

Del clor a les dioxines passant per James Lovelock i el detector de captura d'electrons

From chlorine to dioxins through James Lovelock and the electron capture detector

Miquel Gassiot Matas*, Jordi Díaz Ferrero, Francesc Broto-Puig i Lluís Comellas Riera
Departament de Química Analítica, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull

Resum. El desenvolupament de l'anàlisi química i de les tècniques cromatogràfiques, gràcies a la gran sensibilitat dels detectors –especialment el de captura d'electrons– van contribuir de forma important a la consolidació de la consciència ecològica. El descobriment en el medi ambient de residus de DDT i d'altres pesticides, que contenen clor en la seva molècula, juntament amb residus de bifenils policlorats, va contribuir a que la societat vegi el clor, i tots aquells compostos orgànics que el contenen en la seva estructura amb gran recel. L'accident de Seveso a Itàlia i l'ús de l'Agent Taronja a la guerra del Vietnam van ser una aportació més, per a la quasi general proscripció del element químic clor. En aquest treball, tot seguint l'itinerari que suggereix el títol, es fa una revisió sobre les anàlisis de mostres ambientals de bifenils policlorats i del detector de captura electrònica. La segona part es dedica a l'anàlisi de dioxines destacant-ne alguns exemples concrets, com la determinació de dioxines en mostres de formatge *mozzarella*.

Paraules clau: clor, PCB, DDT, ECD, PCDD, PCDF, cromatografia de gasos, espectrometria de masses, quimiometria.

Abstract. The development of chemical analysis and chromatographic techniques, due to the great sensitivity of the detectors used – especially the electron capture detector – has decisively contributed to the consolidation of ecological conscience. The detection of DDT and other chlorinated pesticide residues in the environment, in addition to polychlorinated biphenyl residues, made raise the concern about chlorine and chlorinated compounds in the society. Seveso accident, in Italy, and the use of Orange Agent in Vietnam War were two other contributions to the general proscription of the chemical element chlorine. In this work, following the itinerary suggested by the title, the analysis of polychlorinated biphenyls in environmental samples and the use of the electron capture detector are reviewed. The second part of the work is devoted to the analysis of dioxins, pointing some specific examples, such as the determination of dioxins in samples of *mozzarella* cheese.

Keywords: chlorine, PCB, DDT, ECD, PCDD, PCDF, gas chromatography, mass spectrometry, chemometrics.

Introducció

El clor és l'element número 17 de la taula periòdica. Sembla que va ser descobert per Wilhelm Sheele, el 1774 a Suècia, fent reaccionar clorur sòdic amb biòxid de manganès i àcid sulfúric concentrat. Si es té en compte que a finals del segle XVIII els laboratoris no disposaven dels actuals rigorosos sistemes de protecció, el primer impacte del nou element descobert en el sistema respiratori del seu descobridor seria del tot desagradable. No obstant, va ser Hamphry Davy al 1810, qui demostra que els asfixiants fums, que es desprenien de la reacció de Sheele, corresponien a un nou element químic, al qual li dona el nom de clor, degut al seu color. Per tant, la pròpia presentació d'aquest element, en el seu naixement, no hauria generat una especial simpatia en l'entorn en el que va veure la llum.

El clor té una massa atòmica de 35,453 uma i una electronegativitat de 3,16 segons Pauling. El potencial de la primera ionització és de 1251,2 kJ/mol o bé 13,01 eV. El clor té dos isòtops estables, ^{35}Cl i ^{37}Cl , que represen-

ten el 75,77% i el 24,23% respectivament del clor que hi ha a la naturalesa. De totes les característiques fisicoquímiques d'aquest element són l'elevada electro-negativitat i l'especial composició isotòpica les que tenen més interès per aquest treball.

Les característiques asfixiants del gas clor van ser la causa que l'exèrcit alemany utilitzés, per primera vegada a la història de forma extensiva un gas com a arma de guerra: el clor, amb el nom clau de "Bertholita", el 22 d'abril de 1915, a l'inici de la batalla de Ypres, a Langermarck, poble de 5000 habitants. L'exèrcit alemany va descarregar a les primeres línies del front 5730 cilindres, per escampar 160 tones de clor.¹ Si bé aquesta operació va tenir un gran impacte psicològic, la seva eficàcia va ser molt discutible, degut a la pròpia reactivitat del clor i la seva solubilitat en aigua. D'altra banda, un canvi en la direcció del vent, va portar el núvol de clor a les línies alemanyes en diversos punts del front. El fet que el clor i compostos de clor entressin a la història com a protagonistes dels primers gasos de guerra explica també el recel de la societat vers aquest element, oblidant-ne els grans beneficis que hi ha aportat.

Alguns d'aquests són: la cloració de l'aigua, que va desterrar greus epidèmies, com el còlera i les tifoïdes; el *p,p'*-difeniltricloroetà, el popular DDT, que va resoldre les clàssiques epidèmies de polls dels temps de guerra, que ha estat de gran eficàcia contra la malària. Cal recordar que el premi Nobel de Medicina de l'any 1948 va ser concedit a Paul Herman Müller per haver

Correspondència: Miquel Gassiot Matas. Departament de Química Analítica, Institut Químic de Sarrià, Universitat Ramon Llull. Via Augusta 390, 08017 Barcelona.
Tel.: +34 932672000. FAX: +34 932056266.
A/e: mgassiot@iqs.url.edu.

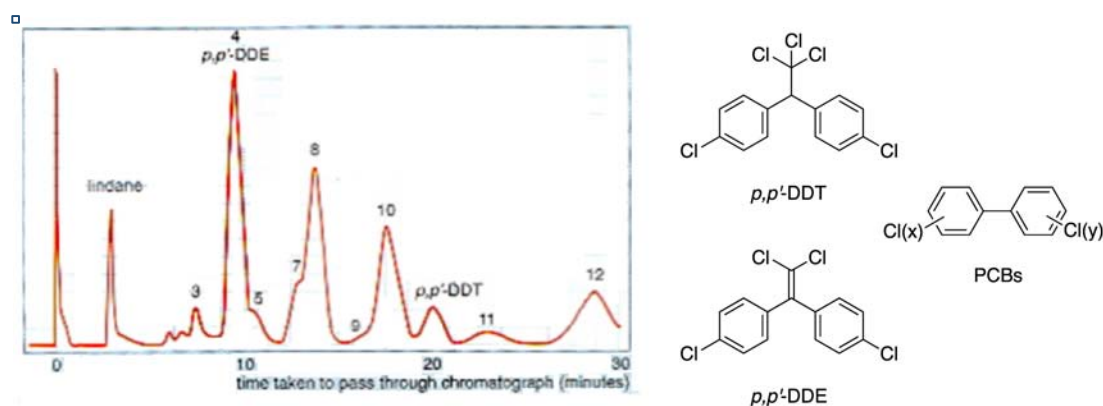


Figura 1. Cromatograma obtingut per Soren Jensen, extret de la ref. 4, i estructures del p,p' -DDT, p,p' -DDE i PCBs.

descobert la gran eficiència del DDT en la lluita contra els insectes transmissors de moltes malalties; la malària entre elles. Es considera que gràcies al DDT es va eradicar la malària de les zones de paludisme d'Europa.

Deixant a banda que el clor constitueix el 60,6% en pes de la sal comú, que va ser el "salari" dels soldats de les legions romanes durant segles i un compost essencial en la vida, la societat actual veu amb recel el clor orgànic; no l'ió clorur, sinó els compostos orgànics que contenen clor amb enllaç covalent en la seva estructura. És en aquest últim aspecte que l'opinió pública considera el clor com un element proscrit. Però l'origen d'aquest rebuig al clor orgànic no prové de l'ús del clor i altres compostos de clor. Van ser els famosos escrits o articles de la biòloga nord-americana Rachel Carlson, l'any 1962, sobre el "*Silent spring*",² una contribució molt important al desvetllament de la consciència ambiental al seu país i a tot el món, i que van promoure l'inici de diversos treballs de recerca per intentar trobar la causa d'aquest silenci, descrit per Carlson de forma poètica en el següent fragment:

"Over increasingly large areas of the United States, spring now comes unheralded by the return of the birds, and the early mornings are strangely silent where once they were filled with the beauty of bird song. This sudden silencing of the song of birds, this obliteration of the color and beauty and interest they lend to our world have come about swiftly, insidiously, and unnoticed by those whose communities are as yet unaffected"

Rachel Carlson neix el 27 de maig de 1907 i mor el 14 d'abril de 1964, dos anys després de la seva publicació més coneguda *Silent spring*.

Com a fruit d'aquesta nova sensibilitat social impulsada per Carlson, un dels primers compostos químics de síntesi a estudiar va ser el DDT. Aquest producte havia estat usat de forma massiva a partir de la segona guerra mundial. Unes primeres experiències van posar de manifest que les femelles d'ocells, sotmeses a una ingesta de DDT, ponien els ous amb una closca molt més fràgil. Aquest fet contribuïa a explicar la gran baixada de natalitat en algunes aus, detectada després de la segona guerra mundial, que es podria deure a la gran difusió del DDT en l'ambient, juntament amb la seva gran estabilitat. D'altra banda, els resultats d'aquests primers estudis feia suposar que els aliments de les aus estaven contaminats per aquest compost.³ En aquests treballs es va posar de manifest la utilitat de la

chromatografia de gasos, si bé se l'obligava a treballar en el límit de les seves possibilitats, ja que es volia detectar els residus de DDT en els més diversos materials i preparats: productes agrícoles, terrenys de cultiu, la majoria d'aliments, llets, mostres de teixit adipós, no tant sols d'animals sinó també d'éssers humans, etc. Les primeres anàlisis van posar de manifest que els residus de DDT, degut a la seva forta lipofília, s'acumulen en les fraccions lipídiques i en els teixits adiposos dels éssers vius analitzats. En gairebé totes les mostres es van trobar també el p,p' -DDE (p,p' -diclorodifenildicloroetilè) i el p,p' -DDD (p,p' -diclorodifenildicloroetà), que amb els corresponents isòmers són impureses que acompanyen el DDT i són també els seus principals metabòlits ambientals. És de destacar que Sören Jensen, un dels primers científics a trobar i quantificar residus de DDT mitjançant la cromatografia de gasos, va posar de manifest en els seus cromatogrames la presència d'altres contaminants, que s'extreien de les mostres ambientals conjuntament amb el DDT i els seus metabòlits. Jensen va aconseguir identificar els pics del cromatograma que no corresponien als DDTs, com a bifenils policlorats, contaminants provinents de l'àmplia aplicació de productes industrials obtinguts per cloració del bifenil, com els Aroclors. En la figura 1 es reproduïu un dels cromatogrames obtinguts per Jensen.⁴ Els pics assenyalats amb els números 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11 i 12 corresponen a bifenils policlorats denominats comunament PCBs.

Schmitt-Shulz, alemany, l'any 1881 va aconseguir clorar el bifenil, tot obtenint per primera vegada la complexa barreja dels bifenils policlorats. L'any 1929, Monsanto va iniciar la producció industrial dels PCBs. Per classificar el producte fabricat i comercialitzar-lo, d'acord amb el grau de cloració corresponent, va establir una nomenclatura específica, la qual consistia en un número de quatre xifres: les dues primeres eren el número 12, corresponents als àtoms de carboni del bifenil, i les dues següents expressaven el tant per cent en pes de clor en el producte. Així aparegueren en el mercat els productes de Monsanto: Aroclor 1221, 1254, 1268, etc.; bifenils clorats amb un 21, 54, i 68 % en pes de clor, respectivament. En aquestes barreges es podien trobar fins als 209 congèneres de cloració del bifenil.^{5,6}

Els bifenils policlorats han estat àmpliament utilitzats i, en el seu moment, van resoldre considerables problemes industrials i tècnics, com a fluids transmissors de calor no inflamables, estables a altes temperatures i elèctricament

aïllants. També han estat molt utilitzats com a plastifi-cants, en la indústria de pintures i en la formulació de diversos insecticides. En la actualitat la seva fabricació i utilització està pràcticament prohibida –directiva europea 85/467/CEE– i tant sols s'accepta l'ús dels PCBs, com a fluids dielèctrics en sistemes completament tancats. Fins i tot en aquests sistemes, segons la directiva 96/59/CE, els PCBs han d'estar eliminats com a molt tard l'any 2010. En referència als DDTs, el conveni d'Estocolm de l'any 2001 prohibeix la seva producció i utilització exceptuant el cas de la lluita contra la malària.

James Ephraim Lovelock i el detector de captura electrònica

James Ephraim Lovelock neix al Regne Unit el 26 de juliol de 1919 a Letchword Garden City i es gradua en química a la universitat de Manchester l'any 1941; el 1948 assoleix el grau de doctor en medicina tropical. Lovelock segueix els seus estudis i aconsegueix el grau en biofísica a la universitat de Londres l'any 1959; és professor de química a la Baylor University College of Medicine a Houston (USA) des de 1961 a 1964, col·laborant durant aquest temps amb la NASA. L'any 1960 dissenya el detector de captura d'electrons.⁷

Les primeres anàlisis cromatogràfiques de mostres ambientals van posar de manifest les limitacions del detector d'ionització de flama d'hidrogen (FID, sigles de "Flame Ionization Detector"). Aquesta limitació era deguda a que els compostos amb àtoms de elevada electronegativitat, com el clor, feien disminuir la sensibilitat d'aquest detector. Aquesta anomalia es produïa perquè els àtoms amb més afinitat electrònica capturen els electrons formats per la ionització química generada pels grups: CH, CH₂, CH₃ i el CH₄; base del senyal del FID. J. Lovelock va tenir l'encert d'aprofitar aquest fet per

al disseny d'un nou detector, que no funcionés per l'augment d'un corrent de fons amb la presència dels analits que sortien de la columna, sinó per tot el contrari: els analits amb elevada electronegativitat farien disminuir un corrent de fons generat per una font radioactiva de partícules β. Aquest és l'origen del detector de captura electrònica (ECD, sigles de "Electron Capture Detector").

Les primeres aplicacions del detector de captura d'electrons, juntament amb la nova sensibilitat desvetllada per Rachel Carlson, desperten en Lovelock la seva preocupació i passió pel medi ambient, i la seva vocació com ecòleg, que el porten a una profunda reflexió sobre la continuïtat de la vida en el nostre planeta. El fruit d'aquesta reflexió es la teoria *Gaia*, formulada el 1969 i publicada el 1979. Segons aquesta hipòtesi, la biosfera es comporta com un sistema autoregulat que tendeix a l'equilibri enfront de qualsevol acció de distorsió.⁸

Fonament físic del detector de captura electrònica

El disseny bàsic d'un ECD, tal com indica la figura 2,⁹ consisteix en un petit recinte de l'ordre d'un cm³ de volum, on hi arriba el gas emergent de la columna cromatogràfica i que entra en el detector per la part on hi ha l'ànode. El flux de gasos es troba amb el corrent d'electrons (radiació β relaxada energèticament), que procedeix del càtode, que també és la font de radiació β.

Hi ha diferents dissenys per als ECD. El de la figura 2 correspon a la denominada plano paral·lela, però d'acord amb la disposició de l'ànode i la font de radiació (càtode), respecte del flux, l'estructura del detector pot ser també coaxial i cilíndrica-concèntrica. Els diferents dissenys corresponen a les aportacions de les diferents empreses d'instrumentació, tot perseguint la millor sensibilitat i linealitat amb el mínim volum mort.

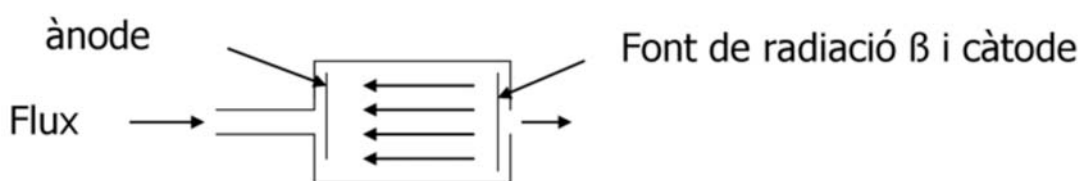


Figura 2. Disseny bàsic d'un ECD.

Un dels principals problemes del detector de captura electrònica va ser trobar la font de radiació adequada. En la Taula 1⁹ es presenten algunes de les possibles fonts que poden proporcionar radiació β. Per aquest detector interessa que aquesta font sigui de baixa energia, per reduir al màxim el risc de contaminació del personal que utilitzi l'ECD i el seu entorn.

Inicialment es va utilitzar el triti com a font de radiació i ràpidament va ser substituït pel ⁶³Ni. L'abast mitjà de la radiació β del ³H i del ⁶³Ni és uns 2 mm i 7 mm, respectivament. Un altre aspecte pel qual cal que la radiació β sigui de baixa energia és evitar que es produeixi la ionització del fluid gasós i de l'analit, en comptes de la captura electrònica. En la Taula 2⁹ es donen els potencials d'ionització i excitació dels gasos

portadors més relacionats amb el ECD i també el potencial d'excitació de l'argó.

Cal tenir present que el potencial d'ionització de la majoria de compostos orgànics és de l'ordre de 10 eV. Per tant, l'energia de la radiació β, emergent de la font de ⁶³Ni, supera en molt els potencials d'ionització del possible gas portador i de qualsevol substància que passi per aquest detector. Per aquest motiu, és necessari transformar les partícules β en electrons "tèrmics", és a dir, electrons que tinguin l'energia cinètica mitjana que els correspon a la temperatura del detector. En cas contrari, en lloc de ser capturats, ionitzaran les molècules amb les quals impactin, fent augmentar el corrent de fons en lloc de disminuir-lo. Aquesta és la raó per la qual cal utilitzar un gas portador que col·labori en

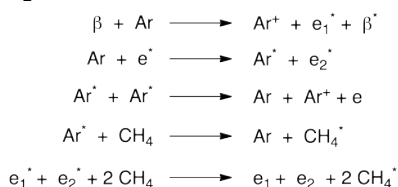
Font	Activitat (mCi)	Partícula	Energia (MeV)	γ (MeV)	Temperatura màxima (°C)	$t_{1/2}$ (anys)
^3H	130	β	0,018	no	200	12.5
^{99}Tc	0,3	β	0,292	no	500	$5 \cdot 10^5$
^{90}Sr	----	β	0,55	no	----	28
^{63}Ni	----	β	0,06	no	400	85

Taula 1. Característiques de les possibles fonts de radiació per a l'ECD i característiques.⁹

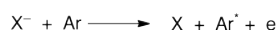
Gas	Potencial Ionització (eV)	Potencial Excitació (eV)
N_2	15,5	
Ar	15,7	11,5
CH_4	14,5	

Taula 2. Potencials d'ionització i excitació dels gasos portadors més relacionats amb l'ECD.⁹

la relaxació energètica de les partícules β . Per això, s'utilitza un gas portador poliàtom, com el N_2 , o bé una barreja d'argó amb metà (usualment un 5% de CH_4). En les següents reaccions s'exposa un dels processos de relaxació proposats per explicar el funcionament de l'ECD en el cas d'utilitzar argó-metà⁹ on els electrons "tèrmics", resultat del procés exposat, es representen per: e , e_1 i e_2 :



Un altre aspecte important per al millor funcionament de l'ECD és el voltatge de focalització, que queda comprès entre 5 i 50 volts. Aquesta tensió té com a finalitat aconseguir un bon nivell de corrent de fons, en absència de substàncies electrocapturants, resultat de la relaxació energètica de la radiació β , sense accelerar sensiblement els electrons tèrmics. Quan en el detector hi ha compostos amb elevada afinitat electrònica, el voltatge de focalització té com a finalitat dirigir els ions negatius cap a l'ànode. Cal tenir present que la disminució del corrent de fons en aquest detector es produeix perquè els electrons són substituïts per ions negatius, que tenen una mobilitat electrònica molt més baixa que els electrons. Si el voltatge de focalització és massa elevat, es pot produir la reacció de *detachment*, tal com s'expressa en el procés següent:



amb el resultat d'un augment del corrent de fons, tal com es posa de manifest en el gràfic de la figura 3, extret de la ref. 9.

En el gràfic de la figura 3, la línia contínua indica la variació del corrent de fons en funció del voltatge de focalització, en absència de substàncies electrocapturants. S'observa que, a partir de 7 volts, el corrent augmenta molt poc amb el voltatge. D'acord amb aquest gràfic, el voltatge adequat per al funcionament de l'ECD estaria situat entre els 7 i 15 volts. La línia de punts correspon a la variació del corrent de fons en presència d'un hidrocarbur halogenat. Cal destacar que, en aquest segon cas, per sobre dels 15 volts, el corrent de fons s'acosta molt al nivell obtingut quan, en el detector, tant sols hi ha gas portador. En conseqüència, també es dedueix de la figura 3 que, a voltatge

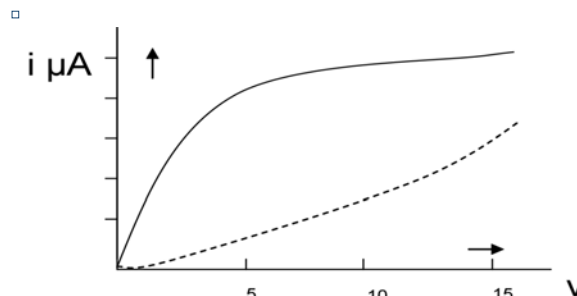


Figura 3

superior a 15, disminuirà la sensibilitat del detector, degut a l'efecte *detachment*.

El problema de la linealitat del ECD

A l'ECD, la captació d'electrons per part d'una substància d'elevada afinitat electrònica, en fase gas, es realitza de forma similar a l'absorció de radiació electromagnètica per part d'una molècula cromòfora en dissolució. Per tant, la referència a la llei de Beer i Lambert pot ser útil per a qualsevol consideració sobre el funcionament d'aquest detector. Aquesta llei estableix que la llum absorbida per l'analít cromòfor no és directament proporcional a la concentració d'aquest en la dissolució. De manera semblant, la resposta de l'ECD –disminució del corrent de fons– no és directament proporcional a la concentració de la substància captadora d'electrons que es troba en el detector.

Si I_b és la intensitat del corrent de fons produïda per una font de radiació constant, quan tan sols circula gas portador, i I_e es la intensitat del corrent de fons en presència d'un compost amb afinitat electrònica elevada, en un instant determinat, a una concentració c_1 , aleshores, $I_e < I_b$. Si en aquest lapse de temps, la concentració en el detector augmentés fins a duplicar c_1 , la disminució del corrent de fons no es duplicaria, perquè les següents molècules es trobarien amb una densitat d'electrons inferior i la probabilitat de captura electrònica seria clarament inferior. En conseqüència, la resposta en funció de la concentració no seria lineal i les concentracions més elevades donarien una resposta proporcionalment inferior a les més baixes.

Detector d'ionització de flama d'hidrogen	Detector de captura d'electrons
Sensibilitat: 1 nanogram ($1 \cdot 10^{-9}$ g) d'hidrocarbur.	Sensibilitat: 0,1 picogram ($0,1 \cdot 10^{-12}$ g) de lindane.
Marge de linealitat: 10^7	Marge de linealitat: 10^4 (voltatge polsant amb freqüència variable)
Calibratge: necessari però molt menys crític que a l'ECD.	Calibratge: imprescindible amb patrons de concentració del mateix ordre que en la mostra

Taula 3. Dades comparatives entre el detector d'ionització de flama d'hidrogen i el de captura d'electrons

Temptatives per augmentar la linealitat del detector de captura electrònica

El primer intent va ser dissenyar i construir detectors ECD que funcionessin amb voltatge de focalització polsant, amb la possibilitat de regular el voltatge i el període dels polsos. Amb aquesta modificació, s'aconseguia que, entre cada pols, la font pogués restablir la densitat electrònica necessària perquè les noves molècules que entraven en el detector es trobessin amb una capacitat de captura similar a les primeres. Efectivament, amb aquesta modificació i ajustant correctament les dues variables (voltatge i freqüència de polsos), la resposta es podia considerar pràcticament com a lineal per a un marge de l'ordre de 10^2 .

No obstant, la millor solució va ser aportada per R. J. Maggs, P. L. Joynes, A. J. Davies i J. E. Lovelock¹⁰ amb a *New Mode of Operation* de l'ECD. Aquesta nova forma d'operar es fonamenta també en un voltatge polsant, però a freqüència variable. En aquest cas, quan la substància electrocaptorant entra en el detector a la concentració c , es genera la diferència $I_b - I_e = I_d$, on I_d es denomina corrent de desequilibri. Aquesta dona lloc a un voltatge de desequilibri V_d , el qual fa augmentar la freqüència de polsos des de f_0 (freqüència quan I_d era zero) fins a f , un nou valor de freqüència per a la qual I_d esdevé zero a la concentració c . Els esmentats autors han comprovat que existeix una relació lineal entre la concentració y ($f - f_0$).

$$c = \alpha(f - f_0)$$

La constant α depèn de l'afinitat electrònica de la molècula detectada. Aquesta forma d'utilitzar el detector de captura d'electrons és, actualment, la més emprada. No obstant, amb aquesta versió, el marge de linealitat difícilment va més enllà de 10^4 , és a dir, des del nanogram a dècimes de picogram.

Anàlisi de PCBs en mostres ambientals

La detecció generalitzada de PCBs, DDTs i altres contaminants en mostres ambientals va donar lloc a que la Comunitat Europea intervingués en aquest tema, seguint la preocupació dels països membres i els consells i suggeriments dels científics i ecòlegs que ja havien obtingut resultats sobre els nivells de contaminació trobats en alguns punts del mar Mediterrani. El resultat va ser el Conveni de Barcelona de 1976 firmat per tots els estats membres de la CEE i països tercers riberencs de la Mediterrània, en el qual tots els signataris es responsabilitzaven de la protecció d'aquesta conca. Una altra important conclusió d'aquest tractat va ser la posta en marxa del programa MEDPOL, per al control del nivell de contaminants en aquest mar per medi dels mètodes analítics més adequats per a cada tipus de contaminant i mostra. Un aspecte particular del MEDPOL va ser el CATPOL per analitzar la costa catalana, programa en el que hi va participar l'Institut Químic de Sarrià, concretament la Secció de

Cromatografia, en col·laboració amb el *Instituto Español de Oceanografía*¹¹ que llavors depenia del *Ministerio de Obras Públicas*. Aquesta col·laboració va permetre posar a punt, a l'IQS, els mètodes per determinar PCBs i DDTs en mostres marines, i analitzar 237 mostres recollides per el *Instituto Español de Oceanografía*, corresponents a les campanyes dels anys 1981, 1982, 1983, 1984, 1985, 1986 i 1988.

Entre els resultats obtinguts en les campanyes esmentades, destaquen els elevats valors de contaminació en DDTs trobats en les mostres de sediments marins del delta de l'Ebre, contaminació característica de l'activitat agrícola del delta. D'altra banda, són especialment remarcables les 180 ppm de contaminació de PCBs, trobades en els sediments fluvials de l'Ebre a Flix, i les 0,6 ppm de l'entorn del port de Barcelona.

Ja en els anys vuitanta, es tenia coneixement que la toxicitat dels PCBs depenia de l'estructura dels congèneres que contenia el producte contaminant. Aquesta toxicitat es relaciona amb l'estructura més o menys coplanar i el nombre d'àtoms de clor: com més plana és la molècula, més gran és la seva toxicitat. El congènere més tòxic és el 3,3',4,4',5-pentaclorobifenil (PCB 126, segons la nomenclatura específica de Ballschmitter¹⁵). Per aquesta raó, interessava molt conèixer la composició en congèneres dels residus de PCBs trobats en les diferents mostres. No obstant, per a aquesta determinació analítica calia disposar de patrons purs de cada congènere. Donada la pràctica impossibilitat de disposar d'aquests patrons i davant la necessitat de donar alguns resultats sobre les mostres preses, es va decidir prendre com a patrons els Aroclors més comuns.¹⁵ D'acord amb aquest objectiu, F. Broto¹² va optar per relacionar els perfils dels cromatogrames de PCBs d'una mostra ambiental, amb els que donaven els cromatogrames dels Aroclors 1242, 1248, 1254, 1260 i 1268, que eren els més utilitzats industrialment i, per tant, els que tenien més probabilitat d'haver-se dispersat en el medi ambient. Les figures 4 i 5 són un exemple d'aquests cromatogrames. Per aconseguir aquesta relació es va recórrer a l'algorisme de Zobel,¹³ i també al mètode Simplex modificat.¹⁴ Un i altre algorismes iteratius, per combinació lineal, ajusten la proporció de cada cromatograma als Aroclors de referència, fins aconseguir reproduir el de la mostra amb la mínima diferència. Per aquest sistema es va poder atribuir una composició, en els Aroclors de referència, de les mostres de sediments i organismes marins preses en les campanyes del CATPOL. Aquesta informació era de valor discutible des del punt de vista de la possible toxicitat de la mostra, però sí donava possibilitats de investigar l'origen de la contaminació. No obstant, malgrat ser els PCBs contaminants permanents en el medi ambient, aquestes substàncies es degraden lentament en funció del seu grau de cloració. Per tant, la desconvolució del cromatograma de la mostra partint dels cromatogrames dels Aroclors implicava la limitació o error que els Aroclors patrons no havien sofert una degradació similar a la de la mostra. Malgrat aquesta im-

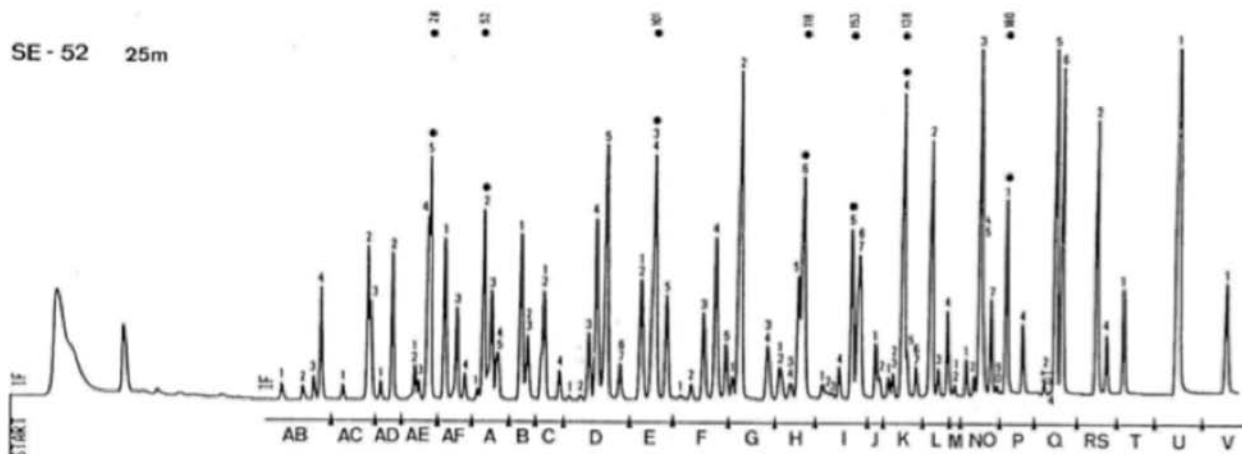


Figura 4. Cromatograma de PCBs d'una mescla d'Aroclors.

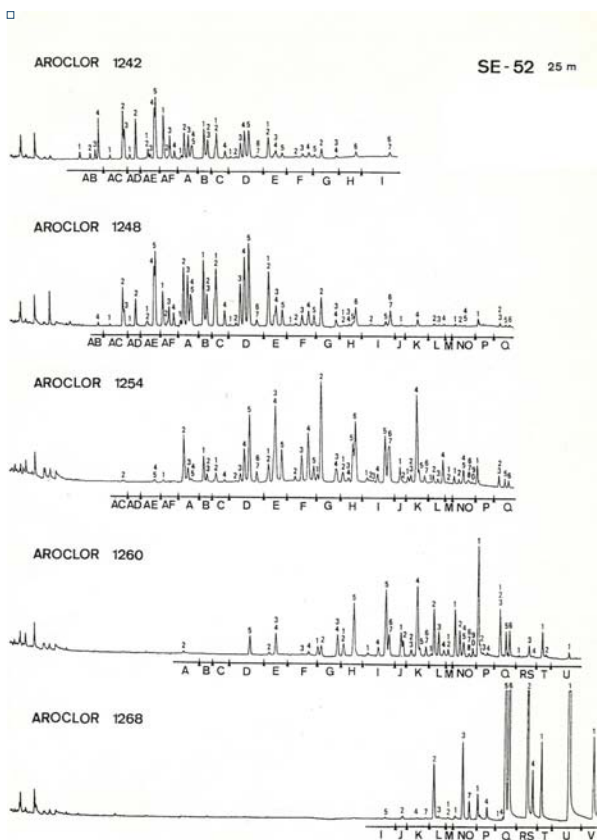


Figura 5. Cromatogrames dels diferents Aroclors.

portant limitació era imprescindible el poder recolzar-se en un patró com els Aroclors, per obtenir una informació quantitativa, degut a que es treballava amb el detector de captura electrònica que, com s'ha vist, es caracteritza per la seva selectivitat i la limitada linealitat de la resposta.

El gran interès que es va generar per la recerca en medi ambient va moure als organismes internacionals, com el PNUMA, la FAO i la Comunitat Europea, a impulsar la producció de patrons de substàncies contaminants amb les corresponents validacions i garanties analítiques. Vers l'inici de la dècada dels noranta ja va ser possible disposar dels patrons dels 209 congèneres de PCBs. En aquests anys també es van iniciar els treballs d'intercalibratge entre laboratoris i

l'acreditació dels que havien superat satisfactòriament les proves corresponents. Actualment, tots els laboratoris que analitzen mostres ambientals treballen amb patrons dels congèneres dels PCBs, i donen els resultats amb referència a aquests patrons. No obstant, en alguns casos, la referència dels resultats als patrons d'Aroclors continua essent útil per algunes investigacions específiques.

Anàlisi de dioxines (policloro dibenzo-*p*-dioxines) i furans (policloro dibenzofurans) en mostres ambientals i el detector de captura electrònica

L'accident de Seveso i l'aparició de noves malalties relacionades amb l'ús de l'Agent Taronja a la guerra del Vietnam van posar d'actualitat el tema de les dioxines i furans, com agents contaminants en el medi ambient. A diferència dels DDTs i PCBs, aquestes substàncies no són productes de tipus industrial. La seva presència en el medi ambient és resultat no desitjat de reaccions de descomposició de diferents productes, reaccions fortuïtes i accidentals, com va ser el cas de Seveso. També poden originar-se en fets naturals, com incendis de boscos, o també es poden formar en incendis d'edificis i d'instal·lacions industrials. Les incineradores de residus, mal gestionades, també poden produir dioxines que són arrossegades per els fums i dispersades en la atmosfera.¹⁶

Les dues estructures genèriques de les dioxines (PCDD) i furans (PCDF), que s'indiquen a continuació, ja insinuen una estabilitat d'aquestes molècules similar a la dels PCBs i, per tant, una llarga permanència en el medi ambient d'aquests contaminants.

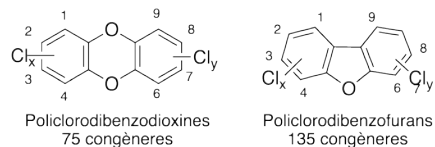


Figura 6. Estructura de les dioxines i els furans.

Tant les PCDD com els PCDF són substàncies, que, per la seva estructura, no ha de sorprendre que siguin el final més estable de múltiples processos de descomposició quan hi participen l'oxigen i el clor conjuntament

amb una matriu orgànica. Poden classificar-se com a compostos no polars, i per tant s'extreuen de les mostres ambientals amb mètodes similars als PCBs, els quals gairebé sempre acompanyen a les dioxines com a contaminants. No obstant, en tenir els PCBs una polaritat lleugerament inferior, es pot realitzar un fraccionament en columna dels extractes d'ambdós contaminants, abans de procedir a la cromatografia de gasos.

Com en el cas dels PCBs, dels 75 congèneres de les dioxines i dels 135 dels furans, algunes estructures presenten més toxicitat que d'altres. En concret, les que tenen una més gran toxicitat, i superior a les més perilloses dels PCBs, són la 2,3,7,8 tetraclorodibenzo-p-dioxina i el 2,3,7,8 tetraclorodibenzofurà, que es presenten a continuació.

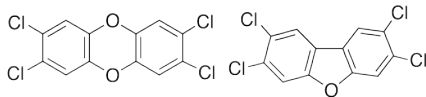


Figura 7. Estructura de la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina i del 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurà.

La TDI (*tolerable daily intake*) o ingesta màxima tolerable, per a la espècie humana, és d'entre 1 i 4 nanograms per quilogram de pes corporal i dia. Per poder assegurar no superar aquesta TDI, els controls a realitzar van exigir recórrer a les tècniques analítiques més potents, com la cromatografia de gasos acoblada a la espectrometria de masses d'alta resolució. Atenent que el detector de captura electrònica té un límit de detecció de l'ordre de la dècima de picogram per al lindane, s'arriba a la conclusió que aquest detector treballaria en el límit de les seves possibilitats per a les anàlisis de dioxines i furans, especialment, si tenim present la talla màxima de mostra que es pot sotmetre al procés analític, malgrat els recursos del propi mètode de concentració dels analits a detectar. D'altra banda, l'espectrometria de masses d'alta resolució, com a detector dels eluats cromatogràfics, permet el registre selectiu dels ions obtinguts en la cambra de ionització. Aquesta possibilitat, juntament amb l'alta resolució, permet guanyar en sensibilitat i en seguretat en la identificació i determinació dels congèneres de més interès per la seva toxicitat.

Per aquesta raó l'espectrometria de masses acoblada a la cromatografia de gasos s'ha imposat com a tècnica analítica en tots els mètodes oficials per a l'anàlisi de dioxines i furans en mostres ambientals i alimentàries.

La toxicitat dels congèneres de PCBs, dioxines i furans

Ja s'ha dit que la toxicitat dels bifenils policlorats i de les dioxines i furans depèn del nombre i posició dels àtoms de clor. En el cas del PCBs, la situació d'àtoms de clor en orto provoca que el pla d'un anell benzènic tendeixi a ser perpendicular respecte l'altre. La situació extrema es donarà quan les posicions 2 i 6 dels dos anells estiguin substituïdes per àtoms de clor, o sigui totes les posicions orto tinguin clor. Per ser aquestes estructures menys planes, aquests congèneres seran menys tòxics.

A la llum dels resultats dels estudis toxicològics, la WHO (*World Health Organisation*) va seleccionar els congèneres amb toxicitat significativa de les dioxines (7 congèneres), furans (10 congèneres) i PCBs (12 congèneres). Els PCBs seleccionats s'especificaven com a "coplanars", que com ja s'ha dit són els més tòxics. En concret, el més tòxic de tots és el 3,3',4,4',5-pentaclorobifenil (figura 8).

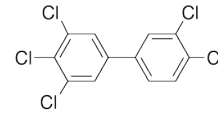


Figura 8. Estructura del 3,3',4,4',5-pentaclorobifenil.

La WHO també va establir el criteri de la toxicitat equivalent de cada un dels congèneres seleccionats per cada un dels tres grups de contaminants, basant-se en la toxicitat relativa de cada congènere respecte del de màxima toxicitat al qual correspon el factor 1. D'aquesta forma es va establir la taula dels TEF (*toxic equivalent factors*; Taula 4) dels 29 congèneres del conjunt de dioxines, furans i PCBs coplanars. Aquesta taula és fonamental per al càlcul de la concentració de TEQ (*toxic equivalent*). Cal destacar la gran diferència entre els TEF: des d'1 fins a 10^{-4} per als furans i dioxines, i des de 0,1 fins a 10^{-5} per als PCBs. Aquests factors, com s'indica en la Taula 4 són els mateixos per a mamífers i éssers humans, i diferents per a peixos i per a aus. Aquestes grans diferències entre congèneres obliguen a una gran sensibilitat i selectivitat de les tècniques utilitzades per aquestes anàlisis. Tant sols amb la informació que pot donar la cromatografia de gasos d'alta resolució connectada amb l'espectrometria de masses també d'alta resolució és possible separar i quantificar cadascun dels compostos de la Taula 4 i, d'aquesta forma poder obtenir el TEQ o equivalent tòxic de la mostra corresponent, per medi de la fórmula [1]. Els valors de TEF es revisen periòdicament.^{17,18}

$$TEQ = \sum_i [PCDD]_i * TEF_i + \sum_j [PCDF]_j * TEF_j + \sum_k [PCB]_k * TEF_k \quad [1]$$

TEQ Equivalent tòxic total de la mostra analitzada.

PCDD_i Concentració detectada, en picograms per gram de mostra (pg/g), de cada un dels congèneres de dioxines considerats per la WHO, que es multiplica per el TEF_i corresponent de cada congènere.

PCDF_j El mateix que en el cas anterior, però referit als furans.

PCB_k El mateix que en el cas anterior, però referit als PCB coplanars.

Espectrometria de masses d'alta resolució (HRMS)

En aquestes anàlisis de congèneres de dioxines furans i bifenils policlorats, tant la cromatografia de gasos com l'espectrometria de masses treballen a la màxima resolució. Per aquest motiu la cromatografia de gasos prèvia es realitza amb columnes capil·lars de 60 m de longitud i en molts casos cal utilitzar dues fases estacionàries diferents. Generalment, la primera fase emprada és una metilsilicona amb un 5% de grups fenil, però, en diverses ocasions, cal repetir la separació cromatogràfica amb una fase estacionària més polar, com la cianometilsilicona. Ja que la separació completa de tots els congèneres de la Taula 4 no s'aconsegueix

en cap de les dues fases esmentades, cal recórrer a les dues cromatografies successives si es pretén la informació cromatogràfica de tots i cada un dels congèneres. De fet, cal dir que, fins al moment, no hi ha cap fase estacionària capaç de separar tots els 17 congèneres de dioxines i furans 2,3,7,8-clorosubstituïts.

El congèneres separats i emergents de la columna cromatogràfica entren en la cambra d'ionització de l'espectròmetre de masses (EM) d'alta resolució, que està connectat en línia amb el cromatògraf. La necessitat de l'alta resolució a les anàlisis de dioxines en mostres ambientals es deu, com s'ha dit abans, a la complexitat de la mescla a separar i identificar: els 29 congèneres, conjuntament amb els corresponents patrons interns, separats de tota la resta de congèneres possiblement presents a la mostra. Aquests patrons interns, imprescindibles d'acord amb els protocols establerts, garanteixen la traçabilitat de tot el complex procés analític. S'utilitzen com a patrons els mateixos congèneres que estem interessats a analitzar, però marcats amb ^{13}C . La resolució dels espectròmetres de masses usuals (quadropol, els clàssics de camp elèctric o d'analitzador magnètic) tenen una resolució de l'ordre de 800. El que vol dir que és possible separar dos ions que tinguin una relació massa/càrrega de 800 i 801. Efectivament, el feix de ions que arriba al detector té una amplada que en part interferirà amb el feix de ions que corresponen a una relació massa/càrrega immediatament superior o inferior. La resolució entre dos ions consecutius en l'espectre de masses es calcula amb la fórmula [2]:

$$R = \frac{M_2 + M_1}{2} \approx \frac{M_1}{\Delta M} \quad [2]$$

en la qual M_2 i M_1 son la relació massa/càrrega de dos ions consecutius en l'espectre amb separació completa. En la figura 9 es presenta la separació de dos ions, de massa/càrrega de l'entorn de 200, amb resolució 1000 i 10000. L'augment de resolució no tan sols permet la separació d'ions amb relació massa/càrrega molt semblats, com en al cas de la figura $\Delta M = 0,02$, sinó que augmenta molt la sensibilitat degut a que el feix d'ions que arriba al detector de l'EM és molt més estret i, en conseqüència, el seu perfil molt més agut. Per a l'anàlisi de dioxines, en el que cal poder determinar tots els congèneres de la Taula 4, es necessari treballar a una resolució de deu mil. L'alta resolució en espectrometria de masses s'aconsegueix per medi dels analitzadors dels ions. L'aparell utilitzat en aquest cas és de configuració EBE, que consisteix en una primera etapa de sector o analitzador electrostàtic, una segona d'analitzador magnètic i la tercera, el darrer analitzador electrostàtic (figura 10).

Normalment, quan es pretén aconseguir la ionització per impacte electrònic, el compost se sotmet a un feix d'electrons de 70 eV, en la cambra d'ionització. Amb això es provoca la ionització de la molècula i la descomposició de l'ió molecular. En el cas de l'anàlisi dels congèneres de dioxines, furans i PCBs, interessa que, en el corresponent espectre de masses, tinguin preva-

Congènere	Mamífers/Humans	Peixos	Aus
2,3,7,8-TCDD	1	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	10^{-1}	$5 \cdot 10^{-1}$	$5 \cdot 10^{-2}$
1,2,3,6,7,8-HxCDD	10^{-1}	10^{-2}	10^{-2}
1,2,3,7,8,9-HxCDD	10^{-1}	10^{-2}	10^{-1}
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	10^{-2}	10^{-3}	$<10^{-3}$
OCDD	10^{-4}	$<10^{-4}$	10^{-4}
2,3,7,8-TCDF	10^{-1}	$5 \cdot 10^{-2}$	1
1,2,3,7,8-PeCDF	$5 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	10^{-1}
2,3,4,7,8-PeCDF	$5 \cdot 10^{-1}$	$5 \cdot 10^{-1}$	1
1,2,3,4,7,8-HzCDF	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
1,2,3,6,7,8-HxCDF	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
2,3,4,6,7,8-HxCDF	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
1,2,3,7,8,9-HxCDF	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	10^{-2}	10^{-2}	10^{-2}
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	10^{-4}	10^{-2}	10^{-2}
OCDF	10^{-4}	$<10^{-4}$	10^{-4}
PCB 77	10^{-4}	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-2}$
PCB 81	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-4}$	10^{-1}
PCB 186	10^{-1}	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-1}
PCB 169	10^{-2}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-3}
PCB 105	10^{-4}	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-4}
PCB 114	$5 \cdot 10^{-4}$	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-4}
PCB 118	10^{-4}	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}
PCB 123	10^{-4}	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}
PCB 156	$5 \cdot 10^{-4}$	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-4}
PCB 157	$5 \cdot 10^{-4}$	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-4}
PCB 167	10^{-5}	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}
PCB 189	10^{-4}	$<5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}

Taula 4. Valors de TEF per a dioxines, furans i PCBs.¹⁸

prevalença l'ió molecular. Per aquest motiu, la cambra d'ionització treballa a l'entorn d'uns 30 eV. Cal recordar que l'energia d'ionització de les substàncies orgàniques és de l'ordre de 10 eV; per tant, la tensió de 30 eV en la cambra de ionització de l'EM és una garantia que aquests congèneres quan surtin de la columna cromatogràfica es ionitzaran, però el petit excés d'energia no produirà una gran varietat de fragments de l'ió molecular. Aquesta particularitat facilita treballar amb registre selectiu d'ions, a través dels ions moleculars, i permet guanyar sensibilitat en la detecció. D'altra banda, l'especial composició isotòpica del clor dona per a cada ió molecular com a mínim dos pics, amb relació massa/càrrega M i $M+2$, si el congènere en qüestió tingués tant sols un àtom de clor. Amb la multiplicitat d'àtoms de clor dels diferents congèneres, l'entorn de l'ió molecular es complica; a més, cal tenir en compte la presència dels congèneres marcats amb ^{13}C .

El registre selectiu d'ions múltiple

El poder registrar selectivament diferents ions, que corresponen a les diverses substàncies que surten del CG i entren en la cambra de ionització de l'EM, és un dels recursos de la HRMS per augmentar la sensibilitat. Per tal que l'EM pugui passar de focalitzar un ió M_i , que interessa, a un altre M_j , que també interessa, cal que el

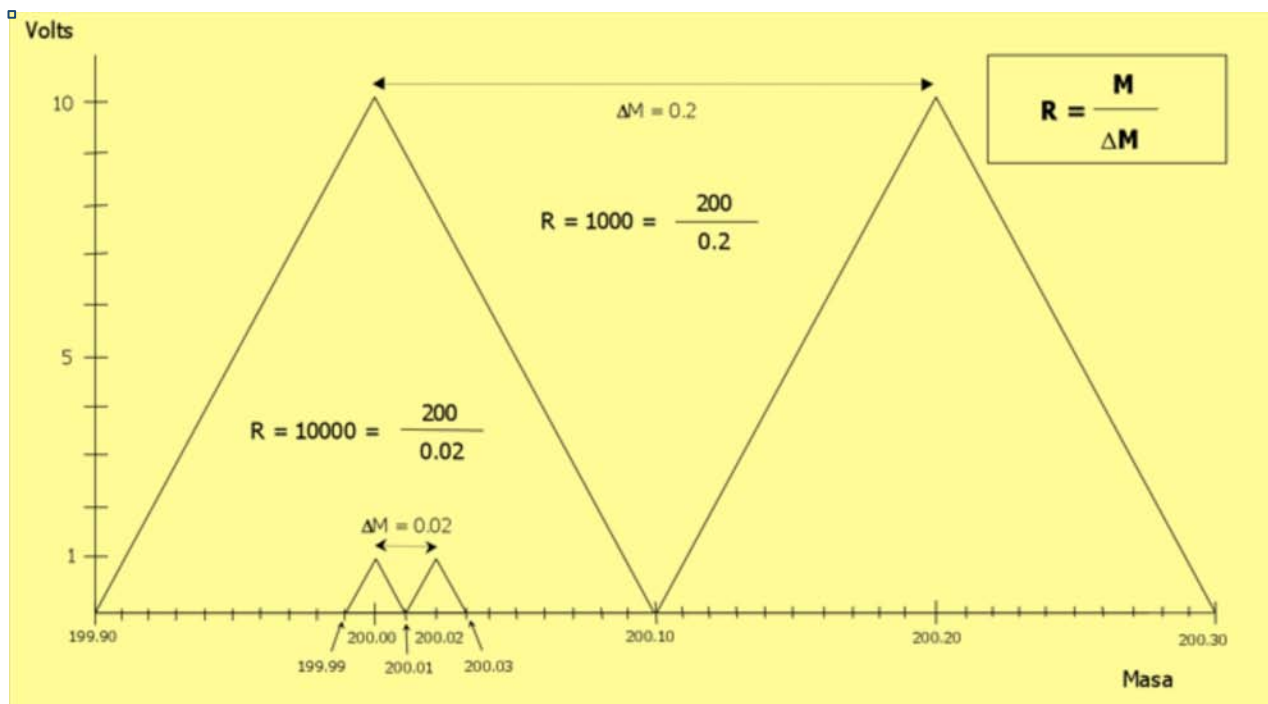


Figura 9. Comparació de resolució massica 1000 i 10000.

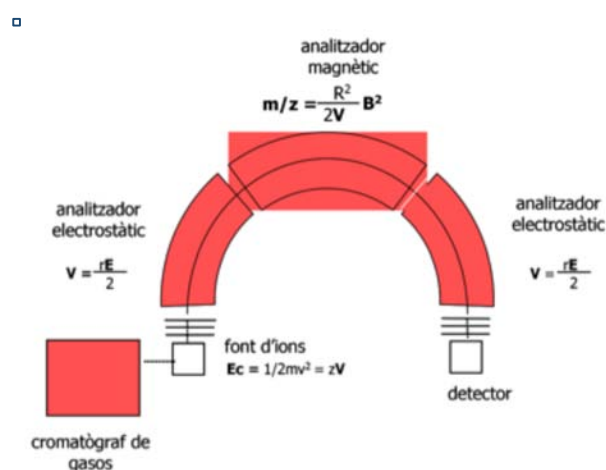


Figura 10. Esquema d'un espectròmetre de masses d'alta resolució amb configuració EBE.

el camp magnètic B (fig. 10) o be el camp elèctric E s'ajustin al valor adequat perquè el feix de cada ió coincideixi amb l'esclatxa del detector. Aquest ajust s'ha de realitzar en un lapse de temps inferior a la diferència de temps de retenció de dos congèneres consecutius en la elució cromatogràfica.

El temps d'ajust del camp magnètic és més llarg que el del camp elèctric, que és pràcticament instantani. Per a compostos amb temps de retenció pròxims i, per tant, amb ions moleculars semblants, la modificació de la focalització es realitza a través de modificacions del camp elèctric (E), mantenint constant el valor del camp magnètic del segon sector (B). Quan els ions a focalitzar corresponen a compostos de temps de retenció molt diferents i, per tant, amb ions moleculars molt diferents, cal variar el valor del camp magnètic. Tot aquest procés es realitza per medi del corresponent programa de l'ordinador de control, al qual s'han introduït els valors de massa/càrrega dels ions a registrar selectivament. No cal

dir que el mateix ordinador, amb el corresponent programari, permet tractar adequadament tota la informació que ofereix el cromatograma de registre selectiu dels ions escollits per obtenir la informació analítica desitjada per poder elaborar l'informe corresponent.

Preparació de la mostra

La primera etapa consisteix en extreure els contaminants de la mostra; dioxines, furans i PCBs, que pel seu caràcter lipòfil s'extreuen amb Soxhlet i un solvent apolar. L'extracte obtingut es purifica i fracciona en una columna de Florisil o carbó. S'obté una primera fracció amb els PCBs, que són els més apolars, i una segona fracció, que conté les dioxines i furans. L'esquema de la figura 11 informa sobre el mètode d'obtenció de l'extracte d'aquests contaminants de la mostra. Al final d'aquest procés d'extracció es disposa de dos extractes: un que conté els PCBs i l'altre en el qual hi han les dioxines i furans. Després d'eliminar acuradament les restes de l'últim dissolvent amb corrent de N₂, es disposa d'un extracte de uns 15-20 µl de cada fracció.

Per una valoració quantitativa de màxima fiabilitat, és necessària la utilització de dos patrons interns. El primer d'ells és una barreja de patrons dels congèneres que es volen determinar, marcats amb ¹³C, i de concentració coneguda. Un volum acuradament mesurat de la dissolució d'aquest patrons s'afegeix a una alíquota de la mostra a analitzar. Aquests patrons tenen com a finalitat resoldre el problema de la pèrdua d'analits al llarg del procés d'extracció, purificació i fraccionament; donat que aquests patrons patiran les mateixes pèrdues que els analits, per ser químicament idèntics a aquests, i separables en l'espectròmetre de masses per ser de ¹³C₁₂ en lloc de ¹²C₁₂. Els analits es podran referir quanti-

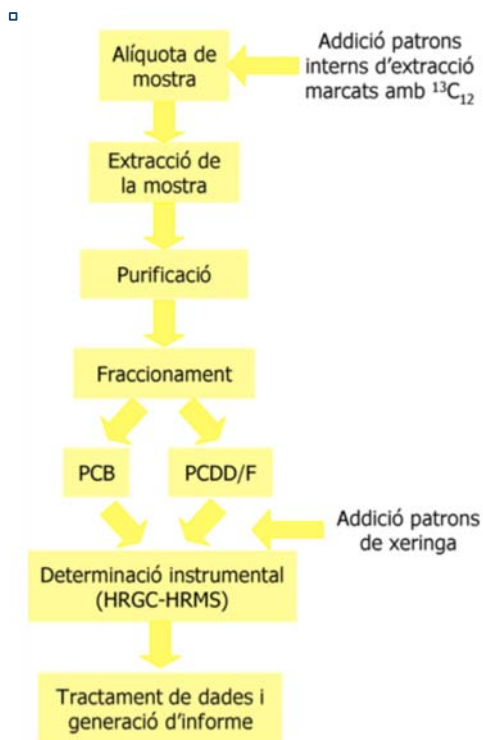


Figura 11. Esquema de l'anàlisi de dioxines, furans i PCBs.

tativament a la mostra per relació amb els patrons en el cromatograma, registrat a l'EM, donat que es coneix la quantitat exacta de patrons que s'ha introduït en la alíquota de la mostra.

El segon patró intern, o "patró de xeringa", té com a objectiu reduir la incertesa de la quantitat d'extracte injectada en el CG, que normalment és de entre 1 i 5 µl, que es mesuren amb un error considerable. El patró de xeringa consisteix en dos congèneres determinats, també marcats amb $^{13}\text{C}_{12}$, que no formen part de l'altre patró, i que s'addiciona en quantitat perfectament coneguda a l'últim extracte d'uns 15 µl immediatament abans de ser injectat al cromatògraf. En el cromatograma es determina quantitativament la relació del senyal dels analits i dels patrons. Mitjançant els patrons adicionats en l'alíquota de la mostra, s'obté la concentració dels contaminants en la mostra objecte del anàlisi, mentre que al saber la quantitat de patró de xeringa addicionat a l'extracte, s'obté amb precisió acceptable la recuperació.

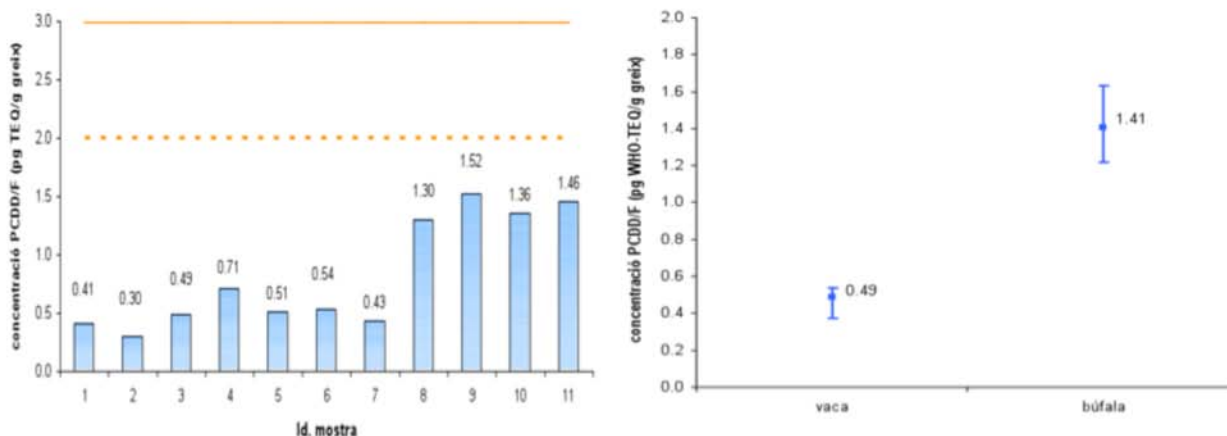


Figura 12. Resultats obtinguts en les anàlisis de formatge mozzarella, comparades amb els nivells d'intervenció i màxims i comparades per tipus de llet.

D'on precedeixen la majoria de mostres que poden contenir dioxines (PCDD) furans (PCDF) i PCBs

En el medi ambient, dioxines i furans es troben en quantitats molt baixes, ja que es produeixen, o s'han format, per fenòmens naturals que generen aquestes substàncies en quantitats molt petites. No obstant, els éssers humans podem generar aquests contaminants amb el nostre comportament, com s'ha dit anteriorment. La contaminació per PCBs es quasi exclusivament de tipus antropogènic i més concretament provocada per les activitats de tipus industrial. El cas de la contaminació per DDTs també es de tipus antropogènic, si be la seva dispersió està relaciona amb l'activitat agrícola i, indirectament, sanitària.

Per aquestes raons, entre d'altres, s'investiga especialment la presència de PCDD, PCDF i PCBs en:

- Emissions atmosfèriques, especialment de les plantes incineradores de residus.
- Residus en general: cendres, afluents aquosos, fangs de depuradora, etc..
- Sòls, sediments fluvials o marins, vegetació en general de zones especialment sensibles.
- Aire, especialment de zones urbanes i industrials.
- Productes d'alimentació humana i animal: pinsos i matèries primeres per a la seva producció i aliments per al consum humà.

Un cas concret: presència de dioxines i furans (PCDD i PCDF) en mostres de formatge "mozzarella"

Entre març i abril del 2008 es va disparar l'alerta sobre la presència de PCDD i PCDF en mozzarelles italianes. Cal remarcar que aquest formatge és de gran consum a Itàlia i també un important producte d'exportació. L'origen de la mozzarella i el principal lloc de producció és la Campania, amb Nàpols com a capital. Deixant a part el consum directe d'aquest formatge, cal recordar que és un dels principals ingredients de la pizza. Per tant, la possible presència de dioxines en la mozzarella va crear gran inquietud, especialment a Itàlia, país ja escarmentat pels casos de cloracné, causats pel núvol tòxic, contenint dioxines i furans, produït en l'accident de la planta de

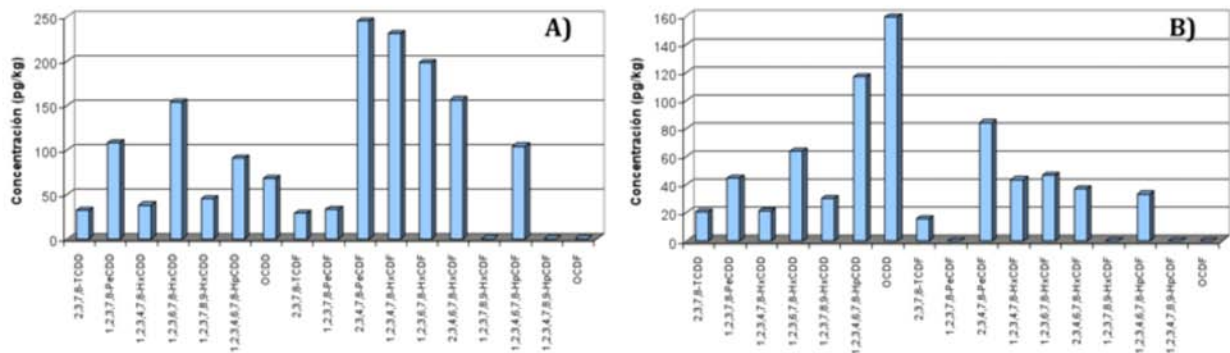


Figura 13. Perfils dels congèneres 2,3,7,8-clorosubstituïts de les mostres de (A) mozzarella de búfala i (B) mozzarella de vaca.

triclorofenol de Seveso.

Com a resposta a aquesta alarma, estesa a tot Europa, a l'IQS es va decidir realitzar uns controls de les mozzarelles que es trobaven en el mercat. Es van comprar 11 mozzarelles en establiments de Barcelona. L'origen de les mostres va ser: 3 d'Espanya, 1 de Dinamarca i 7 d'Itàlia. De les 11, 4 procedien de llet de búfala i 7 de llet de vaca.

Les mostres es va analitzar d'acord amb el mètode que s'ha comentat. Els resultats van posar de manifest que, si bé es van trobar dioxines i furans en totes, en cap d'elles s'arribava al nivell d'alerta de 2 pg TEQ/ g de greix, i, per tant, encara menys al nivell màxim permès de 3 pg TEQ/ g greix. No obstant, es va veure que de les mostres analitzades, les obtingudes de llet de búfala (mostres 8, 9, 10 i 11) tenien uns nivells més alts que les de llet de vaca. En els gràfics següents (figura 12) es representen aquests resultats.

En la figura 13, es representen els perfils dels congèneres 2,3,7,8-clorosubstituïts, que són els més tòxics, en les mozzarelles de búfala i de vaca.

S'observa que en el cas de les búfales predominen els furans de baix grau de cloració, mentre que a les de vaca, les dioxines d'alt grau de cloració són els predominants. El perfil detectat a les mozzarelles de búfala recorda en gran manera als perfils detectats en mostres de contaminació ambiental per PCDD i PCDF. La figura 14 correspon a una fotografia de búfales, en el seu ambient natural de pastura i que pot insinuar una possible més gran captació de contaminants lipòfils del medi ambient per part d'aquests bòvids.



Figura 14. Búfales pasturant¹⁹.

Referències i altres fonts

- <http://es.wikipedia.org/wiki/cloro>, (consultada 23/02/2010).
- Carlson, R. *Silent spring*, Houghton Mifflin Ed., Boston, EUA. 1962
- UNEP Chemicals (2003), Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances (<http://www.chem.unep.ch/pts>).
- Bernes, C. *Persistent Organic Pollutants*, Swedish Environmental Protection Agency, Estocolm, Suècia, 1990.
- Rodríguez Larena, M. C., Tesi Doctoral, IQS, Universitat Ramon Llull, 1996.
- Broto Puig, F., Tesi doctoral, IQS, 1992.
- Lovelock, J.E.; Lipsky S.R. *J. Am. Chem. Soc.* 1960, 82, 431.
- Lovelock, J. *Gaia, una nueva visión sobre la Tierra*, Ed. Orbis, Barcelona, 1985
- Tsi, A., Treball Final de Carrera, IQS, 1984.
- Maggs, R. J.; Joyes, P.L.; Davies, A.J.; Lovelock J.E. *Anal. Chem.* 1971, 43,1966.
- Gassiot, M.; Díaz-Marot, A.; Viñals-Aznar, P.; Ros, J., *Bol. Inst. Oceanogr.* 1984, 1, 141.
- Francesc Broto Puig (1982), vegeu ref. nº 6.
- Zobel, M.G.R. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1974, 57, 791.
- González-Sabaté, L. Tesi Doctoral, IQS, 1983.
- Ballschmitter, K.; Bacher, R.; Mennel, A.; Fischer, R.; Riehle, U.; Swerez, M. *J. High Resol. Chromatogr.* 1992, 15, 260.
- Jover, E. *Revista de la Societat Catalana de Química* 2007, 8, 55.
- NATO/CCMS (North Atlantic Treaty Organization, Committee on the Challenges of Modern Society) *International toxicity equivalency factor (I-TEF) method of risk assessment for complex mixtures of dioxins and related compounds*, Report n. 176, 1988.
- van den Berg, M.; Birnbaum, L.; Bosveld, A. T. C.; Brunström, B.; Cook P.; Feeley, M.; Giesy, J. P.; Harnberg, A.; Hasegawa, R.; Kennedy, S. W.; Kubiak, T.; Larsen, J. C.; van Leeuwen, F. X. R.; Liem, A. K. D.; Nolt, C.; Peterson, R. E.; Poellinger, L.; S. Safe, S.; Schrenk, D.; Tillitt, D.; Tysklind, M.; Younes, M.; Waern, F.; Zacharewski T. *Environ. Health Perspect.* 1998, 106, 775.
- http://es.wikipedia.org/wiki/Bubalus_bubalis, (consultada 23/02/2010).



M. Gassiot



J. Díaz



F. Broto



L. Comellas

M. Gassiot, professor emèrit de la Universitat Ramon Llull a l'IQS, departament de Química Analítica, i Acadèmic Numerari de la RACA de Barcelona.

J. Díaz, professor titular de la Universitat Ramon Llull a l'IQS, departament de Química Analítica, i cap del Laboratori de Dioxines de l'IQS.

F. Broto, professor catedràtic de la Universitat Ramon Llull a l'IQS, departament de Química Analítica, i cap de la Secció de Cromatografia de l'IQS.

L. Comellas, professor catedràtic de la Universitat Ramon Llull a l'IQS, departament de Química Analítica, i Vicerector de Recerca i Innovació de la URL.