

UCH-FC
Q. Ambiental
L 321
C ↓



**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE**

**“DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS EN EXTRACTO DE TCLP MEDIANTE
CROMATOGRAFÍA GASEOSA ACOPLADA A DETECTOR DE MASA,
OPTIMIZANDO METODOLOGÍAS DE LIMPIEZA (CLEAN UP)”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en el cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de:

Químico Ambiental

Giannina Fernanda Larêe Barría

Director de Seminario de Título:
Lab. Qco. Enrique Villarroel R.

Patrocinante de Seminario de Título:
M. Cs. Sylvia Copaja C.

Noviembre, 2015
Santiago – Chile

ESCUELA DE PREGRADO – FACULTAD DE CIENCIAS- UNIVERSIDAD DE CHILE



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado, de la Universidad de Chile, que el Seminario de Título presentado por la candidata

GIANNINA FERNANDA LAREE BARRIA

“DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS EN EXTRACTO DE TCLP MEDIANTE CROMATOGRAFÍA GASEOSA ACOPLADA A DETECTOR DE MASA, OPTIMIZANDO METODOLOGÍAS DE LIMPIEZA (CLEAN UP)”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Químico Ambiental.

COMISIÓN DE EVALUACIÓN

Enrique Villarroel R.
Director Seminario de Título

M.Cs Sylvia Copaja C.
Profesora Patrocinante

Dra. Isel Cortes
Presidente

Prof. María Inés Toral
Corrector

Firmas manuscritas de los miembros de la Comisión de Evaluación: Enrique Villarroel R., Sylvia Copaja C., Isel Cortes y María Inés Toral. Cada firma está sobre una línea horizontal.



Santiago de Chile, Noviembre de 2015.



RESEÑA



Giannina Fernanda Laree Barria nació el 28 de Abril de 1991, sus padres son Arturo Laree Arriagada y Ximena Barria Maldonado, siendo la segunda de tres hermanos, Arturo y Geraldine.

Durante su vida ha residido en la comuna de Estación Central de la Región Metropolitana de Chile. Su educación básica la desarrolló en el

Colegio Villa España, donde se destacó por sus condiciones artística, de baile y su excelente desempeño académico, lo que le permitió postular al Liceo n°1 Javiera Carrera, donde explotó su lado social, interesándose por los problemas-país y participando de las actividades de ayuda que realizaba la institución. Es en esta etapa donde consolidó los valores entregados por sus padres y donde formó sus mejores amistades.

La fuerte carga académica entregada por esta institución le permitió postular e ingresar en el año 2009 a la carrera de Química Ambiental de la Universidad de Chile, donde se enamoró de la naturaleza, fortaleció su ámbito social y formó grandes amistades. El año 2013, egresa de carrera obteniendo el grado de Licenciada en Ciencias Ambientales con Mención Química.

Actualmente se encuentra desarrollando su Seminario de Título, para optar al título de Químico Ambiental.

DEDICATORIA

A mi padre, que desde el cielo me apoyó en todo en este proceso y me enseñó a amar
y respetar la naturaleza.

A mi madre, que es una mujer maravillosa, por su amor y entrega, y por su apoyo
incondicional en estos años y en toda mi vida.

A mi familia, a mis hermanos y a mi prima Nicole, por su apoyo en todo este proceso y
por estar siempre dispuestos a ayudarme.

Los amo.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a la empresa ANAM S.A, por el financiamiento de este proyecto de Seminario de Título.

A mi Director de Seminario, Enrique Villarroel, por su dedicación, por ser un excelente profesor, por su conocimiento y por hacer de mí un profesional más completo.

A mi profesora Patrocinante de Seminario de Título, Sylvia Copaja, por su entrega y gran ayuda en todo este proceso, por su dedicación, y sus consejos durante estos 5 años de formación. Por entregarme el conocimiento y las herramientas necesarias para desempeñarme en el futuro como una gran profesional. Muchas gracias profe.

A las personas que conocí durante la ejecución y elaboración de este Seminario de Título, a mi jefe Rodrigo Parraguez, por su tiempo dedicado en mi aprendizaje, por confiar en mí y en mis capacidades, a Leonardo y Jessica por su ayuda, aprendizaje y apoyo en las labores de trabajo y a mis amigos Carolina Valenzuela, Diego Herrera y Nicolas Leiva, por su apoyo y amor.

A Marisol, por ser excelente en su trabajo e incondicional ayuda.

A mi familia por ser un pilar fundamental en mi vida, por su apoyo, amor y entrega incondicional. Los amo mucho.

A mis amigos y compañeros de carrera por apoyarnos mutuamente en todo este proceso de formación, en especial a Sebastián, Diego y Gonzalo por la amistad, apoyo y por esas largas noches de estudio. Gracias por todo equipo. A mis amigas Carla, Tamara, Sofía y Ale por estar junto a mí siempre, por toda la compañía y amor. A Franco, por todos estos años de amor y amistad, por ser un pilar fundamental en estos años de universidad y por tu apoyo incondicional. Y a toda la gente que conocí en estos años, a mis amigos de Las Gradadas, que sin duda hicimos de ésta... una gran etapa universitaria. Gracias a todos.

Al final del viaje está el horizonte
Al final del viaje partiremos de nuevo
Al final del viaje comienza un camino
Otro buen camino...

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ABSTRACT	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes generales.....	1
1.1.1. Generación y clasificación de residuos.....	1
1.1.1.1. Clasificación de residuos de acuerdo al riesgo.....	1
1.1.1.2. Procedimiento de Característica de Toxicidad por Lixiviación (TCLP).....	4
1.1.2. Disposición final de los residuos.....	5
1.1.2.1. Vertederos y basurales.....	6
1.1.2.2. Rellenos Sanitarios.....	7
1.1.2.3. Relleno de Seguridad.....	8
1.2. Antecedentes Específicos.....	8
1.2.1. Marco regulatorio nacional e internacional de los Contaminantes Orgánicos Persistentes y Pesticidas.....	8
1.2.2. Características de los Pesticidas como sustancias peligrosas.....	10
1.2.2.1. Efectos en la salud y medio ambiente.....	11
1.2.2.2. Dinámica de pesticidas en el Medio ambiente.....	14
1.2.2.3. Factores físico-químicos que influyen en el destino de los pesticidas y su transporte ambiental.....	14
1.2.2.4. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos en estudio.....	16
1.2.3. Análisis de pesticidas en residuos.....	18
1.2.3.1. Preparación de las muestras.....	19
1.2.3.1.1. Métodos de extracción.....	19
1.2.3.1.2. Método de limpieza (clean up).....	29
1.2.3.2. Análisis Químico.....	31
1.2.3.2.1. Cromatografía gaseosa.....	31
1.2.3.2.2. Espectrometría de masas.....	34
1.2.3.2.3. Cromatografía gaseosa acoplada a detector de masa.....	36
1.2.4. Normativas y Métodos.....	38
1.3. Objetivos.....	40
II. MATERIALES Y METODOS.	41
2.1. Reactivos y materiales.....	41

2.1.1.	Aparatos y materiales.	41
2.1.2.	Reactivos.	41
2.2.	Preparación del material.	42
2.3.	Preparación de soluciones intermedias estándares.	43
2.4.	Preparación de curva de calibración.	44
2.5.	Preparación de Solución de Hidróxido de Sodio 20%.	44
2.6.	Preparación columnas de sílica gel.	45
2.7.	Preparación de la muestra.	45
2.7.1.	Preparación del extracto de TCLP.	45
2.7.2.	Extracción líquido-líquido de extractos TLCP.	45
2.7.3.	Concentración de las soluciones orgánicas.	47
2.7.3.1.	Concentración en Rotaevaporador.	47
2.7.3.2.	Concentración con purga de Nitrógeno.	47
2.8.	Selección de solvente para clean up.	48
2.9.	Procedimiento de limpieza (Clean up) de muestras con silica gel.	49
2.10.	Metodología de análisis de extractos.	51
2.10.1.	Fortificación de muestras con Pesticidas.	52
2.11.	Condiciones del Análisis cromatográfico de muestras por GC-MS	52
2.11.1.	Equipo.	52
2.11.1.1.	Condiciones instrumentales de análisis.	53
2.11.2.	Resumen Modo SIM.	54
2.11.3	Cuantificación y validación de resultados.	56
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	57
3.1.	Validación del método.	57
3.2.	Determinación y cuantificación de los resultados.	57
3.3.	Determinación del eluyente para limpieza de muestras.	58
3.3.1.	Efecto del volumen de eluyente.	59
3.4.	Determinación de pesticidas en muestras de agua.	62
3.5.	Determinación de pesticidas en muestras de TCLP.	65
3.6.	Análisis comparativo y determinación de pesticidas en extracto de TCLP.	70
IV.	DISCUSIÓN GENERAL.	76
V.	CONCLUSIONES.	82
VI.	REFERENCIAS.	83
VII.-	ANEXOS.	90

7.1.	Anexo 1: Concentraciones Máximas Permisibles (CMP), DS:	
148.....		91
7.2.	Anexo 2: Características de los pesticidas estudiados e información toxicológica.....	92
7.3.	Anexo 3: Preparación muestras de TCLP.....	99
7.4.	Anexo 4: Curvas de calibración.....	102
7.5.	Anexo 5: Resultados obtenidos eluyentes.....	108
7.6.	Anexo 6: Resultados muestras de TCLP fortificadas con 2µg/L (sin dilución)	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características de toxicidad en residuos.....	3
Tabla 2: Propiedades fisicoquímicas de pesticidas.....	16
Tabla 3: Características generales pesticidas.....	18
Tabla 4: Soluciones estándares.....	43
Tabla 5: Curva de calibración (a).....	44
Tabla 6: Curva de calibración (b).....	44
Tabla 7: Condiciones instrumentales para el Cromatógrafo gaseoso.....	54
Tabla 8: Condiciones instrumentales para el Detector de Masas.....	54
Tabla 9: Resumen modo SIM.....	55
Tabla 10: Selección de eluyente (50 mL).....	59
Tabla 11: Fuerza eluotrópica de los eluyentes utilizados.....	62
Tabla 12: Resultados obtenidos muestras de agua fortificadas con 2 µg/L.....	63
Tabla 13: Resultados obtenidos en muestra de agua desionizada sin y con clean up fortificadas con 40 µg/L.....	64
Tabla 14: Porcentajes de recuperación obtenidos en muestras TCLP fortificadas con 2 µg/L con diferentes diluciones.....	67
Tabla 15: Porcentajes de recuperación obtenidos en muestras TCLP sin clean up fortificadas con 40 µg/L.....	68
Tabla 16: Porcentajes de recuperación obtenidos en muestras TCLP con clean up fortificadas con 40 µg/L.....	69
Tabla 17: Cuadro comparativo matriz TCLP fortificado con 40µg/L (dilución 1:10).	71
Tabla 18: Resultados obtenidos muestra real.....	72
Tabla 19: Concentraciones Máximas Permisibles.....	91
Tabla 20: Características generales 1,4 Diclorobenceno.....	92
Tabla 21: Características generales 2-metilfenol.....	92
Tabla 22: Características generales Nitrobenceno.....	93
Tabla 23: Características generales Hexaclorobutadieno.....	93
Tabla 24: Características generales 2,4,6 Triclorofenol.....	94
Tabla 25: Características generales 2,4,5 Triclorofenol.....	94
Tabla 26: Características generales 2,4 Dinitrotolueno.....	95
Tabla 27: Características generales Hexaclorobenceno.....	95

Tabla 28: Características generales Pentaclorofenol.....	96
Tabla 29: Características generales Lindano.....	96
Tabla 30: Características generales Heptacloro.....	97
Tabla 31: Características generales Clordano.....	97
Tabla 32: Características generales Endrin.....	98
Tabla 33: Características generales Metoxicloro.....	98
Tabla 34: Curvas de calibración.....	102
Tabla 35: R2 Curvas de calibración.....	102
Tabla 36: Cuadro comparativo volúmenes de elución: 30-70% diclorometano-hexano.	108
Tabla 37: Cuadro comparativo volúmenes de elución: 40-60% diclorometano-hexano.	108
Tabla 38: Cuadro comparativo volúmenes de elución: 30-70% diclorometano-acetona	109
Tabla 39: % de Recuperación de muestras sin dilución de TCLP sin clean up (2 µg/L).	110
Tabla 40: % de Recuperación de muestras sin dilución de TCLP con clean up (2 µg/L)	110

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de residuos según riesgo.	2
Figura 2: Determinación de residuos peligrosos.	3
Figura 3: Elementos de un relleno sanitario.	7
Figura 4: Efectos en la salud provocados por la exposición a pesticidas.	12
Figura 5: Efectos en el medio ambiente provocados por la exposición a pesticidas....	13
Figura 6: Extracción en fase sólida.	21
Figura 7: Sistema de microextracción en fase sólida SPME.	22
Figura 8: Extracción Soxleht.	24
Figura 9: Definición fluido supercrítico.	25
Figura 10: Esquema general GC.	32
Figura 11: Componentes de un Espectrómetro de Masa.	34
Figura 12: Diagrama de un espectrómetro de masas.	36
Figura 13: Diagrama GC-MS.	37
Figura 14: Concentración con purga de Nitrógeno.	48
Figura 15: Eluyentes utilizados en la metodología de limpieza.	49
Figura 16: Procedimiento de Clean up.	50
Figura 17: Viales del autosampler.	50
Figura 18: Resumen preparación de muestras.	51
Figura 18: Equipo GC/MS.	53
Figura 19: Determinación y cuantificación de los resultados.	58
Figura 21: Volumen de elución: 30/70 Diclorometano-Hexano.	60
Figura 22: Volumen de elución: 40/60 Diclorometano-Hexano.	60
Figura 23: Volumen de elución: 30/70 Diclorometano- Acetona.	61
Figura 24: Muestra de TCLP directa.	73
Figura 25: Muestra de TCLP pasada por columna de sílica gel.	74
Figura 26: Blanco muestra.	75
Figura 27: Procedimiento de Test de TCLP. (Reinel M, 2009)	99
Figura 28: Determinación solución lixivante.	100
Figura 29: Equipo de rotación.	100
Figura 30: Equipo de filtración al vacío y extractos de TCLP.	101
Figura 31: Curvas de calibración (a)(Primera parte).	103

Figura 32: Curvas de calibración 1(Segunda parte).....	104
Figura 33: Curvas de calibración 1(Tercera parte).....	105
Figura 34: Curvas de calibración 2(Primera parte).....	105
Figura 35: Curvas de calibración 2(Segunda parte).....	106
Figura 36: Curvas de calibración 2 (Tercera parte).....	107

RESUMEN

Uno de los estudios a los cuales son sometidos gran cantidad de desechos, corresponde a la característica de toxicidad por lixiviación TCLP (Toxicity Characteristic Leaching Procedure). Este procedimiento es aplicable a muestras de residuos, líquidos o sólidos, y permite determinar la presencia y concentración de determinados constituyentes tóxicos, como metales, compuestos orgánicos volátiles, semivolátiles y pesticidas. La determinación de estos últimos, surge como una necesidad desde el punto de vista medioambiental, debido a sus características de toxicidad, peligrosidad y persistencia.

El análisis de estos extractos no resulta simple, debido a la complejidad de las muestras y la dificultad para determinar y cuantificar los analitos, siendo necesaria una etapa previa de limpieza (clean up), para eliminar las interferencias propias de la muestra y hacer un análisis más efectivo de los constituyentes.

En este seminario de título, se busca optimizar un método de limpieza y metodologías de extracción líquido-líquido, con el propósito de analizar pesticidas en muestras de TCLP mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa.

Para ello se fortificó muestras de agua y de TCLP, con concentraciones conocidas de un Mix de Pesticidas, y se comparó las respuestas obtenidas (% de recuperación). Asimismo, se comparó los resultados de ambas muestras cuando estas fueron sometidas al proceso de limpieza.

Los resultados obtenidos muestran que el procedimiento de limpieza con silica gel es efectivo para la determinación de pesticidas en muestras complejas como los extractos de TCLP, porque las interferencias son retenidas eficientemente en el adsorbente, permitiendo que la determinación y cuantificación de los compuestos se lleve a cabo de forma exitosa, sin dañar las condiciones instrumentales del equipo GC/MS.

En la optimización del proceso de clean up, el mejor eluyente fue la mezcla 30-70 Diclorometano-Acetona, utilizando un volumen de elución de 100 mL, condiciones que permitieron obtener mejores porcentajes de recuperación. Sin embargo,

dependiendo de la naturaleza de las muestras a analizar, fue necesario reducir la carga orgánica presente en ellas y realizar una dilución previa a la extracción líquido-líquido. Por esto, durante el desarrollo del presente seminario de título, se realizó una dilución 1:10 a las muestras de TCLP y se optimizó la fortificación efectuada a éstas, concluyendo que una concentración de 4 µg/L es suficiente para obtener porcentajes de recuperación aceptables en la mayoría de los compuestos a analizar, permitiendo determinar de este modo, concentraciones de los pesticidas a nivel trazas en las muestras de residuos.

Finalmente, a modo de ensayo y confirmación, se determinó la concentración de pesticidas en una muestra de TCLP, la cual se sometió al procedimiento completo de preparación de muestra, extracción líquido-líquido y clean up, mostrando valores menores a los señalados por el DS 148, determinado de este modo, que el residuo puede disponerse en un relleno sanitario sin poner en riesgo la salud de las personas ni el ecosistema.

ABSTRACT

One of the studies to which they are subjected lot of waste, corresponding to the toxicity characteristic leaching TCLP (Toxicity Characteristic Leaching Procedure). This method is applicable to samples of waste, liquid or solid, and to determine the presence and concentration of certain toxic constituents such as metals, volatile organic compounds, semi-volatile and pesticides. The determination of the latter, as a need from the environmental point of view, due to its characteristics of toxicity, dangerousness and persistence.

However, analysis of these extracts is not simple, due to the sample complexity and difficulty to identify and quantify analytes prior cleaning stage (clean up) where necessary, to remove own interference of the sample and make more effective analysis of the constituents.

This seminar title, seeks to optimize a method of cleaning and methodologies liquid-liquid extraction, in order to analyze pesticides in samples of TCLP by gas chromatography coupled to a mass spectrometer.

To do water samples and fortified TCLP, with known concentrations of a Mix of Pesticides, and the responses responses (% recovery) was compared. Also, the results of both samples was compared when these were subjected to the cleaning process.

The results show that the cleaning procedure with silica gel is effective for the determination of pesticides in complex samples such as extracts TCLP because interferences are retained efficiently in the adsorbent, allowing the identification and quantification of the compounds is carried After successfully without damaging the instrument conditions the team GC / MS.

In the process optimization clean up, the best was 30-70 eluent dichloromethane-acetone mixture, using an elution volume of 100 mL, conditions that

allowed for better recoveries. However, depending on the nature of samples to be analyzed, it was necessary to reduce the organic load present in them and carry out a dilution prior to liquid-liquid extraction. Therefore, during the development of this seminar title, a 1:10 dilution of samples was conducted TCLP and fortification made to these optimized, concluding that a concentration of 4 mg / L is sufficient to obtain acceptable recovery rates in most test compounds, allowing thereby determine concentrations of pesticides at trace levels in samples of waste.

Finally, for testing and confirmation, the concentration of pesticides in a sample of TCLP was determined, which was subjected to the entire process of sample preparation, liquid-liquid extraction and clean up, showing lower values than those indicated by the DS 148, determined in this way, the waste may be disposed in a landfill without jeopardizing the health of people or the ecosystem.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes generales.

1.1.1. Generación y clasificación de residuos.

El Art.3 del DS:148 establece que un residuo o desecho corresponde a cualquier sustancia, elemento u objeto que el generador elimina, se propone eliminar o está obligado a eliminar. La cantidad de residuos generados en Chile, presenta un crecimiento importante, debido principalmente, al aumento de la población, el crecimiento en la producción industrial y tasas de valorización de residuos aún incipientes.

Este aumento en la generación de residuos ha llevado a generar prácticas de manejo orientadas a la prevención y valorización en forma ambientalmente racional. El Ministerio del Medio Ambiente está trabajando en la elaboración de una Ley General de Residuos, que involucra promover la prevención en la generación de estos y, si ello no es posible, fomentar, en este orden, su reducción, reutilización, reciclaje, valorización energética, tratamiento y la disposición final de los mismos, como última alternativa. (CONAMA, 2010).

Debido al gran número de residuos generados, las diferentes fuentes que los provocan y las características propias de éstos, existe la necesidad de clasificarlos, ya sea por su origen (sólidos, industriales, domiciliarios, mineros, etc.) o por el riesgo potencial que éstos podrían provocar a la salud de las personas o al medioambiente. Esto posibilita la gestión de residuos, la cual permite establecer los pasos a seguir una vez generados, ya sea para separarlos, tratarlos o establecer su disposición final.

1.1.1.1. Clasificación de residuos de acuerdo al riesgo.

El análisis y la clasificación de los residuos, resulta una herramienta de gestión importante, debido a que es posible diferenciar los residuos generados determinando si estos consisten o contienen sustancias peligrosas que pueden provocar riesgos asociados a la salud de los trabajadores, la población en general y el medioambiente. La Figura 1 muestra una clasificación de residuos de acuerdo al grado de peligrosidad.

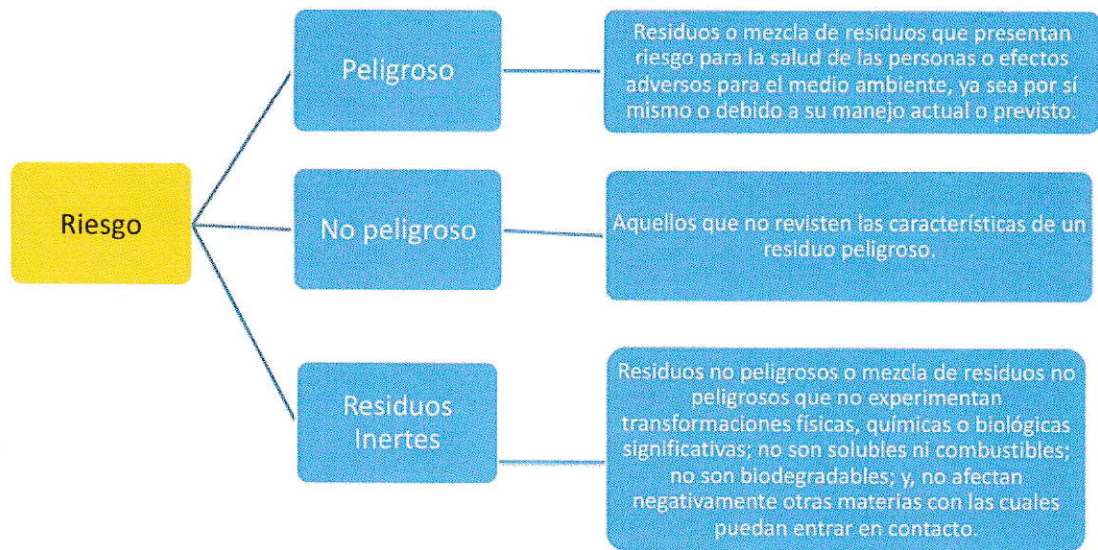


Figura 1: Clasificación de residuos según riesgo.

En Chile, el crecimiento en términos de la actividad industrial, ha provocado un aumento en la generación de residuos peligrosos, los cuales no siempre han sido manejados de manera ambiental y sanitariamente correcta generando impactos ambientales negativos. En el período 2000-2005 el total de residuos peligrosos estimado, muestra un incremento en la tasa de generación pasando de 198 mil toneladas a 271 mil toneladas, respectivamente. Sin embargo partir del año 2005, la generación tiende a estabilizarse alrededor de las 250 mil toneladas, debido a la entrada en vigencia del D.S. 148, el cual ha permitido desarrollar una reglamentación específica, que establezca los criterios requeridos para identificar la peligrosidad del residuo, que se preocupe sobre el manejo de estos y el control de los riesgos asociados. (CONAMA, 2010).

Los artículos 12 al 17 del presente reglamento, establecen algunas características que permiten definir a un residuo peligroso (Figura 2), bastando la presencia de una de ellas en un residuo para clasificarlo como tal. En la Tabla 1 se expresa brevemente la descripción de cada característica de toxicidad.

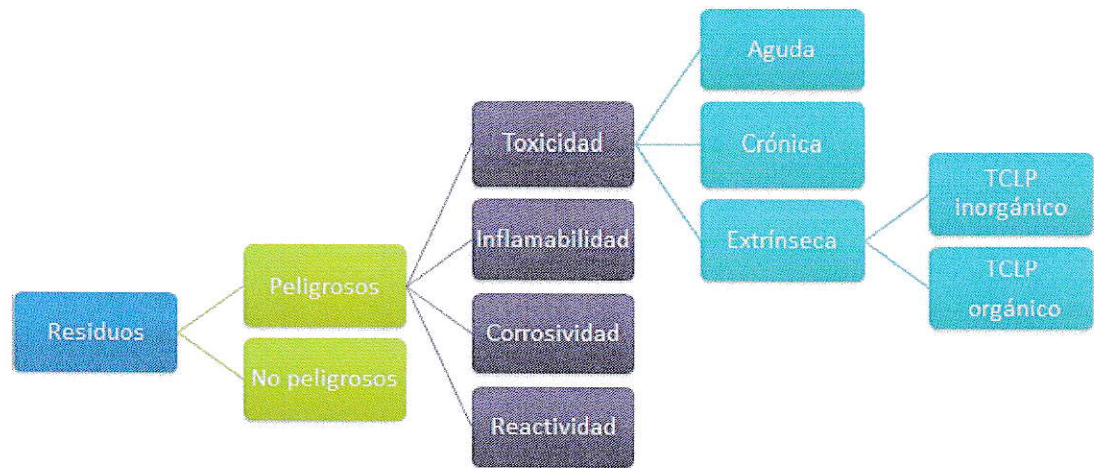


Figura 2: Determinación de residuos peligrosos.

Tabla 1: Características de toxicidad en residuos.

Toxicidad aguda	Contiene sustancias que son letales en bajas dosis en seres humanos.
Toxicidad crónica	Contiene sustancias que poseen efectos tóxicos acumulativos, carcinogénicos, mutagénicos o teratogénicos en humanos o en especies que permitan inferir tales efectos en seres humanos.
Toxicidad extrínseca	Cuando su eliminación pueda dar origen a una o más sustancias tóxicas agudas o crónicas en concentraciones que pongan en riesgo la salud de la población. De este modo, se considerará que el residuo tiene ésta característica cuando el test de Toxicidad por Lixiviación (Test TCLP) arroje concentraciones superiores de cualquiera de las sustancias mencionadas en la tabla de concentraciones máximas permisibles presente en el reglamento.(Anexo 1).
Inflamabilidad	Cuando presente riesgo de incendio o capacidad de exacerbarlo, en cualquier etapa de su manejo.
Reactividad	Si presenta debido a su extrema inestabilidad y tendencia a reaccionar violentamente o a explotar, riesgo para la salud humana o al medioambiente en cualquiera de las etapas de manejo.
Corrosividad	Si presenta un pH extremo ≤ 2 o $\geq 12,5$ y si corroe el acero a una tasa mayor a 6,35 mm por año a una temperatura de 55°C según el método de tasa de corrosión.

“Reglamento sanitario sobre manejos de residuos peligrosos” (DS: 148).

Finalmente es importante destacar que cuando un residuo es clasificado como residuo peligroso, se deben establecer las condiciones sanitarias y de seguridad mínima a la cual deberá someterse su manipulación, ya sea en la etapa de generación, tenencia, almacenamiento, transporte, tratamiento, reuso, reciclaje, disposición final u otras formas de eliminación de estos, conforme a lo establecido en el presente reglamento. (MINSAL, 2004).

1.1.1.2. Procedimiento de Característica de Toxicidad por Lixiviación (TCLP).

La característica de Toxicidad por Lixiviación, conocido como test TCLP, por sus siglas en inglés (Toxicity Characteristic Leaching Procedure), corresponde a un método desarrollado a fines de la década del 80 en los Estados Unidos por la EPA (Environmental Protection Agency, 1992) que permite cuantificar la extractabilidad de compuestos químicos tóxicos bajo un conjunto de condiciones de laboratorio. (Reinel Marisol, 2009). Con ello, se estima la disponibilidad de especies tanto orgánicas como inorgánicas presentes, estableciendo el potencial de peligrosidad (toxicidad extrínseca) del residuo al contener alguna sustancia tóxica en concentraciones que igualen o superen lo establecido en el DS: 148 (Anexo 1).

Para decidir sobre la realización del test de TCLP, se debe hacer un análisis del origen o fuente de generación del residuo, con el fin de identificar los eventuales constituyentes tóxicos que éste pudiera contener. De no ser posible tal estimación se deberá recurrir a un análisis completo de laboratorio para determinar cualitativa y cuantitativamente el o los constituyentes presentes en el residuo. Para tal propósito se podrán utilizar técnicas tradicionales de laboratorio como cromatografía, absorción atómica, fluorescencia de rayos x, etc. según corresponda.

Este método se basa en la extracción de compuestos con cierto grado de toxicidad mediante un proceso de lixiviación bajo condiciones de presión y temperatura controlada, utilizando un líquido extractante, que se encuentra en función del pH de la fase sólida del residuo, generando un extracto del mismo, llamado extracto de TCLP. Ésta solución es sometida a un proceso de agitación por 18 ± 2 h en un agitador mecánico, para luego preparar el extracto para el análisis químico (ej. Extracción líquido-líquido en muestras de pesticidas). Finalmente el extracto obtenido es

analizado por diversos métodos como GC/MS o ICP-OES para determinar la concentración de compuestos tóxicos como metales, compuestos orgánicos volátiles, semivolátiles y pesticidas presentes en éste.

De esta forma, un residuo presentará la característica de toxicidad extrínseca cuando el test de Toxicidad por Lixiviación (Test TCLP) arroje concentraciones superiores de cualquiera de las sustancias mencionadas en la tabla de concentraciones máximas permisibles presente en el reglamento (Anexo 1). Asimismo el residuo tendrá esta característica de toxicidad cuando su eliminación pueda dar origen a una o más sustancias tóxicas agudas o crónicas en concentraciones que pongan en riesgo la salud de la población.

Es importante señalar que durante la realización del presente seminario de título, se dará énfasis a la determinación de pesticidas en muestras que requieren análisis de TCLP, las cuales provienen de residuos agrícolas, industriales o muestras de matrices ambientales, como por ejemplo muestras de industrias agronómicas, vinícolas, empresas productoras de estas sustancias, matrices ambientales contaminadas, etc. siendo su estudio de suma importancia para determinar la peligrosidad del residuo, y por tanto establecer su disposición final.

1.1.2. Disposición final de los residuos.

Los residuos, pueden ser tratados mediante valorización, empleándolos como combustible en un proceso productivo, o ser eliminados en forma definitiva en lugares autorizados en conformidad a la normativa vigente. Su disposición final se debe realizar de forma adecuada, ya que una mala eliminación de los residuos puede afectar la salud de las personas, debido a enfermedades provocadas por vectores sanitarios y/o generar impactos ambientales, como afectar la calidad de las aguas, cambiar las propiedades físicas, químicas de los suelos, emitir gases de efectos invernadero, entre otros.

Pese a lo complejo de este tema, Chile ha realizado importantes avances en esta materia. En 1995 la totalidad de los residuos domiciliarios se disponía en vertederos y basurales, los cuales no contaban con las condiciones necesarias para recibir y disponer de forma adecuada los residuos; en el año 2005 en cambio, más del 60% de los residuos generados se disponían en rellenos sanitarios, los cuales cumplen una

serie de exigencias técnicas sanitarias y ambientales (CONAMA, 2005). El mismo año, con la entrada en vigencia del DS: 148, se especifica el lugar donde se dispondrán finalmente los residuos que son clasificados como residuos peligrosos, estableciendo las condiciones y exigencias necesarias para disponer de estos de forma óptima. Asimismo el año 2008 entra en vigencia el D.S. N°189 que regula las condiciones sanitarias y de seguridad básicas en los rellenos sanitarios.

Hoy en día, con la generación de una Política de Gestión Integral de Residuos Sólidos, se promueve la implementación de una estrategia jerarquizada, fomentando en primera instancia prevenir la generación de residuos y, si esto no es posible, impulsar, en este orden, su reutilización, reciclaje, valorización energética, tratamiento y finalmente su disposición final. (CONAMA, 2010).

Este avance ha permitido separar la disposición final de los residuos generados en el país, de acuerdo el tipo y riesgo que éstos pueden provocar a la población.

Así, se definen tres grandes áreas de disposición, clasificadas como:

- vertederos y basurales
- rellenos sanitarios
- rellenos de seguridad

Esto ha permitido ordenar de manera más eficiente los residuos, facilitar la fiscalización realizada por la Autoridad Sanitaria, así como también desarrollar estrategias y planes de gestión de residuos.

1.1.2.1. Vertederos y basurales.

Los vertederos y basurales corresponden a lugares destinados a la disposición final de residuos que no cumplen con la legislación vigente. Estos sitios, en su mayoría, se ubican en la periferia de las zonas urbanas, afectando principalmente a comunas de bajos ingresos e impactando negativamente sus presupuestos, debiendo asignar recursos económicos, equipamiento y personal para clasificar, extraer, transportar y eliminar los residuos dispuestos ilegalmente en el espacio público.(MMA, 2011°).

1.1.2.2. Rellenos Sanitarios.

Este método utiliza principios de ingeniería sanitaria para agrupar la basura y los desechos en la menor superficie posible, reduciendo su volumen por compactación al mínimo practicable, para luego cubrir los residuos con capas de tierra diariamente. Los residuos así quedan encapsulados entre los materiales de la cubierta superior y un sistema de membranas, lo que permite implementar sistemas de recolección y control de las emisiones líquidas y gaseosas (Figura 3).

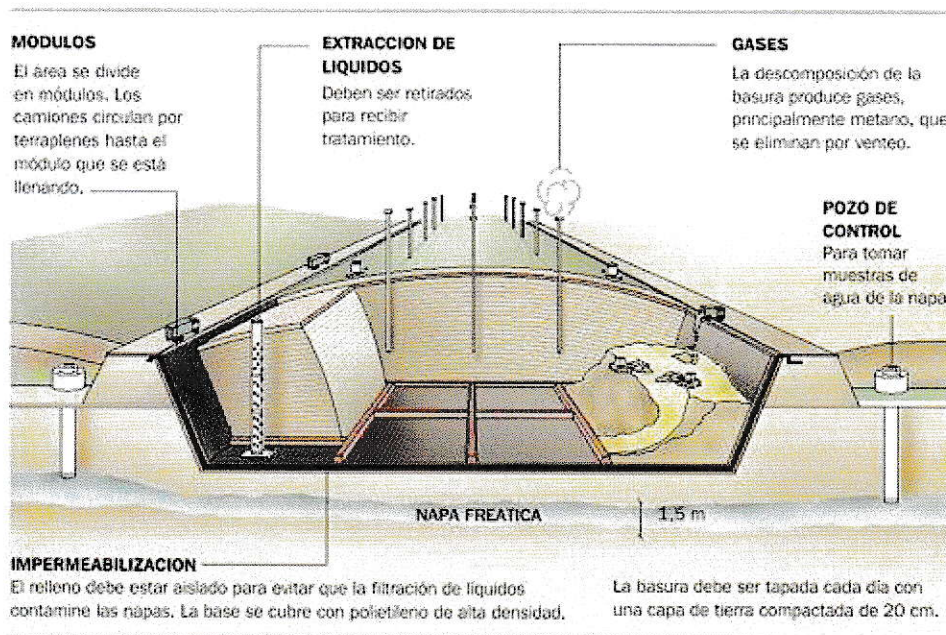


Figura 3: Elementos de un relleno sanitario.

El estudio meticulouso del impacto ambiental, económico y social desde la planificación y elección del lugar, hasta la vigilancia y estudio en toda la vida del vertedero es una de las medidas empleadas por los rellenos sanitarios a diferencia de otros sitios de disposición final de basura y desechos. Esto permite establecer criterios para la adecuada disposición final de los residuos, tomando múltiples medidas para reducir y minimizar los desechos, así como también los problemas generados por la acumulación de éstos, con el propósito de no causar molestia ni peligro para la salud o seguridad pública, ni provocar un perjuicio al medio ambiente, ya sea durante su operación o después de terminado el mismo. (MMA, 2011^o).

Un relleno sanitario además, prevé los problemas que puedan causar los líquidos y gases producidos por efecto de la descomposición de la materia orgánica, siendo en la actualidad, una instalación diseñada y operada como una obra de saneamiento básico, que cuenta con elementos de control seguros y su éxito radica en la adecuada selección del sitio, en su diseño y, por supuesto, en su óptima operación y control. (Diseño, construcción y operación de rellenos sanitarios manuales, 2007).

1.1.2.3. Relleno de Seguridad.

Un relleno de seguridad corresponde a una instalación de eliminación destinada a la disposición final de residuos peligrosos en el suelo, diseñada, construida y operada cumpliendo los requerimientos específicos señalados en el DS:148.

El reglamento establece, entre otras cosas, que toda instalación de eliminación de residuos peligrosos deberá contar con la respectiva autorización otorgada por la Autoridad Sanitaria, la cual especificará el tipo de residuo que podrá ser eliminado y la forma en que dicha eliminación será llevada a cabo. Del mismo modo, deberá presentar un proyecto que deberá incluir las unidades y equipos necesarios para el manejo de los residuos peligrosos, así como también, las características y cantidades de residuos que la instalación está habilitada para recibir, y las operaciones necesarias para el adecuado manejo de estos residuos.

Por otra parte, el relleno de seguridad deberá poseer un sistema de evacuación y control de gases y vapores. Así como también, contar con un sistema de monitoreo de la calidad del agua subterránea en el área de influencia del relleno. (MINSAL, 2004.)

1.2. Antecedentes Específicos.

1.2.1. Marco regulatorio nacional e internacional de los Contaminantes Orgánicos Persistentes y Pesticidas.

Los pesticidas se encuentran dentro de las Sustancias Químicas Peligrosas, por lo que les concierne el conjunto de normativas y acuerdos internacionales para dichas sustancias.

Una de las primeras áreas reglamentadas en la materia fue el Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos fronterizos de desechos peligrosos y su eliminación. Luego el año 2001 se firma el Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes como resultado del reconocimiento de sus propiedades tóxicas, resistencia a la degradación, bioacumulación, transporte por el aire y agua, y por la consciente necesidad de tomar medidas de alcance mundial sobre ellos (UNEP, 2010). Por otra parte, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) junto con la Organización Mundial de la Salud (OMS) tienen dentro de sus funciones establecer normas de formulación, evaluación, distribución y utilización de Plaguicidas. Asimismo, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) tiene por función el registro de todos los pesticidas en actual uso y el re-registro de los productos registrados antes de 1940, de tal manera que se puede verificar que estos cumplan los nuevos requisitos y exigencias relacionadas con asegurar el bienestar de las personas y del medio ambiente. (UNEP/FAO, 2011; FAO y OMS, 2004; Parraguez Daniela, 2013).

En Chile, como parte de un exhaustivo proceso de integración internacional y en el marco de la gestión de sustancias químicas peligrosas, ha ratificado los convenios internacionales de Basilea, Rotterdam y Estocolmo. (MMA, 2011^b). Así como también ha suscrito el Acuerdo de Cooperación Ambiental con Canadá.

Respecto al marco regulatorio nacional, el país ha realizado importantes mejoras, las cuales son el resultado de un largo proceso de apertura internacional conducente a que Chile actualmente sea miembro de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), lo cual involucró la ejecución de acciones que permitieran elevar los estándares nacionales como la relativa a sustancias peligrosas, específicamente los pesticidas (Parraguez Daniela, 2013).

De este modo, a partir de los esfuerzos realizados a fin de incorporar las recomendaciones dadas por la OCDE, en la Evaluación de Desempeño Ambiental de Chile en el año 2005 y debido a los Convenios mencionados, se ha requerido el desarrollo de nuevos instrumentos de gestión y fortalecimiento, por lo cual en respuesta a la necesidad de elevar la jerarquía de los asuntos ambientales dentro de la Administración del Estado, el año 2010 se rediseña la institucionalidad ambiental del país con la creación del Ministerio del Medio Ambiente (Parraguez Daniela, 2013).

Así, Chile cuenta con un marco regulatorio para las sustancias químicas peligrosas acorde con la directrices internacionales (CONAMA, 2004), existiendo dentro de la Administración del Estado, una multiplicidad de instituciones, además del MMA, que participan en la gestión de dichas sustancias. Los pesticidas de uso sanitario y doméstico se encuentran bajo competencia del Ministerio de Salud (MINSAL, 1990; MINSAL 1997), mientras que en materia de plaguicidas, el Ministerio de Agricultura, a través del Servicio Agrícola Ganadero (SAG), tiene la facultad de controlar y reglamentar la fabricación, importación, registro, comercialización, distribución, aplicación etc. de los plaguicidas de uso agrícola (MINAGRI, 1981; MINAGRI, 2012).

1.2.2. Características de los Pesticidas como sustancias peligrosas.

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), define como pesticidas a toda sustancia, de origen natural o sintético, destinada a prevenir, controlar, eliminar, matar, o repeler plagas, que puedan causar perjuicio o que interfieran de cualquier forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, etc.(UNEP/FAO,2011).

Las plagas, por otra parte, pueden considerarse como cualquier organismo vivo que, por su densidad poblacional perjudique los cultivos, la salud, los bienes, que transmita o produzca alguna enfermedad o provoque daño, pérdidas económicas, o provoque un desmedro en la calidad de vida de las personas. (UNEP/FAO, 2011).

Hoy en día, debido a la amplia funcionalidad y la gran variedad existente, los pesticidas aún son ampliamente utilizados en áreas domésticas, agrícolas e industriales. Además, el aumento de plagas, la resistencia desarrollada por las mismas, la erosión de los suelos y el deterioro constante del medioambiente, han hecho que cada vez se necesite emplear mayores cantidades de pesticidas, mucho más tóxicos y caros, para lograr los mismos rendimientos. Este círculo vicioso hace que la sociedad esté constantemente expuesta a estas sustancias con tremendas consecuencias para la salud y medioambiente.

Por otra parte, la utilización de estos compuestos genera residuos que pueden tener concentraciones elevadas de estas sustancias, por lo que su disposición final también es motivo de preocupación, ya que si ésta no es realizada de forma adecuada, puede provocar efectos adversos en el medio ambiente.

1.2.2.1. Efectos en la salud y medio ambiente.

Si bien, los pesticidas han tenido una función muy importante en el control de enfermedades transmisibles, como el paludismo, el dengue, malaria, entre otras. Así como también, han influido en el desarrollo agrícola, al elevar la producción de alimentos, la aplicación constante de estas sustancias a suelos agrícolas, aguas superficiales, etc. generan residuos que pueden contaminar suelos, cuerpos de agua, aire y biota, llegando a afectar el medioambiente, cadenas tróficas y como consecuencia a la salud humana.(Jaquéz S. et al, 2013).

Anualmente se intoxican millones de personas por exposición directa o indirecta a pesticidas. La Agencia de Protección Ambiental (EPA) calcula que anualmente se presentan entre 10,000 y 20,000 diagnósticos médicos debido a intoxicaciones causadas por pesticidas entre 2 millones de trabajadores agrícolas de los EE.UU. (Centro para el control y prevención de enfermedades, Pesticidas, 2012). Esto, ha ocurrido por usos y aplicaciones incorrectos, por falta de medidas preventivas y de protección, por almacenamiento inadecuado, reutilización de envases, fumigaciones aéreas, así como también falta de conocimiento sobre los riesgos asociados a estas sustancias. A continuación, las Figuras 4 y 5, especifican algunos efectos provocados por estas sustancias químicas en la salud y el medio ambiente.

Efectos en la salud		
<p>Las principales formas de exposición del hombre a los productos químicos son; por inhalación, por ingestión y por contacto con la piel.</p> <p>Causas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Exposición laboral - Usos y aplicaciones incorrectos en el hogar - Ingestión de alimentos a los cuales se les ha aplicado estas sustancias. - Ingestión de agua contaminada. 	<p>Los efectos indeseados producidos dependen del pesticida, la dosis, la vía y el tiempo de exposición a éste.</p> <p>A) Efectos Agudos: tales efectos dicen relación con la exposición directa y por breves lapsos de tiempo, donde una única dosis alta puede provocar tales efectos.</p> <p>(vómitos, diarrea, cefalea, somnolencia, convulsiones, coma, la muerte, etc</p>	<p>B) Efectos crónicos: tienen relación con la exposición prolongada en el tiempo a pequeñas concentraciones de sustancias, capaces de producir efectos graves en la salud de la población. (cáncer, leucemia, cefalea permanente malformaciones congénitas y mutaciones.)</p> <p>Además debido a que su biotransformación es muy lenta provocan efectos acumulativos en las personas expuestas.</p>

Figura 4: Efectos en la salud provocados por la exposición a pesticidas.

(Guía para la aplicación del reglamento sanitario sobre manejo de residuos peligrosos destinada a pequeños generadores. MINSAL, 2008.)

Es importante mencionar que los efectos provocados por la exposición a pesticidas dependen del tipo de exposición, la dosis recibida, el tiempo que dura tal exposición y las características del organismo que la recibe (por ejemplo, edad y sexo), siendo la población de mujeres embarazadas, ancianas y niñas la más vulnerable. La exposición a pesticidas durante el embarazo ha sido vinculada a deformaciones de nacimiento, así como también a abortos espontáneos. Del mismo modo, la exposición a pesticidas en la niñez ha sido vinculada a problemas de cáncer infantil y otros problemas serios de salud.

Efectos en el medio ambiente

<p>Aunque los pesticidas han sido diseñados para ofrecer una alta especificidad de acción, su uso genera innumerables efectos indeseados:</p> <p>a) Agua.</p> <ul style="list-style-type: none">-Contaminación de recursos hídricos con degradación de la flora y fauna. <p>b) Suelo.</p> <ul style="list-style-type: none">- Erosión y pérdida de la permeabilidad de los suelos. <p>c) Aire.</p> <ul style="list-style-type: none">-Incorporación de sustancias tóxicas al aire producto de la evaporación de estas. <p>d) Biota.</p> <ul style="list-style-type: none">- Generación de organismos resistentes.- Toxicidad en peces y animales.	<ul style="list-style-type: none">-Incorporación de estas sustancias a las cadenas tróficas.- Generación de nuevas plagas. <p>d) Ecosistema.</p> <ul style="list-style-type: none">-Persistencia ambiental de residuos tóxicos. (ej: pesticidas organoclorados)- Contaminación de matrices ambientales: agua, suelo, sedimento, etc.- Contaminación de sectores ambientales lejanos producto de la movilidad de algunos pesticidas.- Reducción de la biodiversidad.- Desequilibrio, alteración y agotamiento de ecosistemas.
--	--

Figura 5: Efectos en el medio ambiente provocados por la exposición a pesticidas.

(Gonzales Pau, 2004 Riesgos químicos por uso de Plaguicidas en el medio ambiente).

La contaminación de los cursos de agua, por ejemplo, se produce en forma directa por la aplicación de pesticidas en las aguas, por lavado de envases o equipos y/o por descarga de remanentes y residuos. La contribución indirecta en cambio, es producida por la lixiviación de productos, caída de desniveles y por contaminación de suelos. Así, las aguas contaminadas afectan a la flora y fauna provocando la muerte de especies, el aumento de la intoxicación humana, la pérdida del recurso de agua como recurso utilizable y la probable contaminación de las reservas hídricas.

Por otra parte, la aplicación sistemática de plaguicidas en el suelo y plantas altera los equilibrios existentes en las cadenas tróficas normales, al causar la desaparición o disminución de enemigos naturales de distintas plagas, de materia orgánica, de polinizadores etc. Asimismo, los pesticidas pueden contribuir a la contaminación del aire. La dispersión de estos, se produce cuando los pesticidas en suspensión en el aire en forma de partículas son transportados por el viento a otras áreas.



1.2.2.2. Dinámica de pesticidas en el Medio ambiente.

En la actualidad, miles de pesticidas han sido descargados en el medio ambiente, ya sea en forma de emisiones transportadas por el aire, aplicados directamente al suelo y agua, así como también por deposición de desechos industriales tóxicos. Sin embargo, debido a que estas sustancias pueden movilizarse, a través de las interfaces, agua, aire, sedimento, suelo, plantas y animales, pueden provocar la contaminación del ecosistema en su totalidad.

Esta contaminación puede ocurrir por medio de una serie de procesos complejos de transporte (volatilización, lixiviación) de degradación (fotoquímica, química, biológica) y de acumulación (absorción, desorción, adsorción), los cuales están influidos por múltiples factores del tipo: climático, geomorfológico, edafológico, actividades antropogénicas (manejo), y por las propiedades fisicoquímicas de estos compuestos. (Jaquez S. et al, 2013).

Por otra parte, la mayoría de los pesticidas una vez aplicados sufren procesos de degradación y transformación, total o parcial, que conducen a la formación de nuevos productos que, en ocasiones, pueden ser más móviles, persistentes y más peligrosos que los compuestos originales. De este modo, cuando se aplica un pesticida éste es eliminado progresivamente, con mayor o menor rapidez, en función de factores tales como la tasa de crecimiento del vegetal, condiciones ambientales (viento, lluvia, etc.), degradación química, degradación biológica, y propiedades físico-químicas del pesticida.

1.2.2.3. Factores físico-químicos que influyen en el destino de los pesticidas y su transporte ambiental.

Para entender cómo se comporta un pesticida en el ambiente se necesita conocer cierta información sobre las propiedades físico-químicas de éstos, como la solubilidad, presión de vapor, el Coeficiente de reparto (K_d), el Coeficiente de Partición Octanol-Agua (K_{ow}) y el tiempo de vida media, así como también las características medioambientales y la geografía del lugar en el que se le encuentra.

- La **solubilidad** es un factor importante, ya que describe la concentración máxima de pesticida que se disolverá en un litro de agua. De este modo, a

mayor solubilidad, más propenso será el pesticida a ser transportado del lugar de aplicación hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea, ya sea por una fuerte lluvia, riego, escurrimiento o lixiviación, debido a su baja absorción en los suelos. (INE, 2015).

- La **volatilización**, representa la tendencia del pesticida a pasar a la fase gaseosa, consiste en el flujo del compuesto hacia la fase aire y supone uno de los mecanismos de pérdida hacia la atmósfera, su mayor o menor intensidad depende de la presión de vapor del compuesto, el estado físico que se encuentra y la temperatura del ambiente. La volatilidad se mide a partir de la Ley de Henry, y cuyo valor se obtiene usando la presión de vapor, la solubilidad y la masa molar del compuesto. Un valor alto de la Ley de Henry, indica que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse del suelo húmedo, mientras que un valor bajo predice un mayor potencial de lixiviación del plaguicida. (Jenkins, 1999).
- **Coefficiente de adsorción suelo/agua (Koc)**, es una medida de la tendencia de un compuesto orgánico a ser adsorbido (retenido) por los suelos o sedimentos, de modo que un Koc elevado indica que el pesticida se fija con firmeza en la materia orgánica del suelo, por lo que poca cantidad del compuesto se mueve a las aguas superficiales o a los acuíferos. (Beltran J, Hernandez F, Morell I, 1995).
- **Coefficiente de partición Octanol-agua (Kow)**, es una medida de cómo una sustancia química puede distribuirse entre dos solventes inmiscibles, proporcionando información acerca de la lipofilia del compuesto, lo que determina su capacidad de concentrarse en los tejidos grasos. El valor de K_{ow} es frecuentemente utilizado en modelos para determinar cómo un plaguicida puede distribuirse en tejido de grasa animal. (Alfaro R, 2013).
- **Tiempo de vida media**, es una medida de la persistencia de un pesticida en el suelo, los cuales se pueden clasificar como:
 - No persistente, degradando a la mitad de la concentración original en menos de 30 días;
 - Moderadamente persistente, degradando la mitad de la concentración original en un tiempo de 30 a 100 días;

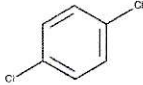
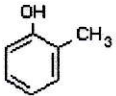
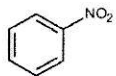
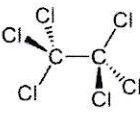
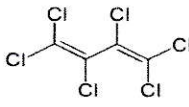
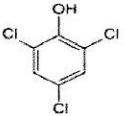
- Persistente, teniendo más de 100 días para degradar a la mitad de la concentración original.

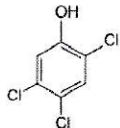
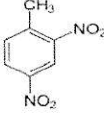
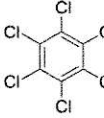
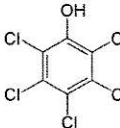
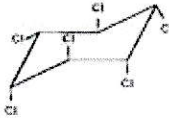
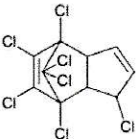
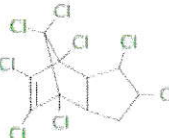
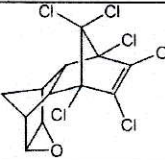
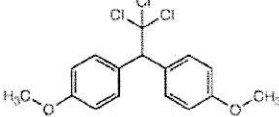
Este valor es una aproximación y puede variar en gran medida debido a que la persistencia es sensible a las variaciones en el suelo y el clima. (National Pesticide Information Center, 2015).

1.2.2.4. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos en estudio.

La tabla 2 muestra algunas propiedades fisicoquímicas de los compuestos estudiados en el presente seminario de título:

Tabla 2: Propiedades fisicoquímicas de pesticidas.

Compuesto	Propiedades fisicoquímicas.
 <p>1,4 Diclorobenceno</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 147 g/mol. - Punto de ebullición: 174 °C. - Presión de vapor a 20°C: 170 Pa - Log Kow: 3,37 - Solubilidad en agua a 25 °C: 80 mg/L
 <p>2 Metilfenol</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 108 g/mol. - Punto de ebullición: 191-202 °C. - Presión de vapor a 25°C: 33 Pa - Log de Kow: 1,94 - Solubilidad en agua a 25 °C: 2,5 g/100 mL
 <p>Nitrobenceno</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 123,1 g/mol. - Punto de ebullición: 211 °C. - Presión de vapor a 20°C: 20 Pa - Log de Kow: 1,86 - Solubilidad en agua: 0,2 g/100 mL.
 <p>Hexacloroetano</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 236,7 g/mol. - Punto de ebullición: 187 °C.(sublima) - Presión de vapor: 53 Pa a 20°C - Log de Kow: 3,9 - Solubilidad en agua: Ninguna
 <p>Hexaclorobutadieno</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 260,76 g/mol. - Punto de ebullición: 210-220 °C. - Presión de vapor: 26,6 Pa - Log de Kow: 4,78. - Solubilidad en agua: Ninguna
 <p>2,4,6 Triclorofenol</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 197,5 g/mol. - Punto de ebullición: 246 °C. - Presión de vapor: 133 Pa a 76,5 °C - Log de Kow: 3,87- Solubilidad en agua: Ninguna

 <p>2,4,5 Triclorofenol</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 197,4 g/mol. - Punto de ebullición: 253 °C. - Presión de vapor: 2,9 Pa a 25°C - Log de Kow: 3,7. -Solubilidad en agua a 25°C: 0,1 g/100mL. (Escasa)
 <p>2,4 Dinitrotolueno</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 182,1 g/mol. - Punto de ebullición: 300 °C. - Presión de vapor: 130 Pa a 103°C - Log de Kow: 1,98 - Solubilidad en agua: Ninguna
 <p>Hexaclorobenceno</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 284,8 g/mol. - Punto de ebullición: 323-326 °C. - Presión de vapor: 0,001 Pa a 20°C - Log de Kow: 6,2 - Solubilidad en agua: Ninguna
 <p>Pentaclorofenol</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 266,4 g/mol. - Punto de ebullición: 309°C. - Presión de vapor: 0,02 Pa a 20°C - Log de Kow: 5,01 - Solubilidad en agua a 20°C :0,001 g/100mL
 <p>Lindano</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 290,8 g/mol. - Punto de ebullición: 323 °C. - Presión de vapor: 0,0012 Pa a 20°C - Log de Kow: 3,61-3,72 -Solubilidad en agua a 20°C :0,0007 g/100mL (Muy escasa)
 <p>Heptaclor</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 373,3 g/mol. - Punto de ebullición: se descompone por debajo 160°C - Presión de vapor: 0,053 Pa a 25 °C - Log de Kow: 5,27-5,44 - Solubilidad en agua: Ninguna
 <p>Clordano</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 409,8 g/mol. - Punto de ebullición: 175 °C. - Presión de vapor: 0,0013 Pa a 25°C - Log de Kow: 2,78 - Solubilidad en agua: Ninguna
 <p>Endrin</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 380,9 g/mol. - Punto de ebullición: 245 °C. - Presión de vapor: despreciable - Log de Kow: 5,34 - Solubilidad en agua a 25°C: Ninguna
 <p>Metoxiclor</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masa molar: 345,7 g/mol. - Punto de ebullición: --- - Presión de vapor: muy bajo - Log de Kow: 4,68- 5,08 - Solubilidad en agua: Ninguna

<<http://www.insht.es>>

Las propiedades fisicoquímicas de los compuestos permiten determinar las características generales que presentan estas sustancias en el medio, pudiendo de este modo, realizar una aproximación de la dinámica y comportamiento ambiental de los pesticidas estudiados. Debido a esto, es posible agrupar los pesticidas según sus características químicas similares y el comportamiento ambiental. La tabla 3 describe las características generales de los pesticidas presentes en este estudio:

Tabla 3: Características generales pesticidas.

Tipo	Compuestos	Características generales
Pesticidas Organoclorados	- 1,4 Diclorobenceno -Hexacloroetano. -Hexaclorobutadieno. -Triclorofenol. -Hexaclorobenceno. -Pentaclorofenol. -Lindano. - Heptaclor. -Clordano. -Endrin. -Metoxiclor	<ol style="list-style-type: none"> 1. Muy resistentes a la degradación biológica. 2. Altamente persistentes 3. Altamente tóxicos, provocando daños a la salud de las personas. 4. Generalmente se utilizan como insecticidas, arácnidas, herbicidas y fungicidas. 5. Ocasionan problemas de contaminación ya que deterioran la calidad del medio ambiente y provocan efectos nocivos sobre la biota. 6. Al ser compuestos orgánicos hidrofóbicos tienden a acumularse en el tejido adiposo de los organismos. 7. Solubilidad en agua baja o nula. 8. Elevada solubilidad en disolventes orgánicos 9. Baja presión de vapor y alta estabilidad química.
Otros pesticidas derivados del Benceno	- Nitrobenceno - Dinitrotolueno.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Poco soluble en agua, soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos 2. Tóxico 3. Cancerígeno.
Otros pesticidas	-2-methyfenol -3+4 methylfenol	<ol style="list-style-type: none"> 1. Moderadamente soluble en agua. 2. Altamente tóxicos, provocando daños a la salud de las personas. 3. Ocasionan problemas de contaminación ya que deterioran la calidad del medio ambiente y provocan efectos nocivos sobre la biota.

1.2.3. Análisis de pesticidas en residuos.

El estudio de pesticidas representa un desafío constante debido a su diferente comportamiento y composición química, lo cual ha llevado a implementar mejoras tecnológicas y analíticas, además de abordar diferentes metodologías y técnicas, desarrollado u optimizado en muchas ocasiones un procedimiento para cada caso particular.

Uno de los análisis específicos por los que se le realiza el test de TCLP a diferentes residuos, es para determinar la concentración de pesticidas presentes en éstos. Sin embargo, no siempre se puede realizar de forma directa en matrices complejas, como los extractos de TCLP, siendo necesarias una serie de etapas previas, las cuales tienen como finalidad preparar la muestra y/o extracto orgánico de forma adecuada para favorecer la determinación y cuantificación del analito mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC/MS).

1.2.3.1. Preparación de las muestras.

La preparación de las muestras es una etapa decisiva en el método de análisis, especialmente en la determinación de microcomponentes o concentraciones a nivel de trazas y en casos donde la matriz que rodea al analito es muy compleja. La preparación involucra básicamente las siguientes etapas:

- (a) extracción o desplazamiento físico del analito
 - (b) limpieza (clean up),
 - (c) pre-concentración y
 - (d) separación de componentes (cuando se utilizan técnicas cromatográficas)
- (Luque de Castro, 2002).

La selección del método más apropiado dependerá entonces de factores como : (i) propiedades físicas y químicas del analito, (ii) concentración del analito en la muestra, ya que analitos en bajas concentraciones pueden requerir metodologías más elaboradas de preparación y la naturaleza de la matriz, debido a que los componentes de la matriz pueden interferir en la detección de los analitos, ya sea interfiriendo la señal de éste o dañando irreversiblemente los instrumentos y columnas cromatográficas. (Copaja, Sylvia, 2013).

1.2.3.1.1. Métodos de extracción.

Para la identificación de pesticidas, primero se debe realizar una extracción de los analitos de interés, los cuales son retirados de la matriz, que puede ser sólida, líquida o gaseosa, por medio de un solvente (como es el caso de los sólidos y los líquidos) o un adsorbente (para los gases).

Existen diversas metodologías de extracción que se pueden utilizar, entre las cuales se encuentran la extracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase

solida (SPME), extracción soxleht, extracción líquido-líquido (LLE), con embudo de separación, extracción líquido-líquido continua y extracción con fluidos supercrítico.

En lo que a contenido de pesticidas se refiere, las técnicas de pretratamiento de muestra más utilizadas son la extracción en fase sólida, la microextracción en fase sólida y la extracción líquido-líquido. Por otra parte, los procesos de extracción pueden ser acelerados a través del uso de distintos tipos de energía. Entre ellos los más utilizados han sido: alta temperatura y presión en el medio de extracción, microondas y ultrasonido.

Estos tipos de extracción moderna han demostrado ser en muchos casos más eficientes que la clásica extracción Soxhlet, pero la principal ventaja es la rapidez y reducción considerable del uso de solventes orgánicos tóxicos, lo que trae como consecuencia una disminución de la contaminación y de los costos del análisis. (Caicedo Pamela, 2011).

a. Extracción en fase sólida. La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica preparativa de extracción que se basa en la retención de los analitos disueltos, en una muestra líquida, sobre un material de soporte sólido. La SPE tiene lugar mediante un mecanismo de intercambio iónico, adsorción-desorción de los analitos en la superficie del material activo de las columnas. De esta forma los analitos son absorbidos en el soporte y luego eluidos de acuerdo a sus diferentes afinidades entre el material absorbente y la fase móvil utilizada. La adición de un eluyente permite eliminar los componentes de la matriz que interfieren, para después eluir y concentrar los analitos de interés (Quattrochi, et al., 1992; Señoráns Javier, 2011).

Este tipo de extracción es una técnica muy sencilla, rápida y confiable, precisa para la preparación de la muestra, limpieza y concentración de los analitos de interés, libre de interferencias y en una adecuada concentración para su detección y medición. (Bidlingmeyer, 1992). Dentro de las ventajas se encuentra:

- a) La rapidez en la preparación de la muestra.
- b) Bajo costo, debido a que hay un menor consumo de solventes y reactivos y una menor generación de residuos.
- c) Permite la concentración de sustancias a nivel de trazas.
- d) Requiere una menor cantidad de muestra.
- e) Elimina las posibles interferencias.
- f) Mejora la seguridad debido a que reduce la exposición a los solventes.
- g) Es de fácil automatización permitiendo un simultáneo procesamiento de lotes de muestras múltiples. (Cramona Idalia,2006).

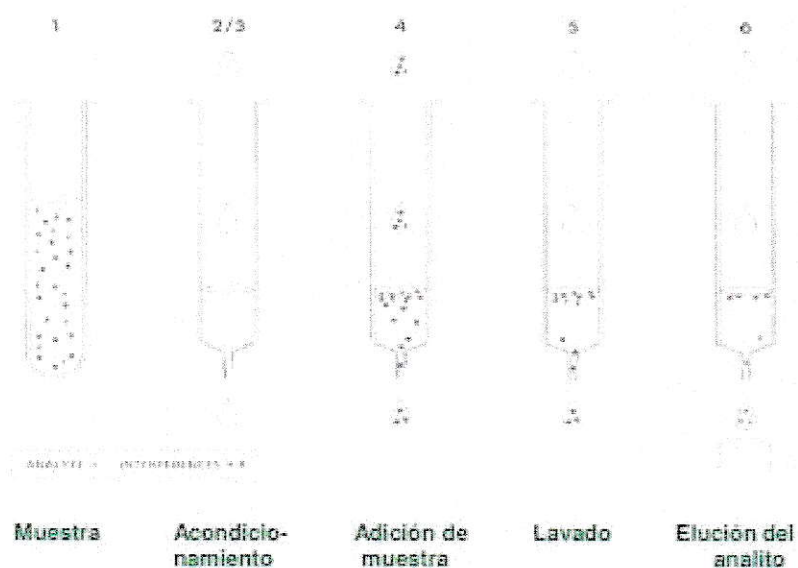


Figura 6: Extracción en fase sólida.

- a. **Microextracción en fase sólida (SPME).** Esta técnica desarrollada a principios de los años 90, se basa en la extracción de analitos (pesticidas) de la muestra mediante una fibra de sílice fundida que está recubierta de un sorbente polimérico, seguida de la desorción de los analitos con temperatura o un disolvente orgánico. (Caicedo Pamela, 2011).

El principio en que se basa la SPME es la partición de los analitos entre la matriz de la muestra y el recubrimiento de fibra. Así, el transporte de los analitos desde la matriz de la muestra hasta la fibra, comienza cuando la fibra entra en contacto con la muestra y la extracción se considera completa cuando

la concentración de analito ha alcanzado el equilibrio de distribución entre la muestra y la fibra (Peñaver A. M. y col., 2002). En la Figura 7, se muestra el diagrama esquemático de la SPME.

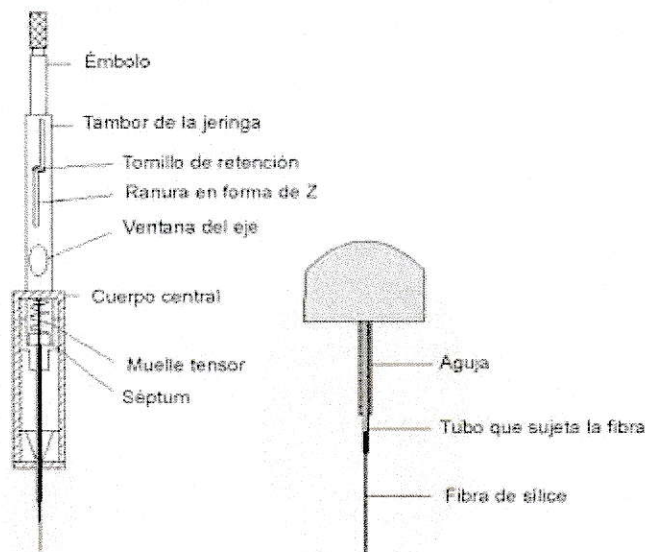


Figura 7: Sistema de microextracción en fase sólida SPME.

Esta técnica presenta una serie de ventajas, ya que es muy simple, presenta un bajo costo, puede ser automatizada, requiere pequeños volúmenes de muestra y generalmente no precisa del uso de disolventes orgánicos para llevar a cabo la pre-concentración de los analitos, a diferencia de la LLE y la SPE.

Debido a su diseño, es fácilmente transportable, por lo que la hace una técnica muy adecuada para realizar análisis de campo. Otra ventaja que presenta, es la posibilidad de utilizarse con todos los tipos de muestras, ya sean gaseosas como por ejemplo aire o aliento, líquidas como aguas o bebidas, o sólidas como sedimentos, alimentos, etc.

Además, se puede aplicar a la determinación de compuestos de diferente volatilidad. Como inconveniente se puede mencionar que debido a la limitada capacidad de las fibras (la cantidad de recubrimiento es muy pequeña) en ocasiones no se obtienen unos límites de detección bajos, sobre todo si la SPME se utiliza combinada con la cromatografía de líquidos. (Penalver Alejandra, 2002).

b. Extracción Soxhlet. La extracción Soxhlet es un tipo de extracción sólido-líquido, líquido-líquido y/o extracción gas-líquido que utiliza un extractor Soxhlet, con el cual se realiza un sinfín de extracciones de manera automática, con el mismo solvente que se evapora y condensa, llegando siempre de manera pura al material.

La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

- 1) colocación del solvente en un balón.
- 2) ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
- 3) el condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
- 4) ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón.
- 5) Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que muestra quede agotada, mientras lo extraído se va concentrando en el balón del solvente. (Nuñez Carlos, 2008).

En definitiva la técnica consiste en hervir en el matraz el solvente, con el cual se va a extraer los analitos que se encuentran en la muestra depositada en el cartucho Soxhlet. La Figura 8 corresponde a una representación gráfica de la extracción Soxhlet.

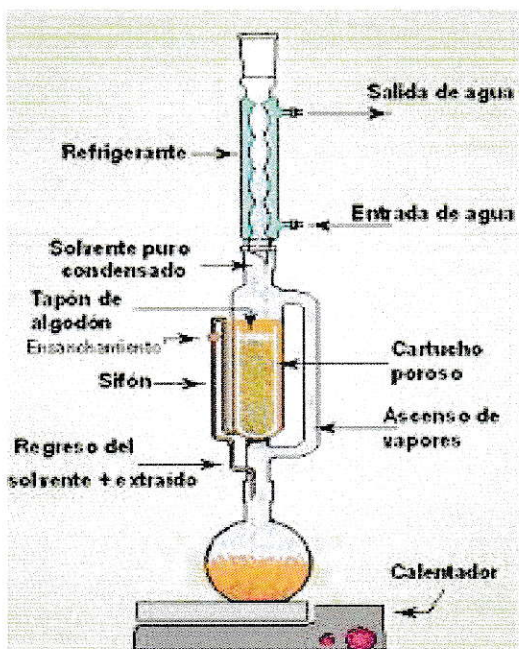


Figura 8: Extracción Soxhlet.

Las ventajas de utilizar esta técnica se basan en:

- a) La gran capacidad de recuperación e instrumentación simple, ya que no se requiere filtración posterior.
- b) El disolvente orgánico se evapora quedando sólo analito.
- c) El disolvente y la muestra están en contacto íntimo y repetido. De manera que se mejora muchísimo la extracción porque siempre se emplea un disolvente limpio.
- d) Favorece la solubilidad del analito
- e) Los analitos siempre se están extrayendo con el disolvente puro.

Las desventajas se basan en el tiempo que tarda el procedimiento, siendo un proceso lento e imposible de acelerar, además se requiere una gran cantidad de disolvente y se necesita de etapa final de evaporación. Por otra parte este método es inaplicable a analitos termolábiles, que se descompongan con el calor o reaccionen. (Caldas Adriana, 2012).

- d. **Extracción con fluidos supercríticos.** La extracción supercrítica es una operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto supercrítico del solvente, similar a la extracción clásica con la particularidad de utilizar como agente extractor un fluido supercrítico (FSC) en lugar de un líquido. Un fluido supercrítico (FSC) consiste en cualquier sustancia que se encuentre en condiciones de presión y temperatura superiores a su punto crítico, por lo que se comporta como “un híbrido entre un líquido y un gas”, pudiendo difundir como un gas y disolver sustancias como un líquido. El significado del término supercrítico se explica en la Figura N°9.

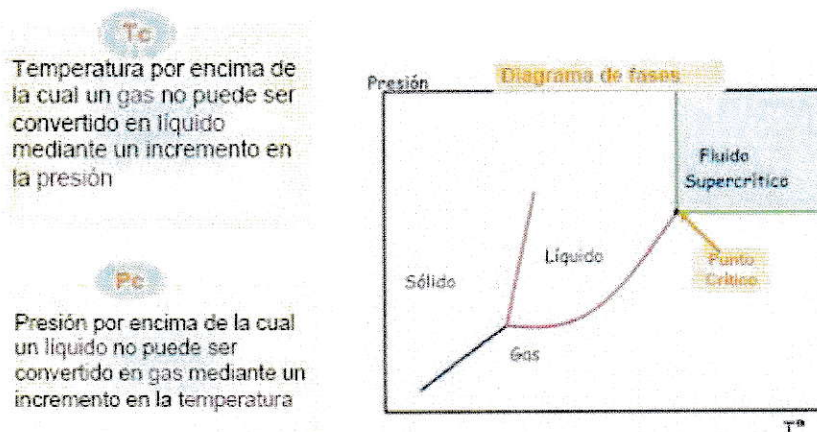


Figura 9: Definición fluido supercrítico.

El proceso de extracción con fluidos supercríticos básicamente consiste de cuatro etapas:

Etapa de presurización: donde se eleva la presión del gas a utilizar como solvente, a un valor P_1 por encima de su presión crítica P_c ; esta operación se realiza por medio de un compresor o bomba.

Etapa de ajuste de temperatura: donde se remueve o adiciona energía térmica, ya sea con un intercambiador de calor, baños térmicos o resistencias eléctricas, para llevar el solvente comprimido a la temperatura de extracción requerida, estado que está por encima de su temperatura crítica T_c .

Etapa de extracción: Se conduce el FSC al extractor donde se encuentra la muestra o materia prima que contiene el soluto de interés.

Etapa de separación: Donde el gas se descomprime a una presión P2 inferior a la presión crítica, liberándose el soluto en un recipiente separador. (Velásquez Ángela, 2008).

Este proceso de extracción es altamente efectivo para aplicaciones en procesos químicos, farmacéuticos, alimentarios, de eliminación de residuos y en la industria del petróleo. El reciente desarrollo de esta técnica ha abierto nuevas perspectivas para la mejora de la etapa de preparación de la muestra en cualquier proceso analítico, presentando ventajas en los procesos de extracción, ya que, al comportarse como un líquido facilita la disolución de los solutos, a la vez que, su comportamiento como gas permite una fácil separación de la matriz.

Esto conlleva a un proceso de extracción más rápido, eficiente y selectivo que en el caso de la extracción líquido-líquido. Su introducción en el análisis de residuos de pesticidas, por otra parte, puede llevar a que definitivamente sean superadas las limitaciones presentadas por métodos de extracción convencionales, ya que las particularidades de los FSC, en especial la de CO₂ supercrítico, ya han sido aprovechadas para llevar a cabo la extracción de ciertos plaguicidas de suelos y otras matrices sólidas con bajo contenido de agua, habiéndose conseguido análisis con escaso impacto ambiental y con grandes posibilidades de automatización. (Linzai Ximena, 2013; Valverde Antonio, sin año).

Las ventajas de utilizar un fluido de estas características consiste en:

- a) Posibilidad de ajustar propiedades mediante la variación de la presión y temperatura, lo que permite además que los compuestos sensibles al calor no sean deteriorados durante el proceso de extracción,
- b) Poder disolvente elevado (capacidad de disolución similar a la de un líquido),
- c) Alta capacidad de penetración,
- d) Separaciones sencillas (cambio de presión y/o temperatura),
- e) Ausencia de emisiones y residuos peligrosos, además de su densidad y difusividad elevada; y viscosidad baja. (Linzai Ximena, 2013).

Una de sus mayores ventajas, consiste en su menor impacto en el medio ambiente, siendo considerada una tecnología limpia, porque al usar sustancias como el CO₂ o el agua, los residuos que se producen no son tóxicos y se reciclan fácilmente. Por otra parte, la posibilidad de eliminar de forma rápida el exceso del fluido supercrítico por simple despresurización y recolección de los analitos concentrados es otra ventaja importante. (Velásquez Ángela, 2008).

- e. **Extracción líquido-líquido.** Una de las técnicas más frecuentes son las extracciones líquido-líquido, proceso en el cual, ocurre la separación de componentes en solución por su distribución entre dos fases líquidas inmiscibles entre sí. Normalmente uno de los líquidos es agua o una disolución acuosa (fase acuosa) y el otro, un disolvente orgánico no miscible con agua (fase orgánica) como diclorometano o hexano, de modo que el compuesto deseado suele extraerse a la fase orgánica dejando muchas de las impurezas (compuestos inorgánicos u orgánicos polares, entre otros) en la fase acuosa.

La extracción líquido-líquido es una técnica muy utilizada para llevar a cabo la extracción de compuestos orgánicos que se encuentran en fuentes naturales, como los pesticidas. La técnica se basa en un reparto, del compuesto deseado y de las impurezas entre el medio orgánico y el medio acuoso. Por otra parte el coeficiente de reparto (Kow) (pag 19), es un factor importante para que el proceso de extracción sea efectivo, de modo de asegurar una mayor extracción del compuesto deseado en el medio orgánico.

Además, generalmente, no se realiza una única extracción con todo el volumen de disolvente orgánico, sino que se realizan 2 ó 3 extracciones, de modo de optimizar la extracción del compuesto deseado.

Asimismo, además del tipo de disolvente y el número de extracciones se debe tener en cuenta otros parámetros tales como el pH, relación de volúmenes agua/disolvente, tipo de compuestos, etc. para aplicar el procedimiento más satisfactorio. (F. Hernández, J Beltrán).

El procedimiento básicamente consta de las siguientes etapas:

- a) Adición de las fases,
- b) Agitación de la mezcla,
- c) Separación de las fases
- d) Secado de la fase orgánica.

Dentro de las ventajas que presenta la utilización de un método de extracción líquido-líquido es su sencillez y simplicidad, además de no presentar obstrucción como en el caso de la SPE.

Sin embargo, repetir varias extracciones consecutivas, implica gran cantidad y mucha manipulación del solvente, además de la poca automatización del sistema requiriendo la atención personalizada que la operación requiere. Aparte de requerir necesariamente la etapa de concentración y evaporación del disolvente orgánico, además de posible formación de emulsiones en el proceso. (Ritcher Pablo, 2012).

- f. **Extracción por microondas.** La extracción por microondas ha sido desarrollada y utilizada para extraer compuestos orgánicos de diferentes matrices, como muestras biológicas, alimentos, agua contaminada, matrices ambientales, etc. Así como también para la digestión de muestras para el análisis de metales. Las técnicas microondas empezaron a desarrollarse en base a la necesidad de encontrar e implementar métodos más rápidos, seguros, eficientes y relativamente más baratos que los métodos convencionales.

Esta técnica utiliza energía microondas para calentar la mezcla de muestra-solvente, en un vial cerrado y en condiciones de extracción controladas para obtener una distribución de los analitos de interés desde la muestra hacia el solvente. (Rodríguez C, 2013). El calentamiento producido depende de la naturaleza química de la matriz y del disolvente, provocando un calentamiento selectivo de unas especies químicas frente a otras, las cuales tendrán una mayor absorción de energía cuando mayor sea su constante dieléctrica. El aumento de la temperatura y la presión, altamente localizado

ocasiona la migración selectiva de los compuestos de estudio al disolvente, a mayor velocidad y con una recuperación similar a los métodos de extracción convencionales.

Dentro de las ventajas de utilizar esta técnica se encuentra:

- i) Técnica rápida.
- ii) Bajo consumo de disolvente.
- iii) Técnica fácil de usar, pudiendo extraer varias muestras a la vez.
- iv) No es necesario procesar la muestra antes de la extracción
- v) No requiere agentes deshidratantes para tratar la muestra.

Dentro de las desventajas se encuentran:

- i) Depende de la matriz y limita los disolventes que se pueden utilizar
- ii) Los extractos necesitan posterior filtración.

1.2.3.1.2. Método de limpieza (clean up)

El proceso de limpieza (clean up), consiste en la eliminación adecuada de los constituyentes de la muestra que interfieren en el análisis, siendo una de las etapas más importante del procedimiento, sobretodo en muestras como los extractos de TCLP, los cuales, al ser principalmente residuos de procesos industriales o muestras de matrices ambientales, traen consigo interferentes, (aceites, grasas, elevada materia orgánica, etc.) que deben ser eliminados para evitar posibles errores en la cuantificación de los analitos y proteger los equipos de posible contaminación, especialmente las columnas en el caso de los cromatógrafos.

Por otra parte, es importante señalar que la elección del método dependerá del tipo de compuesto a analizar, de la naturaleza de la matriz, y del grado de contaminación que presente la muestra, siendo en algunos casos necesario emplear uno o más procedimientos de clean up.

Una de las técnicas más utilizadas se basa en la interacción entre la especie química, disuelta en un disolvente o mezcla de estos y una superficie con propiedades adsorbentes, basándose la separación de los distintos compuestos de la muestra en su diferente capacidad de adsorción sobre la superficie del adsorbente, lo cual depende fundamentalmente de la polaridad de los compuestos a analizar. (Hernández F y Beltrán J, 1995).

La EPA propone varios adsorbentes posibles de ser empleados, entre los cuales se pueden destacar Florisil EPA 3620C, Alumina EPA 3610B, Ácido sulfúrico EPA 3665A y Sílica gel EPA 3630C, siendo este último el utilizado para purificar los extractos de TCLP en el presente seminario de título. (Azpeitia Gamazo y Rosado Antonia, 2004).

Las desventajas asociadas a estas técnicas, es que son procedimientos tediosos que consumen tiempo, pueden ser fuente de error experimental y que se requieren solvente de elevada pureza, los cuales además deben ser removidos para concentrar la muestra con los analitos de interés (Copaja Sylvia, 2013).

1. Sílica gel (Fase estacionaria).

La sílica gel, es un polvo blanco, poroso y amorfo, de aspecto cristalino, inerte, no tóxico e inodoro, de fórmula química molecular $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, insoluble en agua o en cualquier otro solvente y químicamente estable. Este producto está hecho de partículas coloidales con una estructura condensada, donde los espacios intermedios de agregación de las partículas coloidales forman la estructura microporosa dentro de las partículas de sílica gel, lo que hace que sea un material de absorción superior con una gran superficie específica y alta pureza. (ZOAPATLE, 2013).

Es por esto, que una de las técnicas más utilizadas corresponde a la purificación utilizando sílica gel como agente absorbente, ésta se emplea debido a su gran capacidad de absorción, además gracias a su composición química única y a su estructura física, el gel de sílice posee unas características incomparables con otros materiales similares, como son la alta absorción, la característica física y el funcionamiento termal estable, la fuerza mecánica relativamente alta, etc. lo cual, hace que sea una sustancia ampliamente utilizada en diversas industrias.

Por otra parte, la silicagel también puede ser utilizada para diferenciar la absorción de diferentes moléculas actuando como un absorbente selectivo, gracias a los diferentes tiempos en la duración de la absorción de diferentes componentes, esto es de suma importancia, ya que puede alcanzar los objetivos de separación, purificación y refinado de muchas sustancias.

2. Eluyente (Fase móvil).

Un eluyente corresponde a un disolvente o mezcla de disolventes que se utiliza en técnicas de cromatografía para extraer compuestos desde una fase estacionaria. La fuerza del eluyente, es decir la capacidad que tiene éste de arrastrar los compuestos fuera de la columna, es un parámetro importante de analizar poder realizar un procedimiento de clean un efectivo. Por lo tanto, además de establecer el adsorbente a emplear se debe tener de conocimiento de las características que permitan elegir una apropiada fase móvil.

De este modo, cuanto más fuerte (más polar) sea la fase móvil, más se desactivará la fase estacionaria y menos retenidos quedarán los compuestos o sustancias de interés en la sílica, pudiendo ser arrastrados fuera de la columna. La serie eluotrópica (ϵ°), es una medida que permite determinar la fuerza del eluyente conforme a la capacidad relativa que tiene éste para desplazar solutos de un adsorbente dado.

Este parámetro define la energía de adsorción de cada disolvente por unidad de superficie de sílice respecto al valor de ϵ° del pentano (que es igual a zero). De este modo, cuando mayor es la polaridad del disolvente mayor es su valor de ϵ° . (Sacristán M., Díaz E., Alarcón B., Córdoba C., 2011).

Por otra parte, cuando los eluyentes utilizados corresponden a mezclas binarias, terciarias o incluso cuaternarias de diversos disolventes, este valor puede ser calculado según la siguiente ecuación:

$$\epsilon^\circ_{mezcla} \times \%_{mezcla} = \epsilon^\circ_1 \times \%_1 + \epsilon^\circ_2 \times \%_2$$

1.2.3.2. Análisis Químico.

1.2.3.2.1. Cromatografía gaseosa.

La cromatografía gaseosa es una técnica analítica usada ampliamente debido a su gran capacidad para resolver muestras complejas, y a la alta sensibilidad al analizar compuestos volátiles y semivolátiles. Por lo general, la utilización de esta técnica está restringida a la separación de compuestos con masa molar menor a 300 u.m.a, y térmicamente estables a una temperatura de hasta 350-400°C aproximadamente.

Para realizar una separación mediante cromatografía gaseosa, se inyecta una pequeña cantidad de muestra en una corriente de gas inerte, denominada fase móvil, a una temperatura elevada. Con ayuda de esta fase móvil los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en la columna para separar los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de reparto entre ambas fases. De este modo la velocidad de migración y por ende los distintos tiempos de retención (t_R) en la columna, son característicos de cada componente, mientras que el tamaño de las señales individuales es proporcional a su concentración en la muestra. (Skoog, Douglas A, 2001). La Figura 10, muestra un esquema general de un GC.

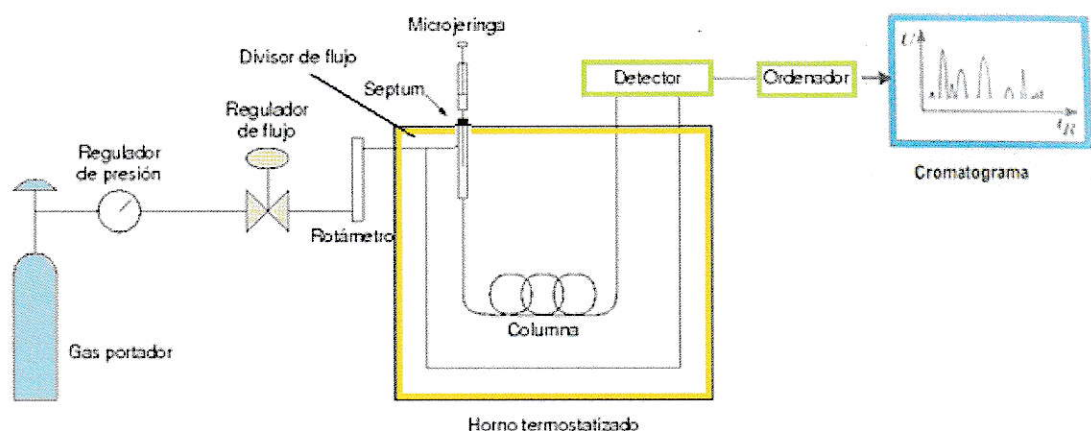


Figura 10: Esquema general GC.

Los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases son:

Fase móvil: La elución de los componentes se produce por el flujo de una fase móvil, la cual corresponde a un gas inerte que no reacciona con las moléculas del analito y cuya única función es transportar al analito a través de la columna. Entre los gases portadores se encuentran el helio, el hidrógeno y el nitrógeno, la elección de estos gases está con frecuencia determinada por el tipo de detector que se utiliza. Por otra parte, para evitar deteriorar los sistemas cromatográficos, usualmente se hace necesaria la instalación de trampas a la entrada de gas portador o carrier, de modo de evitar el ingreso de hidrocarburos, agua, monóxido de carbono, etc.

Sistema de inyección: En esencia, los dispositivos de inyección de muestra para cromatografía de gases tienen la misión de vaporizar la muestra a analizar e incorporarla a la corriente de gas portador que se dirige a la columna. El método más común de inyección implica el uso de una microjeringa para inyectar una muestra líquida o gaseosa a través de un diafragma o septum de goma de silicona, en una cámara de vaporización instantánea situada en la cabeza de la columna. (Skoog, Douglas A, 2001).

Existen tres técnicas básicas de inyección de muestras, ya sean éstas líquidas o gaseosas, en columnas capilares: Split, Split-less y on column. Las dos primeras consisten en inyectar y vaporizar la muestra en una cámara de vaporización. El sistema Split desvía la mayor parte de la muestra fuera del sistema cromatográfico y envía solo una pequeña fracción a la columna. El método Split-less dirige toda la muestra a la columna, por lo que resulta más adecuado para análisis de trazas, mezclas complejas o de componentes muy volátiles. Por otra parte la inyección on column se lleva a cabo en frío, eliminando la etapa de vaporización que podría producir la descomposición de los compuestos termolábiles. (Gutierrez M.C, M Droguet, 2002).

Horno y columna cromatográfica: Las columnas cromatográficas, corresponden a un dispositivo analítico ubicado en el interior del horno del GC donde ocurre la separación de los componentes de la muestra. En cromatografía de gases se utilizan dos tipos de columnas, de relleno y las capilares, siendo estas últimas más eficaces y rápidas que las primeras. Por otra parte la temperatura del horno y la columna, es una variable importante, la cual depende del punto de ebullición de la muestra y el grado de separación requerido. Sin embargo para muestras cuyos componentes presentan un amplio intervalo de temperatura de ebullición, es conveniente emplear una programación de temperatura, con lo que se aumenta la temperatura de la columna de forma continua o bien por etapas al mismo tiempo que tiene lugar la separación. (Skoog, Douglas A, 2001).

Sistema de detección: Muchos son los detectores que se han estudiado y utilizado en el tiempo, como son detectores FID, ECD, TCD, etc., así como también instrumentos que se acoplan a los cromatógrafos como son los espectrómetros de masa y espectrofotómetro de infrarrojo. Por otra parte, las características que debe

tener un detector ideal, tienen relación con una adecuada sensibilidad, una buena estabilidad y reproducibilidad, intervalos de temperatura de trabajo, etc.

1.2.3.2.2. Espectrometría de masas.

La espectrometría de masas (MS) es una de las técnicas analíticas más completas que existen, debido a su gran sensibilidad, detectando concentraciones del orden de los partes por millón (mgL^{-1}), partes por billón (μgL^{-1}) e incluso partes por trillón (ngL^{-1}), y su capacidad de identificación prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico para cada molécula, además de información estructural sobre la molécula analizada. La Figura N°11 muestra un esquema general de los componentes de un MS.

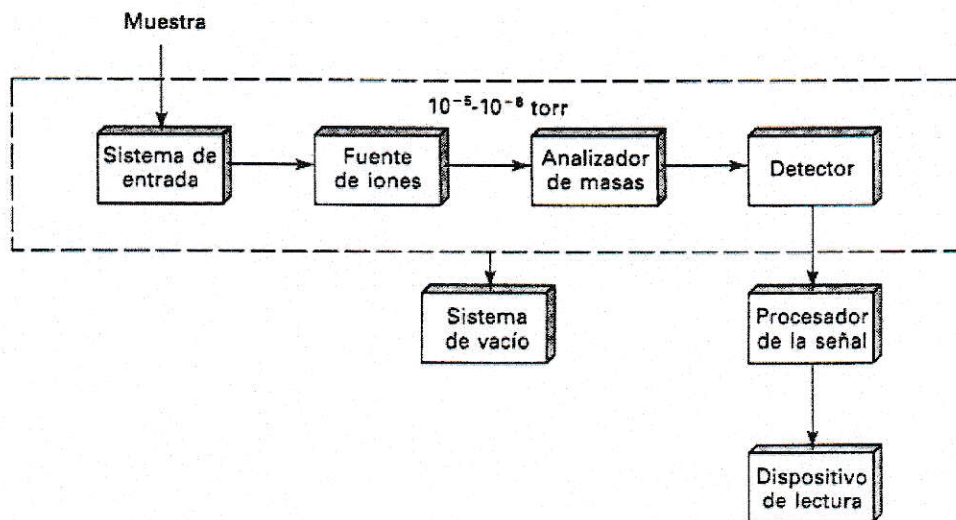
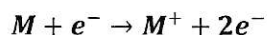


Figura 11: Componentes de un Espectrómetro de Masa.

El sistema de entrada, tiene como objetivo introducir una pequeña cantidad de muestra en la fuente de iones. Por otra parte la fuente de iones corresponde al lugar donde se produce la ionización de la muestra. Esta ionización puede ocurrir mediante diferentes métodos, siendo el impacto electrónico el más utilizado. En él las moléculas de la muestra son bombardeadas con un haz de electrones de alta energía provocando la emisión estimulada de un electrón según la siguiente ecuación:



De este modo, al incidir un haz de electrones sobre una molécula neutra, ésta se puede ionizar desprendiendo un electrón, formando un ion con carga positiva al que se le denomina ion molecular y que representa la masa de la molécula original. Estos iones moleculares al ser bombardeados adquieren una energía sobrante considerable que provoca la ruptura de los enlaces covalentes, por lo que después de su formación, los iones moleculares se fragmentan dando lugar a una mezcla de iones característicos.

Luego los iones formados son expulsados de la fuente de iones por acción de un repeller¹ y entran hacia el analizador de masas, donde se separan, se clasifican en base a su relación masa/carga (m/z) y se detectan. En este proceso los iones cargados positivamente viajan a gran velocidad en un sistema de alto vacío, hacia un sistema colector mediante campos magnéticos, los cuales ejercen cierta influencia sobre los iones en movimiento provocando que se desvíe su trayectoria. Esta trayectoria depende de su relación masa/carga, pero como la mayoría de los iones presentan carga +1, la desviación sufrida tendrá un radio de curvatura que dependerá solo de su masa, de modo que los iones más pesados se desvían menos que los iones más livianos, así solo los iones con una relación m/z específica o en rigor con una masa concreta siguen un camino que concuerda exactamente con la curvatura del analizador o simplemente se desvían de forma que puedan ingresar al colimador, el cual corresponde a un orificio estrecho que permite que solo algunos iones pasen a través de él y lleguen finalmente al detector, el cual se encuentra conectado a un amplificador. La señal del detector es proporcional al número de iones que inciden en él. La Figura N°12 muestra un diagrama general de un espectrómetro de masa. (WADE L.C, 2004).

¹ Repeller: pieza de acero, ubicada la fuente de iones, que tiene por finalidad repeler los iones positivos formados luego de la ionización de la muestra por impacto electrónico. (Agilent Technologies, Inc. 2013).

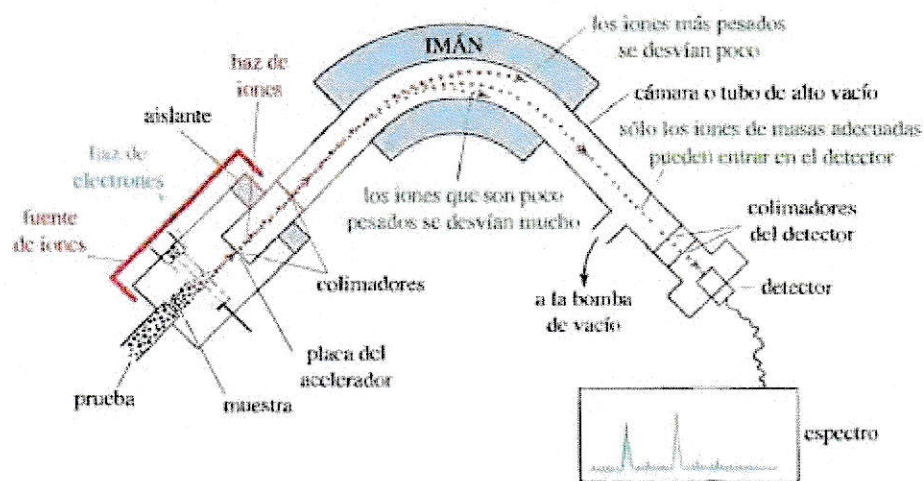


Figura 12: Diagrama de un espectrómetro de masas.

Finalmente la detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, produce el espectro de masa de la sustancia, el cual es diferente para cada compuesto químico y constituye una identificación inequívoca del compuesto analizado. (M.C Gutierrez y M Droquet, 2002).

1.2.3.2.3. Cromatografía gaseosa acoplada a detector de masa.

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de muestras muy complejas, pero una vez separados, detectados e incluso cuantificados los componentes individuales de la muestra, el único dato disponible para la identificación del compuesto, es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos, dato que no es suficiente para una identificación inequívoca, sobretudo en muestras con un número elevado de componentes. Por otra parte, la espectrometría de masas permite identificar específicamente cualquier sustancia pura, pero no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separarlos previamente. De este modo, la asociación de las dos técnicas anteriormente descritas, da lugar a una técnica acoplada (GC/MS) que permite tanto la separación óptima de los componentes como la identificación inequívoca de éstos en una gran variedad de muestras.

Además es importante destacar que el GC al tener un sistema de control de la temperatura del horno, permite crear rampas de temperatura rápidas y precisas, que

provocan una cromatografía óptima, que incluye simetría de pico y reproducibilidad del tiempo de retención.

El detector de masa, incorpora un cuadrupolo de cuarzo como sistema de filtrado o de discriminación de masa para separar los iones, los cuales en un sistema de alto vacío, pasan por un espacio entre cuatro barras que están sometidas a voltajes variables que hacen que los iones sigan orbitales complejas y que solo fragmentos con una masa concreta lleguen al detector. Además de una fuente de iones inerte sólida, lo cual proporciona una mayor resolución del espectro de masa, asegurando una mayor sensibilidad e integridad de los espectros. (Agilent Technologies, Inc. 2010).

Por otra parte, el detector de masa puede operar en dos modos simultáneos: a) el modo SCAN realizando un barrido completo de los iones que llegan al detector, y b) el modo SIM, realizando una monitorización selectiva de iones de importancia, señalados al momento de configurar el método analítico en el equipo.

De este modo, el funcionamiento integral de ambas técnicas es lo que proporciona resultados precisos y exactos.

La Figura 13, a continuación, corresponde a un diagrama de un sistema GC-MS.

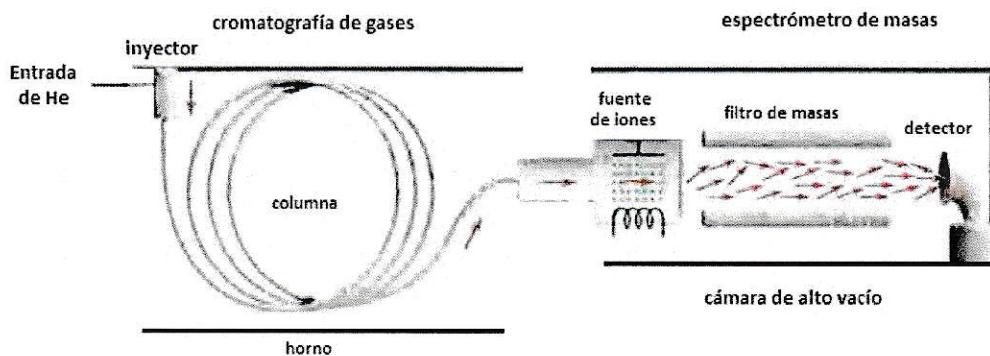


Figura 13: Diagrama GC-MS.

Finalmente cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masa, el cual además actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma. En efecto, la corriente iónica generada por todos los iones da lugar a un pico de forma

gaussiana de área proporcional a la concentración del compuesto detectado. (M.C Gutierrez, M Droguet, 2002).

De este modo, la utilización de un sistema GC/MS permite cuantificar y confirmar la identidad del compuesto obtenido mediante la obtención del espectro de masa correspondiente. Esto ha permitido que en Chile y el mundo, esta técnica sea utilizada en análisis de alimentos, aromas y fragancias, así como también en productos químicos industriales, en energía y combustibles, en estudios de narcóticos y sustancias como también en diversas matrices ambientales, etc. (Agilent Technologie Inc, 2013).

Actualmente muchos laboratorios y áreas (por ejemplo, Laboratorio de Residuos de Plaguicidas ISP, SGS, ANAM S.A, CENMA, Laboratorio ambiental de la Región del Maule, etc) están empleando estos equipos para realizar sus análisis.

1.2.4. Normativas y Métodos.

Las normativas y métodos utilizados en el presente seminario de título son el método EPA 8270C, "SEMIVOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS)", el cual se utiliza para determinar la concentración de compuestos orgánicos semivolátiles en extractos preparados a partir de muchos tipos de matrices, como por ejemplo: matrices sólidas de residuos, suelos, medios de muestreo de aire y muestras de agua.

Para el proceso de limpieza se utilizó como referencia el método EPA 3630C, "SILICA GEL CLEANUP", el cual incluye orientación sobre la confección de la columna de silica gel, así como también, la limpieza estándar de extractos de muestras que contienen hidrocarburos aromáticos polinucleares, compuestos fenólicos derivatizados, pesticidas organoclorados y PCB. Además indica los posibles eluyentes que se pueden utilizar y la recuperación de algunos compuestos de interés con cada uno de estos eluyentes.

Finalmente el Decreto Supremo 148: "REGLAMENTO SANITARIO SOBRE MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS", constituye una herramienta de gestión de residuos peligrosos, debido a que establece las concentraciones máximas permisibles para los pesticidas de interés, así como también de compuestos orgánicos volátiles,

semivolátiles y metales presentes en los residuos. Además establece la identificación y clasificación de residuos peligrosos, cuando estos presenten alguna de las características de toxicidad presentes en el reglamento (toxicidad aguda, crónica, extrínseca, inflamabilidad, reactividad y corrosividad). Así como las condiciones sanitarias y de seguridad mínimas a que deberá someterse la generación, tenencia, almacenamiento, transporte, tratamiento, reuso, reciclaje, disposición final y otras formas de eliminación de los residuos peligrosos. Esta última, de gran importancia a nivel medio ambiental, ya que un mal manejo y disposición final de un residuo peligroso puede provocar daños considerables en el medio ambiente y en la salud de las personas.

1.3. Objetivos.

1.3.1. Objetivo General.

Determinar si el proceso de limpieza (clean up) con silica gel, es apto para la medición de pesticidas en extractos de TCLP por Cromatografía gaseosa acoplada a detector de masa.

1.3.2. Objetivos Específicos.

1. Establecer una metodología de limpieza (clean up) para extractos orgánicos provenientes de matrices medioambientales.
2. Optimizar el proceso de clean up con silica gel, determinando eluyente y volumen de elución apropiado para los pesticidas de interés.
3. Verificar con una muestra de TCLP la medición de pesticidas en un residuo y determinar la peligrosidad de éste y su disposición final.

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Reactivos y materiales.

2.1.1. Aparatos y materiales.

- Cromatógrafo de gases (Agilent technologies 7890A GC System).
- Detector de masa (Agilent technologies 5975C inert MSD with triple-Axis Detector).
- Gas de arrastre o fase móvil Helio 6,0 calidad cromatográfica.
- Gas de purgar Nitrógeno 6,0 calidad cromatográfica.
- Columna capilar (Zebron 5MS 30m x 0,25 m ID X 1,0 Film).
- Baño ultrasonido (Transsonic TP 690).
- Columnas de vidrio para limpieza de extractos orgánicos (L: 30 cm, ID: 1,5 mm)
- Pipetas Pasteur.
- Probetas clase A de 50, 100 y 250 mL.
- Viales de 10 mL provistos de tapa rosca recubiertas de teflón.
- Balón de concentración 500 mL.
- Balón de extracción 500 mL.
- Embudo analítico 500 mL.
- Jeringas para cromatografía (1000, 500,100,25,10 μ L)(Hamilton).
- Matraces de aforo (10,5,1 mL) (Clase A).
- Balanza analítica (Sartorius analytic, 10800173).
- Rotaevaporador (Lorton, modelo 3740-12BREII).
- Estación de corriente de Nitrógeno (Air liquide).

2.1.2. Reactivos.

- Solución Acenafteno-d10 (Lot: 1156700, 2000 μ g/mL, Chem Service).
- Solución Criseno-d12 (Lot: 978200, 2000 μ g/mL, Chem Service).
- Solución Nitrobenceno-d5 (Lot: 1834300, 2000 μ g/mL, Chem Service).
- Solución Clordano(Lot: 1029000, 1000 μ g/mL, Chem Service).
- Pentacloronitrobenceno (Chem Service).
- Estándar Mix de Pesticidas (Lot: 1836600, Chem Service).
- Estandar Mix de Pesticidas Semi- Volátiles (Lot: 1835100,Chem Service).

- Decaclorobifenilo (Lot: 1464000, Chem Service).
- 2- Fluorobifenilo (Lot: 1546200, Chem Service).
- Sílica gel 60-120 Mesh (LOBA CHEME).
- Diclorometano (Macron, calidad cromatográfica).
- Hexano (JT Baker, calidad cromatográfica).
- Metanol (Merck, calidad cromatográfica).
- Cloruro de Sodio (JT Baker, p.a.).
- Sulfato de Sodio Anhidro(Merck, p.a.).
- Lana de vidrio (Riedel- de Haën, p.a).
- Metilterbutil éter(Merck, calidad cromatográfica).
- Ácido Sulfúrico conc. 95-97% (JT Baker, calidad cromatográfica).
- Hidroxido de Sodio(Merck, p.a).

2.2. Preparación del material.

Todo material utilizado para el análisis fue previamente tratado de modo de evitar posible contaminación de las muestras. Este pre-tratamiento se realizó de la siguiente manera:

- Se lavó el material con agua potable y detergente sin fosfato Sodosil RM 03.
- Se enjuagó repetidas veces con agua destilada para retirar residuos de detergente.
- Se lavó 3 veces con agua destilada y 3 veces con agua desionizada grado reactivo clase 1.
- Se dejó secar y fue guardado para su uso posterior.

Finalmente al momento de utilizar el material, fue tratado de la siguiente manera:

- Se lavó 3 veces utilizando Acetona (Merck, calidad cromatografía) y 3 veces utilizando Metanol (Merck, calidad cromatografía).
- Finalmente se dejó secar a 120 °C en estufa (Memmert, UM400).

2.3. Preparación de soluciones intermedias estándares.

Para determinar la presencia de pesticidas en extractos de TCLP se preparó una serie de soluciones estándares a partir de soluciones madres de 1000 y 2000 mgL⁻¹. Las soluciones preparadas corresponden a:

Tabla 4: Soluciones estándares.

Solución intermedia estándar preparada	Soluciones madres
Mix estándar interno (10 mg/L)	Acenaphthene-d10 solution(2000 µg/mL). Chrysene-d12 solution (2000 µg/mL). Pentachloronitrobenzene solution (1000µg/mL).
Surrogei (10mg/L)	2 Fluorobiphenyl solution (2000 µg/mL). Decachlorobiphenyl solution (1000 µg/mL).
Mix Pes-TCLP (10 mg/L)	Chlordane solution (1000 µg/mL). TCLP Pesticidas Spiking Mixture (2000 µg/mL). TCLP Semivolátiles Spiking Mixture (2000 µg/mL). 2 Fluorobiphenyl solution (2000 µg/mL). Decachlorobiphenyl solution (1000 µg/mL).

Cada solución de estándar de 10 mg/L mostrada en la Tabla se preparó del siguiente modo:

- Utilizando jeringas para cromatografía Hamilton de 500 y 100 µL se tomó una alícuota de 50 µL y 100 µL de las soluciones madres de 2000 y 1000 µg/mL respectivamente.
- La alícuota se trasvasió a un matraz de aforo 10 mL y se aforó con una solución de Metil Terbutil éter (MTBE) Merck, calidad cromatográfica.

2.4. Preparación de curva de calibración.

Con el objetivo de fijar la fortificación efectuada a las muestras para la determinación de pesticidas, se utilizó dos curvas de calibración, las cuales fueron realizadas tomando los volúmenes requeridos desde las soluciones intermedias estándares, aforando con Metil Terbutil- éter, según lo señalado en las Tablas 5 y 6. Es importante destacar que los volúmenes requeridos fueron tomados utilizando jeringas para cromatografía.

Tabla 5: Curva de calibración (a).

	STD1 mg/L	STD2 mg/L	STD3 mg/L	STD4 mg/L	STD5 mg/L	STD6 mg/L
Concentración	0,05	0,100	0,200	0,300	0,500	1,00
Adición Mix Pes-TCLP	50 µL	100 µL	200 µL	300 µL	500 µL	1000 µL
Adición Mix Estándar interno	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL
Aforo en MTBE	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL

Tabla 6: Curva de calibración (b).

	STD1 mg/L	STD2 mg/L	STD3 mg/L	STD4 mg/L	STD5 mg/L	STD6 mg/L	STD7 mg/L
Concentración	0,3	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	10,0
Adición Mix Pes-TCLP	30 µL	50 µL	100 µL	300 µL	500 µL	700 µL	1 mL
Adición Mix Estándar interno	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL
Aforo en MTBE	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

2.5. Preparación de Solución de Hidróxido de Sodio 20%.

Se masó 200 g de Hidróxido de Sodio y se disolvió con 1000 mL de agua desionizada.

2.6. Preparación columnas de sílica gel.

Para realizar el proceso de limpieza de las muestras de TCLP, se utilizó una columna de vidrio de 30 cm de largo y diámetro interno de 1,5 mm, y como relleno sílica gel, la cual se activó previamente dejándola secar a 130 °C durante toda la noche, para luego dejar enfriar en una desecadora. Una vez activada la sílica gel se procedió con el siguiente protocolo:

- Se empacó la columna con lana de vidrio silanizada, de modo que ésta actuara como soporte mecánico y se dejó eluir hexano, para compactar la lana de vidrio, evitar burbujas y limpiar el sistema.
- Se masó $3,0 \pm 0,1$ g de sílica gel, previamente activada, en un vaso de precipitado.
- Se humedeció la sílica con un poco hexano creando una pasta y se vertió rápidamente en la columna, utilizando nuevamente hexano para arrastrar la sílica adherida a las paredes de ésta.
- Se golpeó la columna con una varilla de plástico periódicamente para compactar la columna.
- Se agregó de 2 -3 cm de sulfato de sodio anhidro para sellar la columna, dando golpes suaves para compactar el sulfato.
- Finalmente se rellenó la columna con hexano.

2.7. Preparación de la muestra.

2.7.1. Preparación del extracto de TCLP.

El presente seminario de título establece la determinación de pesticidas en el extracto de TCLP, por lo que la preparación del extracto fue realizada por ANAM S.A dentro de sus labores de rutina, brindando diversas muestras para la realización de este estudio. El método empleado (Test de TCLP) se encuentra especificado en el Anexo 3.

2.7.2. Extracción líquido-líquido de extractos TLCP.

Una vez recibido el extracto de TCLP, se preparó la muestra de pesticidas, realizando una extracción líquido-líquido a cada muestra, la cual se optimizó

realizando una variación de pH con el objetivo extraer pesticidas en medio ácido y medio básico. La extracción líquido-líquido se realizó de la siguiente forma:

- Se midió y transfirió 250 mL de muestra rotulada (por ej: muestra 2675737) sobre los embudos de extracción previamente rotulados con la identificación de la muestra.
- Se adicionó 3 puntas de espátula grande y colmada de cloruro de sodio y se agitó para disolver.
- Se ajustó el pH de la muestra, adicionando 1,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, para alcanzar un $\text{pH} \leq 2$.
- Seguido de esto, se sometió la muestra a una extracción líquido-líquido utilizando aproximadamente 50 mL de diclorometano y se agitó enérgicamente durante 3 minutos como mínimo.
- Luego de la agitación, se dejó reposar la muestra para la separar la fases y se transfirió la fase orgánica a un balón de concentración de fondo plano que contenía en la parte superior un embudo con sulfato de sodio anhidro, utilizado para filtrar la muestra. El sulfato de sodio es retenido en el embudo utilizando lana de vidrio como soporte mecánico.
- Se repitió el procedimiento de extracción dos veces más, empleando en cada una de ellas 50 mL de diclorometano.
- Finalmente se ajustó nuevamente el pH, por lo que se adicionó aproximadamente 25 mL de hidróxido de sodio 20% hasta $\text{pH} \leq 12$. Se sometió la muestra a 3 extracciones líquido-líquido en medio básico utilizando en cada una de ellas 50 mL de diclorometano y recolectando la fase orgánica en el mismo balón para cada muestra.

Es importante destacar que al momento de ajustar el pH de la muestra, se corroboró la variación con bandas de pH. Por otra parte en caso de formación de emulsiones, se eliminó mediante la adición de una nueva porción de cloruro de sodio, o en su defecto mediante el empleo de algún método mecánico como ultrasonido o centrifugación del extracto.

2.7.3. Concentración de las soluciones orgánicas.

2.7.3.1. Concentración en Rotaevaporador.

Una vez realizadas las extracciones, se concentraron los extractos obtenidos hasta casi sequedad a una temperatura entre los 40-50°C mediante el empleo de un concentrador rotatorio (rotaevaporador) con la ayuda de un sistema de vacío. La concentración de los extractos tiene como objetivo evaporar el solvente (Diclorometano) utilizado en la extracción líquido-líquido, el cual al ser un solvente de bajo punto de ebullición permite su evaporación a bajas temperaturas disminuyendo, de este modo, la pérdida asociada a los compuestos.

Una vez concentrado el extracto se adicionó al balón de concentración dos porciones de MTBE mediante el empleo de una pipeta Pasteur, con el fin de lavar las paredes del balón arrastrando los compuestos adheridos a su superficie. Luego se trasvasió el extracto a un tubo de ensayo previamente rotulado con la identificación de la muestra; finalmente se repitió el procedimiento con dos porciones más de solvente, depositando el extracto en el mismo tubo de ensayo.

2.7.3.2. Concentración con purga de Nitrógeno.

Mediante el empleo de un concentrador de purga de Nitrógeno conectado a un sistema de vacío, se concentró casi a sequedad los extractos anteriormente obtenidos, utilizando vacío y una suave corriente de nitrógeno, esto con el fin de alcanzar un volumen aproximado de 1 mL.

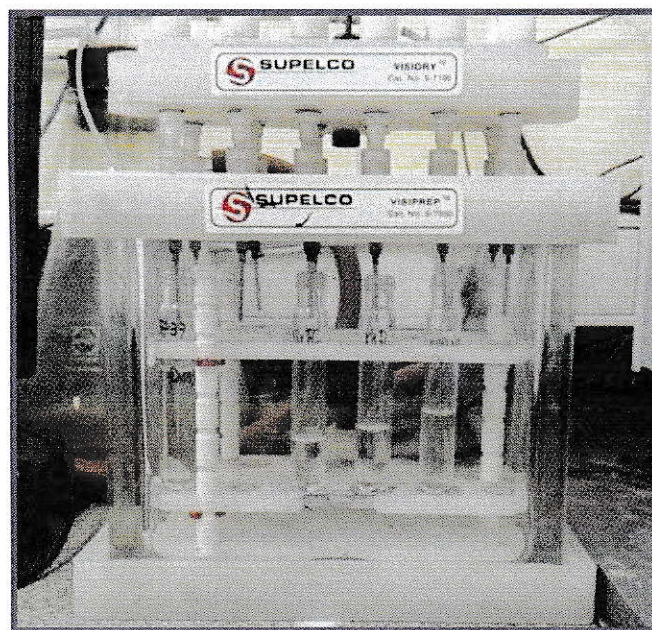


Figura 14: Concentración con purga de Nitrógeno.

Luego de concentrar los extractos se reconstruyó el volumen de 1 mL con MTBE y se agitó para homogenizar utilizando un agitador mecánico. Finalmente para el análisis de los extractos éstos fueron transferidos a los viales de muestreo previamente rotulados con la identificación de las muestras y se refrigeraron hasta el momento de análisis en el GC/MS.

2.8. Selección de solvente para clean up.

En primera instancia se analizaron diferentes solventes, con el objetivo de optimizar y probar diferentes condiciones de elución y establecer el mejor eluyente para el proceso de clean up. Para ello, se utilizaron diversos eluyentes como: Hexano, Acetona y Diclorometano, en distintas proporciones como se muestra en la Figura N° 20. Se realizó un mínimo de 3 ensayos para cada eluyente y cada uno de estos fue medido por triplicado en el equipo GC/MS.



Figura 15: Eluyentes utilizados en la metodología de limpieza.

En este análisis se utilizó como muestra el STD5 de la curva de calibración (a) (pág. 43), de concentración 0,50 mg/L y un volumen de elución de 50 mL para cada mezcla de eluyente, tratando de encontrar la mejor elución de todos los compuestos y un porcentaje de recuperación entre un 60-120% (% de recuperación aceptados por ANAM S.A para la realización de este estudio).

Una vez reconocidas las mejores fracciones utilizadas, se realizó un nuevo ensayo manteniendo las mismas condiciones anteriores, pero variando el volumen de elución a 100 mL, con el fin de disminuir la posible retención de algunos compuestos en la columna de silica gel.

2.9. Procedimiento de limpieza (Clean up) de muestras con silica gel.

Algunos de los extractos obtenidos en el punto anterior fueron sometidos a un protocolo de limpieza, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento:

- Se dejó eluir a menisco el hexano contenido en la columna siendo depositado en un vaso de precipitado destinado para desecho.
- Se agregó 1 mL de la muestra utilizando una jeringa para cromatografía y se dejó eluir hasta menisco.
- Luego se adicionó 1 mL de eluyente y se dejó eluir hasta menisco.

- Finalmente se agregó 50-100 mL de eluyente en varias porciones depositando esta vez el nuevo extracto en un balón de concentración de 250 mL.

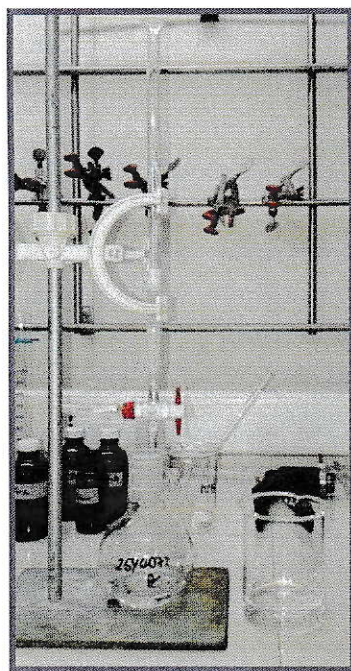


Figura 16: Procedimiento de Clean up.

Las soluciones resultadas fueron sometidas nuevamente a concentración por rotaevaporador y concentración con purga de nitrógeno, para finalmente ser transferidas a los viales para posterior medición.

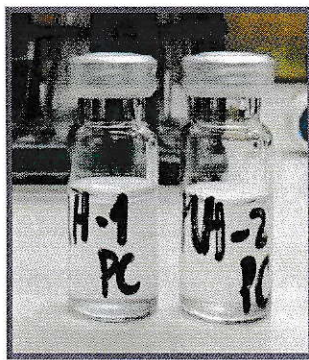


Figura 17: Viales del autosampler.

Finalmente a modo de resumen, la Figura N°18 presenta un esquema del procedimiento empleado:

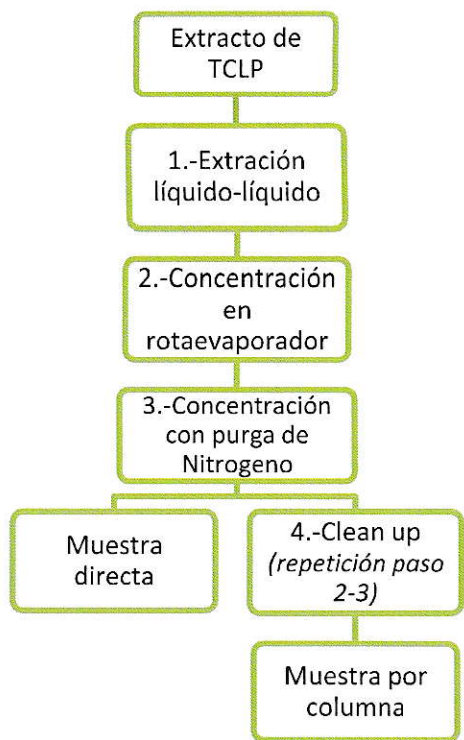


Figura 18: Resumen preparación de muestras.

2.10. Metodología de análisis de extractos.

Con el objetivo de determinar pesticidas en una matriz simple y libre de posibles interferentes, se procedió, en primera instancia, al análisis de muestras de agua. Para ello se utilizó agua desionizada como muestras, las cuales fueron fortificadas con una concentración conocida del Mix de Pesticidas de 2 µg/L, antes de someterlas a la extracción líquido-líquido, para luego realizar todo el proceso de preparación de muestra.

Se realizaron dos ensayos diferentes: una muestra directa y una muestra sometida al proceso de limpieza (clean up) utilizando el solvente elegido en la etapa anterior.

La utilización de agua desionizada como muestra, tiene como objetivo realizar las pruebas de estandarización del clean up por silica gel, buscando en primer lugar descartar toda fuente de error, que en principio, podría afectar las condiciones de elución de la silica, para posteriormente teniendo la certeza de la efectividad de elución, de acuerdo a la mezcla de disolventes y su proporción, utilizarla en una matriz real.

De este modo, al fortificar las muestras con una concentración conocida del Mix de pesticidas, se pretende dilucidar si el paso previo de limpieza es eficiente para la determinación óptima de pesticidas, y así analizar y comparar las respuestas obtenidas en muestras inyectadas al equipo de forma directa (sin clean up) como en muestras sometidas a este pre-tratamiento (con clean up), de modo de buscar mejores condiciones para la posterior determinación de pesticidas en muestras de TCLP.

2.10.1. Fortificación de muestras con Pesticidas.

El método anteriormente señalado, consistió en la preparación de muestras, con el fin de realizar una medición de pesticidas por Cromatografía de Gaseosa acoplada a Detección de Masa. Para esto, las muestras fueron fortificadas con dos concentraciones diferentes del Mix de pesticidas (2 ug/L y 40 ug/L) con el objetivo de estudiar las respuestas obtenidas (% de recuperación) y determinar pesticidas a nivel de trazas en muestras de TCLP. Se realizaron las siguientes etapas:

1. Se preparó soluciones acuosas (muestras de agua), las cuales fueron dopadas con una concentración conocida del Mix de Pesticidas y se realizaron dos ensayos diferentes: una muestra directa y una muestra sometida al proceso de limpieza (clean up) utilizando el solvente elegido en la etapa anterior, con el fin de establecer la eficiencia del proceso de limpieza y determinar si éste provoca pérdidas considerables de los analitos de interés. Del mismo modo cada muestra fue realizada un mínimo de 3 veces y fue inyectada por triplicado por el equipo GC/MS.
2. Se realizó el mismo procedimiento con muestras de TCLP.
3. Finalmente, con el fin de corroborar el análisis realizado, se determinó la concentración de pesticidas en una muestra de TCLP y se estableció su disposición final.

2.11. Condiciones del Análisis cromatográfico de muestras por GC-MS

2.11.1. Equipo.

Para el análisis se utilizó un cromatógrafo gaseoso Agilent technologies 7890A acoplado a un sistema de detección de masa cuadrupolo Agilent technologies 5975C. El sistema está configurado con un inyector capilar split/ splitless, control electrónico

de presión, un horno con programación de temperatura, control automático de gas de arrastre o fase móvil, y un sistema de inyección automático de muestras Autosampler líquido-líquido. La Figura 18, muestra el equipo GC/MS utilizado en el presente seminario de título.

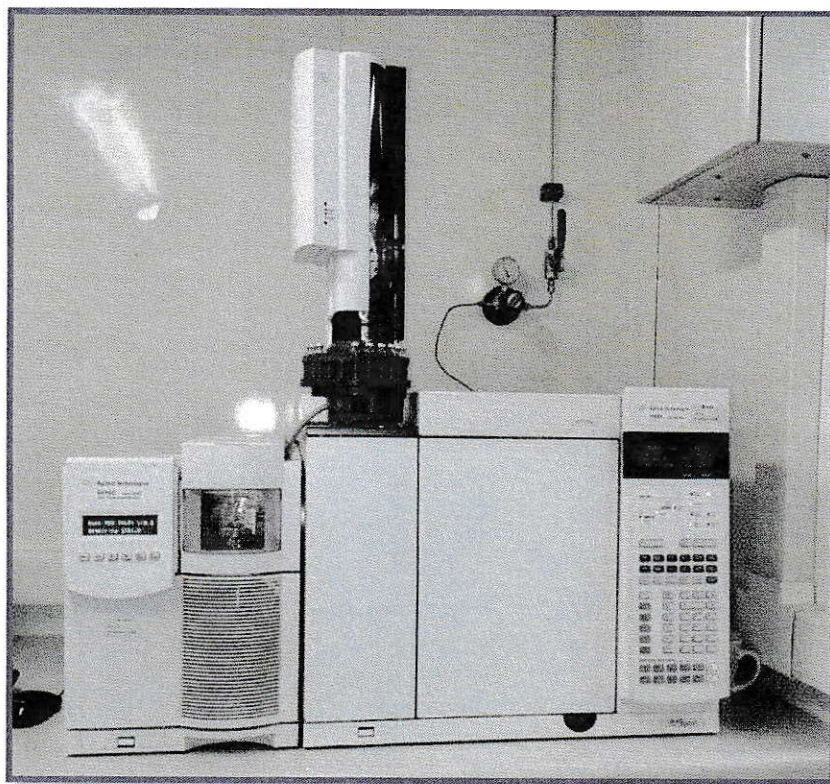


Figura 19: Equipo GC/MS.

2.11.1.1. Condiciones instrumentales de análisis.

Las Tablas 7 y 8 presentan las condiciones instrumentales utilizadas durante el análisis, para el cromatógrafo gaseoso y detector de masa respectivamente. Estas condiciones corresponden a un método fabricado por ANAM S.A en base a condiciones estándares y recomendaciones realizadas por el fabricante.

Tabla 7: Condiciones instrumentales para el Cromatógrafo gaseoso.

Temperatura del inyector	250 °C
Columna empleada	Columna capilar ZB-5MS de 30 m x0,25mm ID y film de 1,0 µm o equivalente.
Rampa de temperatura	<ul style="list-style-type: none">- 40°C por 4 min- Incremento de 10°C hasta 280°C mantenido por 22 min- Tiempo total rampa de temperatura 50 min.
Gas de arrastre o fase móvil	Helio 1,2 mL/min.
Modo de inyección	Split/Splitless.
Volumen de inyección	2 µL.

Tabla 8: Condiciones instrumentales para el Detector de Masas

Temperatura interna de la fuente	230°C
Temperatura del cuadrupolo	150°C
Temperatura línea de transferencia	280°C
Rango de monitoreo de Masa modo SCAN	45-500 UMA.

2.11.2. Resumen Modo SIM.

Durante el análisis se utilizó la funcionalidad SIM/SCAN, que permite aprovechar las ventajas de ambos modos de operación en la misma adquisición de datos. Es por esto que en conjunto con el barrido completo del modo SCAN, se configura el modo SIM, con el propósito de hacer una monitorización selectiva de iones de importancia, incluyendo en el programa del equipo (Software de Integración Chem Station Agilent) las masas principales y secundarias de cada compuesto y asignando grupos con tiempos de retención específico para una mejor monitorización selectiva de los iones de interés.

A continuación, la Tabla 9 presenta el modo de operación SIM empleado durante el análisis de los pesticidas. Es importante destacar que este método puede ser modificado de manera sencilla para mejor respuesta, resolución, entre otros., pudiendo variar los tiempos de retención de los compuestos y la partida de cada grupo Sim.

Tabla 9: Resumen modo SIM.

Compuesto	t _R (min)	Q1	Q2	Q3	N° Grupo Sim	Partida SIM (min)
1,4 Diclorobenceno	13,971	146	148	111	2	12
2 Methylfenol	14,450	108	107	77	2	12
3+4 Methylfenol	14,777	107	108	77	2	12
Hexacloroetano	15,168	117	119	201	2	12
Nitrobenzeno	15,319	77	123	51	2	12
Hexaclorobutadieno	17,478	225	223	227	3	16,5
2,4,6 Triclorofenol	19,500	196	198	200	4	18,5
2,4,5 Triclorofenol	19,600	196	198	200	4	18,5
2- Fluorobifenilo-Surr	19,689	172	171	170	4	18,5
Acenafteno-d10	21,502	164	162	160	5	20,8
2,4 Dinitrotolueno	21,980	165	89	63	5	20,8
Hexaclorobenceno	24,397	284	286	282	6	23,5
Pentaclorofenol	24,798	266	264	268	6	23,5
Lindano	24,878	183	181	219	6	23,5
PCNB-IS	24,998	237	295	249	6	23,5
Heptaclor	26,506	100	272	274	6	23,5
Heptaclor epoxido	28,058	353	355	351	7	27
Clordano	28,561	372,8	374,8	376,8	7	27
Endrin	30,150	81	263	82	7	27
Metoxiclor	33,242	227	228	152	8	32
Criseno-d12	33,712	240	236	120	8	32
DCBF-Surr	45,233	498	500	196	9	43

*t_R: Tiempo de retención, Q1: Masa principal, Q2 y Q3: Masas secundarias.

2.11.3 Cuantificación y validación de resultados.

Una vez analizadas las muestras, se cuantificaron los resultados mediante la curva de calibración correspondiente, esto se llevó a cabo con el sistema de integración del equipo que se realiza de forma automática por el software de adquisición de datos. De este modo se dio como positiva la identificación del compuesto si la señal presentada cumplía con dos criterios fundamentales:

a) Coincidencia del tiempo de retención establecido por los estándares de la curva de calibración.

b) Cumplimiento de la relación carga/masa establecida en el método de análisis, lo cual se verificó evaluando las señales generadas por la muestra para cada analito.

Finalmente, es importante destacar que los resultados entregados por el software, se calculan de forma automática mediante la interpolación en la curva de calibración correspondiente y se informan de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{Concentración del analito } \left(\frac{mg}{L}\right) = \left(\frac{mg}{L}\right) \times F \times D$$

Dónde:

mg/L : Concentración obtenida al aplicar la curva de calibración del analítico correspondiente.

F: Factor de concentración.

D: Factor de dilución si corresponde.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Validación del método.

El método empleado "Determinación de compuestos orgánicos semi-volátiles por método de cromatografía gaseosa y detección de masa" se encuentra validado por ANAM S.A, por lo que no se requirió una nueva validación de éste durante el análisis ejecutado. Sin embargo, las curvas de calibración fueron confeccionadas nuevamente para el desarrollo de este Trabajo. (Anexo 4).

3.2. Determinación y cuantificación de los resultados.

Las muestras analizadas fueron cuantificadas con la curva de calibración correspondiente mediante el sistema de integración del equipo.

La Figura 20 muestra, a modo de ejemplo, las señales presentadas por el 2,4,6 triclorofenol durante un análisis de TCLP. En la parte superior de la Figura se puede observar un cromatograma con 3 señales, las cuales corresponden a las masas principales y secundarias (196, 198, 200) del compuesto. Estas señales son reconocidas por el sistema de adquisición de datos, ya que aparecen en el tiempo de retención establecido de 19,5 min.

Por otra parte, en los recuadros inferiores se presenta tanto el espectrómetro de masa (izquierda) con sus masas principales y secundarias, como la respuesta analítica entregada por el software (derecha), la cual nos brinda la concentración del compuesto, la respuesta analítica obtenida y el cumplimiento de la relación carga/masa establecida en el método de análisis.

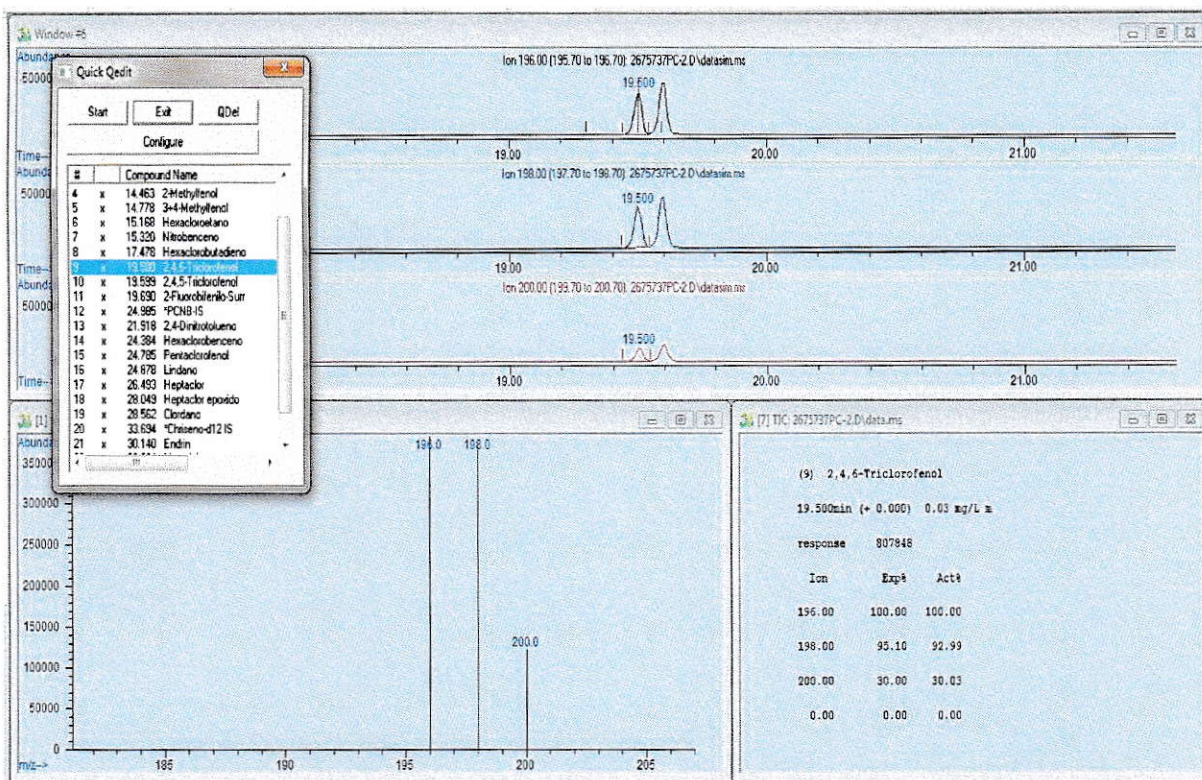


Figura 20: Determinación y cuantificación de los resultados.

3.3. Determinación del eluyente para limpieza de muestras.

Los % de recuperación obtenidos (Tabla 10) muestran que las mejores fracciones pasadas por columna corresponden a 30/70 y 40/60 diclorometano-hexano, y 30/70 diclorometano-acetona, ya que presentan valores entre un 60-120% en la mayoría de los compuestos a analizar.

Tabla 10: Selección de eluyente (50 mL).

Fracción	100%	30/70	40/60	30/70	40/60	30/70	40/60
	Hexano	Di-Hex	Di-Hex	Ac-Hex	Ac-Hex	Di-Ac	Di-Ac
	%	%	%	%	%	%	%
1,4 Diclorobenceno	65	66	63	64	54	65	57
2 Metilfenol	31	67	71	67	60	20	24
3+4 Metilfenol	25	61	65	72	68	40	42
Hexacloroetano	72	75	72	74	62	68	60
Nitrobenzono	82	90	86	88	76	103	95
Hexaclorobutadieno	70	72	69	68	62	67	64
2,4,6 Triclorofenol	76	96	102	99	103	88	51
2,4,5 Triclorofenol	41	88	94	93	102	81	88
2- Fluorobifenilo	81	82	80	80	78	86	84
2,4 Dinitrotolueno	23	97	96	90	84	108	107
Hexaclorobenceno	126	87	78	80	80	69	66
Pentaclorofenol	26	110	114	139	140	76	98
Lindano	113	90	84	86	89	77	74
Heptaclor	154	123	122	127	131	94	88
Heptaclor epoxido	119	106	102	106	112	87	84
Clordano	131	115	110	121	123	94	90
Endrin	98	112	108	122	128	79	76
Metoxiclor	60	109	121	127	133	84	85
DCBF	59	63	67	59	60	52	52

* Di: *Diclorometano*; Hex: *Hexano*; Ac: *Acetona*.

3.3.1. Efecto del volumen de eluyente.

Con el fin de disminuir la posible retención de algunos compuestos en la columna de silica gel, se realizó un nuevo ensayo manteniendo las mismas condiciones anteriores, pero variando el volumen de elución a 100 mL, utilizando las mejores fracciones reconocidas anteriormente.

Las Figuras 21, 22 y 23 a continuación, representan los porcentajes de recuperación obtenidos por cada mezcla de eluyente utilizando los dos volúmenes de elución indicados.

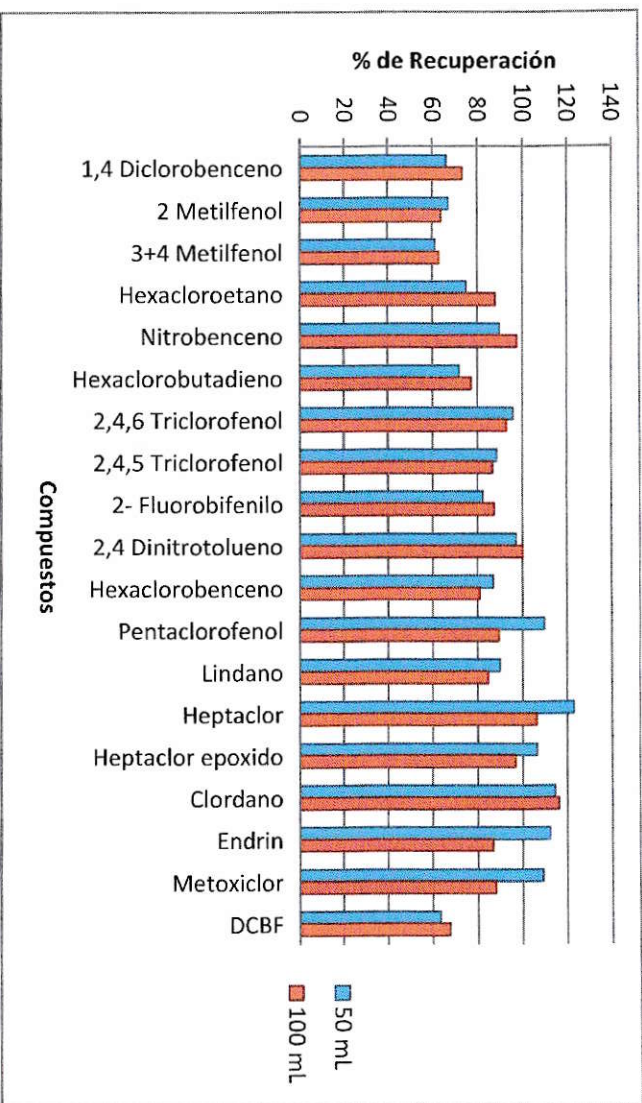


Figura 21: Volumen de elución: 30/70 Dicalorometano-Hexano.

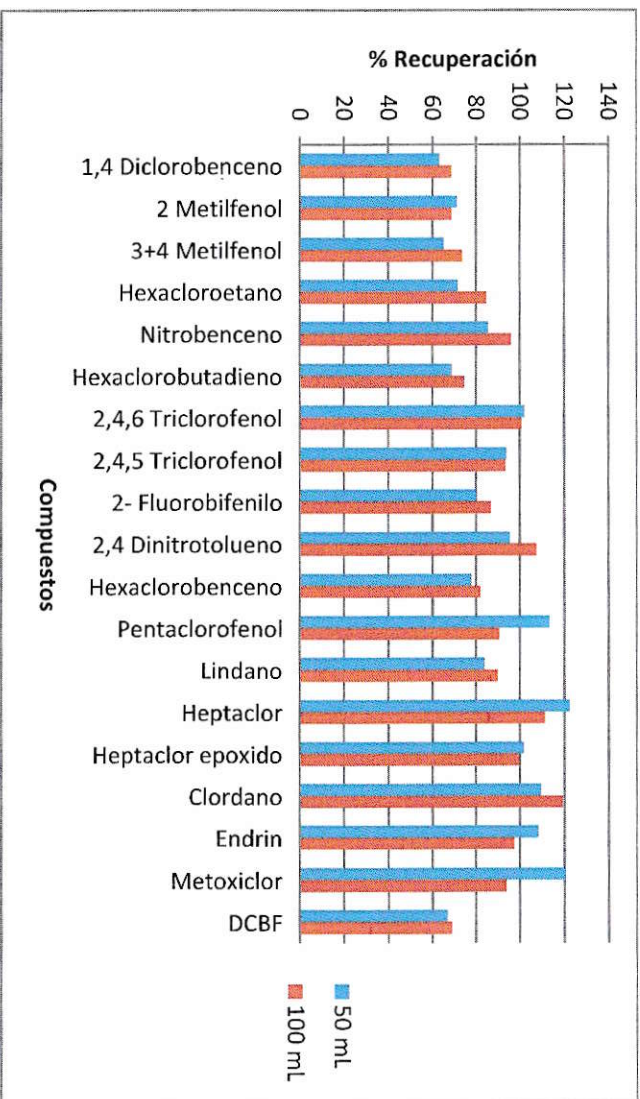


Figura 22: Volumen de elución: 40/60 Dicalorometano-Hexano.

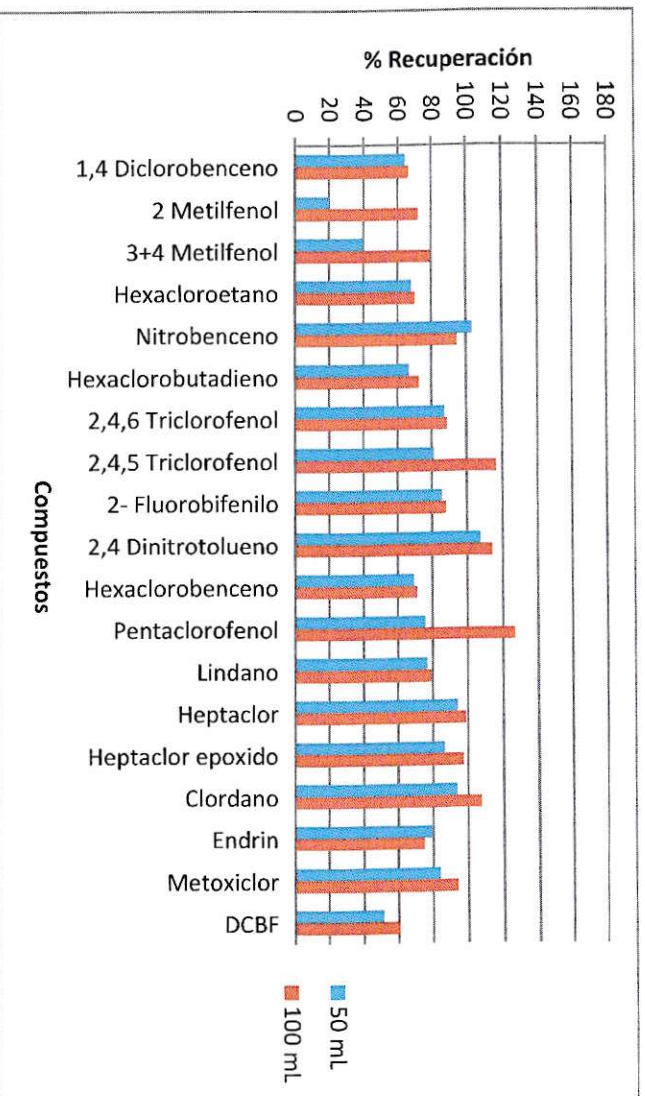


Figura 23: Volumen de elución: 30/70 Diclorometano- Acetona.

Los resultados indican que al duplicar el volumen de elución, la recuperación de la mayoría de los compuestos es mayor, mostrando un aumento en los porcentajes de recuperación obtenidos. (Tablas correspondientes en Anexo 5).

De este modo, si bien todas las fracciones analizadas presentan porcentajes de recuperación aceptables, es decir entre un 60 y 120%, la fracción que utiliza acetona muestra un aumento considerable en los porcentajes de recuperación de casi todos los compuestos cuando se duplica el volumen de elución, mejorando de este modo 16 de los 19 pesticidas a analizar, en comparación con un aumento de 9 y 13 compuestos en las fracciones 30-70 y 40-60 diclorometano-hexano respectivamente.

La Tabla 11, muestra los valores obtenidos de E^o (fuerza eluotrópica en SiO_2) por cada mezcla de eluyentes empleados en este análisis. Los valores utilizados para este cálculo corresponden a: Hexano (0,03); Diclorometano (0,32); Acetona (0,5), siendo este último, un valor promedio entre 0,47-0,53.

Tabla 11: Fuerza eluotrópica de los eluyentes utilizados.

Mezcla de eluyentes	Valor de ϵ° .
30/70 Diclorometano- Hexano	0,117
40/60 Diclorometano- Hexano	0,146
30/70 Diclorometano- Acetona	0,446

(Sacristán Mara et al, 2011).

Es por esto que la fracción 30/70 diclorometano-acetona con un volumen de 100 mL será la utilizada para determinar los pesticidas, ya que eluye de mejor forma todos los compuestos a analizar, mostrando de este modo, mejores % de recuperación y presenta una mayor fuerza eluotrópica para arrastrar los compuestos fuera la columna.

Es importante destacar, que la utilización de acetona presenta ventajas económicas y medioambientales, debido a su nula toxicidad, bajo o nulo poder de bioacumulación en organismos acuáticos, degradabilidad en mediano plazo (tiempos de vida media bajos) alta pureza, bajo costo y alta disponibilidad en el mercado, lo cual permite que sea un solvente adecuado para análisis de laboratorio.

3.4. Determinación de pesticidas en muestras de agua.

La Tabla 12 a continuación, ilustra los % de recuperación obtenidos al fortificar las muestras de agua con una concentración conocida del Mix de Pesticidas de 2 $\mu\text{g/L}$.

Tabla 12: Resultados obtenidos muestras de agua fortificadas con 2 µg/L.

Compuestos	% de Recuperación. (sin clean up)	% de Recuperación. (con clean up)
1,4 Diclorobenceno	19	20
2 Metilfenol	44	40
3+4 Metilfenol	61	53
Hexacloroetano	14	10
Nitrobenceno	38	50
Hexaclorobutadieno	12	10
2,4,6 Triclorofenol	89	80
2,4,5 Triclorofenol	97	110
2- Fluorobifenilo-Surr	42	40
2,4 Dinitrotolueno	80	85
Hexaclorobenceno	40	35
Pentaclorofenol	91	60
Lindano	52	65
Heptaclor	60	65
Heptaclor epoxido	68	75
Clordano	76	85
Endrin	94	90
Metoxiclor	104	120
DCBF-Surr	86	90

Se puede observar una baja recuperación de algunos compuestos como 1,4 diclorobenceno, 2-metilfenol, Hexacloroetano, Nitrobenceno, Hexaclorobutadieno etc., cuyos % de recuperación son menor al 60% en ambos ensayos practicados.

Esto se puede deber a pérdidas por manipulación asociadas al proceso de preparación de la muestra, y al nivel de fortificación efectuado, ya que éste al ser un valor muy bajo presentará pérdidas más importantes en comparación con un nivel de fortificación mayor.

Debido a esto, se aumentó 20 veces la fortificación efectuada a las muestras de agua y se realizó el mismo ensayo, pero fortificando esta vez, con 40 µg/L del Mix de Pesticidas a cada muestra. Para esto se construyó una nueva curva de calibración señalada en la sección 2.4 como curva de calibración (b).

Los resultados obtenidos (Tabla 13) muestran un aumento de los % de recuperación al aumentar la fortificación efectuada en las muestras, en la mayoría de los compuestos.

Esto permite señalar, que la fortificación realizada influye en la respuesta obtenida en cada ensayo, ya que al trabajar con compuestos semivolátiles se presentan pérdidas asociadas a todo el proceso de preparación de las muestras. Por esto se hace necesario aumentar la fortificación, de modo que ésta pérdida sea menos importante, y con esto, realizar una comparación más efectiva de los ensayos.

Tabla 13: Resultados obtenidos en muestra de agua desionizada sin y con clean up fortificadas con 40 ug/L.

Compuestos	% de Recuperación. (sin clean up)	% de Recuperación. (con clean up)
1,4 Diclorobenceno	26	32
2 Metilfenol	50	43
3+4 Metilfenol	30	28
Hexacloroetano	21	27
Nitrobenceno	39	54
Hexaclorobutadieno	24	30
2,4,6 Triclorofenol	66	64
2,4,5 Triclorofenol	73	81
2- Fluorobifenilo-Surr	58	60
2,4 Dinitrotolueno	78	77
Hexaclorobenceno	66	73
Pentaclorofenol	65	74
Lindano	75	78
Heptaclor	72	75
Heptaclor epoxido	83	85
Clordano	85	92
Endrin	81	75
Metoxiclor	83	81
DCBF-Surr	77	75

De este modo, el análisis en muestras de agua permitió probar las condiciones anteriormente descritas para el clean up con silica gel, descartando toda fuente de error que podría afectar la elución de los compuestos.

Además, permitió realizar una comparación de los ensayos y determinar la efectividad en la elución de los analitos de interés, al no arrojar diferencias considerables en los % de recuperación de los compuestos, cuando estos son sometidos a éste proceso de limpieza. Por lo cual los compuestos eluyen de forma efectiva fuera de la columna, no quedando retenidos en la silica gel.



Por otra parte, el análisis en muestras de agua permitió establecer que la fortificación de 2 µg/L es insuficiente para obtener buenas recuperaciones de los compuestos, siendo necesario aumentar la fortificación efectuada a 40 µg/L. Si bien aún existen pérdidas de algunos de los analitos de interés a este nivel de fortificación, esto no resulta un impedimento importante para el desarrollo de este análisis, principalmente porque los límites máximos permitidos en el DS:148 para estos compuestos, son bastante mayores a la fortificación efectuada. Sin embargo la mayoría de los compuestos organoclorados requieren el límite más bajo posible, principalmente los compuestos Clordano y Endrin cuyos límites máximos permitidos son 0,03 y 0,02 mg/L respectivamente.

3.5. Determinación de pesticidas en muestras de TCLP.

Las muestras de TCLP, corresponden a una matriz compleja y con posibles interferentes que dificultan la medición en el equipo, debido principalmente a la fuerte carga orgánica que estas muestras presentan, entre otros residuos. Al ser sometidas al mismo proceso anteriormente descrito, es decir, fortificadas en primera instancia con 2 µg/L, los resultados obtenidos (Anexo 6), muestran una disminución importante en los % de recuperación de los compuestos a analizar, obteniéndose valores bastante disímiles a los presentados por las muestras de agua.

Además, fue posible notar que el orden en el cual fueron inyectadas las muestras influyó en la respuesta entregada por el sistema de adquisición de datos, mostrando dificultades en la detección analítica, (picos cromatográficos amorfos, pérdida de resolución entre las señales etc.), ya que las últimas muestras inyectadas al equipo obtienen valores bastante menores en comparación con las demás muestras de naturaleza similar.

Esto ocurrió debido a que las muestras de TCLP inyectadas de forma directa al equipo (sin clean up), dañaron, entre otras cosas, la calidad de la columna utilizada y contaminaron o ensuciaron la fuente de iones ubicada en el sistema de detección de masas, por lo que los valores obtenidos no pueden ser utilizados en el análisis.

Debido a esto fue necesario realizar una dilución 1:10 a una muestra de TCLP, de modo de disminuir la carga orgánica presente en ella y realizar nuevamente el ensayo, utilizando una columna nueva y limpiando el sistema de detección de masa.

Esta dilución, utilizando agua desionizada, se realizó al extracto de TCLP entregado por ANAM S.A, de forma preliminar a la fortificación efectuada y a la extracción líquido-líquido, por lo cual su ejecución solo tiene como objetivo disminuir la carga orgánica presente en las muestras, para posteriormente poder hacer el análisis correspondiente y poder inyectar la muestra directa, sin que esta dañe las condiciones instrumentales del equipo.

Para esto, varias fracciones de una misma muestra fueron sometidas de forma individual al proceso completo de preparación de muestra, y se determinó el % de recuperación en la muestra sin clean up (d10) y muestras con clean up (d10), valores que fueron comparados con los resultados obtenidos por la misma muestra sin previa dilución, con el objetivo de analizar la influencia de la dilución de la matriz en la determinación analítica.

Es importante destacar que para evitar el desmedro de las condiciones instrumentales del equipo se inyectó en primer lugar las muestras con dilución, para luego inyectar la muestra sin dilución con clean up seguida de la muestra sin dilución y sin clean up.

En la Tabla 14 se puede observar un mejoramiento de los % de recuperación de casi todos los compuestos cuando la muestra es diluida, lo cual sucede en ambos ensayos. Esto debido a que una matriz más diluida y por ende con menos carga orgánica, resulta menos invasiva para el equipo, facilitando la detección analítica de los compuestos de interés.

Por lo tanto, para reducir la carga orgánica presente en los extractos de TCLP, se debe realizar una dilución como pre-tratamiento a las muestras, para no dañar las condiciones instrumentales del equipo GC/MS, y permitir la determinación seguida o de corrido, de una batería de muestras por analizar.

Por otra parte, si bien la dilución efectuada es alta, esta permite realizar un mejor manejo de los datos, lo cual estaría justificado por ANAM S.A, debido a que este procedimiento fue diseñado para que quede en un manual de instrucciones entendido por cualquier persona.

Tabla 14: Porcentajes de recuperación obtenidos en muestras TCLP fortificadas con 2 µg/L con diferentes diluciones.

Compuesto	Muestras TCLP sin clean up (% de recuperación)		Muestras TCLP Con clean up (% de recuperación)	
	M'5	M'5	M'5	M'5
	Sin dilución	Dilución 1:10	Sin dilución	Dilución 1:10
1,4 Diclorobenceno	26	30	20	20
2 Metilfenol	61	60	58	65
3+4 Metilfenol	68	63	65	68
Hexacloroetano	19	25	19	15
Nitrobenceno	56	50	51	50
Hexaclorobutadieno	18	20	19	15
2,4,6 Triclorofenol	156	70	158	70
2,4,5 Triclorofenol	174	75	184	105
2- Fluorobifenilo-Surr	41	60	44	40
2,4 Dinitrotolueno	69	75	76	70
Hexaclorobenceno	33	40	39	40
Pentaclorofenol	20	75	85	50
Lindano	54	65	60	65
Heptaclor	65	70	66	70
Heptaclor epóxido	60	70	66	75
Clordano	60	75	65	70
Endrin	69	85	78	80
Metoxiclor	75	75	90	105
DCBF-Surr	56	90	65	115

Sin embargo los valores obtenidos aún son deficientes, estando algunos casos incluso bajo el límite de aceptabilidad del 60 %, ocurriendo pérdidas durante el proceso completo de preparación de las muestras.

Por esto, al igual que en el caso anterior, se aumentó la fortificación realizada a las muestras a 40 µg/L del Mix de Pesticidas, utilizando la curva de calibración (b). Al igual que en las muestras de agua, se puede observar % de recuperación aceptables en la mayoría de los compuestos (Tablas 15 y 16), por lo tanto la fortificación efectuada, permite realizar una determinación de la mayoría de estos analitos a este nivel, no mostrando pérdidas importantes durante el proceso de preparación de la muestra y clean up.

Sin embargo, algunos compuestos como 1,4 diclorobenceno, nitrobenceno, Hexaclorobutadieno y hexacloroetano presentan valores deficientes en los % de recuperación obtenidos, tanto en muestras de TCLP sin clean up y con clean up.

Tabla 15: Porcentajes de recuperación obtenidos en muestras TCLP sin clean up fortificadas con 40 µg/L.

Compuesto	Porcentajes de recuperación.		
	M'6 (d10)	M'7 (d10)	M'8 (d10)
1,4 Diclorobenceno	35	37	34
2 Metilfenol	64	63	66
3+4 Metilfenol	69	72	67
Hexacloroetano	35	33	32
Nitrobenceno	48	52	49
Hexaclorobutadieno	32	35	34
2,4,6 Triclorofenol	61	78	74
2,4,5 Triclorofenol	66	87	81
2- Fluorobifenilo-Surr	60	67	71
2,4 Dinitrotolueno	70	78	76
Hexaclorobenceno	63	71	63
Pentaclorofenol	66	96	88
Lindano	66	78	69
Heptaclor	64	68	67
Heptaclor epoxido	77	72	72
Clordano	85	81	84
Endrin	62	64	62
Metoxiclor	70	62	64
DCBF-Surr	69	66	67

Tabla 16: Porcentajes de recuperación obtenidos en muestras TCLP con clean up fortificadas con 40 µg/L.

Compuesto	Porcentajes de recuperación.		
	M'6 (d10)	M'7 (d10)	M'8 (d10)
1,4 Diclorobenceno	27	20	27
2 Metilfenol	62	71	62
3+4 Metilfenol	66	69	72
Hexacloroetano	21	17	23
Nitrobenceno	47	41	46
Hexaclorobutadieno	26	22	26
2,4,6 Triclorofenol	73	77	77
2,4,5 Triclorofenol	87	89	85
2- Fluorobifenilo-Surr	61	66	69
2,4 Dinitrotolueno	74	86	74
Hexaclorobenceno	75	69	60
Pentaclorofenol	83	117	90
Lindano	81	82	72
Heptaclor	79	79	67
Heptaclor epoxido	93	82	71
Clordano	97	88	82
Endrin	80	63	62
Metoxiclor	85	64	62
DCBF-Surr	82	64	74

Las pérdidas observadas, se deben principalmente a la elevada presión de vapor, y la baja solubilidad en agua que presentan estos compuestos, propiedades que le brindan una alta tendencia a volatilizarse (Ver Tabla 2, pag 21.). Además al concentrar el extracto en el rotaevaporador, (temperatura entre 40-50 °C), la volatilización de los compuestos aumenta provocando más pérdidas asociadas.

Es por esto que se requiere la utilización de un disolvente con bajo punto de ebullición como el diclorometano, de modo que sea posible trabajar con temperaturas más bajas y disminuir las posibles pérdidas por evaporación de estos compuestos.

Así mismo hay pérdidas que se pueden asociar al proceso de inyección de las muestras en el GC, ya que el inyector se encuentra a 250°C, temperatura que destruyen los compuestos más termolábiles.

Por otra parte, los resultados corroboran que la dilución efectuada en las muestras resulta necesaria para una determinación analítica óptima, sin dañar las condiciones

instrumentales del equipo. Sin embargo, a pesar que la dilución 1:10 es efectiva, no es suficiente para evitar el procedimiento de limpieza, debido a que es en este donde quedan retenidos la mayor parte de interferentes, aceite y grasas presente en los residuos de TCLP.

3.6. Análisis comparativo y determinación de pesticidas en extracto de TCLP.

Finalmente se realizó un análisis comparativo de las respuestas obtenidas por las muestras de TCLP, sin y con clean up, fortificadas con 40 ug/L. Para esto, se calculó un promedio de las muestras anteriormente señaladas, con el objetivo de analizar la respuesta de la matriz y comprobar la efectividad del clean up. Este cálculo (promedio) se pudo llevar a cabo, debido que las muestras anteriormente señaladas (M'6- M'7- M'8) provenían de la misma matriz.

El cuadro comparativo (Tabla 17) permite corroborar que la concentración de 40 µg/L es efectiva para la determinación de pesticidas en muestras de TCLP, mostrando valores aceptables en casi todos los compuestos, a excepción del 1,4 diclorobenceno, hexacloroetano, nitrobenzono y hexaclorobutadieno compuestos que presentan pérdida en todos los análisis realizados. Asimismo, se puede observar que los valores obtenidos en ambos análisis no varían considerablemente.

Con esto es posible determinar que el proceso de limpieza (clean up), no provoca pérdidas considerables en los analitos al ser pasados por la columna de sílica gel, ya que los valores registrados son similares en la mayoría de los compuestos. Esto indica que las pérdidas corresponden a la etapa de preparación de la muestra, ya que se puede observar esta tendencia de los compuestos en ambos ensayos.

Por otra parte, realizar un proceso de limpieza en muestras complejas como los extractos de TCLP, favorece la determinación analítica de los compuestos a estudiar, ya que permite eliminar parte de las interferencias propias de las muestras, ayudando no solo a la detección y cuantificación de los analitos, sino también a mantener las condiciones óptimas de los instrumentos de medición como el GC/MS.

El instrumento pierde sensibilidad al inyectar muestras con alto contenido de interferentes, producto de la pérdida de la calidad de la columna cromatográfica y la

contaminación del sistema de detección de masas, lo cual quedó evidenciado al momento de realizar la inyección de las muestras directas de TCLP.

Tabla 17: Cuadro comparativo matriz TCLP fortificado con 40µg/L (dilución 1:10).

Compuestos	% de recuperación TCLP directa	% de recuperación TCLP PC.
1,4 Diclorobenceno	35	25
2 Metilfenol	64	65
3+4 Metilfenol	69	69
Hexacloroetano	33	20
Nitrobenzeno	50	45
Hexaclorobutadieno	34	25
2,4,6 Triclorofenol	71	76
2,4,5 Triclorofenol	78	87
2- Fluorobifenilo-Surr	66	65
2,4 Dinitrotolueno	75	78
Hexaclorobenceno	66	68
Pentaclorofenol	83	97
Lindano	71	78
Heptaclor	66	75
Heptaclor epoxido	74	82
Clordano	83	89
Endrin	63	68
Metoxiclor	65	70
DCBF-Surr	67	73

Así, el análisis de este tipo de muestras o extractos, necesita que las condiciones instrumentales de los equipos de medición sean las óptimas, debido a que requieren una alta sensibilidad para poder realizar las determinaciones necesarias.

Esto es de suma importancia en residuos analizados para determinar su característica de peligrosidad, principalmente los que necesitan análisis de las sustancias o compuestos presentes en éste.

De este modo, un residuo tendrá la característica de toxicidad extrínseca cuando el Test de Toxicidad por Lixiviación arroje concentraciones superiores a las concentraciones máximas permisibles presentes en el Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos Peligrosos. (Anexo1), el cual establece en el artículo 14, que un residuo tendrá esta característica de toxicidad cuando su eliminación pueda dar origen a una o más sustancias tóxicas agudas o crónicas en concentraciones que pongan en riesgo la salud de la población.

Por esto, a modo de ejemplo, se analizó una muestra de TCLP, la cual fue sometida a todo el proceso de preparación de muestra y clean up, utilizando las condiciones anteriormente descritas.

La Tabla 18 a continuación, muestra los resultados obtenidos por una muestra de TCLP, y las concentraciones máximas permisibles para cada uno de los compuestos a analizar.

Tabla 18: Resultados obtenidos muestra real.

Compuesto	2675737 (mg/L)	CMP DS 148 (mg/L)
1,4 Diclorobenceno	<0,0035	7.5
2 Metilfenol	<0,0020	200
3+4 Metilfenol	<0,0010	200
Hexacloroetano	<0,0015	3
Nitrobenceno	<0,0015	2
Hexaclorobutadieno	<0,0012	200
2,4,6 Triclorofenol	<0,0018	2
2,4,5 Triclorofenol	<0,0015	400
2,4 Dinitrotolueno	<0,0018	0,13
Hexaclorobenceno	<0,0018	0,13
Pentaclorofenol	<0,00063	100
Lindano	<0,0015	0,4
Heptaclor (y su epoxido)	<0,0018	0,0
Clordano	<0,0021	0,03
Endrin	<0,0015	0,02
Metoxiclor	<0,0015	10

A partir de la tabla, se puede observar que este residuo no sobrepasa los valores señalados en el artículo 14 del DS 148, por lo tanto, no presenta la característica de toxicidad extrínseca, y puede disponerse en un relleno sanitario sin poner en riesgo la salud de las personas, ni el ecosistema. Sin embargo, es importante destacar que a pesar de no presentar concentraciones superiores a las establecidas, no es posible clasificar al residuo como inocuo, debido a que este puede presentar otras características de toxicidad, como la toxicidad aguda, toxicidad crónica, inflamabilidad, reactividad y corrosividad, por lo que se requiere otra serie de análisis para poder clasificar el residuo como peligroso.

Cabe mencionar, que si el residuo hubiese arrojado para cualquiera de las sustancias mencionadas, concentraciones superiores a las señaladas en la Tabla, se definiría como un residuo peligroso y por tanto, su disposición final debería ser en un relleno de seguridad, según lo establecido en el presente reglamento.

Finalmente, es importante realizar una comparación de los cromatogramas, los cuales presentan diferencias en los ensayos realizados. Las Figuras 24, 25 y 26 corresponden a la muestra de TCLP anteriormente señalada.

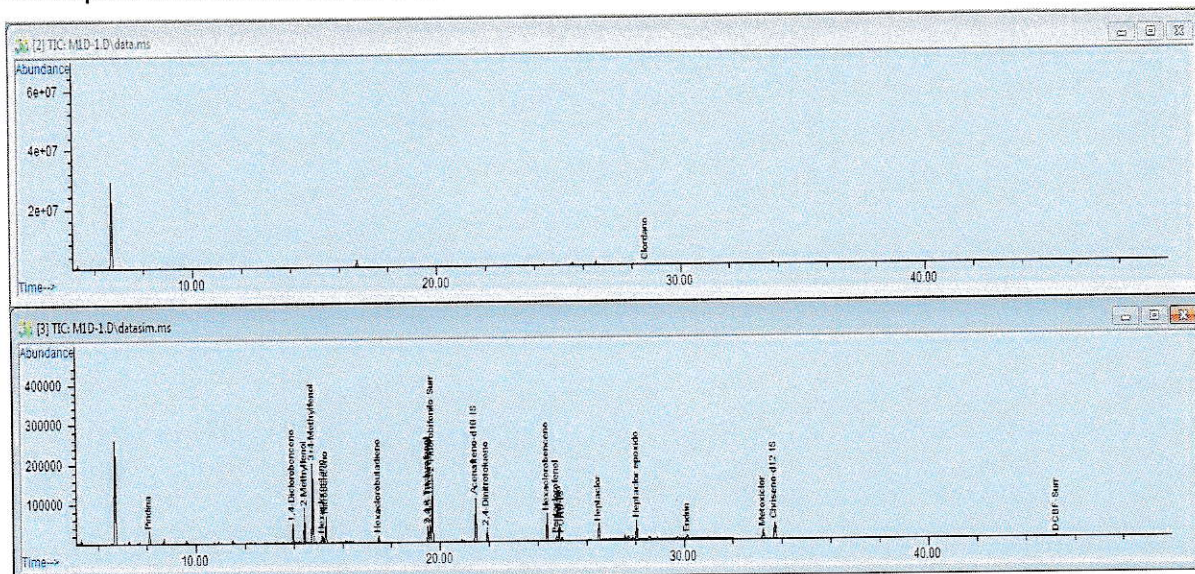


Figura 24: Muestra de TCLP directa.

Se puede observar un cromatograma limpio, con las señales características de los compuestos a analizar.

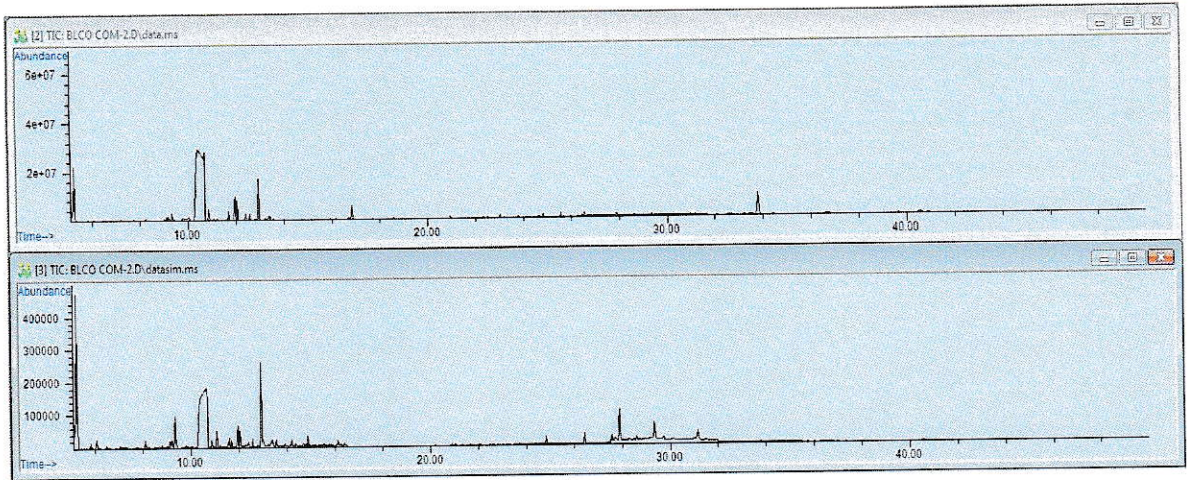


Figura 26: Blanco muestra.

IV. DISCUSIÓN GENERAL.

El análisis de los residuos, resulta de suma importancia para poder establecer, entre otras cosas, su disposición final, por lo cual es necesario poder determinar y cuantificar los compuestos o sustancias presentes en los residuos, que pueden afectar la salud de las personas y/o el medio ambiente. El Test de TCLP, permite establecer la toxicidad extrínseca de los residuos, cuando éste arroje concentraciones superiores a las señaladas en Tabla de Concentraciones Máximas Permisibles (CMP) presente en el DS: 148.

El análisis de pesticidas en estos residuos, resulta una tarea difícil debido a la complejidad de las matrices ambientales como a las interferencias propias de la muestra, por lo que se hace necesario contar con una etapa previa de limpieza (clean up), que tiene como finalidad eliminar las interferencias, para lograr analizar las muestras, sin dañar las condiciones de los equipos a utilizar y determinar, de este modo, si la concentración de pesticidas presentes en estos residuos sobrepasa los límites establecidos.

Por esto, es importante evaluar e implementar mejores condiciones, optimizando métodos de limpieza con sílica gel, con el propósito de analizar muestras complejas como los extractos de TCLP mediante cromatografía de gases asociada a un espectrómetro de masa. Para esto se evaluó en primera instancia diferentes eluyentes, buscando la mejor elución de todos los compuestos a analizar, encontrando en la fracción 30-70 diclorometano-acetona, una mayor fuerza eluotrópica y valores aceptables (60-120% de Recuperación) en la mayoría de los compuestos. Además se determinó un volumen de elución de 100 mL, ya que al aumentar la cantidad de eluyente, mayor es la interacción y el arrastre de los compuestos fuera de la columna de sílica gel.

Luego, con el objetivo de determinar la eficiencia del proceso de limpieza, se utilizaron muestras de agua y muestras de TCLP, las cuales fueron fortificadas con una concentración conocida del Mix de Pesticidas, con el propósito de evaluar la respuesta obtenida y comparar los porcentajes de recuperación en muestras inyectadas al equipo de forma directa (sin clean up) y las que fueron pasadas por la columna de sílica gel (con clean up). Con esto, se pretendió responder dos

interrogantes: la primera asociada a la eficiencia en la limpieza de los extractos, de modo que estos no dañaran las condiciones instrumentales del equipo y la segunda que consistió en analizar si el proceso de clean up provocaba pérdidas considerables de los compuestos, debido a la posible retención en la columna de sílica gel o a la volatilización de estos al tener un procedimiento posterior.

Los resultados obtenidos muestran respuestas favorables en muestras de agua, ya que éstas corresponden a matrices simples y libres de interferentes. Los extractos de TCLP, por el contrario, consisten en matrices complejas, por lo que se hace necesario el proceso de limpieza, previo a la inyección de las muestras en el cromatógrafo de gases, ya que, si éstas son inyectadas de forma directa, dañan las condiciones instrumentales del equipo, destruyendo las columnas cromatográficas y ensuciando considerablemente el sistema de detección de masa. Sin embargo al ser muestras provenientes de diversas industrias y/o matrices ambientales, presentan una fuerte carga orgánica y aceites, entre otras cosas, siendo necesaria una dilución aun cuando se le aplica el proceso de limpieza.

Debido a esto, las muestras de TCLP utilizadas en el análisis fueron sometidas a una dilución 1:10, con el propósito de disminuir la carga orgánica presente en éstas y realizar nuevamente el ensayo, y así poder inyectar la muestra directa sin que dañe las condiciones instrumentales del equipo. Sin embargo, es importante destacar que esta dilución es efectiva para las muestras que se utilizaron durante el desarrollo de este trabajo, por lo que si se presentan muestras más complejas y sucias será necesario realizar una dilución mayor. Asimismo, es importante aclarar que a pesar de ser efectiva la dilución efectuada, no es suficiente para sustituir el procedimiento de limpieza, debido a que es en éste donde quedan retenidos la mayor parte de los interferentes, por lo que solo es necesario para disminuir la alta carga orgánica que caracteriza a estas muestras. Por otra parte estas diluciones pueden realizarse debido a que la sensibilidad y los límites de detección instrumentales alcanzados por el sistema GC/MS permiten la detección de los compuestos a nivel de trazas.

Luego se procedió a analizar la efectividad de la limpieza en la cuantificación de los compuestos, realizando nuevamente el ensayo con las muestras diluidas y aumentando la concentración de la fortificación efectuada a 40 µg/L. Los resultados obtenidos indican que al aumentar la fortificación de las muestras, las pérdidas son

menos significativas, ya que al trabajar con compuestos semivolátiles estos se pierden fácilmente en el proceso de preparación. Por esto, al aumentar la concentración 20 veces esta pérdida es menos notoria en relación a la concentración efectuada.

Por otra parte, al aumentar la concentración, es posible comparar los ensayos y verificar la factibilidad del clean up en la determinación de pesticidas en los extractos de TCLP. La Tabla 17 señala que el paso de limpieza no provoca pérdidas considerables en los analitos de interés, ya que los valores registrados son similares en la mayoría de los compuestos, no encontrándose pérdidas considerables al ser pasados por la columna de sílica gel, sino que las pérdidas asociadas corresponden a los procesos de preparativa e inyección. Debido a esto, es necesario extremar cuidados en la preparación de las muestras, de modo de disminuir las pérdidas asociadas durante todo el proceso, ya sea en la extracción líquido-líquido como en la concentración de los extractos.

Al analizar las fortificaciones efectuadas, es posible establecer que la fortificación de 2 µg/L es insuficiente para obtener buenas recuperaciones de los compuestos, siendo necesario aumentar la fortificación a 40 µg/L. Si bien aún existen pérdidas de algunos de los analitos de interés a este nivel de fortificación (1,4 Diclorobenceno, Hexacloroetano, Nitrobenceno, Hexaclorobutadieno), ésta no resulta un impedimento importante para el desarrollo de este análisis, principalmente porque los límites máximos permitidos en el DS:148 para estos compuestos (7,5; 3; 2; 200 mg/L respectivamente), son bastante mayores a la fortificación efectuada. El hecho de trabajar a un nivel de fortificación bajo, se justifica porque la mayoría de los compuestos organoclorados requieren el límite más bajo posible, principalmente los compuestos Clordano y Endrin cuyos límites máximos permitidos son 0,03 y 0,02 mg/L respectivamente. Por otro lado, es importante mencionar que las rondas interlaboratorios para estos compuestos vienen a cualquier nivel (bajo-medio-alto) por lo que ANAM S.A requiere estandarizar el método para proyecciones futuras.

Asimismo, es importante destacar que la determinación analítica de los pesticidas se llevó a cabo con un sistema acoplado GC/MS, el cual resulta de suma importancia, ya que si bien, la cromatografía de gases es la técnica más utilizada para la determinación de residuos de plaguicidas, porque presenta ventajas como alta sensibilidad, detección selectiva y elevada eficiencia en la separación, una vez

separados los componentes individuales, el único dato disponible para la identificación del compuesto, es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos, dato que no es suficiente para una identificación inequívoca de los compuestos, sobretodo en muestras con un número elevado de componentes. Por esto, el acoplamiento a un sistema de detección de masas, es conveniente para el análisis de este tipo de muestras, ya que, esta técnica permite reconocer específicamente cualquier sustancia pura, realizando una identificación inequívoca de los componentes presentes, ya que proporciona un espectro característico para cada molécula, además de la información estructural sobre la molécula analizada. Además la espectrometría de masas es una de las técnicas analíticas más completas que existen, debido a que presenta una gran sensibilidad pudiendo detectar y trabajar con concentraciones a nivel de trazas, lo cual resulta sumamente útil en análisis de muestras provenientes de matrices ambientales.

De este modo, la búsqueda de mejores condiciones instrumentales y la optimización del proceso de limpieza se hace necesario para poder determinar y cuantificar pesticidas en extractos de TCLP, haciéndolo un proceso menos invasivo para equipo.

Desde el punto de vista medioambiental, la determinación y cuantificación de pesticidas surge como una necesidad debido a sus características de peligrosidad y persistencia. Por esto, las muestras de TCLP son ampliamente estudiadas, ya que permiten realizar la determinación de una serie de pesticidas, cuantificar sus concentraciones y predecir de forma general los movimientos de estas sustancias en el ecosistema. Sin embargo, este estudio resulta una tarea compleja, ya que éstos presentan características diferentes entre sí. Una forma de estudiar el comportamiento de estas sustancias, es realizar una aproximación agrupando los pesticidas en grupos según su estructura química y propiedades fisicoquímicas similares:

Así, los pesticidas **organoclorados**, presentan en general escasa o nula solubilidad en agua, un alto coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow}), baja presión de vapor y una alta estabilidad química, haciéndolos muy persistentes. Estos pesticidas al tener baja solubilidad en agua y alto coeficiente de partición pueden acumularse en el suelo y fijarse a la materia orgánica, en el sedimento y en la biota. Además al ser compuestos lipofílicos pueden acumularse en el tejido graso de los

animales; pudiendo ser un gran riesgo de bioacumulación en los seres humanos al consumir animales que contengan estas sustancias en el organismo.

Los compuestos derivados del benceno, como son **nitrobenceno** y **2,4 dinitrotolueno** presentan baja solubilidad en agua, un índice de Kow intermedio y presiones de vapor altas. Por lo cual son sustancias con alto potencial a volatilizarse, además al presentar una baja solubilidad en agua, estos compuestos no logran ser transportados a los mantos acuíferos, evitando su contaminación.

Por otra parte, el **2,-metilfenol** y **3+4 metilfenol**, son compuestos con moderada solubilidad en agua, índice de Kow intermedio y alta presión de vapor. Estos compuestos presentan un alto potencial a volatilizarse, sin embargo al tener una moderada solubilidad en agua, se pueden solubilizar en ésta y ser transportados hacia cursos de agua.

Cabe señalar, que cuando un residuo presenta valores superiores a los establecidos por el DS:148, y por ende es clasificado como residuo peligroso, presentando riesgo para la salud y/o el medio ambiente, éste debe ser eliminado en un relleno de seguridad, el cual corresponde a una instalación de eliminación destinada a la disposición final de residuos peligrosos en el suelo, diseñada, construida y operada cumpliendo los requerimientos específicos señalados en el reglamento.

Así mismo, el artículo 18 del presente reglamento señala que los residuos resultantes de la producción, preparación y la utilización de productos biocidas, productos fitofarmacéuticos y plaguicidas se consideran residuos peligrosos a menos que su generador pueda demostrar a la Autoridad Sanitaria que no presentan ninguna característica de peligrosidad, pudiendo proponer los análisis de caracterización de peligrosidad a realizar, en base al conocimiento que éste tiene de sus residuos y de los procesos de los generan. Sin embargo, esta última podrá exigir análisis adicionales a los propuestos conforme a lo señalado en los artículos del 12 al 17. Asimismo el artículo 24, señala que los envases de plaguicida se considerarán residuos peligrosos a menos que sean sometidos al procedimiento de triple lavado y manejados conforme a un programa de eliminación.

El análisis de la característica de toxicidad ha aumentado en los últimos años, de modo de determinar la peligrosidad no solo del residuo propiamente tal, sino también

de los residuos resultantes de los procesos de producción, preparación y utilización, así como también de los envases de los diversos plaguicidas que actualmente se venden en el mercado. De este modo el DS: 148, “Reglamento sanitario sobre manejo de residuos peligrosos”, permite determinar la peligrosidad de un residuo, estableciendo además todas las operaciones a las que se someten estas sustancias luego de su generación, incluyendo su almacenamiento, transporte y eliminación, así como también las características del relleno de seguridad, la instalación de eliminación y plan de operación destinado a éste.

Finalmente, a pesar de estos avances realizados en el tema de residuos, se requiere mejorar las regulaciones sanitarias y ambientales vigentes, abordar los vacíos legales existentes, lograr una mayor fiscalización y desarrollar la capacidad en la institucionalidad pública para coordinar a todos los actores que tienen competencia en la gestión de residuos. No obstante lo anterior, es importante señalar que la gestión de los residuos ha sido abordada, mayoritariamente de manera reactiva, limitándose así a la recolección y disposición final, sin mayor atención a alternativas de valorización. (MMA,2011^c).

V. CONCLUSIONES

- Fue posible establecer una metodología de limpieza (clean up) para extractos orgánicos provenientes de matrices medioambientales, utilizando una columna de sílica gel según los requerimientos del método EPA 8270C.
- La fracción 30-70 diclorometano- acetona y un volumen de elución de 100 mL, optimizó las condiciones de limpieza para extractos orgánicos para posterior medición por cromatografía gaseosa
- Se determinó la presencia de pesticidas en muestras fortificadas de agua y de TCLP, con el fin de comprobar la efectividad del proceso de limpieza. Los resultados obtenidos muestran valores similares tanto en muestras sin y con clean up, por lo que éste no perjudica la determinación ni cuantificación de los compuestos, solo permite eliminar las interferencias propias de la matriz.
- Se determinó la característica de toxicidad extrínseca de un residuo, realizando el ensayo en una muestra real de TCLP, la cual contenía una concentración inferior a la señalada en el artículo 14 del reglamento, por lo que su disposición final puede realizarse en un relleno sanitario sin perjuicio de la salud de las personas ni desmedro del medio ambiente. En caso contrario la disposición final del residuo debiese ser en un relleno de seguridad especialmente diseñado para la eliminación de residuos peligrosos.

VI. REFERENCIAS

- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), 1992.** Método 1311: Toxicity Characteristic Leaching Procedure.
< <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/1311.pdf>>.
- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), 1996^a.** Método 3630C: Silica Gel Clean up.
< <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3630c.pdf>>.
- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), 1996^b.** Método 8270C: Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). <<http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/8270c.pdf>>
- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), 1996^c** Método 3610B: Alumina Clean up.
< <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3610b.pdf>>
- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), 1996^d** Método 3665A: Sulfuric Acid/Permanganate Cleanup.
< <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3665a.pdf>>
- Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), Revisión 3: 2007.** Método 3620C: Florisil Clean up.
< <http://www3.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3620c.pdf>>
- Agilent Technologies, Inc. 2007.** GC/MSD Agilent Serie 5975C, Rendimiento, Productividad y Confianza. Holanda.
< <http://www.agilent.com/cs/library/brochures/5990-7641ES.pdf>>
- Agilent Technologies, Inc. 2010.** Cromatógrafo de gases en red Agilent 7890A, Ficha Técnica. EEUU.
<http://www.agilent.com/cs/library/datasheets/public/5989-6317ES_low.pdf>
- Agilent Technologies, Inc. 2013.** Catalogo especial GC y GC/MS.
< <https://www.agilent.com/cs/library/catalogs/Public/5991-5213ES.pdf>>
- Alfaro R, 2013** Herbicidas Asociados a la Caña de Azúcar y su Potencial de Contaminación del Medio Ambiente. Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar DIECA. Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar LAICA. Costa Rica.
- Azpeitia Gamazo y Rosado Antonio, 2004.** Suelos contaminados: Revisión comentada de Métodos de Análisis de contaminantes prioritarios en el Suelo. Instituto Geológico y Minero de España.
- Beltran J, Hernandez F, Morell I, 1995.** Estudios de adsorción de plaguicidas en suelos mediante experiencias en Batch, Grupo de investigación de Medio Ambiente y

Recursos Naturales. Departamento de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaime I, Castellón.
<http://abe.ufl.edu/Carpenna/files/pdf/zona_no_saturada/avances_en_la_investigacion_v2/c18_257_268.pdf>

Bidlingmeyer B. A.1992. Practical HPLC Methodology and Applications. Publication. Johon Wiley & Sons Inc. Canada.

Caicedo Pamela, 2011. Extractabilidad de pesticidas organoclorados y su biodisponibilidad en sistemas suelo-biosólido. Facultad de Ciencias Químicas y Farmaceuticas. Universidad de Chile.
<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112044/caicedo_pa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Caldas Adriana, 2012. Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. Universidad de Cuenca.
< <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2468/1/tq1111.pdf>>

California Department of Pesticide Regulation, 2006. Departamento de Reglamentación de Pesticidas, Agencia de Protección Ambiental de California. CA, EEUU.

Calva L. y Torres M. 1998. Plaguicidas organoclorados. Lab. de Ecosistemas Costeros. Departamento de Hidrobiología. D.C.B.S . UA-I.
< <http://docplayer.es/208714-Plaguicidas-organoclorados.htm>>

Carmina Idalia,2006. Desarrollo y Validación de un método de extracción en fase sólida para la determinación de plaguicidas catiónicos (cuats) en alimentos. Universidad Autónoma de Nueva Leon.
< <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080146383/1080146383.PDF>>

Centro para el control y prevención de enfermedades, 2012. Temas de salud y seguridad: Pesticidas. <<http://www.cdc.gov/spanish/niosh/topics/pesticidas.html>>. Última actualización 5 Diciembre 2012. Consultado 24 Julio 2015.

Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), 2004. Análisis de la Legislación Vigente sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. Santiago, Chile. pp 191.

Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), 2005. Política de gestión integral de residuos sólidos. Santiago, Chile. pp.12. < http://www.sinia.cl/1292/articles-26270_pol_rsd>

Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), 2010. Primer reporte sobre manejo de residuos sólidos en Chile. Gobierno de Chile. Comisión Nacional del Medio Ambiente.< http://www.sinia.cl/1292/articles-49564_informe_final.pdf>

Copaja Sylvia, 2013. Introducción a la cromatografía. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.

Diseño, construcción y operación de rellenos sanitarios manuales, 2007. Curso de Autoaprendizaje. <http://www.bvsde.paho.org/cursoa_rsm/e/unidades.html>

Gonzales Pau, 2004. Riesgos químicos por uso de plaguicidas en el medio ambiente. <http://www.ccoo.cat/fsap/s_gene/ccoogene/salut/riesgosma.pdf>

Grupo Transmerquim, 2014. Hoja de datos de seguridad, 1,4 Diclorobenceno. <<http://www.gtm.net/images/industrial/p/p-DICLOROBENCENO.pdf>>

Gutierrez M.C., Droguet M, 2002. La Cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes del mal olor. Identificación de compuestos volátiles por GC-MS. Boletín INTEXTER (U.P.C.) 2002. N° 122. <<http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/2733/5CROMGASES.pdf;jsessionid=D18576F6B23C554D379EC9AAD219F506?sequence=1>>

Hernandez F, Beltran J., 1995. Análisis de residuos de plaguicidas en aguas. Grupo de investigación de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Departamento de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaime I, Castellón. <http://abe.ufl.edu/carpena/files/pdf/zona_no_saturada/avances_en_la_investigacion_v2/c23_p321_356.pdf>

Hoffman A, 2001. Cromatografía de gases acoplado a un detector de masas GC/MS. <<http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/21937/Capitulo5.pdf>>

Instituto Nacional de Ecología (INE). 2015. Características físico-químicas de los plaguicidas y su transporte en el ambiente. Consultado 24 de Julio 2015. <<http://www2.ine.gob.mx/sistemas/plaguicidas/>>.

Instituto Nacional de Higiene y seguridad en el trabajo (INSHT). Fichas Internacionales de Seguridad Química: 2,4 Dinitrotolueno (1994^a). Clordano (1994^b). Endrin (2000). Pentaclorofenol (2003). 1,4 Diclorobenceno (2004^a). Metoxiclor (2004^b). Hexaclorobenceno (2005^a). Heptaclor (2005^b). Nitrobenzeno (2006). Lindano (2007). O-cresol (2008). , Hexacloroetano (2010^a). 2,4,6 Triclorofenol (2010^b). 2,4,5 Triclorofenol (2010^c).

Jaquéz S, González L, Campuzano R, Martínez V. 2013 Comportamiento de plaguicidas persistentes en el medio ambiente. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional. <<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/16959/COMPORTAMIENTO%20DE%20PLAGUICIDAS%20PERSISTENTES%20EN%20EL%20MEDIO%20AMBIENTE.pdf?sequence=1>>

Jenkins, J. J., P. A. Thomson, 1999. Extension Pesticide Properties Database. Oregon State University Extension Service. USA.

Linzai Ximena, 2013. Presentacion Prezi, Extracción con fluidos supercríticos. <https://prezi.com/z_vg98c-aerj/extraccion-con-fluidos-supercriticos/>.

Luque de Castro M. D., 2002. Preliminary steps of the analytical process. From sampling to detection. Pure Appl. Chem., 74: 2293-2298

Manahan S.E, 2007. Introducción a la Química Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México, Editorial REVERTÉ. pp. 644-681.

Márquez F,1998. Manejo seguro de residuos peligrosos. Departamento de Ingeniería Química .Facultad de ingeniería. Universidad de Concepción. pp 1-26, pp 70,72,91, pp 108-122.< http://www.heshn.com/archivos/gestion_residuos_peligrosos_chile.pdf>

Meyer, 2009. Reactivos Química. Ficha de seguridad: Nitrobenceno. <http://reactivosmeyer.com.mx/pdf/reactivos/hds_1825.pdf>

Ministerio de Agricultura (MINAGRI), 1981. Decreto de Ley 3.557. Establece Disposiciones sobre Protección Agrícola. Chile. Diario oficial del día 9 de febrero 1891 Última modificación Ley 20.308, 2008. Disponible en: <<http://www.leychile.cl/consultas/decretoley3557/>>

Ministerio de Agricultura (MINAGRI), 2012. Resolución Exenta N° 8.231. Prohíbe la fabricación, importación, exportación, distribución, venta, tenencia y uso de plaguicidas con Clordecona, Alfa-HCH, Beta-HCH, Pentaclorobenceno, Endosulfán , Alacloro y Aldicarb. Chile. Diario oficial del día 4 de enero 2012. Disponible en: <<http://www.leychile.cl/resolucion8231/>>.

Ministerio de Salud (MINSAL), 1990. Decreto con Fuerza de Ley N°1 del año 1989. Determina Materias que Requieren Autorización Sanitaria Expresa, Chile. Disponible en: <<http://www.leychile.cl/DFL1delministeriodesalud/>>.

Ministerio de Salud (MINSAL), 1997. Reglamento Sanitario de los Alimentos, Edición 2002, Santiago Chile. pp 282.< <http://www.ispch.cl/documento/18459>>.

Ministerio de Salud (MINSAL), 2004. División Rectoría y Regulación sanitaria. Departamento Salud Ambiental. Decreto Supremo 148: “Reglamento sanitario sobre manejo de residuos peligrosos”, Chile.<http://www.sinia.cl/1292/articles-38293_pdf_respel.pdf>.

Ministerio de Salud (MINSAL), 2005. Decreto Supremo 189: “Reglamento sobre Condiciones Sanitarias y de Seguridad Básicas en los Rellenos Sanitarios”, Chile.< http://www.sinia.cl/1292/articles-47031_recurso_1.pdf>

Ministerio de Salud (MINSAL), 2008. “Guía para la Aplicación del Reglamento Sanitario sobre Manejo de Residuos Peligrosos, destinada a pequeños generadores”, Santiago. Chile.

Ministerio del Medio Ambiente (MMA), 2011^a. División Política y Regulación Ambiental, Ley general de Residuos (Presentación). < http://www.respel.cl/ResiduosPeligrosos/documentos_respel/Presentaci%C3%B3n-wwww.respel.cl_Ximena-Gonz%C3%A1lez-Ley-General-Residuos-Ministerio-Medio-Ambiente_division_politicayregulacionambiental.pdf>

Ministerio del Medio Ambiente (MMA), 2011^b. Evaluación de Medio Término. Santiago. Chile MMA. < http://www.sinia.cl/1292/articles-50651_ChileEDA2005_EMT2011.pdf>

Ministerio del Medio Ambiente (MMA), 2011^c. Informe del Estado del Medio Ambiente 2011 Capítulo 3: Residuos. <<http://www.mma.gob.cl/1304/w3-article-52016.html>>.

Mosquera D, 2012. Estandarización de un método para la cuantificación de pesticidas organoclorados y organofosforados en suelos por cromatografía de gases con detectores FID y ECD. Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnologías Escuela de Química.

National Pesticide Information Center, 2015. Plaguicidas y Medio ambiente. <<http://npic.orst.edu/envir/index.html>>. Última actualización 9 junio 2015.

Nunez Carlos, 2008. Extracciones con equipo Soxhlet. <<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>>.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), y Organización Mundial de la Salud (OMS), 2004. Manual Sobre la Elaboración y Empleo de las Especificaciones de la FAO y de la OMS para Plaguicidas, Roma. Italia. FAO/OMS. pp 242.

Parraguez Daniela, 2013. Evaluación del Cumplimiento de la Medida de Gestión Implementada: "Prohibición de los Pesticidas Organoclorados (POCs)" en el suelo agrícola del Valle de Aconcagua. Provincia de San Felipe. V Región, Chile. Universidad de Chile.

Peñalver Alejandra, 2002. Aplicación de la Microextracción en Fase Sólida al análisis medioambiental. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona. < <http://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8988/tesis.pdf?sequence=1>>

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), 2010. Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. Ginebra, Suiza. UNEP 64 pp. < http://www.wipo.int/edocs/trtdocs/es/unep-pop/trt_unep_pop_2.pdf>

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (UNEP), y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) 2011. Convenio de Rotterdam sobre el Procedimiento de Consentimiento Fundamentado Previo Aplicable a ciertos Químicos y Pesticidas Peligrosos objeto de Comercio Internacional. Ginebra, Suiza. UNEP/FAO. pp 46.

Richter Pablo, 2012. Técnicas analíticas de separación. Curso Química Analítica II. Universidad de Chile. <https://www.u-cursos.cl/usuario/2775c7595e300ed228a801eb8341e457/mi_blog/r/TECNICAS_ANALITICAS_DE_SEPARACION-2.pdf>

Rihm A, Arellano J., Sancha A.M, 1998. Uso de test de lixiviación para caracterización de residuos del área minera y reflexiones sobre gestión de residuos peligrosos en américa latina. Universidad de Chile. División de Recursos Hídricos y Medio Ambiente y Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA). <<http://www.socioscamiper.com/images/biblioteca/residuos-de-mineria.pdf>>

ReineL M, 2009. Determinación de la característica de toxicidad por lixiviación (TCLP) del ingrediente activo malation en un plaguicida organofosforado mediante el procedimiento de TCLP. Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería ambiental y Sanitaria Bogotá. pp 21-37, pp 54-66,pp 78-82.<<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/14997/T41.09%20R275d.pdf?sequence=1>>

Rodríguez C, 2013. Estudio de la técnica de Extracción Asistida por Microondas (MAE) para su aplicación en la determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH's) en suelos. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Escuela de Ciencias Químicas. <<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5724/T-PUCE-5880.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>

Sacristán M., Díaz E., Alarcón B., Córdoba C., 2011. Curso de Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC): Prácticas de laboratorio y cuestiones teórico-prácticas. Parte III. Práctica de laboratorio: optimización en la separación de compuestos semejantes mediante modificación de la fase móvil. Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid.<<http://pendientedemigracion.ucm.es/info/cvicente/reduca/7.pdf>>

Señoráns Javier, 2011. La preparación de la muestra. Sección Departamental de Ciencias de la Alimentación. Asignatura de Análisis Instrumental y Sensorial de Alimentos. <http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alimento/TemaJS-AISA.pdf>

Skoog, Douglas A, 2001. Principios de Análisis Instrumental. Quinta edición. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U. España.

Velasquez Ángela, 2008. La tecnología de fluidos supercríticos, un proceso limpio para el sector industrial. <<http://www.lasallista.edu.co/fxcul/media/pdf/RevistaLimpia/vol3n2/88-97.pdf>>

Wade L.C, 2004. Química Orgánica, Quinta Edición. Whitman College. Pearson Edicacion S.A. Madrid. España.

West Coast Environmental Law, 2008. Los pesticidas y su Salud.



ZOAPATLE, 2013. Reutilización de sílica para cromatografía. XXI Concurso Universitario Feria de las Ciencias, la Tecnología y la Innovación. UNAM. Mexico. <http://www.feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria21/feria348_01_reutilizacion_de_silica_para_cromatografia.pdf>

VII.- ANEXOS.

7.1. Anexo 1: Concentraciones Máximas Permisibles (CMP), DS: 148.

Tabla 19: Concentraciones Máximas Permisibles.

Sustancia	CMP (mg/L)
Arsénico	5
Cromo	5
Mercurio	0,2
Plomo	5
Selenio	1
Bario	100
Benceno	0,5
Cadmio	1
Tetracloruro de carbono	0,5
Clordano	0,03
Clorobenceno	100
Cloroformo	6
o-Cresol (*)	200
m-Cresol (*)	200
p-Cresol (*)	200
Cresol (*)	200
2,4 D	10
1,4 Diclorobenceno	7,5
1,2 Dicloroetano	0,5
1,1 Dicloroetileno	0,7
2,4 Dinitrotolueno	0,13
Endrin	0,02
Heptaclor (y su epoxido)	0
Hexaclorobenceno	0,13
Hexacloro-1,3- butadieno	0,5
Hexacloroetano	3
Lindano	0,4
Metoxicloro	10
Metiletilcetona	200
Nitrobenceno	2
Pentaclorofenol	100
Piridina	5
Plata	5
Tetracloroetileno	0,7
Toxafeno	0,5
Tricloroetileno	0,5
2,4,5- Triclorofenol	400
2,4,6- Triclorofenol	2
2,4,6,-TP (silvex)	1
Cloruro de vinilo	0,2

(*) La suma de las concentraciones de los isómeros (o-Cresol, m-Cresol y p-Cresol) debe ser inferior a la CMP establecida para el Cresol.

7.2. Anexo 2: Características de los pesticidas estudiados e información toxicológica.

Tabla 20: Características generales 1,4 Diclorobenceno.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales de incoloro a blanco, de olor característico La sustancia se puede absorber por inhalación y por ingestión.	La sustancia irrita los ojos y el tracto respiratorio. Sensación de quemazón. Tos. Somnolencia. Dolor de cabeza. Náuseas. Jadeo. Vómitos.	La sustancia puede afectar hígado, riñón y sangre. Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos.
Peligros químicos	Información toxicológica.	
Por combustión, formación de humos tóxicos y corrosivos, incluyendo cloruro de hidrógeno. Reacciona con oxidantes fuertes. Por evaporación de esta sustancia a 20°C se puede alcanzar bastante lentamente una concentración nociva en el aire.	DL50 (oral, ratas): 500 mg/kg DL50 (piel, conejos): >2 g/kg Límite de exposición permisible (PEL): 75 ppm (TWA). (OSHA) Threshold Limit Value (TLV): 10 ppm (TWA)	
Riesgos ambientales.		
Bioacumulación de esta sustancia en peces. Tóxico para organismos acuáticos.		

Fuente: INSHT 2004.

Tabla 21: Características generales 2-metilfenol.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales de incoloro a blanco, de olor característico. Oscurece por exposición al aire y a la luz. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión.	Sustancia corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Corrosivo por ingestión. Puede afectar el sistema nervioso central y afectar la sangre.	El contacto prolongado con la piel puede producir dermatitis. La sustancia puede afectar el sistema nervioso central dando lugar a alteraciones funcionales. Y afectar la sangre, dando lugar a anemia.
Peligros químicos	Información toxicológica.	
Reacciona con oxidantes fuertes. Por evaporación de esta sustancia a 20°C se puede alcanzar bastante lentamente una concentración nociva en el aire.	DL50 (oral, ratas): 121 mg/kg DL50 (piel, conejos): 620 mg/kg TLV: 5 ppm como TWA (piel) (ACGIH 2008).	
Riesgos ambientales.		
La sustancia es tóxica para los organismos acuáticos. Se aconseja firmemente impedir que el producto químico se incorpore al ambiente.		

Fuente: INSHT, 2000.

Tabla 22: Características generales Nitrobenceno.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Líquido aceitoso, amarillo pálido, de olor característico. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión.	La sustancia puede afectar a la sangre, dando lugar a la formación de metahemoglobina. La exposición podría causar disminución del estado de alerta. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata.	La sustancia puede afectar a la sangre, al bazo y al hígado. Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos. La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana.
Peligros químicos		
Por combustión, formación de humos tóxicos y corrosivos incluyendo óxidos de nitrógeno. Reacciona con oxidantes fuertes y agentes reductores, originando peligro de incendio y explosión	Información toxicológica.	
	DL50 (oral, ratas): 780 mg/kg DL50 (piel, ratas): 2100 mg/kg TLV: 1 ppm como TWA; (piel); A3 (cancerígeno animal) (ACGIH 2005).	
Riesgos ambientales.		
La sustancia es nociva para los organismos acuáticos. Evítese de forma efectiva que el producto químico se incorpore al ambiente.		

Fuente: INSHT, 2006

Tabla 23: Características generales Hexaclorobutadieno.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Sólido cristalino blanco a amarillo claro con olor de naftalina. La sustancia se puede absorber por ingestión.	El contacto puede irritar la piel y los ojos. El vapor puede irritar la nariz y garganta.	La sustancia puede afectar al hígado, los riñones y el sistema nervioso central, dando lugar a ataxia y temblores. Puede ser cancerígeno humano.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla (por encima de 300°C), produciendo humos tóxicos y corrosivos. Reacciona violentamente con metales alcalinos y oxidantes fuertes.	Información toxicológica.	
	DL50 (oral, ratas): 780 mg/kg DL50 (piel, ratas): 2100 mg/kg TLV: 1 ppm como TWA; (piel).	
Riesgos ambientales.		
Puede alcanzarse rápidamente una concentración nociva de partículas suspendidas en el aire cuando se dispersa. La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. La sustancia puede causar efectos prolongados en el medio acuático		

Fuente: INSHT 2010.

Tabla 24: Características generales 2,4,6 Triclorofenol.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales entre incoloros y ligeramente amarillos, de olor característico. La sustancia se puede absorber por inhalación del aerosol, a través de la piel y por ingestión.	La sustancia irrita los ojos, la piel y el tracto respiratorio.	El contacto prolongado con la piel puede producir dermatitis. La sustancia puede afectar al hígado, dando lugar a alteraciones funcionales.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente, produciendo humos tóxicos y corrosivos de cloruro de hidrógeno y cloro. Reacciona con oxidantes fuertes	Información toxicológica.	
Riesgos ambientales.	TLV no establecido.	
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. A lo largo de la cadena alimentaria de interés para el ser humano, se produce una bioacumulación, especialmente en los organismos acuáticos.		

Fuente: INSHT 2010.

Tabla 25: Características generales 2,4,5 Triclorofenol.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales incoloro o copos grises, con olor característico. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión	La sustancia irrita los ojos, la piel y el tracto respiratorio.	El contacto prolongado o repetido con la piel puede producir dermatitis. La sustancia puede afectar al hígado y al riñón (ver Notas)
Peligros químicos		
Puede explotar por calentamiento intenso hasta descomposición. La sustancia se descompone al calentarla intensamente y en contacto con oxidantes fuertes, produciendo humos tóxicos e irritantes. La sustancia es un ácido débil. Reacciona en medio alcalino a elevadas temperaturas produciendo humos altamente tóxicos de dioxinas cloradas	Información toxicológica.	
Riesgos ambientales.	TLV no establecido.	
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. La sustancia puede causar efectos prolongados en el medio acuático. Se aconseja firmemente impedir que el producto químico se incorpore al ambiente		

Fuente: INSHT 2010.

Tabla 26: Características generales 2,4 Dinitrotolueno

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales amarillos o líquido aceitoso, viscoso en estado fundido, con olor característico. La sustancia se puede absorber por inhalación y a través de la piel y por ingestión.	La sustancia puede tener efectos sobre el sistema nervioso central, el sistema cardiovascular, y sangre, dando lugar a la formación de metahemoglobina. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata..	Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos. Puede dar lugar a alteraciones de la fertilidad.
Peligros químicos		
Puede estallar por calentamiento intenso. La sustancia se descompone al calentar intensamente, produciendo monóxido de carbono y óxidos de nitrógeno. Reacciona con bases fuertes, oxidantes y agentes reductores. La evaporación a 20°C es despreciable; sin embargo se puede alcanzar rápidamente una concentración nociva de partículas en el aire.		
	Información toxicológica.	
	TLV no establecido Límite de exposición permisible (PEL): 1,5 mg/m ³ (OSHA).	
Riesgos ambientales.		
Esta sustancia puede ser peligrosa para el ambiente; debería prestarse atención especial al agua		

Fuente: INSHT 1994.

Tabla 27: Características generales Hexaclorobenceno.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Sólido entre incoloro y blanco en diversas formas. La sustancia se puede absorber por inhalación del aerosol, a través de la piel y por ingestión.	No señalado	La sustancia puede afectar al hígado y al sistema nervioso, dando lugar a alteraciones funcionales de los órganos y lesiones cutáneas. Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos. La experimentación animal muestra posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente, produciendo humos tóxicos.		
Riesgos ambientales.	Información toxicológica.	
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. Se produce bioacumulación, especialmente en los vegetales y en los peces. Puede causar efectos prolongados en el medio acuático. Se aconseja firmemente impedir que el producto químico se incorpore al ambiente	TLV (como TWA): 0.002 mg/m ³ A3 (piel) (ACGIH 2004).Cancerígeno: categoría 4, Riesgo para el embarazo: grupo D .	

Fuente: INSHT 2005.

Tabla 28: Características generales Pentaclorofenol.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales blancos o sólido en diversas formas, de olor característico. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión.	La sustancia irrita los ojos, la piel y el tracto respiratorio. Puede afectar al sistema cardiovascular, dando lugar a alteraciones cardíacas y fallo cardíaco.	La sustancia puede afectar al sistema nervioso central, riñón, hígado, pulmón, sistema inmune y tiroide. Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos. La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente por encima de 200°C, produciendo humos tóxicos y corrosivos, incluyendo dioxinas. Reacciona violentamente con oxidantes fuertes.		
	Información toxicológica.	
	TLV: 0.5 mg/m ³ como TWA; (piel) Cancerígeno: categoría 2 (DFG 2003)	
Riesgos ambientales.		
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. La sustancia puede causar efectos prolongados en el medio acuático. Evítese su liberación al medio ambiente, salvo cuando su uso lo requiera		

Fuente: INSHT 2003.

Tabla 29: Características generales Lindano.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Polvo cristalino, blanco. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión.	La sustancia puede afectar al sistema nervioso central, dando lugar a convulsiones. La exposición puede producir la muerte. Se recomienda vigilancia médica.	La sustancia puede afectar al sistema nervioso, médula ósea e hígado. Se han detectado tumores en experimentación animal, pero este resultado puede no ser extrapolable al ser humano. La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana..
Peligros químicos		
En contacto con superficies calientes o con llamas, esta sustancia se descompone formando humos tóxicos y corrosivos, incluyendo cloro, cloruro de hidrógeno y fosgeno		
Riesgos ambientales		
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. Puede producirse una bioacumulación de esta sustancia a lo largo de la cadena alimentaria, (peces y alimentos marinos). Puede causar efectos prolongados en el medio acuático. Esta sustancia no se libera normalmente al medio ambiente.		
	Información toxicológica.	
	TLV: 0,5 mg/m ³ como TWA; (piel); Cancerígeno: categoría 4; Riesgo para el embarazo	

Fuente: INSHT 2007.

Tabla 30: Características generales Heptacloro.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales blancos o sólido ceroso oscuro, de olor característico. La sustancia se puede absorber por inhalación del polvo a partir de concentrados, a través de la piel y por ingestión.	La sustancia puede causar efectos en el sistema nervioso central.	La sustancia puede afectar al hígado. Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente por encima de 160°C, produciendo humos tóxicos, incluyendo cloruro de hidrógeno. Reacciona con oxidantes fuertes. Ataca el metal	Información toxicológica.	
	TLV: 0.05 mg/m ³ como TWA; (piel). Cancerígeno clase: 4; Riesgo para el embarazo.	
Riesgos ambientales.		
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. Puede producirse una bioacumulación a lo largo de la cadena alimentaria, por ejemplo en peces y en leche. Puede causar efectos prolongados en el medio acuático. Esta sustancia se libera normalmente al medio ambiente; no obstante, debe evitarse cuidadosamente cualquier entrada adicional, p. ej. por una eliminación inadecuada.		

Fuente: INSHT 2005.

Tabla 31: Características generales Clordano.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Líquido viscoso, entre amarillo claro y ámbar. La sustancia se puede absorber por inhalación del polvo, a través de la piel (especialmente en formulaciones líquidas) y por ingestión.	La inhalación del polvo puede originar irritación. La exposición a altas concentraciones puede producir desorientación, temblores y convulsiones. Se recomienda vigilancia médica.	Esta sustancia es posiblemente carcinógena para los seres humanos.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente y al arder y en contacto con bases, produciendo humos tóxicos: vapores de cloro, cloruro de hidrógeno y fosgeno. Ataca al plástico, caucho y recubrimientos.	Información toxicológica.	
	TLV (como TWA): 0.5 mg/m ³ (piel)	
Riesgos ambientales.		
El Clordano no es biodegradable y persiste en el suelo. Esta sustancia puede ser peligrosa para el ambiente; debería prestarse atención especial a los peces en áreas tropicales. Se aconseja firmemente impedir que el producto químico se incorpore al ambiente.		

Fuente: INSHT 1994.

Tabla 32: Características generales Endrin.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales blancos. La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión	La sustancia puede afectar al sistema nervioso central, dando lugar a convulsiones y muerte. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata. Se recomienda vigilancia médica	No se encuentra
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente por encima de 245°C, produciendo cloruro de hidrógeno, fosgeno.	Información toxicológica. TLV: 0.1 mg/m3 (como TWA), No clasificable como cancerígeno humano. Riesgo para el embarazo.	
Riesgos ambientales.		
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. Puede ser peligrosa para el ambiente; debería prestarse atención especial a las abejas, a las aves y a los mamíferos. Evítese efectivamente que el producto químico se incorpore al ambiente. Puede producirse una bioacumulación de esta sustancia, en peces y en alimentos marinos. Evítese su liberación al medio ambiente, salvo cuando su uso lo requiera.		

Fuente: INSHT 2000.

Tabla 33: Características generales Metoxicloro.

Aspecto físico y vías de exposición	Efectos de corta duración	Efectos de exposición Prolongada.
Cristales de incoloros a amarillo brillante, de olor característico La sustancia se puede absorber por inhalación del aerosol, a través de la piel y por ingestión	No se señala.	La sustancia puede afectar al hígado, riñón, sistema nervioso central, cuando se ingiere en grandes cantidades. La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana.
Peligros químicos		
La sustancia se descompone al calentarla intensamente y al arder, produciendo gases tóxicos y corrosivos incluyendo cloruro de hidrógeno. Reacciona con oxidantes. Ataca algunos plásticos y el caucho.	Información toxicológica. TLV: 10 mg/m3 (como TWA) Riesgo para el embarazo	
Riesgos ambientales.		
La sustancia es muy tóxica para los organismos acuáticos. En la cadena alimentaria referida a los seres humanos tiene lugar bioacumulación, concretamente en peces. Evítese su liberación al medio ambiente, salvo cuando su uso lo requiera		

Fuente: INSHT 2004.

7.3. Anexo 3: Preparación muestras de TCLP.

El test de TCLP requiere evaluar de forma preliminar la muestra a emplear, para determinar el tipo de solución lixiviante que se deberá utilizar para la extracción. La siguiente figura muestra un diagrama que establece el procedimiento de preparación del extracto de TCLP.

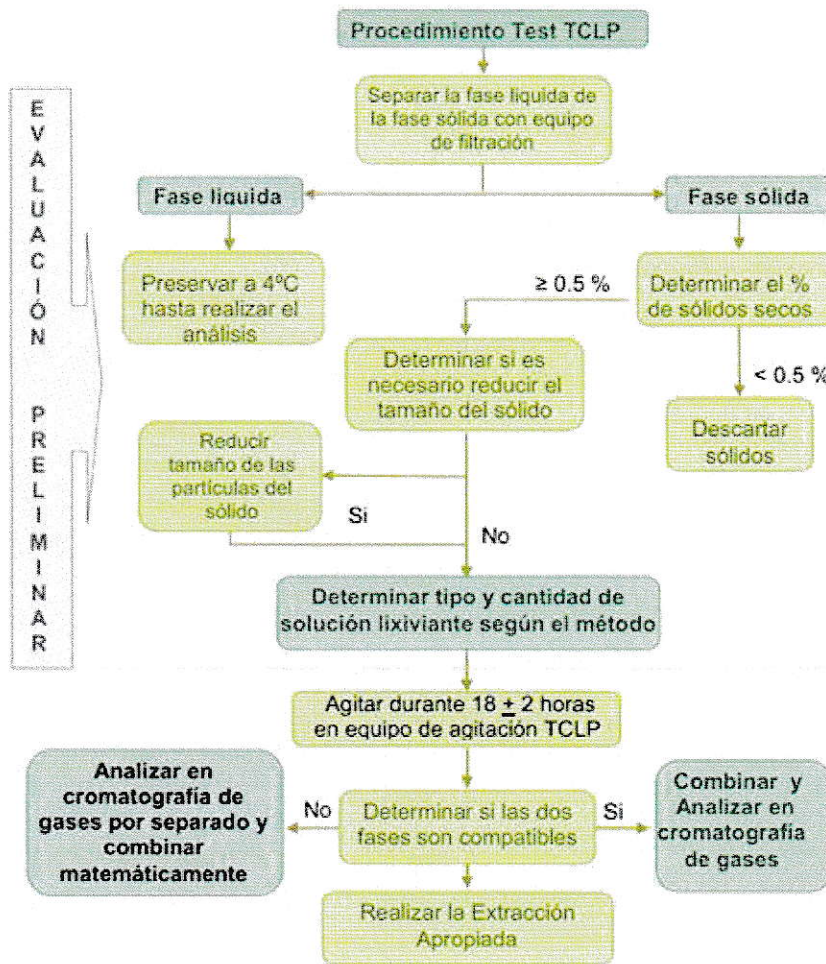


Figura 27: Procedimiento de Test de TCLP. (Reinel M, 2009)

Es importante destacar que para determinar la solución lixiviante a utilizar se debe pesar aproximadamente 5 g del residuo sólido un vaso de precipitado, agregar 96,5 mL de agua desionizada y someterlo a agitación durante 5 minutos usando un agitador magnético. Posteriormente se mide el pH de la solución, lo cual se especifica en la Figura N° 28.

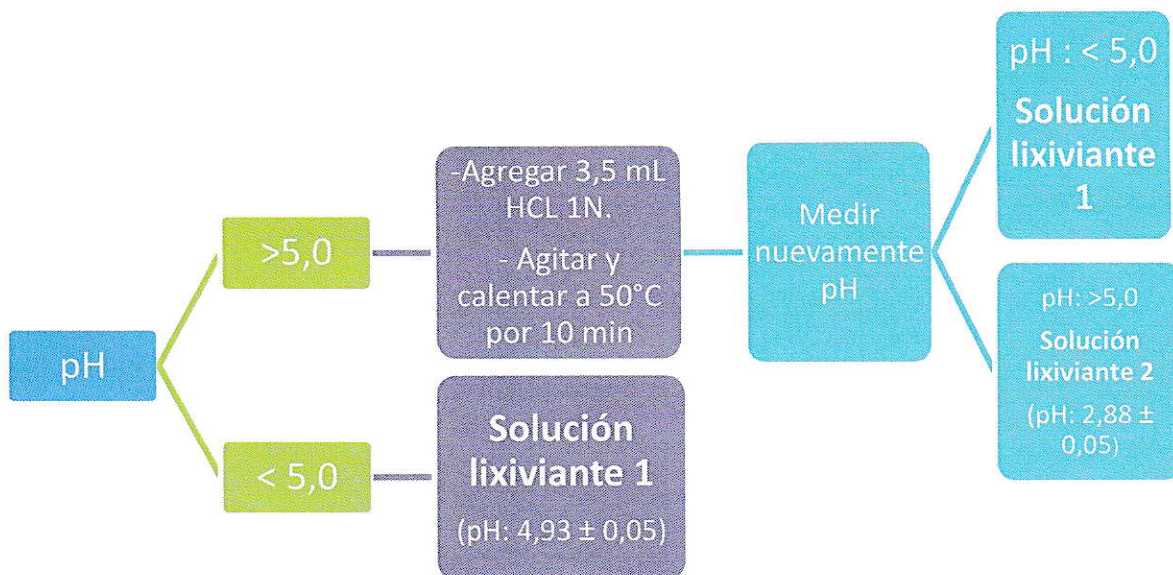


Figura 28: Determinación solución lixiviante.

Luego de determinar la solución lixiviante a utilizar, se masa aproximadamente 100 g del residuo sólido, se vierte a una botella de extracción y se agrega la solución lixiviante, de modo que esta equivalga a 20 veces el peso de la muestra. Luego se cierra con firmeza la botella de extracción, para luego someterla en un equipo de rotación a 30 ± 2 rpm durante 18 ± 2 horas. (Figura 29).

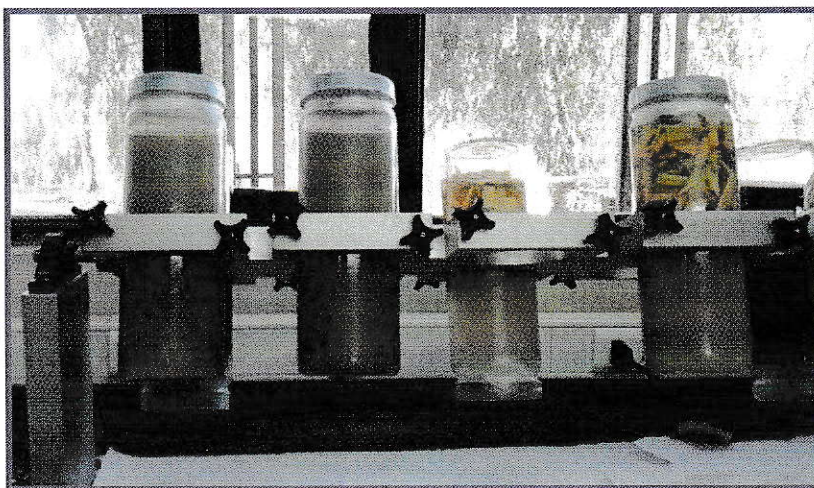


Figura 29: Equipo de rotación.

Finalmente mediante un aparato de filtración al vacío se separan la fase líquida y sólida, obteniéndose el extracto de TCLP. (Figura N° 30)

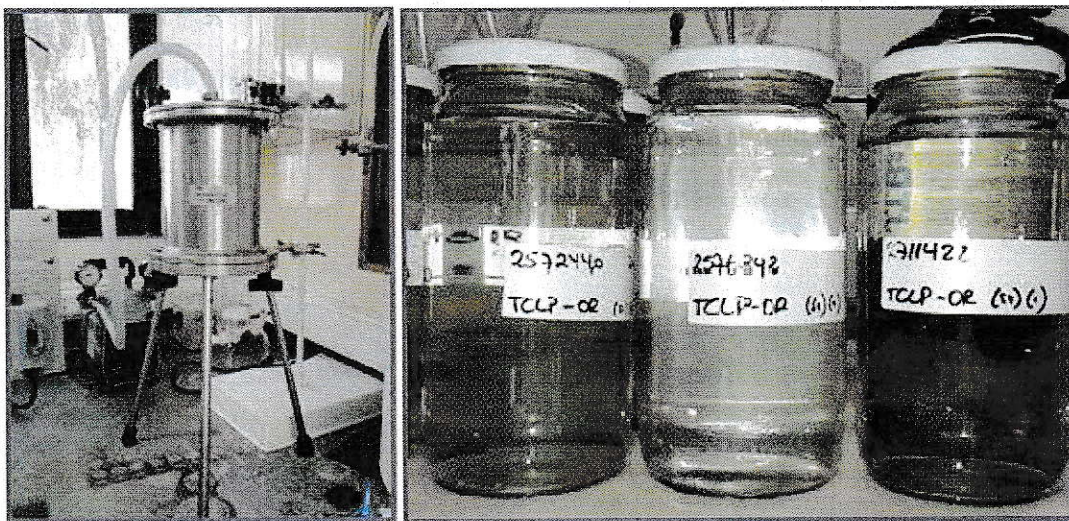


Figura 30: Equipo de filtración al vacío y extractos de TCLP.

7.4. Anexo 4: Curvas de calibración.

Tabla 34: Curvas de calibración.

Estándar	Concentración (mg/L)	
	Curva (a)	Curva (b)
STD-1	0,05	0,3
STD-2	0,10	0,5
STD-3	0,20	1,0
STD-4	0,30	3,0
STD-5	0,50	5,0
STD-6	1,00	7,0
STD-7	--	1,0

Tabla 35: R2 Curvas de calibración.

Compuestos	Curva (a)	Curva (b)
	R ²	R ²
1,4 Diclorobenceno	0,9998	0,9998
2 Metilfenol	0,9992	0,9997
3+4 Metilfenol	0,9994	0,9998
Hexacloroetano	0,9998	0,9998
Nitrobenceno	0,9992	0,9998
Hexaclorobutadieno	0,9998	0,9998
2,4,6 Triclorofenol	0,9962	0,9997
2,4,5 Triclorofenol	0,9996	0,9996
2- Fluorobifenilo-Surr	0,9999	0,9992
2,4 Dinitrotolueno	0,9984	0,9995
Hexaclorobenceno	0,9985	0,9993
Pentaclorofenol	0,9957	0,9974
Lindano	0,9995	0,9994
Heptaclor	0,9996	0,9996
Heptaclor epoxido	0,9996	0,9995
Clordano	0,9997	0,9991
Endrin	0,9987	0,9983
Metoxiclor	0,9954	0,9971
DCBF-Surr	0,9993	0,9988

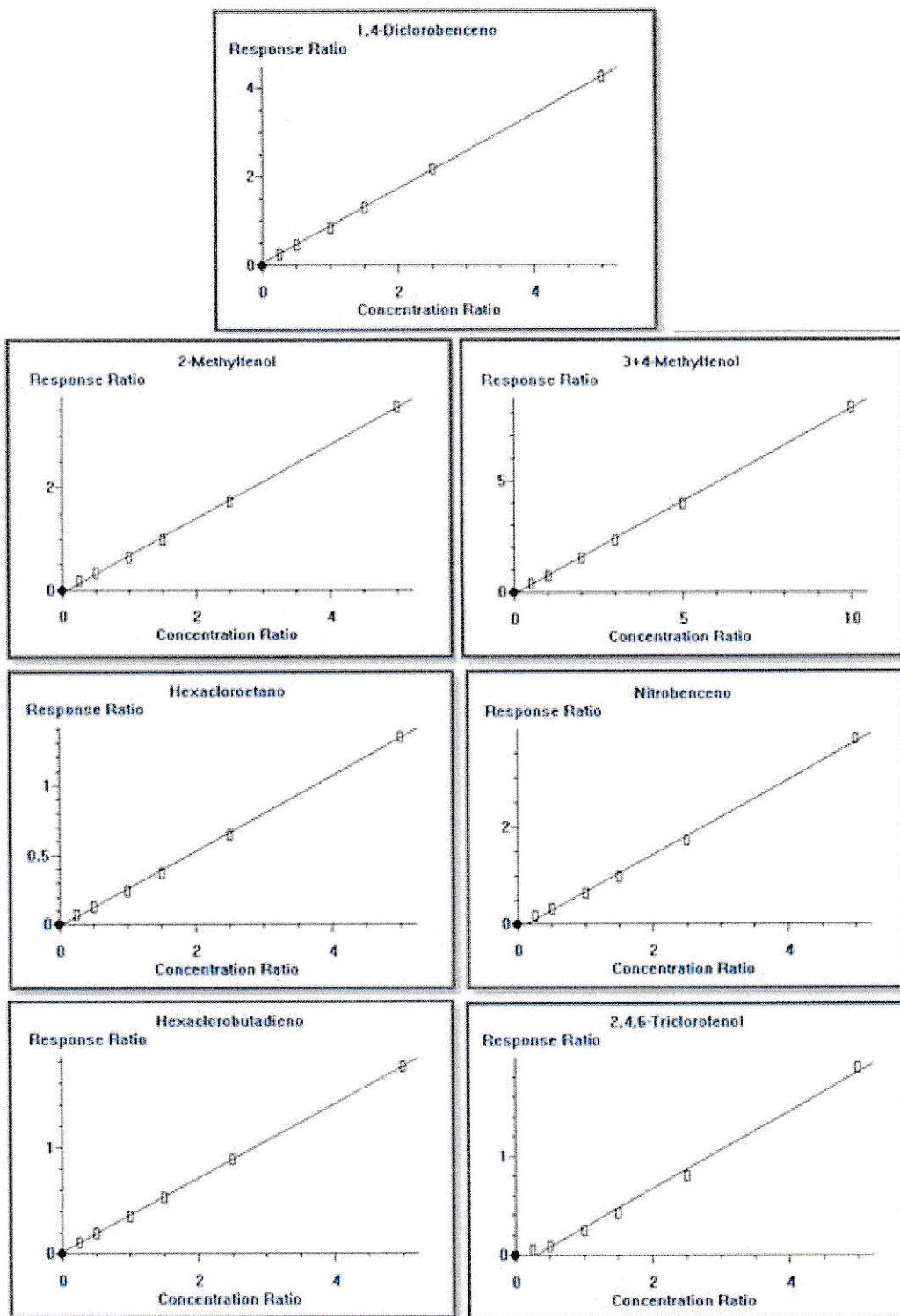


Figura 31: Curvas de calibración (a)(Primera parte).

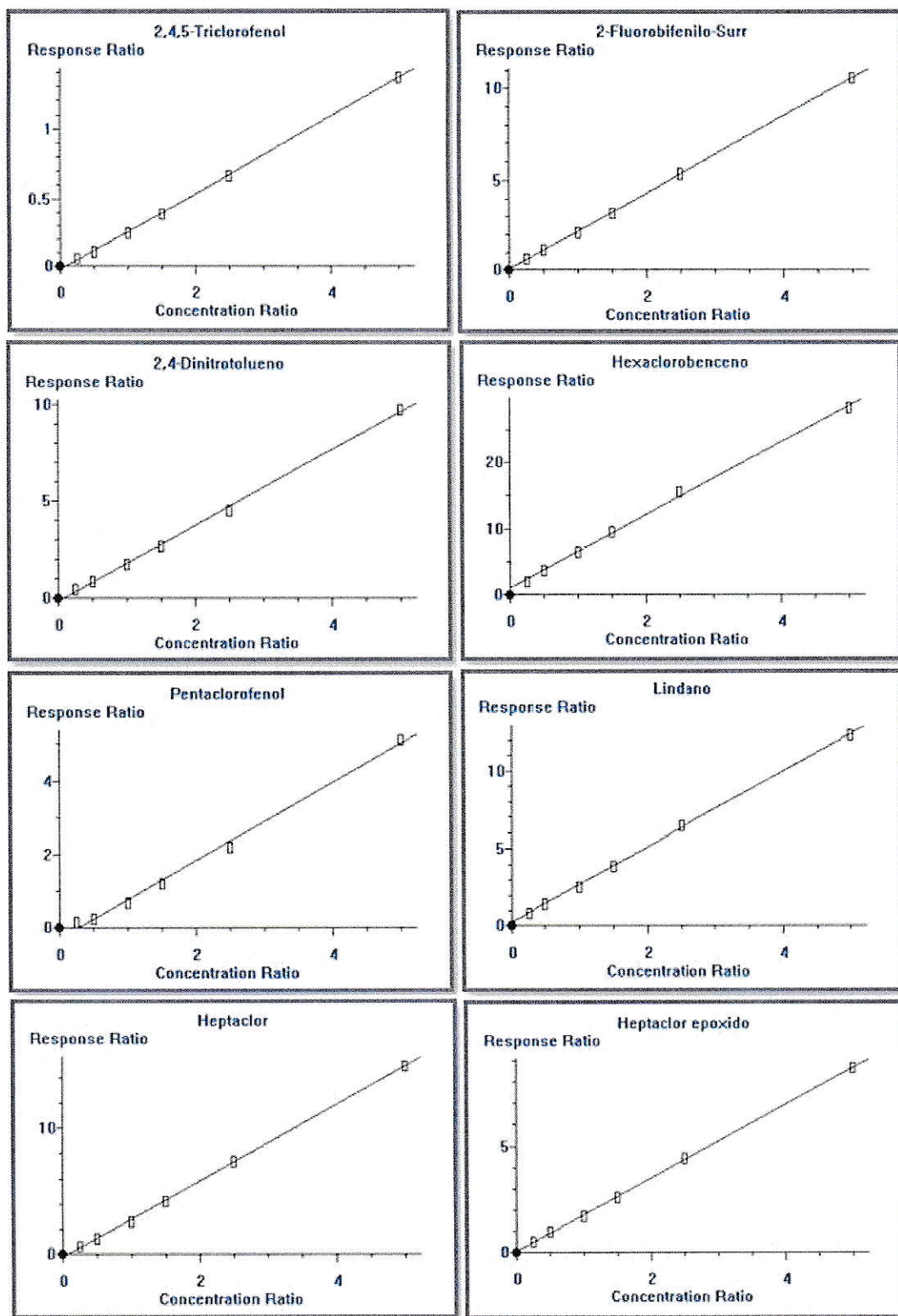


Figura 32: Curvas de calibración 1(Segunda parte).



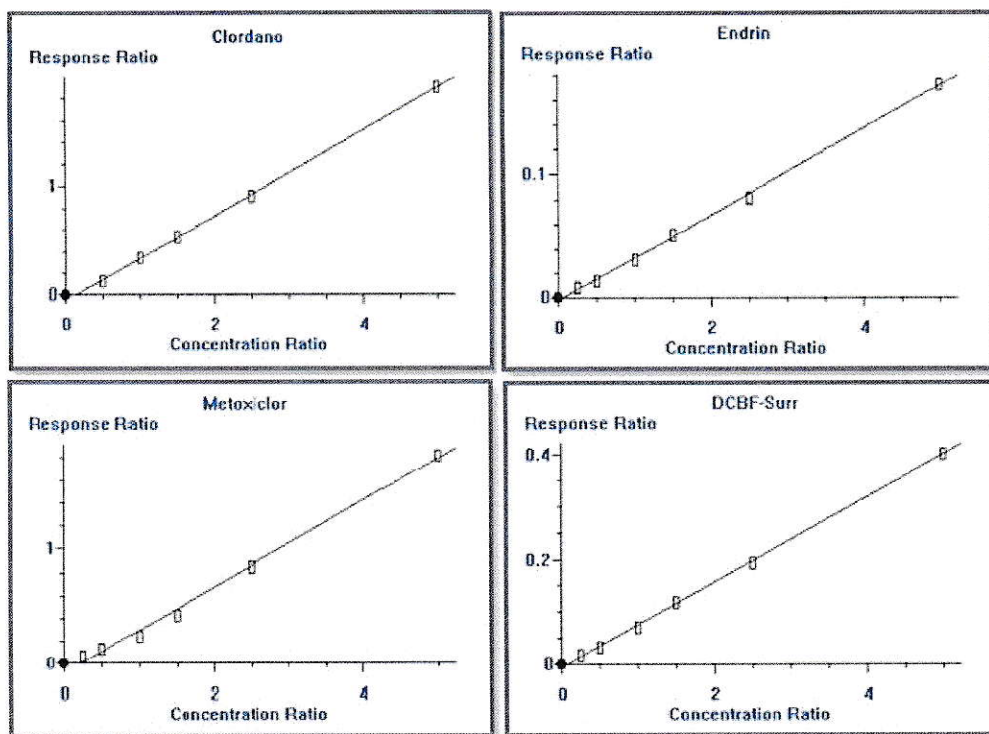


Figura 33: Curvas de calibración 1(Tercera parte).

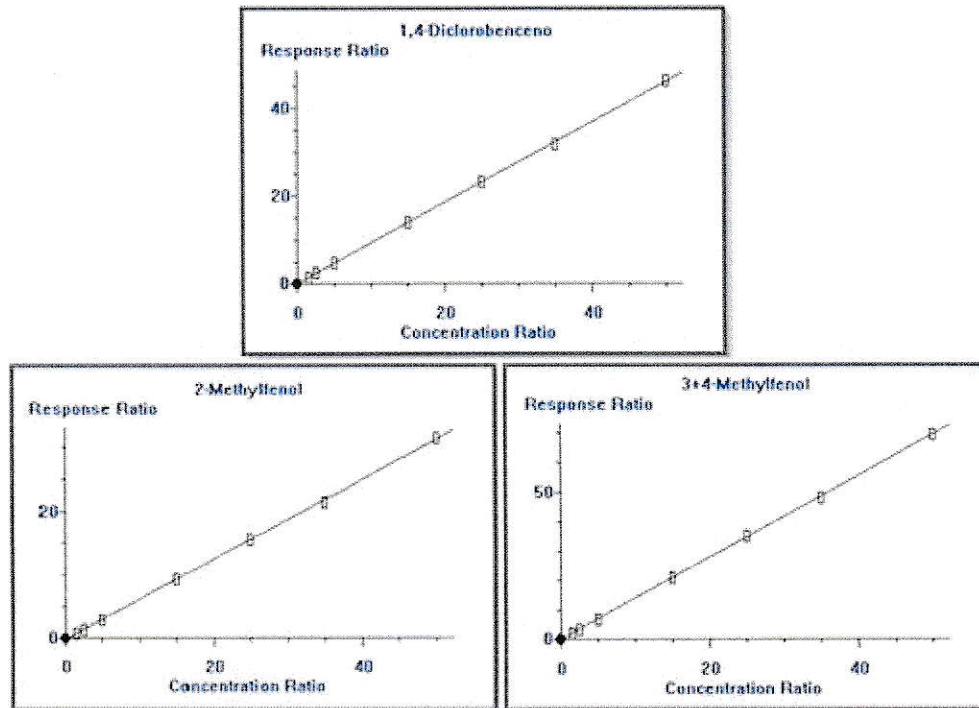


Figura 34: Curvas de calibración 2(Primera parte).

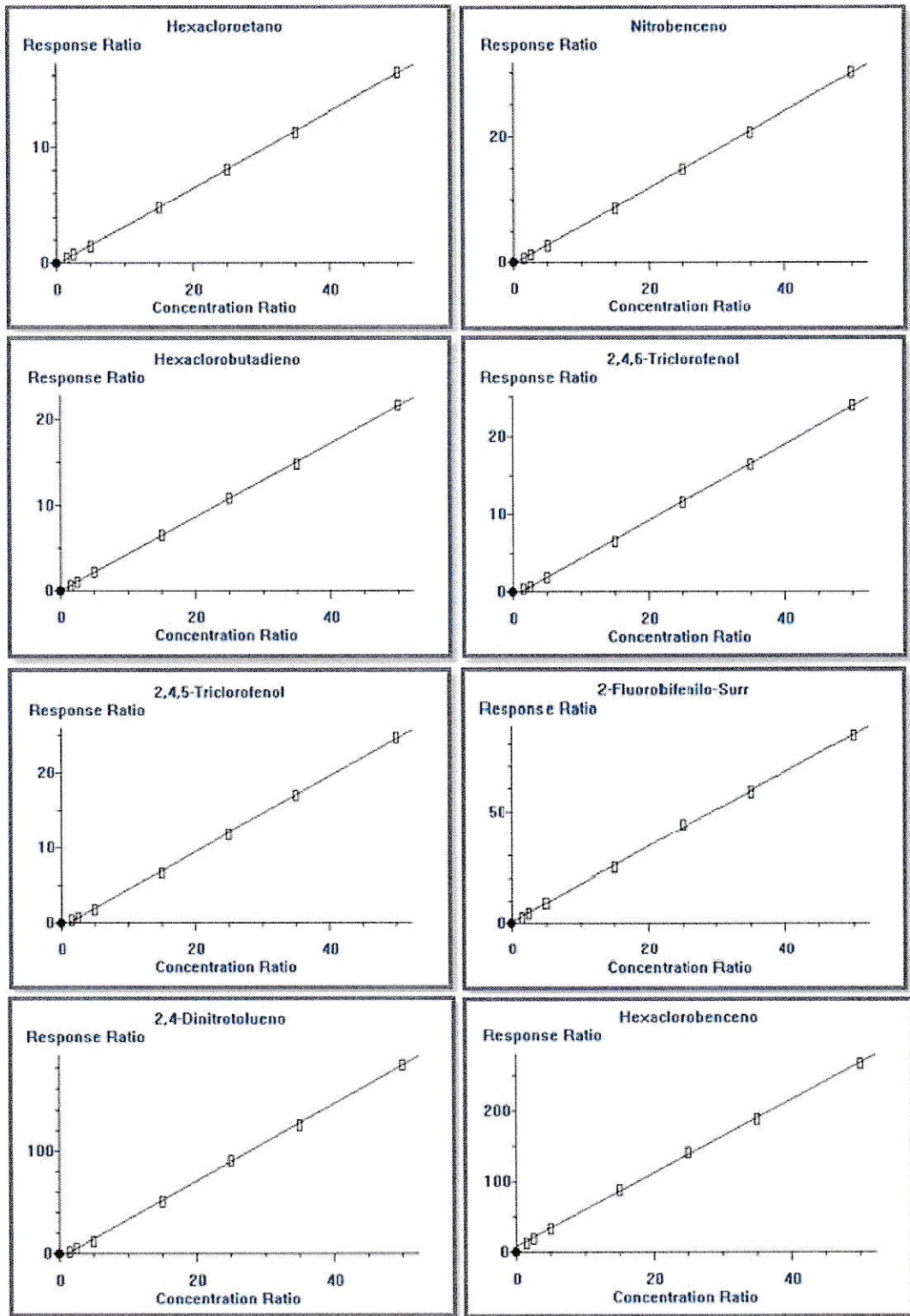


Figura 35: Curvas de calibración 2(Segunda parte).

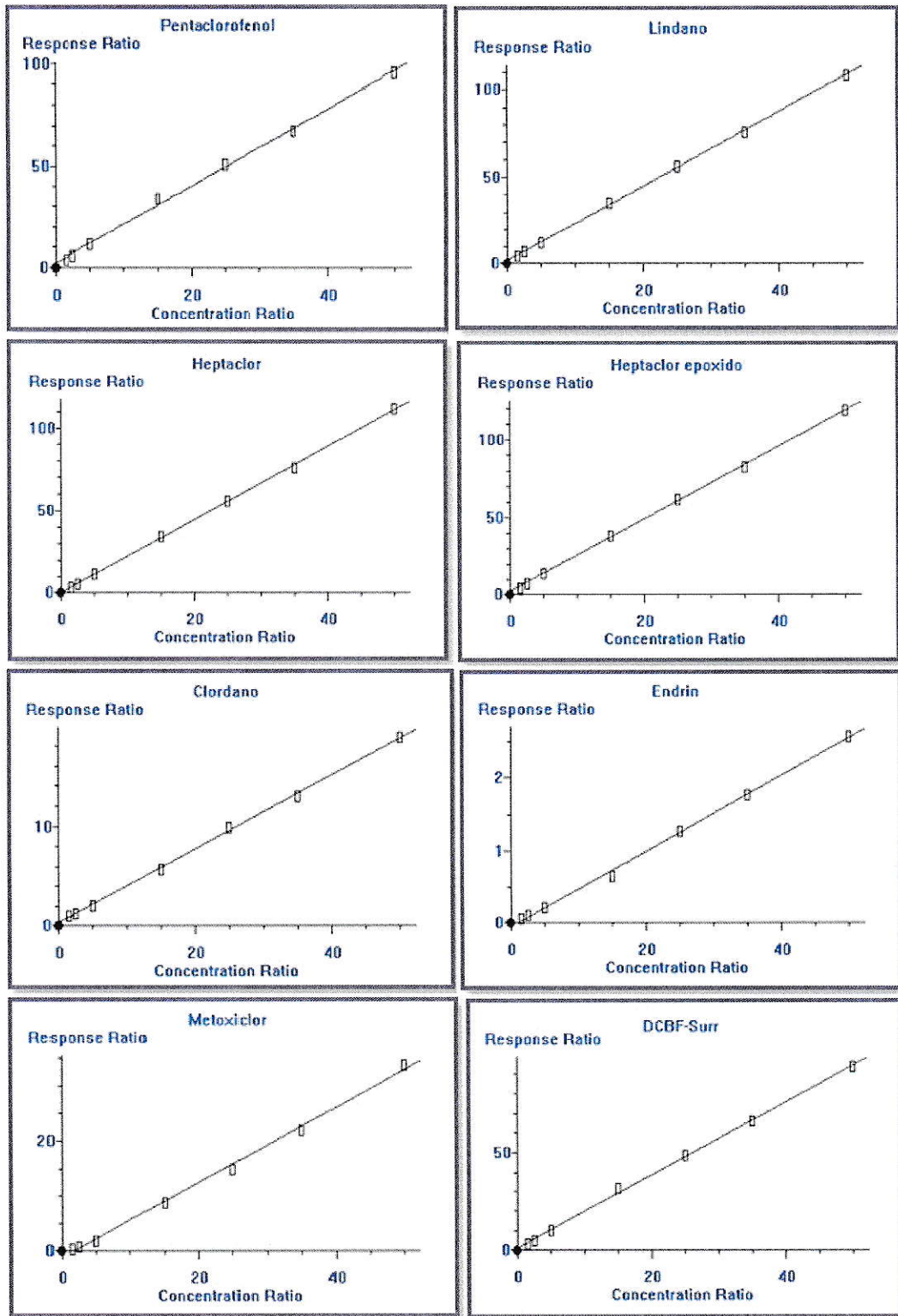


Figura 36: Curvas de calibración 2 (Tercera parte)

7.5. Anexo 5: Resultados obtenidos eluyentes.

Tabla 36: Cuadro comparativo volúmenes de elución: 30-70% diclorometano-hexano.

Compuestos	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL
	Promedio (mg/L)	Promedio (mg/L)	% de Recup	% de Recup
1,4 Diclorobenceno	0,33	0,37	66	73
2 Metilfenol	0,34	0,32	67	64
3+4 Metilfenol	0,61	0,63	61	63
Hexacloroetano	0,38	0,44	75	88
Nitrobenceno	0,45	0,49	90	97
Hexaclorobutadieno	0,36	0,39	72	77
2,4,6 Triclorofenol	0,48	0,46	96	93
2,4,5 Triclorofenol	0,44	0,43	88	87
2- Fluorobifenilo-Surr	0,41	0,44	82	87
2,4 Dinitrotolueno	0,48	0,50	97	100
Hexaclorobenceno	0,43	0,40	87	81
Pentaclorofenol	0,55	0,45	110	89
Lindano	0,45	0,42	90	85
Heptaclor	0,62	0,53	123	106
Heptaclor epoxido	0,53	0,48	106	97
Clordano	0,57	0,58	115	116
Endrin	0,56	0,43	112	87
Metoxiclor	0,55	0,44	109	88
DCBF-Surr	0,32	0,34	63	67

Tabla 37: Cuadro comparativo volúmenes de elución: 40-60% diclorometano-hexano.

Compuestos	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL
	Promedio (mg/L)	Promedio (mg/L)	% de Recup	% de Recup
1,4 Diclorobenceno	0,32	0,34	63	69
2 Metilfenol	0,36	0,34	71	69
3+4 Metilfenol	0,65	0,74	65	74
Hexacloroetano	0,36	0,42	72	85
Nitrobenceno	0,43	0,48	86	96
Hexaclorobutadieno	0,34	0,37	69	75
2,4,6 Triclorofenol	0,51	0,50	102	101
2,4,5 Triclorofenol	0,47	0,47	94	93
2- Fluorobifenilo-Surr	0,40	0,43	80	87
2,4 Dinitrotolueno	0,48	0,54	96	107
Hexaclorobenceno	0,39	0,41	78	82
Pentaclorofenol	0,57	0,45	114	91
Lindano	0,42	0,45	84	90
Heptaclor	0,61	0,56	122	111
Heptaclor epoxido	0,51	0,50	102	100
Clordano	0,55	0,60	110	119
Endrin	0,54	0,49	108	97
Metoxiclor	0,60	0,47	121	94
DCBF-Surr	0,32	0,34	67	69

Tabla 38: Cuadro comparativo volúmenes de elución: 30-70% diclorometano-acetona

Compuestos	50 mL	100 mL	50 mL	100 mL
	Promedio (mg/L)	Promedio (mg/L)	% de Recup	% de Recup
1,4 Diclorobenceno	0,32	0,33	65	67
2 Metilfenol	0,10	0,36	20	72
3+4 Metilfenol	0,40	0,80	40	80
Hexacloroetano	0,34	0,35	68	70
Nitrobenceno	0,52	0,47	103	95
Hexaclorobutadieno	0,33	0,36	67	73
2,4,6 Triclorofenol	0,44	0,44	88	89
2,4,5 Triclorofenol	0,41	0,58	81	117
2- Fluorobifenilo-Surr	0,43	0,44	86	88
2,4 Dinitrotolueno	0,54	0,57	108	114
Hexaclorobenceno	0,35	0,36	69	71
Pentaclorofenol	0,38	0,64	76	127
Lindano	0,39	0,40	77	79
Heptaclor	0,47	0,49	94	99
Heptaclor epoxido	0,43	0,49	87	97
Clordano	0,47	0,54	94	107
Endrin	0,40	0,38	79	75
Metoxiclor	0,42	0,47	84	94
DCBF-Surr	0,26	0,30	52	61

7.6. Anexo 6: Resultados muestras de TCLP fortificadas con 2µg/L (sin dilución)

Tabla 39: % de Recuperación de muestras sin dilución de TCLP sin clean up (2 µg/L).

Compuesto	2662987	2662970	2662989	2663048
1,4 Diclorobenceno	25	25	15	15
2 Metilfenol	65	65	50	50
3+4 Metilfenol	75	68	63	55
Hexacloroetano	30	20	15	10
Nitrobenceno	60	55	45	45
Hexaclorobutadieno	30	20	15	10
2,4,6 Triclorofenol	155	165	145	165
2,4,5 Triclorofenol	190	190	180	175
2- Fluorobifenilo-Surr	50	50	35	40
2,4 Dinitrotolueno	80	70	80	75
Hexaclorobenceno	45	45	35	30
Pentaclorofenol	80	90	95	75
Lindano	65	60	60	55
Heptaclor	75	65	70	55
Heptaclor epoxido	70	65	65	65
Clordano	70	60	65	65
Endrin	85	70	75	80
Metoxiclor	90	75	100	95
DCBF-Surr	65	60	65	70

Tabla 40: % de Recuperación de muestras sin dilución de TCLP con clean up (2 µg/L)

Compuesto	2662987	2662989	2663048	2662970
1,4 Diclorobenceno	35	40	25	5
2 Metilfenol	75	75	65	30
3+4 Metilfenol	85	83	68	38
Hexacloroetano	25	30	15	5
Nitrobenceno	70	70	60	25
Hexaclorobutadieno	25	25	15	5
2,4,6 Triclorofenol	210	180	135	100
2,4,5 Triclorofenol	225	215	140	115
2- Fluorobifenilo-Surr	50	55	45	15
2,4 Dinitrotolueno	85	85	70	35
Hexaclorobenceno	45	40	35	10
Pentaclorofenol	20	35	10	15
Lindano	65	70	55	25
Heptaclor	85	85	60	30
Heptaclor epoxido	70	70	65	30
Clordano	90	75	50	25
Endrin	75	75	105	20
Metoxiclor	95	90	80	35
DCBF-Surr	65	65	65	30