclor 1254.

Para la verificación estadística de la linealidad se realiza un análisis de los resultados los cuales se muestran en las tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2. Datos de la regresión estadística

R	0.999580589
R cuadrada	0.999161353
R cuadrada ajustada.	0.999138057
Error estándar	60.01254606
Observaciones	38

Tabla 3. Valores de los coeficientes a y b de la curva de calibrado.

	Coeficientes	Error estándar	T Stat	P-Value	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepto	0.0102	12.2849	0.000826874	0.9994	- 24.9048	24.9251
Pendiente	6.0916	0.029414	207.0996931	0.0000	6.03198	6.15129

El intercepto es de 0.0102 con un error estándar de 12.2849 lo que hace que el intervalo de confianza sea de -24.9048 a 24.9251 que incluye el cero. Por otra parte la pendiente de 6.0916 con un error estándar de 0.029414, su intervalo de confianza comprende de 6.03198 a 6.15129, francamente a la derecha del cero. Entonces la pendiente es altamente significativa quedando demostrada la linealidad de la curva de calibración.

Tabla 4. Análisis de Varianza

Los resultados obtenidos para el análisis de varianza se muestran en la siguiente tabla de ANOVA:

	Gl	SS	MS	F	Significance F
Modelo	1	154469597.6	154469597.6	42890.28	0.0000
Residuo	36	129654.2046	3601.505684		
Total	37	154599251.8			

El análisis de varianza demuestra que la regresión lineal es significativa siendo la ecuación del modelo ajustado:

$$\text{Área} = 0.0102 + 6.0916 \cdot \text{concentración}$$

Y se demuestra que existe una relación estadísticamente significativa entre Área y concentración con un nivel de confianza del 95%.

Límite de Detección (LoD) y Límite de Cuantificación (LoQ):

Los límites de detección y cuantificación calculados para el método fueron los siguientes:

Límite de detección (LoD): 17.0 µg/Kg

Límite de cuantificación (LoQ): 50.90 µg/Kg

Este LoD de 17.0 µg/Kg permite que la presencia de los PCBs pueda ser detectada por el método a niveles bajos de concentración.

El LoQ del método indica que solo hasta un límite de 50.90 µg/Kg pueden ser cuantificados los congéneres de PCBs con un alto nivel de confianza.

Estabilidad del tiempo de retención (RT):

Para estimar la estabilidad del tiempo de retención en los análisis de PCBs se muestra la tabla donde se exponen los resultados de la movilidad del tiempo de retención (MRT). En la tabla 3 el RTm representa la media del RT a la cual eluyen los congéneres seleccionados para el análisis y se muestra el porcentaje CV de cada una de las determinaciones.

Tabla 5. Movilidad del tiempo de retención.

Congéneres	RTm	CV (%)
1	15.757	0.0037
2	17.547	0.0043
3	17.826	0.0034
4	19.288	0.0043
5	20.492	0.0044
6	21.067	0.0042
7	22.423	0.0042
8	25.850	0.0032
E.I	14.975	0.2000

Durante los análisis el % CV para la mayoría de los congéneres se encuentran por debajo de 0.01% excepto para el pico correspondiente al estándar interno (0.2%). Storr-Hansen (1993) establece un valor de tolerancia permitida para PCBs de 0.02% y de 1% para el E. I dado por la influencia que puedan tener sobre este los picos correspondientes a congéneres menos abundantes. Por tanto, puede decirse que el MRT es estable en la columna.

Por otra parte, el RRT requiere de un RT del estándar interno muy estable. EL E. I un CV de 0.2% por debajo del 1% por lo cual puede ser usado en la determinación de de la desviación del RRT. La desviación del RRT es la diferencia entre la ecuación 3 y 4 (págs. 51, 52). Esta diferencia debe ser cero o cercana a este valor. Diferencias mayores que ± 0.02 implica que el congéner presenta gran movilidad y que además su cuantificación no es representativa. Van Hoof y Hsieh (1996)

La tabla 6 muestra la desviación del RRT de los congéneres incluidos en la curva de calibrado.

Tabla 6. Desviación del RRT

Congéneres	Disoluciones (ppm)							
	5	10	25	50	100	250	500	1000
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.000	0.003	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.002	0.000	0.004
5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
7	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000
8	0.004	-0.003	-0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Como puede observarse a partir de los resultados obtenidos la desviación del RRT cumple con el criterio fijado ya que los valores mostrados de la desviación son cero o lo suficientes cercanos a este valor por lo cual podemos decir que la RRT, es consistente y muestra una baja movilidad

Precisión:

Repetibilidad en la inyección:

La repetibilidad en la inyección fue obtenida a partir de la determinación del porcentaje de la desviación standard relativa para los 9 picos seleccionados para el análisis. Los resultados fueron obtenidos a partir del Aroclor 1254 (250 µg/mL) los cuales se muestran en la tabla a continuación:

Tabla 7. Resultados de la repetibilidad en la inyección.

TRR	Area, replica 1 (pA*s)	Area, replica 2 (pA*s)	Area, replica 3 (pA*s)	Promedio	Desviación estándar	Desviación estándar relativa
1.00	195.2	202.8	192.4	196.8	5.36	0.0272
1.05	82.2	83.9	82.4	82.8	0.93	0.0113
1.17	86.5	86.7	85.9	86.4	0.43	0.0050
1.19	224.3	225.4	212.6	220.7	7.12	0.0322
1.28	86.7	93.1	89.5	89.8	3.22	0.0358
1.36	115.9	120.7	117.5	118.1	2.43	0.0206
1.40	278.0	295.1	277.7	283.6	9.99	0.0352
1.50	333.3	355.1	331.8	340.1	13.02	0.0383
1.17	196.9	219.4	211.6	209.3	11.44	0.0546
Área Total	1599.0	1682.2	1601.3	1627.5	47.38	0.0291

Como puede observarse a partir de los datos del por ciento de la desviación standard relativa (% RSD) obtenidos puede considerarse una buena repetibilidad en la inyección teniendo en cuenta que los valores de cada uno de los picos tomados para la calibración es menor que 0.05%. Valores mayores implicarían serios errores en la determinación de PCBs.

Reproducibilidad intermedia

En la tabla 8 se muestran los resultados experimentales obtenidos para la precisión intermedia evaluados por un mismo analista en diferentes días.

Tabla 8. Resultados de la evaluación de la precisión intermedia.

	Día 1	Día 2	CV_{TOTAL} (%)
	Área (pa*s)	Área (pa*s)	
500ppm	3107.0	3163	0.72
	3152	3115	
	3129.3	3151.3	
CV (%)	0.72	0.80	

Donde:

$$F_{\text{CAL}} = 0.806, F_{\text{tab}} (2,0.05) = 4.303$$

$$G_{\text{cal}} = 0.5537, G_{\text{tab}} (2, 2,0.05) = 0.9750$$

Al comparar las medias correspondientes a cada uno de los días, se aprecia que se cumple la hipótesis nula donde: media 1 = media 2. Es decir, no hay diferencias significativas entre las medias de ambas muestras.

De igual forma, al comparar los valores de F obtenidos se evidencia que:

➤ Como la $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$ se demuestra que no existen diferencias significativas en las desviaciones estándar de ambas muestras.

Como el valor del estadígrafo G de Cochran obtenido es menor que el tabulado, se demuestra que no existe variación del método entre los días, comprobando la buena precisión del mismo. (Ver anexo 2)

Se observa también que los coeficientes de variación obtenidos para cada uno de los días y el coeficiente de variación total de ambas muestras son bajos e inferiores al 5% lo que demuestra que existe buena reproducibilidad intermedia.

Teniendo en cuenta el cumplimiento de los criterios evaluados para la precisión intermedia, la técnica analítica por GC- FID para la determinación de PCBs es precisa en las condiciones estudiadas.

Tratamiento de PCBs presentes en aceites de transformador:

Después de realizada la validación parcial del método y comprobados a través de diferentes parámetros que el mismo es fiable, se procede entonces a aplicarlo en el monitoreo y control de los PCBs durante el tratamiento de los mismos presentes en aceites de transformadores.

Los aceites de tipo Sovtol constituyen fundamentalmente una mezcla de tetra y pentaclorobifenilos que se encuentran a su vez mezclados con 1.2.4 triclorobenzenos específicamente en una relación de 9:1.

El método escogido para el tratamiento de los PCBs presentes en el aceite de transformador es mediante el uso de KOH/PEG el cual es un método de declorinación a fin de eliminar en lo mayor posible la toxicidad de estos y poder reutilizar y reciclar el aceite.

Resultados del diseño de experimentos 2³ para el tratamiento de PCBs de aceites de transformadores mediante el uso del reactivo KPEG:

En el diseño 2³ aplicado al tratamiento de PCBs con KOH/PEG se evaluaron las siguientes variables:

X1 = KPEG/aceite		X2 = (MM) PEG		X3 = US	
-1	15: 1	-1	PEG 300	-1	Sin US
1	30: 1	1	PEG 600	1	Con US
Y1		DRE de PCBs a las 2 horas			
Y2		DRE de PCBs a las 2 horas, réplica			

Tabla 9. Resultados del diseño de experimentos 2³

	Experimental desing 2 ³			Y1	Y2	Average	std dev	std dev/Av
	X1	X2	X3					
1	+1	+1	+1	80.40	79.75	80.08	0.46	0.0057
2	+1	-1	+1	84.95	81.49	83.22	2.44	0.0294
3	-1	+1	+1	53.69	58.64	56.17	3.50	0.0623
4	-1	-1	+1	70.75	65.30	68.02	3.86	0.0567
5	+1	+1	-1	88.71	88.39	88.55	0.22	0.0025
6	+1	-1	-1	85.53	81.31	83.42	2.98	0.0358
7	-1	+1	-1	52.64	53.90	53.27	0.89	0.0166
8	-1	-1	-1	65.27	69.13	67.20	2.73	0.0407

Análisis estadístico:

Un análisis de los resultados revela que el modelo de la regresión múltiple lineal describe una relación entre el % DRE y las tres variables independientes. La ecuación del modelo ajustado es la siguiente:

$$\% \text{ DRE} = 72.4906 + 11.3256 \cdot \text{KPEG/aceite} - 2.97562 \cdot \text{PEG} - 0.619375 \cdot \text{US} + 3.47187 \cdot \text{KPEG/aceite} \cdot \text{PEG} - 1.54937 \cdot \text{KPEG/aceite} \cdot \text{US} - 0.775625 \cdot \text{PEG} \cdot \text{US} - 1.29312 \cdot \text{KPEG/aceite} \cdot \text{PEG} \cdot \text{US}$$

En la tabla 10 y Fig 7 se observa que existe una influencia estadísticamente significativa para las variables A y B en relación con el % DRE a un nivel del 95% de confianza, excepto para la variable US ya que el valor- P en este caso es mayor que 0.05 por lo cual no es significativa.

Tabla 10. Análisis de Varianza para % DRE.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Media cuadrada</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
A: KPEG/aceite	2052.32	1	2052.32	325.13	0.0000
B: PEG	141.67	1	141.67	22.44	0.0015
C: US	6.13801	1	6.13801	0.97	0.3530
AB	192.863	1	192.863	30.55	0.0006
AC	38.409	1	38.409	6.08	0.0389
BC	9.62551	1	9.62551	1.52	0.2519
ABC	26.7548	1	26.7548	4.24	0.0735
Error total	50.4986	8	6.31232		
Total (corr.)	2518.27	15			

También se observa que la interacción entre las variables AB y la interacción entre la variable AC son significativas estadísticamente excepto las interacciones entre las variables BC y ABC.

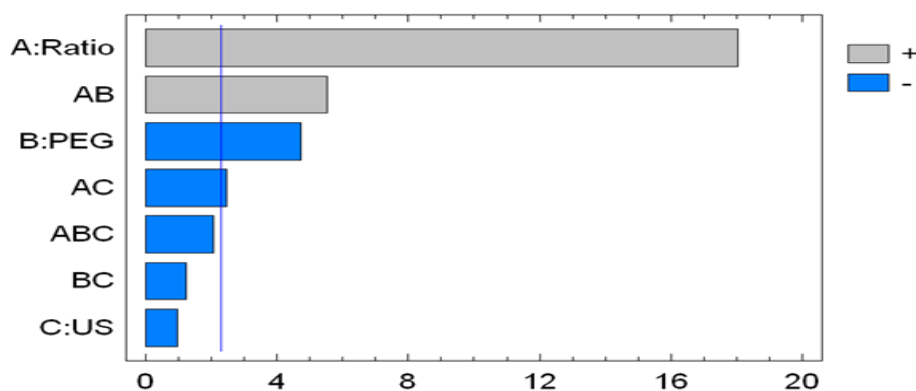


Figura 7. Gráfico de Pareto.

En el siguiente gráfico se evidencian los efectos principales de cada variable sobre el % DRE al variar los niveles de cada una de ellas. En este se corrobora que la relación KPEG/aceite es la variable que evidencia una mayor influencia significativa en el comportamiento de la variable dependiente. La variable PEG muestra un efecto negativo al incrementar la masa molar del PEG desde 300 a 600 g/mol. Esto último puede ser atribuido a la baja intensidad ultrasónica (**35 kHz**) y a la alta viscosidad de la mezcla reaccionante utilizada en este estudio. Y a medida que se aumenta la masa molar del PEG disminuye el porcentaje de remoción destrucción de PCBs.

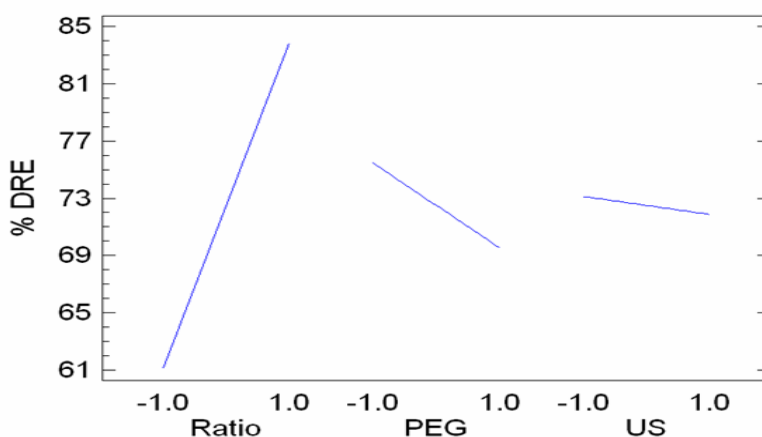


Figura 8. Gráfico de efectos principales de cada variable sobre el % DRE.

En la figura 9 se muestra el efecto de la relación KPEG/aceite manteniendo constante durante cada corrida las otras dos variables, en la corrida 1 la relación KPEG/aceite (30:1) y en la corrida 3 la relación KPEG/aceite (15:1).

En ambas corridas los picos correspondientes a los congéneres de PCBs de más alta masa molar no se observan en el cromatograma pues estos compuestos altamente halogenados tienden a convertirse en moléculas de bajo número de átomos de cloro.

En la corrida 3 el área total para el congéner número 52 y otros es mucho mayor (8764.86 pA*s) que en la corrida 1 (3709.3 pA*s) cuando se utiliza la relación KPEG/aceite en la proporción 30:1 observándose un valor de la eficiencia en la remoción destrucción más pequeño (ver Tabla 9). Este bajo valor se encuentra de acuerdo a lo aclarado en la bibliografía, específicamente en De Filippis's (1999) y Kastanek (2005) donde se reporta que a bajos valores de relación KPEG/aceite se observan bajos valores de eficiencia en la remoción destrucción.

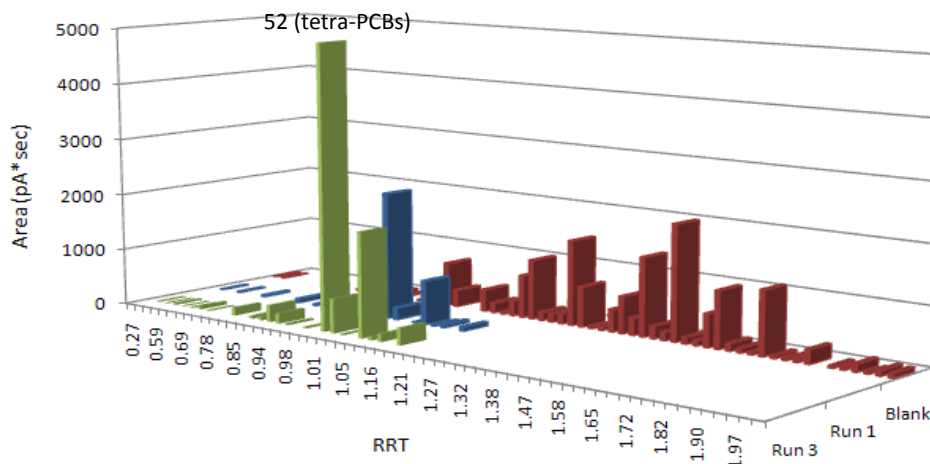


Figura 9. Efecto de la relación KPEG/aceite : Cromatograma en 3D del aceite Sovtol tratado en la corrida 1 y 3 durante 2 horas

Al comparar los cromatogramas para la corrida 1 y la corrida 2 (efecto del largo de cadena del PEG, **figura 10**), manteniendo constante durante cada corrida las otras 2 variables, se observa que para la corrida 2 (PEG de 300 g/mol) dos congéneres de alta masa molar aparecen en el cromatograma a las dos horas de reacción lo cual desde el punto de vista de eliminación (en lo mayor posible) de la toxicidad del compuesto resulta desfavorable, aunque el área total luego del tratamiento es mucho más pequeña (2849.44 pA*s) que en el caso en que se utiliza el PEG de masa molar 600 g/mol (3709.3 pA *s).

Una explicación para este hecho puede ser la siguiente: El PEG de 300 g/mol es relativamente pequeño en comparación con el PEG de 600 g/mol por lo cual puede sustituir más de un átomo de cloro al mismo tiempo debido a la mayor movilidad del mismo.

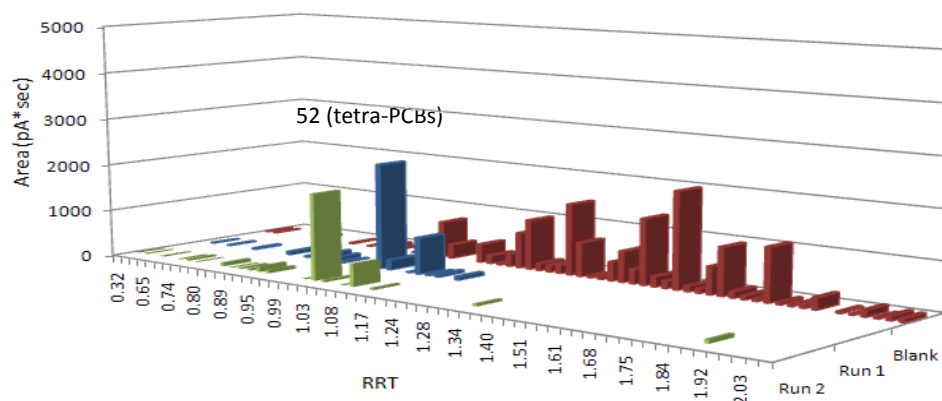


Figura 10. Efecto PEG: Cromatograma en 3D del Sovtol tratado en la corrida 1 y 2 a las 2 horas.

En los cromatogramas correspondientes a la corrida 1 y la corrida 5 (efecto del ultrasonido, **figura 11**) se muestra un comportamiento similar. En los cromatogramas se observa que tanto en el caso que se utiliza el US y en el contrario, se evidencia la desaparición de congéneres altamente clorados aunque el efecto del US parece no tener un efecto de mayor eficiencia sobre la dechloración. Este último comportamiento puede deberse a la baja frecuencia de ultrasonido utilizada en el experimento (35 kHz).

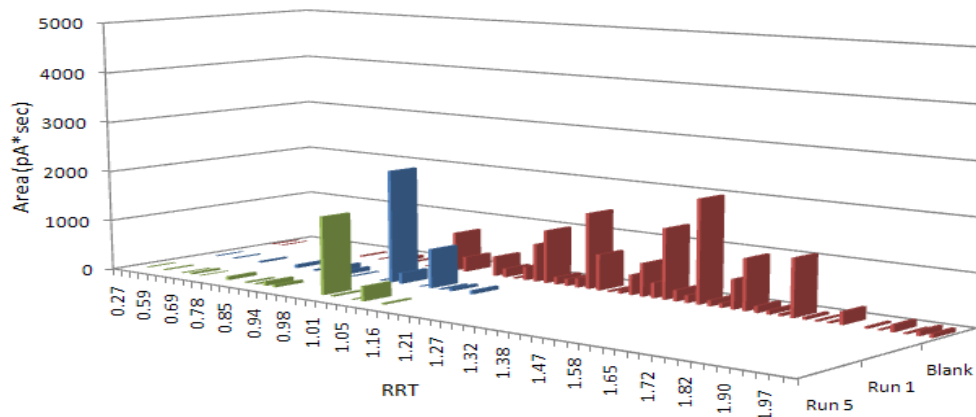


Figura 11. Efecto US : Cromatograma en 3D del Sovtol tratado en la corrida 1 y 5 a las 2 horas.

Este comportamiento resulta ser favorable de manera general, teniendo en cuenta que los compuestos más clorados son los más tóxicos y los de mayor impacto medioambiental por lo cual desde este punto de vista los efectos de cada variable resultan favorables sobre la desaparición de los mismos.

Conclusiones

- Las condiciones establecidas para el método GC-FID provee una separación eficiente de los congéneres seleccionados para la calibración, lo cual es corroborado por la poca variabilidad (± 0.003) en la desviación del tiempo de retención.
- Las características analíticas de la calibración obtenidas en el estudio de validación presenta una buena linealidad con un Límite de detección y un límite de cuantificación que permite la identificación y cuantificación de PCBs a concentraciones tan pequeñas como 17 $\mu\text{g/Kg}$ y 50 $\mu\text{g/Kg}$ respectivamente.
- El método muestra una buena repetibilidad en la inyección corroborada por un CV menor que el 0.05%, estabilidad en el tiempo de retención con un CV menor que 0.01% en todos los análisis y una reproducibilidad intermedia con un CV menor que el 5%.
- El método de decoloración estudiado presenta una alta eficiencia en el tratamiento de los PCBs y en especial sobre los congéneres más altamente clorados, los cuales presentan mayor toxicidad. Por tanto se minimiza el impacto negativo que provocan estos sobre el medio ambiente.
- Los mejores resultados en el porcentaje de DRE (88.55%) se obtienen cuando la relación de KPEG/aceite es de 30: 1 (g/g) y cuando se utiliza el PEG de masa molar 300 g.mol^{-1} .
- Del análisis estadístico del diseño puede decirse que la remoción de PCBs se ve fuertemente afectada por la relación KPEG/aceite, masa molar del PEG y la interacción KPEG/aceite- PEG, en este orden. Sin embargo, la utilización de US y la interacción US-PEG no parecen tener una influencia significativa.
- Los reactivos químicos PEG y KOH utilizados en este estudio son relativamente baratos y el sistema de reactor con que se opera es simple y seguro y no requiere precauciones especiales.

Recomendaciones

- Continuar trabajando en optimizar los factores masa molar del PEG e intensidad del US que son los más promisorios para aumentar la efectividad del tratamiento mediante el proceso de dechlorinación KPEG.
- Evaluar la toxicidad de los productos de la reacción del proceso de tratamiento.

Referencias bibliográficas

- Agote, I. 2003. PCB: Tecnologías de Tratamiento y Disposición Final.
- Alencastro, L. F. 2004. PCB Inventories: Practicalities and the State of Knowledge. Laboratory and Field Analysis. Geneva.
- Al-Sheikhly, M., I. Jones. 2003. Dechlorination of Polychlorinated Biphenyls in Industrial Transformer Oil by Radiolytic and Photolytic Methods. *Environmental Science and Technology*. <http://www.ois.nist.gov/nistpubs>
- AOAC International, Method Validation Programs. 2002. Peer Verified Programs. Gaithersburg, Maryland: USA. En [http://aoac.org/vmeth/peerverimtd\[1\]. htm](http://aoac.org/vmeth/peerverimtd[1].htm)
- Apers, S., M. Thenius. 2006. Validation (ICH). Laboratory of Pharmacognosy. University of Antwerp. Belgium. Monografías de curso impartido en la UCLV.
- Aries, E., D. R. Anderson, N. Ordsmith, K. Hall, R. Fisher. 2004. Development and validation of a method for analysis of dioxin – like PCBs in environmental samples from the steel industry. *Chemosphere*. 54 (1).
- Astorquiza, A. 2000. Bifenilos Policlorados (PCBs). La Necesidad de una Política de Estado. <http://www.ecofield.com.ar>
- ATSDR. 2004. Reseña toxicológica de los bifenilos policlorados (PCBs). Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Atlanta.
- AVR – Industrial Waste – Berenschot – Meurs. 2004. Tratamientos Tecnológicos. Metodología del Inventario PCBs Final. Versión 1, Mayo.
- Barbarasa, I. 2004. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Impact on the Human Health and Environment in the Republic of Moldova. The 2004 Younger European Chemist's Conference. <http://www.usm.md>
- Bianco, G., G. Novarioa, D. Bochicchiob, G. Anzilottab, A. Palma, T. R. Cataldia. 2008. Polychlorinated biphenyls in Polychlorinated biphenyls contaminated soil samples evaluated by GC–ECD with dual-column and GC–HRMS.
- Bravo S. J., S. A. Giraldo, A. Centeno y M. E. Páez. 2000. Catalizadores para la Purificación de Aguas Industriales que Contengan Compuestos Resistentes a la Biodegradación. Centro de Investigaciones de Catálisis. Universidad Industrial de Santander, Colombia.

- Chang, I. L. & M. S. Klee. 1998. Validation Analysis of EPA CLP Target Organochlorine Pesticides with the Agilent 6890 Series GC and Micro-ECD. Gas Chromatography. February.
- Charlier, C., N. Dubois, S. Cucchiaro, G. Plomteux. 2003. Analysis of Polychlorinated Biphenyl Residues in Human Plasma by Gas Chromatography and Eth, Mass Spectrometry. : *Journal of Analytical Toxicology*. 27 (2).
- De Filippis, P., M. Scarsella, F. Pochetti. 1999. Dechlorination of polychlorinated biphenyl: a kinetic study of removal of PCBs from mineral oil. *Ind Eng Chem Res* 38 380–384.
- Díaz, A., L. Fernández, *et al.* 2000. Efectos de los Poluentes Orgánicos Persistentes sobre la Reproducción. Monografía. Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva.
- Domènech, X., W. F. Jardim. & M. I. Litter. 2000. Procesos de Oxidación Avanzados para el Tratamiento de Contaminantes Orgánicos en Aguas Residuales.
- EPA METHOD 9079. 1996. Screening Test Method for Polychlorinated Biphenyls in transformer oil.
- EPA. 2000. Evaluation of Field Polychlorinated Biphenyls (PCB) Detection Technologies.
- EPA/600/4-81-045. 1982. Test Method: The Determination of Polychlorinated Biphenyls in Transformer Fluid and Waste Oils. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- Finch, S. 1990. Alternative Methods of PCB Analysis. <http://www.dexsil.com>
- García, O. F. y A. Santos. 2000. Oxidación Catalítica de Compuestos Fenólicos en Aguas Residuales. Dpto. de Ingeniería Química, Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- Herceg, R. S., B. Krauthacker. 2002. Validation of a method used for determination of 20 PCB congeners in air samples. Portschach Worthersee.
- Hong, J. E., E. Pyo, S. Park, y W. Lee. Visitada en Diciembre del 2004. http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6TF4-4F1J8PY-4-1&_cdi=5216&_user=10&_orig=search&_coverDate=02%2F28%2F2005&_sk=994689997&_view=c&_wchp=dGLbVlb-zSkWA&md5=645c76fd10f8eef6065242ff8ad27b90&ie=/sdarticle.pdf

- <http://es.wikipedia.org/wiki/Bifenilospoliclorados> Bifenilos Policlorados. Wikipedia, la Enciclopedia Libre.
- <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp17-c7.pdf> PCBs. Analytical Methods.
- <http://www.medioambiente.gov.ar/residuos-peligrosos/pcb.htm> Unidad de Residuos Peligrosos. La Gestión de los PCBs en Argentina. Preguntas más Frecuentes. Ministerio de Salud y Medioambiente. 2000.
- <http://www.monografias.com/cgi-bin> Bifenilos Policlorados – PCBs
- <http://www.nttworldwide.com> Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Analysis.
- <http://www.racetox.chemi.muni.cz> Sources and Production in CEE Countries. Research Center for Environmental Chemistry and Ecotoxicology. RACETOX TOCOEN AND ASSOCIATES, Brno 06.02. 2006.
- <http://www.sigma-aldrich.com> Note 67 Application. Solid Phase Extraction of PCBs from Transformer Oil, and Analysis by Capillary GC. Supelco 1998.
- <http://www.utoronto.ca/safety/pcb.htm> Standard Operating Procedures for the Handling of Generated Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Wastes. University of Toronto Environmental Protection. September 2004.
- <http://www.zeus.dci.ubiobo.cl/electricidad> Askareles.
- Hua, I. 1998. An Investigation of Homogeneous and Heterogeneous Sonochemistry for Destruction of Hazardous Waste. Final Report and Accomplishments to Date. Purdue University, School of Civil Engineering.
- ICH harmonised tripartite guideline. 2007. Validation of analytical procedures methodology, <http://www.eudra.org/emea.html>, visitada en Octubre.
- Jones, H. 2000. Electrical Equipment Containing PCBs. Emission Inventory Guidebook.
- Kastanek, F. & K. Kastanek. 2005. Combined decontamination process for waste containing PCBs. Journal of Hazardous Materials B117. 185–205.
- Kimbara, K., T. Hayakawa, & M. Shimura. 1998. Remediating PCB Waste Using Microorganisms. Japan Railway and Transport Review.
- López, E., F. Díez, S. Ordóñez. 2001. Contaminación por bifenilos policlorados. Problemática medioambiental y tratamiento. Dpto. De Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente. Universidad de Oviedo.

- Luscombe, D. 2001. Non-incineration PCB Destruction Technologies. Greenpeace International.
- Mahon, J. D., D. Balog, A.C. Lynn & T. B. Lynn. 2002. In-field Screening Techniques for PCBs in Transformer Oil: US-EPA Field Trial Results for the L2000DX Analyzer. Dexsil Corporation, Hamden, CT, USA Presented at the 2002. Meeting of MY TRANSFO in Torino, Italy.
- Martinelli, M. 2003. Equipos, materiales y sustancias con Bifenilos Policlorados (PCBs). <http://www.gerenciambiental.com.ar>
- Mc Dowael, R., C. Boyle & B. Grahah. 2003. Review of Emerging Innovative Technologies for the Destruction and Decontamination of POPs and the Identification of Promising Technologies for Use in Developing Countries. International Center for Sustainability Engineering and Science. New Zealand.
- Mecozzi, M., R. Acquistucci, M. Amici. 2003. Prediction of Gas Chromatographic Retention Times of Polychlorinated Biphenyls by Mono – Dimensional Molecular Descriptors and Multivariate Techniques. *Chromatographia Supplement*. Vol.57.
- Mendoza, A., P. Caballero, J. A. Villarreal, R. Viramontes. 2006. Performance of semi-industrial scale gasification process for the destruction of polychlorinated biphenyls. *JOURNAL OF THE AIR AND WASTE MANAGEMENT ASSOCIATION*.56(11): 1599-1606.
- Mincher, B. J., R. C. Curry, R. Brey. 2000. Method to simultaneously improve PCB radiolysis rates in transformer oil and to close the chlorine mass balance. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY* 34 (16): 3452-3455.
- Murena, F., E. Schioppa, F. Gioia. 2000. Catalytic hydrodechlorination of a PCB dielectric oil. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY* 34 (20): 4382-4385.
- Mussini, R. 1998. Bifenilos policlorados - PCBs. Otra preocupación ambiental y un nuevo desafío analítico. Laboratorios IACA. <http://www.iaca.com.ar>
- NC ISO 5725-1: 2005. Exactitud (veracidad y precisión) de un método de medición y resultados- Parte 1: Principios generales y definiciones (ISO 5725-1: 1994, IDT)
- NC TS -368: 2004. Guía para la validación de métodos de ensayo químicos para alimentos.
- Norma CISCOE 03/10/00. Determinación de Bifenilos Policlorados en Líquidos Aislantes.

- Okuyama, A., H. Takenaka, K. Nishi, H. Mizukami, S. Kozaki, M. Kirihata, K. Miyatake, H. Takigami, S. Sakai, M. Morita. 2002. Development of enzyme – linked immunosorbent assay for the pre- screening of coplanar polychlorinated biphenyls. *Bioanalysis. Organohalogen Compounds*. Vol.58.
- Oliveira, F. M., T. M. Tavares & M. Beretta. 2000. PCBs (Arochlor™ 1242. 1254 and 1260) in water and mussels by GC-MS-MS (Varian – SATURN 2000).
- Olivero, S. 2003. Bifenilos Policlorados (PCBs) “Historia y Antecedentes”.
- Pérez, V. y L. Feliz. 2002. Lo que Usted debe Saber sobre el Askarel.
- Qin, H. F., H. Y. Bao, A. D. Liu & X. G. Hou. Photodegradation of 4-chlorobiphenyl in hexane UV irradiation. *CHINISE JOURNAL OF CHEMISTRY* 24(3): 355-359.
- Regulación No.41-2007, Validación de métodos analíticos. CEMCED, MINSAP. 2007.
- Renan E. C. & S. M. Gallardo. 2002. Analysis of Polychlorinated Biphenyls using Gas Chromatography-Electron Capture Detector. *HWTM Newsletter*, Vol.4. Salle University, Manila, Philippines.
- Report EPS 1/RM/3. Reference Methods for the Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCBs)., March 1997.
- Sako, T. T. Sugeta, K. Otake, M. Okano, A. Negishi & C. Tsurumi. 1999. Dechlorination of PCBs with Supercritical Water Hydrolysis. *Journal of Chemical Engineering of Japan*.32 (6), pp.830-832.
- Saldivia F. G. 1993. Askareles. <http://www.zeus.dei.ubiobio.cl/electricidad/>
- Santamarta, J. 2000. Contaminantes Orgánicos Persistentes. <http://www.nodo50.org/worldwatch>
- Seok, J., J. Seok, K. Y. Hwang. 2005. Thermo-chemical destruction of polychlorinated biphenyls (PCBs) in waste insulating oil. *JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS* 124 (1-3): 133-138.
- Storr-Hansen, E. 1993. in: *Enviromental Analytical Chemestry of PCBs*, Vol. 16, Albaigés J., Ed., Gordon and Breach Sci. Pub., Singapore. 24-38.
- Strand, S. E. S. 2002. Aerobic Biodegradation of Polychlorinated Biphenyls. CEWA, ESC, MICRO 518.

- Szyrwinska, K., J. Lulek. 2006. Validation of an analytical procedure for selected polychlorinated biphenyls determination in sediment sample. *J. of Environ. Stud.* 15(4).
- UNEP. 2000. Survey of Currently Available No- Incineration PCB Destruction Technologies. August.
- Valle, E., M. G. Cruz. 1997. Problemática de los Bifenilos Policlorados (PCBs) en México. Septiembre - Octubre. <http://www.netscape.com>
- Van Hoof, P., J. -L. Hsieh. 1996. in: *Nat. Oc. Atmosph. Admin*, Standard Operation Procedure GLERL-M-501-02.
- Vogelgesang, J., J. Hädrich. 1998. *Accred. Qual. Assur.* 3. 242-255.
- Wong, K. H., P. K. Wong. 2006. Degradation of polychlorinated biphenyls by UV-catalyzed photolysis. *HUMAN AND ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT* 12 (2): 259-269 APR 2006.
- Zabelina, O., T. Gorbunova, M. Pervova, V. Kirichenko, A. Zapevalov, V. Saloutin & O. Chupakhin. 2004. Reactivity of Congeners of Sovol Technical Mixture of Polychlorinated, Biphenyls toward Sodium Methoxide. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 77 (9).
- Zhang, G. M. & I. Hua. 2000. Cavitation chemistry of polychlorinated biphenyls: Decomposition mechanisms and rates. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY* 34 (8): 1529-1534 APR 15.

Anexos

Anexo 1

Tabla de datos y valores relacionados con el cálculo del LoD y LoQ del método analítico GC-FID para la determinación de PCBs.

Concentración (µg/kg)	Área (pa*s)		
5	25.6	25.6	25.5
10	49.5	49.1	48.6
25	138.9	138.3	137.3
50	278.2	282.2	280.9
100	572.9	553.4	567.9
250	1575.3	1574	1540.5
500	3152	3151.5	3136.5
1000	5960.8	6161.4	6151.0

Primeramente, se comprueba manualmente el número de observaciones, para chequear datos de x_i (concentración) y de y_i (área) donde $X_i=38$ y $Y_i = 38$.

X_i media=254.737 y Y_i media=1551.7748. Siendo la media cuadrada de todas las concentraciones $(X_{media})^2$ igual a 64890.86 y la suma de errores cuadrados de todas las concentraciones $((n-1)*Var(x))$ igual a 4162697.37.

Teniendo que:

Intercepto de la calibración lineal del procedimiento analítico: $a=0.010$

Pendiente de la calibración lineal del procedimiento analítico: $b=6.092$

Desviación estándar residual: $S_y = 60.01254606$

Cálculo de T para $n-2$ grados de libertad y alfa 0.05: $T(n-2, 2*\alpha)=1.6883$

Valor de señal crítica; $Y_{crit.}=103.43$

LoD calculado= 17 µg/Kg.

ID límite de identificación (aproximadamente el valor de $2* LoD$)= 34 µg/Kg

$Y_{dtm} = 310.08$

LoQ calculado =50.90 µg/Kg.

Anexo 2

Comparación de las medias a partir del estudio de la precisión intermedia del método GC-FID para la determinación de PCBs (500 ppm).

Sumario estadístico:

	Día 1	Día 2
Conteo	3	3
Promedio	3129.43	3143.17
Desvest.	22.5003	25.0616
Varianza	506.263	628.083
Mínimo	3107.0	3115.0
Máximo	3152.0	3163.0
Rango	45.0	48.0
skewness	0.0188553	-0.941069

Los valores de skewness y kurtosis estandarizada son usados para determinar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores estadísticos fuera del rango -2 a +2 indican partidas significativas de normalidad lo cual tiende a invalidar los tests con que se comparan las desviaciones estándar.

Comparación de Medias

95.0% intervalo de confianza para la media del Día 1: 3129.43 +/- 55.8938 [3073.54, 3185.33]

95.0% intervalo de confianza para la media del Día 2: 3143.17 +/- 62.2564 [3080.91, 3205.42]

95.0% intervalo de confianza para la diferencia entre las medias asumiendo varianzas iguales. -13.7333 +/- 53.9887 [-67.722, 40.2553]

t test para comparar las medias

Hipótesis nula: media1=media2

Alt. hipótesis: media1 NE media2

Asumiendo varianzas iguales: t= -0.706259 P-valor= 0.518993

El intervalo de confianza para la diferencia entre las muestras se extiende desde -67.722 a 40.2553.

El intervalo de confianza contiene el valor 0.0, por tanto no existen diferencias significativas entre las medias de las determinaciones de los días a un 95% de nivel de confianza. Como el valor de P no es menor que 0.05 no puede rechazarse la hipótesis nula.

Comparación entre las desviaciones estándar

	Día 1	Día 2

Desviación		
Estándar.	22.5003	25.0616
Varianza	506.263	628.083
Gl	2	2
Relación entre las varianzas = 0.806045 95.0% Intervalo de confianza		

Desviación estándar del Día 1: [11.715,141.408]

Desviación estándar del Día 2: [13.0485, 157.505]

Relación de varianzas: [0.0206678, 31.4357]

F- test para comparar las desviaciones estándar

Hipótesis nula: $\sigma_1 = \sigma_2$

Alt. Hipótesis: $\sigma_1 \neq \sigma_2$

F=0.806045 P-valor=0.892608

El intervalo de confianza para la relación entre las varianzas se extiende desde 0.0206678 a 31.4357. Como el intervalo contiene el valor 1.0, no existe una diferencia significativa entre las desviaciones estándar de dos muestras al 95% de confianza. Como el valor de P no es menor que 0.05 no puede rechazarse la hipótesis nula.

La tabla siguiente muestra un sumario estadístico para los días 1 y 2. Este incluye medidas de tendencia central, medidas de variabilidad y de forma. Es de particular interés los valores de skewness y kurtosis estandarizada, las cuales pueden ser usadas para determinar si la muestra procede de distribuciones normales. Valores fuera del rango de -2 a +2 indican partidas de normalidad significativas lo cual tiende a invalidar cualquier test de comparación entre las desviaciones estándar. En este caso, el valor de skewness y kurtosis estandarizado se encuentra dentro del rango esperado para una data de distribución normal.

Conteo	6
Promedio	3136.3
Desviación estándar	22.5903
Coef. De variación	0.720284%
Minimo	3107.0
Máximo	3163.0
Rango	56.0
Std. skewness	-0.227558
Std. kurtosis	-1.01824

Anexo 3

Resultados estimados para % DRE correspondientes al diseño 2³ del tratamiento de PCBs con KPEG.

	<i>Observed</i>	<i>Fitted</i>	<i>Lower 95.0% CL</i>	<i>Upper 95.0% CL</i>
<i>Rows</i>	<i>Value</i>	<i>Value</i>	<i>for Mean</i>	<i>for Mean</i>
1	80.4	80.075	75.9782	84.1718
2	84.95	83.22	79.1232	87.3168
3	53.69	56.165	52.0682	60.2618
4	70.75	68.025	63.9282	72.1218
5	88.71	88.55	84.4532	92.6468
6	85.53	83.42	79.3232	87.5168
7	52.64	53.27	49.1732	57.3668
8	65.27	67.2	63.1032	71.2968
9	79.75	80.075	75.9782	84.1718
10	81.49	83.22	79.1232	87.3168
11	58.64	56.165	52.0682	60.2618
12	65.3	68.025	63.9282	72.1218
13	88.39	88.55	84.4532	92.6468
14	81.31	83.42	79.3232	87.5168
15	53.9	53.27	49.1732	57.3668
16	69.13	67.2	63.1032	71.2968