

**DESARROLLO DE LA TÉCNICA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES (GC-FID) Y EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES DE TIPO PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL**

**SANDRA XIMENA RINCÓN GRAJALES**

**VALERIA DUQUE DUQUE**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA**

**FACULTAD DE TECNOLOGÍA**

**ESCUELA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA**

**PEREIRA**

**2014**

**DESARROLLO DE LA TÉCNICA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES (GC-FID) Y EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES DE TIPO PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL**

**SANDRA XIMENA RINCÓN**

**VALERIA DUQUE DUQUE**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de tecnólogo químico**

**Director.**

**Juan Pablo Arrubla Vélez**

**Químico MSc**

**Profesor Asociado a Escuela de Tecnología Química**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA**

**FACULTAD DE TECNOLOGÍA**

**ESCUELA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA**

**PEREIRA**

**2014**

**DESARROLLO DE LA TÉCNICA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES (GC-FID) Y EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES DE TIPO PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL**

**SANDRA XIMENA RINCÓN**

**VALERIA DUQUE DUQUE**

**NOTA DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE GRADO**

Los suscritos director y jurado del presente trabajo de grado, una vez revisada la versión escrita y presenciado la sustentación oral, decidimos otorgar:

La nota de:

\_\_\_\_\_

Con la connotación:

\_\_\_\_\_

Para constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy:

Director:

**Juan Pablo Arrubla Vélez**

\_\_\_\_\_

Jurado:

Firma

\_\_\_\_\_

Jurado:

Firma

\_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer a DIOS primero que todo por permitirnos realizar este proyecto, y por darnos el amor y el empeño para culminar nuestra carrera profesional. A nuestras familias y amigos por su apoyo incondicional, ánimo y paciencia, a todas las personas que nos acompañaron en este proceso en especial a nuestro director Juan Pablo Arrubla, por la orientación, la motivación y la supervisión de este proyecto, pero sobre todo por su respaldo y el apoyo recibido durante todo este proceso.

También agradecemos a la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Tecnológica de Pereira por permitirnos realizar nuestro aporte para el desarrollo de la técnica empleada en esta tesis.

## CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN</b>	<b>11</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>3.1. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>13</b>
<b>3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>13</b>
<b>4. MARCO TEÓRICO</b>	<b>14</b>
<b>4.1. ANTECEDENTES GENERALES</b>	<b>14</b>
4.1.1. <i>Contaminantes Emergentes</i>	<b>14</b>
4.1.2. Productos de cuidado personal PPCPs.	<b>15</b>
<b>4.1.3 PROBLEMÁTICA AMBIENTAL DE LOS PPCPs</b>	<b>15</b>
4.1.3.1 Galaxolide	<b>15</b>
4,1,3,1,1 Problemática ambiental de Galaxolide	<b>16</b>
4.1.3.2 Hidroquinona	<b>16</b>
4.1.3.2.1 Problemática ambiental de Hidroquinona	<b>17</b>
4.1.3.3 Bromuro de cetil-trimetilamonio	<b>17</b>
4.1.3.3.1 Problemática ambiental de Bromuro de cetil-trimetilamonio	<b>18</b>
4.1.3.4 Benzofenona	<b>18</b>
4.1.3.4.1 Problemática ambiental de Benzofenona	<b>19</b>
<b>4.2 LEGISLACIÓN PARA LOS PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL</b>	<b>21</b>
4.2.1 Legislación internacional	<b>21</b>
4.2.2 Legislación nacional	<b>21</b>
<b>4.3 ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL</b>	<b>22</b>
4.3.1 Técnica de extracción	<b>22</b>
4.3.1.1 Extracción en fase solida (SPE)	<b>22</b>
4.3.2 técnica analítica	<b>25</b>
4.3.2.1 cromatografía de gases	<b>25</b>
4.3.2.2 Componentes básicos de un instrumento de cromatografía	<b>26</b>
4.3.2.2.1 Sistemas de gas portador	<b>26</b>

4.3.2.2.2 Sistema de inyección de la muestra	27
4.3.2.2.3 Configuraciones de columna y hornos	27
4.3.2.2.3.1 Columnas	27
4.3.2.2.3.2 Hornos (o estufas)	28
4.3.2.2.3.3 Detectores	29
4.3.2.2.3.4 Detector de ionización de llama (FID)	30
4.3.2.2.5 Curva de calibración	31
4.3.2.2.6 Registro de datos o sistema de datos	31
4.4 Técnicas de estandarización	32
4.4.1 Límite de detención	32
4.4.2 Límite de cuantificación.	33
4.4.3 Sensibilidad	33
4.4.4 Porcentaje de recuperación (% Rec)	33
<b>5.METODOLOGÍA</b>	<b>34</b>
<b>5.1CONTAMINACION CON LOS ANALITOS</b>	<b>34</b>
<b>5.2 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN</b>	<b>34</b>
5.2.1 Análisis Cualitativo	35
5.2.2 Análisis Cuantitativo	35
<b>5.3 METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN</b>	<b>35</b>
5.3.1 Extracción en fase sólida o Clean up	35
5.3.1.1 Proceso de extracción.	36
<b>5.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO</b>	<b>37</b>
<b>ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS ESTÁNDARES PCPs</b>	<b>40</b>
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>46</b>
<b>6.2 CALIBRACIÓN</b>	<b>48</b>
<b>6.3 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</b>	<b>50</b>
<b>6.4 PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN</b>	<b>51</b>
<b>6.5 CONTAMINACION DE LOS PPCPs EN MUESTRAS REALES</b>	<b>54</b>
	<b>5</b>
<b>7.CONCLUSIONES</b>	<b>58</b>
<b>8.RECOMENDACIONES</b>	<b>59</b>
<b>9.BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>60</b>
<b>10.ANEXOS</b>	<b>63</b>

<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>PAGINA</b>
<b>TABLA 1.</b> Nombre comercial y estructuras de los PCPs	<b>20</b>
<b>TABLA 2.</b> Características de los estándares utilizados en la contaminación	<b>34</b>
<b>TABLA 3.</b> Condiciones instrumentales del cromatografo de gases.	<b>38</b>
<b>TABLA 4.</b> Concentraciones de los patrones para la preparación de las curva de calibración	
<b>TABLA 5.</b> Tiempos de retención de los PCPs.	<b>48</b>
<b>TABLA 6.</b> Resultados de desviación estándar, R <sup>2</sup> , LD y LC para cada uno de los compuestos	<b>50</b>
<b>TABLA 7.</b> Datos de resultados de Hidroquinona y Bromuro de cetil-trimetilamonio arrojados por el software	<b>51</b>
<b>TABLA 8.</b> Datos de resultados de Hidroquinona arrojados por el software	<b>52</b>
<b>TABLA 9.</b> Datos de resultados de la Galaxolide arrojados por el software	<b>52</b>
<b>TABLA 10.</b> Datos de la Extracción de los ensayos de fitotoxicidad	<b>55</b>

## INDICE DE FIGURAS

## PAGINA

<b>Figura 1.</b> Estructura de la Galaxolide	<b>16</b>
<b>Figura 2.</b> Estructura de la Hidroquinona	<b>17</b>
<b>Figura 3.</b> Estructura del Bromuro de cetil-trimetilamonio.	<b>18</b>
<b>Figura 4.</b> Estructura de la Benzofenona.	<b>19</b>
<b>Figura 5.</b> Esquema del procedimiento de SPE como método de extracción	<b>23</b>
<b>Figura 6.</b> Diagrama de un sistema de cromatografía gas –liquido	<b>26</b>
<b>Figura 7.</b> Inyector de muestra para un GC	<b>27</b>
<b>Figura 8.</b> Características de una columna cromatografica.	<b>28</b>
<b>Figura 9.</b> Detector de ionización de llama (FID)	<b>31</b>
<b>Figura10.</b> Acondicionamiento de la columna de extracción en fase solida (SPE)	<b>35</b>
<b>Figura 11.</b> Esquema del procedimiento de SPE como método de extracción.	<b>36</b>
<b>Figura 12.</b> Diagrama de flujo. Cromatografía de gases	<b>39</b>
<b>Figura 13.</b> Cromatograma Hexametlentetramina	<b>46</b>
<b>Figura 14.</b> Cromatograma Bromuro de cetil-trimetilmonio	<b>46</b>
<b>Figura 15.</b> Cromatogrma Trietanolamina	<b>46</b>
<b>Figura 16.</b> Cromatograma Hidroquinona	<b>47</b>
<b>Figura 17.</b> Cromatograma Dihidrojasmonato	<b>47</b>
<b>Figura 18.</b> Cromatograma Galaxolide	<b>47</b>
<b>Figura 19</b> Cromatograma Benzofenona	<b>48</b>
<b>Figura 20.</b> Cromatograma de ensayo N° 1 arrojado por el software	<b>51</b>
<b>Figura 21.</b> Cromatograma de ensayo N° 2 arrojado por el software	<b>52</b>
<b>Figura 22.</b> Cromatograma de ensayo N° 3 arrojado por el software	<b>52</b>



<b>INDICE DE FOTOS</b>	<b>PAGINAS</b>
<b>FOTO 1.</b> Cromatografo de gases de la Universidad Tecnológica de Pereira, para el análisis de los PCPs.	<b>38</b>
<b>FOTO 2.</b> Preparación de cada ensayo	<b>42</b>
<b>FOTO 3.</b> Momento de contaminación de los ensayos de fitotoxicidad.	<b>42</b>
<b>FOTO 4.</b> Preparación de los diferentes ensayos de fitotoxicidad.	<b>42</b>
<b>FOTO 5.</b> Momento de la toma de muestras de los 13 ensayos	<b>43</b>
<b>FOTO 6.</b> Filtración de las muestras	<b>44</b>
<b>FOTO 7.</b> Extracción en fase solida (SPE).	<b>44</b>
<b>FOTO 8.</b> Equipo de extracción en fase solida con velocidad de flujo 10 ml/min	<b>45</b>
<b>FOTO 9.</b> Evaporización del extracto de los PCPs con nitrógeno.	<b>45</b>
<b>FOTO 10.</b> Estado final de las plantas.	<b>56</b>
<b>FOTO 11.</b> Estado final de las plantas.	<b>57</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes de tipo productos de cuidado personal (PCPs), han generado un alto riesgo para la salud de los seres vivos y el medio ambiente, ya que estos compuestos son denominados disruptores endocrinos, es decir afectan el sistema endocrino alterando el equilibrio hormonal del organismo, la reproducción, el crecimiento y otras funciones fisiológicas. Debido a esto se hace necesario buscar técnicas analíticas que permitan la identificación y cuantificación de estas sustancias.

En el siguiente trabajo se analizaron siete de los estándares de los contaminantes emergentes de tipo productos de uso personal, (Trietanolamina, Benzofenona, Hidroquinona, Hexametilentetramina, Bromuro de cetil-Trimetilamonio, Galaxolide, Dihidrojasmonato), a través de las técnicas de extracción en fase sólida (SPE) y cromatografía de gases (GC-FID).

Se realizó el análisis cromatográfico de los analitos de interés, elaborándose curvas de calibración del método a partir de diluciones de los estándares, Para cada curva de calibración de los PCPs, se calcularon datos estadísticos necesarios para la confiabilidad del método tales como  $R^2$ , Relación lineal, LD: Limite de detección LC: Limite de cuantificación, exactitud.

Se evaluaron porcentajes de recuperación de los estándares a través de la contaminación de una muestra, obteniéndose porcentajes de recuperación de 70% al 130% según la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

## 2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas dos décadas se han desarrollado, numerosas investigaciones para la identificación, origen y efectos de contaminantes emergentes detectados en aguas. Dentro de estos contaminantes, se encuentran los productos de cuidado personal, los cuales se han manifestado como compuestos que se incorporan en el medio ambiente, en fuentes de abastecimiento de agua y en aguas subterráneas, conllevando a despertar el interés para su estudio, dada su constante utilización, vertimiento y el hecho de no necesitar ser muy persistente para causar un efecto negativo en el ecosistema. Dichos compuestos se conocen relativamente poco, en cuanto a su presencia, impacto y tratamiento ambiental, además en la mayoría de los casos son contaminantes que no han sido regulados, por lo tanto pueden ser candidatos a una regulación futura, dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia (Greenpeace ,2005).

Muchos de los productos de cuidado personal y sus metabolitos son propagados y presentan persistencia y bioconcentración, en las aguas superficiales a la par con los ya conocidos contaminantes órganoclorados (Greenpeace ,2005).

La toma de conciencia del riesgo que ocasiona su presencia en el medio ambiente es relativamente reciente, y no se tienen aún datos suficientes para una valoración apropiada de su impacto. Lo que implica que una exposición a los mismos puede dar lugar a alteraciones en el crecimiento, desarrollo, reproducción y comportamiento de los organismos vivos, de las que una de las más alarmantes y mejor documentadas es la feminización en organismos acuáticos superiores (Greenpeace ,2005).

Debido a las alarmantes amenazas en las que se encuentra el agua por causa de la alta contaminación por sustancias químicas y aun por sustancias nuevas que el hombre ha creado, resulta necesario el desarrollo de nuevas técnicas analíticas que ayuden a identificar estas sustancias que han perjudicado durante tantos años las fuentes hídricas (Akunna, 2011).

Para ello se pretende proporcionar en esta tesis; una metodología analítica, basada en la extracción en fase solida (SPE), con el fin de extraer y purificar los analitos en disolución. Esta técnica permite aislar, purificar y preconcentrar compuestos químicos de manera rápida y reproducible, razón por la cual se han elegido diferentes contaminantes encontrados en el agua como son (Trietanolamina, Benzofenona, Hidroquinona, Hexametilentetramina, Bromuro de cetil-Trimetilamina, Galaxolide, Dihidrojasmonato) muchas de estas

sustancias son usadas como ingredientes activos o preservativos en cosméticos, productos de baño o fragancias (Akunna, 2011).

Los resultados se han evaluado mediante, cromatografía de gases (GC-FID), una de las técnicas analíticas más sencillas y avanzadas que ha permitido conocer el grado de descomposición de los contaminantes, siendo esta una técnica adecuada para el análisis de muestras ambientales, debido a su sensibilidad y al análisis de compuestos orgánicos.

Mediante la utilización de estas herramientas analíticas, se pretende obtener métodos de determinación sensibles y con buena aplicabilidad al análisis de muestras reales pero a la vez rápidas y con la mínima generación de residuos, con el fin de constatar la transferencia y permanencia de este tipo de sustancias en el agua (Haidong Zhou, 2009).

Cabe anotar que la normatividad Colombiana regula las sustancias de interés sanitario en agua cruda y residual las cuales están contemplada en el decreto 1594 de 1984. Sin embargo, en dicha reglamentación no se hace mención a los compuestos derivados de los productos químicos de cuidado personal, debido a la escasez de datos ambientales, eco toxicológicos y de métodos para su análisis, para las posibles consecuencias de su presencia en el medio ambiente (Akunna, 2011).

### **3. OBJETIVOS**

#### 3.1 Objetivo general

Desarrollar la técnica de cromatografía de gases para el análisis de contaminantes emergentes tipo productos de cuidado personal.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Desarrollar la técnica de extracción en fase sólida para contaminantes emergentes tipo productos de cuidado personal
- Evaluar los analitos de interés por medio del método de cromatografía de gases (GC-FID).
- Evaluar el desarrollo de la técnica de extracción en fase solida (SPE), por medio de la contaminación de una muestra.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 ANTECEDENTES GENERALES:

#### 4.1.1 Contaminantes emergentes

Se denominan contaminantes emergentes (COEs), o nuevos contaminantes, a aquellas sustancias cuya presencia en el ambiente no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de la misma, dado el factor de riesgo que presentan para los seres vivos (Gómez, 2011).

Otra singularidad de estos compuestos, es que debido a su elevada producción y consumo y a la consecuente continua introducción de los mismos en el medio ambiente, no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos perjudiciales (Becerril, 2009).

La lista de contaminantes emergentes incluye una amplia variedad de productos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticas. Algunos de ellos, a raíz de las intensas investigaciones llevadas a cabo en los últimos años, han sido incluidos en la lista de sustancias prioritarias en el agua. Éste es el caso de los retardantes de llama difenil éteres polibromados, los detergentes de tipo alquifenoletoxilado y sus derivados y las parafinas cloradas (Becerril, 2009). Otros compuestos, como los pesticidas, ya estaban sujetos a legislación en el agua, pero el descubrimiento de productos de degradación tóxicos, ha renovado el interés por los mismos (Becerril, 2009). Por último, en otros casos, como en el de los detergentes perfluorados o los fármacos, la toma de conciencia del riesgo que ocasiona su presencia en el medio ambiente es relativamente reciente, y no se tienen aún datos suficientes para una valoración apropiada de su impacto. Además, muchos de ellos, como por ejemplo los retardantes de llama bromados, los detergentes de tipo alquifenoletoxilado y algunos fármacos, son disruptores endocrinos, lo que implica que una exposición a los mismos puede dar lugar a alteraciones en el crecimiento, desarrollo, reproducción y comportamiento de los organismos vivos, de las que una de las más alarmantes y mejor documentadas es la feminización en organismos acuáticos superiores (Becerril, 2009).

#### 4.1.2 Productos de cuidado personal (PCPs)

Los productos de cuidado personal son producidos para uso directo sobre el cuerpo humano. En general estos productos están dirigidos a alterar el olor, el aspecto, el tacto y no deben mostrar actividad biológica significativa. Los productos de cuidado personal se diferencian de los farmacéuticos ya que en grandes cantidades pueden ser directamente introducidos al ambiente; por ejemplo estos productos pueden ser liberados dentro de las aguas o volatilizados en el aire (Gil, 2012).

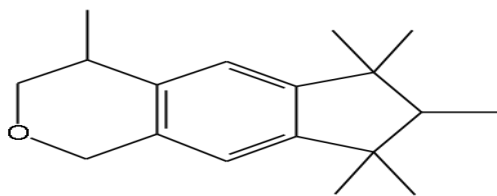
Los productos de cuidado personal más comunes que hacen parte de los contaminantes son: perfumes, fragancias, policíclicos, macrocíclicos, agentes de protección solar, benzofenona, metilbenzilidenecambor; repelentes de insectos: N, N-dietiltoluamida (Gil, 2012).

Estos compuestos afectan a los organismos acuáticos y a los humanos en ciertas concentraciones, estando presentes como: DEET-N, N-dietil-metaltoluamida, el ingrediente activo más común de los repelentes de insectos; parabenos, ésteres de alquilo del ácido p-hidroxibenzoico (Gil, 2012).

#### **4.1.4 PROBLEMÁTICA AMBIENTAL DE LOS PCPs.**

##### 4.1.3.1 Galaxolide (HHCB)

Galaxolide es un almizcle policíclico (conocido también como almizcle blanco) que es utilizado como realizador de fragancias en la industria de la perfumería y en un amplio rango de productos de cuidado personal. También se utiliza en jabones, cosméticos y detergentes (Brigden, 2009). Galaxolide fue sintetizado por primera vez en 1965 y se utiliza en la década de 1960 en algunos detergentes y suavizantes de telas. Las dosis altas también se han incorporado en las fragancias finas. Galaxolide posee un florido almizclado dulce olor a madera limpia. Es uno de los componentes de perfume de almizcle y fabricantes de colonia utilizar para añadir un olor a almizcle para perfumar. (Brigden, 2009)



**Figura 1. Estructura de la Galaxolide**

Fuente: National Institute of Standard and Technology. NIST Chemistry webBook. Cas 1222-05-5

#### 4.1.3.1.1 Problemática Ambiental de la Galaxolide.

Se acumula en el cuerpo, en la sangre, la grasa, y en las mujeres la leche materna. Este compuesto altamente persistente tiene una estructura muy similar a la de la feromona humana natural y también es absorbido directamente a través de la piel, por lo que puede implicar un riesgo a la salud, aunque los impactos potenciales de este compuesto aún tengan que ser investigados por completo (Kallenborn et al. 1999).

Fragancias de almizcle sintéticos entran tanto en el agua y el aire. Galaxolide se ha encontrado en la vida acuática. Este químico fue detectado en vertidos de aguas residuales y aguas superficiales en otros países (Rimkus 1999), y se informó recientemente que es el almizcle sintético más abundante en las descargas a los estuarios Tamar y Plym en el Reino Unido (Sumner et al. 2010). En efecto, las descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales son consideradas la primera vía a través de la cual estos compuestos ingresan a los ambientes acuáticos. El Galaxolide también fue detectado en el cuerpo humano, incluso en la sangre (Hutter et al. 2005). Es sabido que posee una débil actividad estrogénica *in Vitro*, y ahora se cree que la importancia *in vivo* fue hasta la fecha, subestimada por muchos; especialmente cuando se encuentra presente como uno de los componentes de complejas mezclas de compuestos hormonalmente activos (van der Burg et al. 2008), (Brigden, 2009).

#### 4.1.3.2 Hidroquinona.

La Hidroquinona es un compuesto aromático que consiste en el anillo de benceno y los grupos-OH de dos en posición para. El contacto de este compuesto con el aire y la luz provoca la oxidación y el oscurecimiento del color y es soluble en agua, metanol, y éter. Sin embargo, tiene menos solubilidad en agua que las otras dos dihidroxicbenzenos, lo que significa que la Hidroquinona tiene menos afinidad hacia disolventes hidrófilos (Enguita, 2013).

La hidroquinona se encuentra naturalmente en muchos alimentos vegetales, como conjugado de glucosa, en el trigo, peras, café, cebolla, té y vino tinto. Se



hidroliza fácilmente en el estómago a la hidroquinona libre, que es ampliamente absorbido por el tracto gastrointestinal (Enguita , 2013).



**Figura 2. Estructura de la Hidroquinona.**

Fuente:National Institute of Standarst and Technology. NIST Chemistry webBook. Cas 123-31-9

#### 4.1.3.2.1 Problemática Ambiental de la Hidroquinona.

La Hidroquinona es un metabolito principal del benceno, que es conocido como hematotóxicos y agente carcinógeno asociado con la malignidad en los entornos profesionales. La exposición humana a la hidroquinona puede ocurrir por fuentes dietéticas, laborales y ambientales. En el medio ambiente, la hidroquinona mostró un aumento de la toxicidad para los organismos acuáticos, al ser menos perjudicial para las bacterias y los hongos. Piezas recientes de las pruebas mostraron que la hidroquinona es capaz de aumentar el riesgo carcinogénico mediante la generación de daños en el ADN, así como para comprometer las respuestas inmunitarias de carácter general que puedan contribuir a la activación alterada de la reacción inmune del huésped (Enguita , 2013).

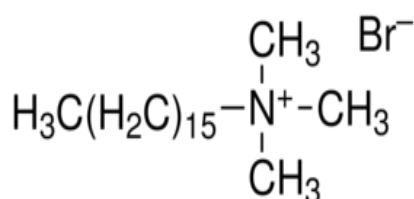
Se sabe que los compuestos fenólicos son extremadamente tóxicos para los organismos acuáticos, en el nivel de concentración mg/L y la mayoría de ellos pueden influir sobre las propiedades organolépticas de los mariscos y pescados en mg/L (Enguita , 2013).

#### 4.1.3.3 Bromuro de Cetil-trimetilamonio.

El bromuro de cetiltrimetilamonio actúa como surfactante catiónico. Se emplea principalmente como bactericida, antiséptico y enjuagante.

Los surfactantes son un grupo diverso de sustancias químicas que son mejor conocidos por su amplio uso en detergentes y otros productos de limpieza. Después de su uso, los tensoactivos residuales se descargan en los sistemas de alcantarillado o directamente en la superficie de las aguas, y la mayoría de ellos terminan dispersos en diferentes compartimentos ambientales como el suelo, el agua o sedimento. Los efectos tóxicos de los agentes tensoactivos en diversos organismos acuáticos son bien conocidos. En general, los tensoactivos están presentes en el medio ambiente a niveles inferiores a la toxicidad.

La mayoría de los tensoactivos son fácilmente biodegradables y su aporte se reduce considerablemente con el tratamiento secundario en plantas de tratamiento de aguas residuales. La máxima preocupación es la liberación de las aguas residuales sin tratar, o de aguas residuales que ha sido objeto de tratamiento primario. La descarga de aguas residuales contaminadas con cantidades masivas de tensoactivos, podría tener graves efectos sobre el ecosistema. Futuros estudios de toxicidad de tensoactivos y biodegradación, son necesarios para retirar compuestos altamente tóxicos y no biodegradables a partir del uso comercial y sustituirlos por otros más respetuosos con el medio ambiente (Sánchez, 2009).



**Figura 3. Estructura Bromuro de Cetiltrimetilamonio.**

Fuente: National Institute of Standard and Technology. NIST Chemistry webBook. Cas 57-09-0

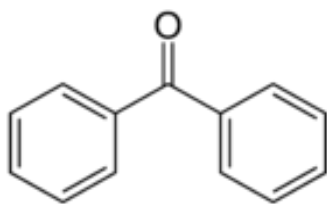
#### 4.1.3.3.1 Problemática Ambiental del Bromuro de Cetiltrimetilamonio.

Tensoactivos (agentes de superficie) son un diverso grupo de productos químicos que consisten en una parte polar, soluble en agua grupo de cabeza y un grupo de cola de hidrocarburo no polar, que no es tan soluble en agua. Los tensoactivos, mejor conocido por sus propiedades de solubilidad y limpieza lo que les asegura un lugar entre los detergentes y otros productos de limpieza. Grandes cantidades de tensoactivos se utilizan en los hogares y la industria cada día, y la mayoría terminan dispersa en los diferentes compartimentos ambientales (suelo, agua, sedimentos), (Sánchez, 2009).

#### 4.1.3.4 Benzofenona.

La Benzofenona se utiliza como ingrediente de sabor, promotor de fragancia, fijador de perfume y aditivo en plásticos y revestimientos; también se utiliza en la fabricación de insecticidas, productos químicos agrícolas, hipnótico fármacos antihistamínicos, y otros productos farmacéuticos (HSDB, 2010). La Benzofenona se utiliza como un agente ultravioleta (UV) y evita que la luz UV pueda dañar los olores y colores en productos tales como perfumes y jabones.

Por otra parte, se puede añadir a los envases de plástico como un bloqueador de UV, que permite a los fabricantes empaquetar sus productos, en vidrio transparente o de plástico en lugar de envases opacos u oscuros. Es también utilizado en los productos de lavado y limpieza del hogar (NTP 2006; HSDB 2010).



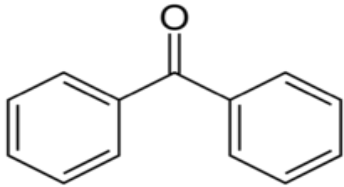

**Figura 4. Estructura de la Benzofenona.**

Fuente: National Institute of Standard and Technology. NIST Chemistry webBook. Cas 119-61-9

#### 4.1.6.1 Problemática Ambiental de la Benzofenona.

La Benzofenona es uno de los productos de cuidado personal que tiene mayor presencia en agua potable y de las aguas residuales regeneradas cuando las fuentes de agua se ven afectadas por las aguas residuales efluente de las plantas de tratamiento (Loraine y Pettigrove, 2006). La eliminación de estos compuestos durante procesos de tratamiento de aguas residuales; no es plenamente eficaz, pueden actuar como "pseudo-persistente". Debido a su introducción, continua de las plantas de tratamiento de aguas residuales, éstos compuestos se liberan continuamente en el medio ambiente. Como resultado, los organismos acuáticos son expuestos durante todo su ciclo de vida (Pedrouzo et al, 2010).

En la siguiente tabla se encuentran los diferentes PCPs de estudio y sus estructuras:

Nombre	Número de Cas	Estructura Química
Benzofenona	119-61-9	
Hidroquinona	123-31-9	

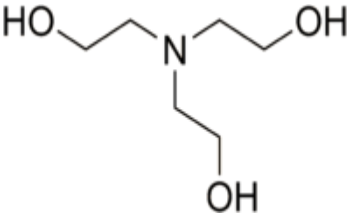
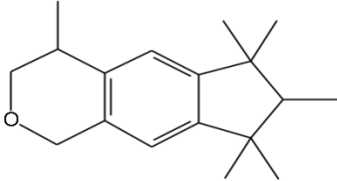
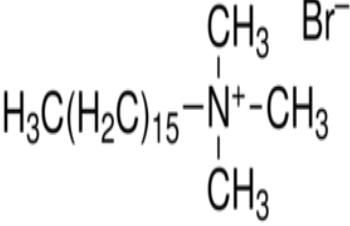
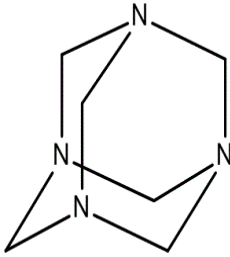
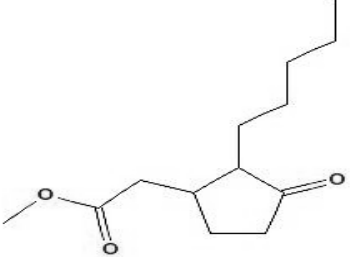
Trietanolamina	102-71-6	
Galaxolide	150-13-0	
Bromuro de cetil-trimetilamino	8044-71-1	
Hexametilentetramina	100-97-0	
Dihidrojasmonato	24851-98-7	

Tabla 1. Nombre comercial y estructura de los PCPs.

## 4.2 Legislación.

Los contaminantes emergentes de tipo productos de cuidado personal como ya se ha mencionado aún no se encuentran regulados, sin embargo, existen medidas legislativas que se han adoptado progresivamente para evitar la contaminación química del agua. Los contaminantes emergentes son por el momento candidatos a futura regulación.

### 4.2.1 Legislación Internacional del agua:

Se estableció un acuerdo con la organización Europea sobre limitación del empleo de ciertos detergentes en los productos de lavado y limpieza, hecho en Estrasburgo el 16 de Septiembre de 1968 (Instrumento de ratificación de 29 de Julio de 1975) y Protocolo de Enmienda de 25 de Octubre de 1983 (Instrumento de Ratificación de 13 de Noviembre de 1987). BOE 259, de 29-10-75 y BOE 28, de 02-02-88

### 4.2.2 Legislación Colombiana del agua:

#### 4.2.2.1 Aplicación del Decreto 1594 de 1984.

El decreto 1594 de 1984 define las normas de vertimiento permisibles para la descarga de residuos líquidos a un cuerpo de agua o alcantarillado sanitario; igualmente establece los conceptos de cargas combinadas, sustancias de interés sanitario, planes de cumplimiento de los usuarios contaminadores, tasas retributivas y marcos sancionatorios, entre otros aspectos.

#### 4.2.2.2 Decreto 3930 de 2010.

Estableciendo la calidad del agua y ejerciendo control sobre los vertimientos que se introduzcan en las aguas superficiales o subterráneas, interiores o marinas, a fin de que estas no se conviertan en focos de contaminación que pongan en riesgo los ciclos biológicos, el normal desarrollo de las especies y la capacidad oxigenante y reguladora de los cuerpos de agua.

#### 4.2.2.3 Ley 99 de 1993

Por la cual se creó el Ministerio del Medio Ambiente (hoy Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial), se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental (SINA) y se dictan otras disposiciones.

Que según lo dispuesto en los numerales 10 y 12 del artículo 31 de la citada ley, le compete a las corporaciones autónomas regionales, fijar en el área de su jurisdicción, los límites permisibles de descarga, transporte o depósito de sustancias, productos, compuestos o cualquier otra materia que puedan afectar el ambiente o los recursos naturales renovables y prohibir, restringir o regular la fabricación, distribución, uso, disposición o vertimiento de sustancias causantes de degradación ambiental. Estos límites, restricciones y regulaciones en ningún caso podrán ser menos estrictos que los definidos por el Ministerio del Medio Ambiente (hoy Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial); y ejercer las funciones de evaluación, control y seguimiento ambiental de los usos del agua y el suelo.

### **4.3 ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL.**

#### 4.3.1 Técnica de extracción

##### 4.3.1.1 Extracción en fase sólida (SPE):

La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica de preparación de muestras aplicada a partir de los años 70, que se puede utilizar para extraer compuestos de una matriz, o para limpiar extractos orgánicos eliminando las interferencias que hayan sido extraídas previamente (Martínez, 1996). Como técnica de extracción, es un proceso mediante el cual cantidades traza de un analito son selectivamente retenidas, separadas y concentradas a partir de volúmenes relativamente grandes de muestras líquidas, gaseosas o extractos de muestras sólidas (García, 2010).

En ella se hace pasar la muestra a través de una columna de SPE (polar, apolar, intercambio iónico etc.) Que consiste en retener algunos de los compuestos y el resto pasan inalterados. SPE permite la concentración de la muestra con un riesgo mínimo de pérdida o contaminación de la misma. (Silveira, 2013). El componente de interés resulta retenido en una fase sólida mientras que los contaminantes de la matriz se eluyen (Canosa, 2009).

Las principales funciones que realiza la SPE son:

- La pre concentración de trazas
- estabilización de muestras
- cambio de fases
- limpieza de muestras (Canosa, 2009).

El absorbente de la SPE está contenido en tres posibles formatos: discos, cartuchos y jeringas el primero se utiliza principalmente para concentrar

grandes volúmenes de muestras, entre 2 y 4 L permitiendo flujos de paso de líquidos muy elevados debido a la escasa resistencia al paso de muestra que poseen, mientras que los cartuchos y jeringas pueden ser fácilmente integrados en sistemas *on-line* con el equipo de medida (Canosa, 2009).

El proceso de concentración de la muestra consta de las siguientes etapas básicas:

- Acondicionamiento de la fase estacionaria:

Se hace pasar a través del cartucho un disolvente o mezcla de disolventes adecuados, eliminando así las impurezas, hidratando la fase estacionaria y facilitando la transferencia de materia con la muestra (Canosa, 2009).

- Paso de la muestra a través del material adsorbente:

El objetivo de esta etapa es retener cuantitativamente el analito, consiguiendo además un cierto grado de selectividad. (Valencia, 2008)

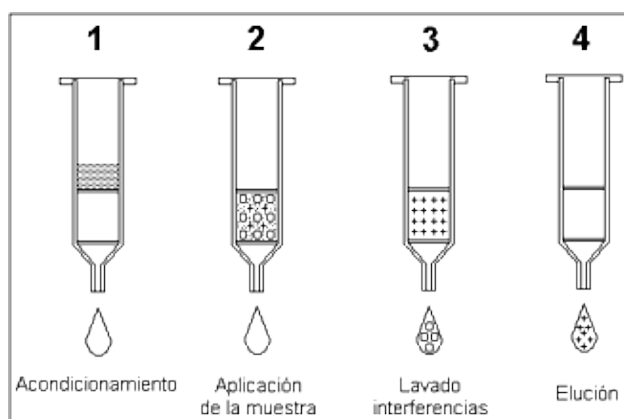
- Lavado:

Se utilizan disolventes con gran afinidad por las interferencias.

- Elución:

Con un disolvente apropiado se recupera el analito de la fase adsorbente. Por lo general se utiliza un pequeño volumen del disolvente orgánico, aunque también se pueda realizar una desorción térmica (Brigden, 2010).

En la figura 5, se muestra el procedimiento de extracción en fase sólida(SPE).



**Figura 5. Esquema del procedimiento de SPE como método de extracción**

Fuente: Análisis vínicos, soluciones cromatográficas. Pagina web: [www. Analisisvinicos.com](http://www.Analisisvinicos.com)

#### 4.3.1.1.1 Características químicas de los sorbente.

Cartucho de extracción en fase solida C18:

- Sorbentes basados en Sílica.

Son los más populares porque son rígidos, económicamente favorables, reproducibles, estables. Los rellenos de sílica están formados por partículas de sílica modificadas químicamente con grupos funcionales unidos covalentemente a la superficie formando grupos silano. Las características de estos grupos funcionales son muy variadas: grupos apolares (C18), polares (NH<sub>2</sub>), iónicos (ácido propilsulfónico) ó fases mixtas (C8/intercambio catiónico). El carácter de la sílica depende exclusivamente de los grupos funcionales ligados (Arias, 2012).

- Características de los cartuchos de sílica.

Los cartuchos de sílica son generalmente considerados como los sorbentes más polares disponibles.

- Su estructura es: H<sub>3</sub>SiOH
- Las interacciones son de tipo polar.
- Es uno de los mejores sorbentes para separar compuestos con estructura química similar.
- Nunca debe ser acondicionado con disolventes polares tales como el Metanol porque pueden darnos resultados poco reproducibles.
- Se usa para separar compuestos que presenten en su molécula grupos funcionales que contengan dipolos, y la mayoría de compuestos que contengan heteroátomos así como también grupos con propiedades de resonancia como por ejemplo moléculas con anillos aromáticos.(Arias, 2012)



Cartucho polimerico de extracción en fase solida ENVI-carb:

- Sorbentes basados en resinas y carbonos:

Medios de adsorción carbonosa como los materiales de ENVI-carb, constara de grafito, de carbono no porosa que tiene una alta atracción para los compuestos organicos polares y no polares de ambas matrices polares y no polares.

la retención de los analitos, se basa principalmente en la estructura del anillo( tamaño y forma), en lugar de las interacciones de grupos funcionales sobre el analito con la superficie del absorbente.

#### 4.3.2 Técnica analítica

##### 4.3.2.1 Cromatografía de gases.

En cromatografía de gases los componentes de una muestra vaporizada se separan como consecuencia de que se reparten en una fase gaseosa y una fase estacionaria contenida en una columna. Al efectuar una separación cromatografía de gases, la muestra se vaporiza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatografía. La elución se lleva a cabo mediante el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de la mayoría de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas del analito; su única función es transportar este último a través de la columna (Canosa, 2009).

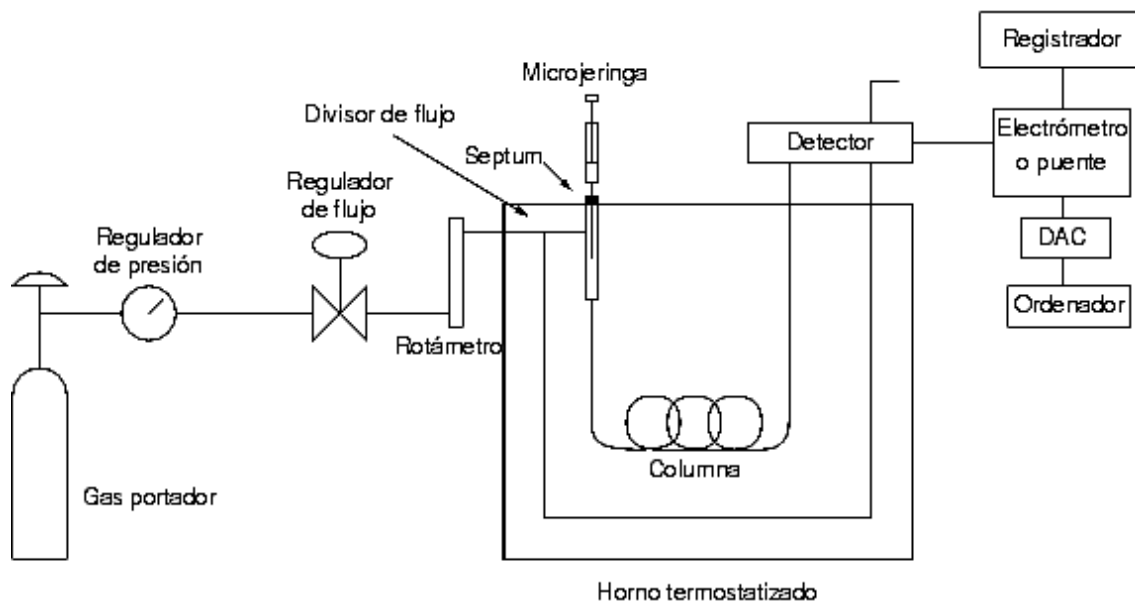
La cromatografía permite no solo separar los componentes de una muestra, sino también su identificación y cuantificación (Villa, 2011).

En el análisis cuantitativo está basado en la medida de parámetros cromatográfico (tiempos y volúmenes de retención). En cuanto a sus análisis cuantitativos está basado en la medida de las alturas o áreas de picos cromatográfico que se relacionan con la concentración. Para estas técnicas la columna cromatográfico y la forma como se diseña, constituye el corazón de la separación (Douglas A, 2008).

En cromatografía de gases los analitos (siempre en estado gaseoso) se distribuyen entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria que puede ser un sólido o una delgada película liquida que recubre al solido; dependiendo de la fase estacionaria que se utilice solido-liquido. La cromatografía en fase gaseosa se clasifica en: cromatografía gas-solido (CGS) y cromatografía gas-liquido (CGL). De ambas la más selectiva y la que presta mayores usos es la (GCL) (Valencia, 2008).

En la cromatografía gas-liquido el analito se divide entre una fase móvil gaseosa y una fase móvil inmovilizada sobre la superficie de un relleno solido inerte o en las paredes de un tubo capilar. En la figura 6, se presenta el

diagrama de un sistema de cromatografía gas-liquido. El concepto de gas-liquido fue enunciado por primera vez en 1941 por Martin y Synge, quienes también perfeccionaron la cromatografía de distribución liquido-liquido. Sin embargo tuvo que pasar más de una década antes de que la importancia de la cromatografía gas-liquido se demostrara en forma experimental y la técnica se empezara a utilizar en forma rutinaria como herramienta de laboratorio. En 1955 apareció en el mercado el primer aparato comercial para cromatografía gas-liquido. Desde entonces sus aplicaciones han crecido enormemente (Douglas A, 2008).



**Figura 6. Diagrama de un sistema de cromatografía gas –liquido.**

Fuente: VILLEGAS Carlos Augusto, Evaluación de grado contaminación de pesticidas organoclorado del río Otún, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de gases, Universidad Tecnológica de Pereira, 2008

#### 4.3.2.2 Componentes básicos de un instrumento de cromatografía

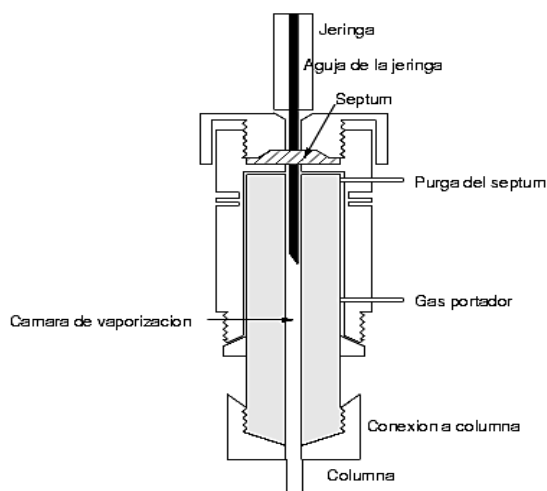
##### 4.3.2.2.1 Sistemas de gas portador

En cromatografía de gases la fase móvil se llama gas portador y debe ser químicamente inerte. El helio es el gas para fase móvil más común, pero también se usan argón, nitrógeno e hidrogeno. Estos gases se surten en recipientes a presión. El objetivo principal del gas portador es el de llevar la mezcla de los solutos desde que se introduce en el sistema cromatográfico hasta la salida del detector, pasando a través de la columna donde se produce la separación; otro objetivo es proporcionar una matriz adecuada para el detector que permita medir los componentes de la mezcla (Villa, 2011).

#### 4.3.2.2.2 Sistema de inyección de la muestra

Para que una columna sea altamente eficiente, esta requiere que la muestra sea de un tamaño adecuado y que se introduzca como un “tapón” de vapor, la inyección lenta o muestras demasiado grandes causan dispersión de las bandas y una mala resolución (Douglas A, 2008).

El sistema de inyección de la muestra implica la utilización de micro jeringas calibradas que se utilizan para inyectar muestras líquidas a través de un diagrama de goma de silicón, en una cámara caliente especial para la muestra; esta se encuentra ubicada en la cabeza de la columna. La cámara de la muestra casi siempre se encuentra en unos 50 °C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra (Villa, 2011). En la figura 7, se presenta el esquema de un sistema de inyección para GC



**Figura 7. Inyector de muestra para un GC.**

Fuente: ARIAS G. A, Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroides en semillas de *luffa cylindrica*, Universidad Tecnológica de Pereira, 2012.

Para hablar del tamaño de la muestra, en el caso de las columnas analíticas rellenas ordinarias, el tamaño de la muestra varía desde unas pocas décimas de micro litro a 20  $\mu\text{L}$ , en el caso de las columnas capilares requieren muestras menores del factor de 100 o más. En la cromatografía de gases con columnas capilares también hay inyectoros en la columna con las cuales la muestra se inyecta en la columna como líquido que luego se vaporiza al programar la temperatura de la columna, el analito se separa del solvente por efectos térmicos y del mismo solvente (Douglas A, 2008).

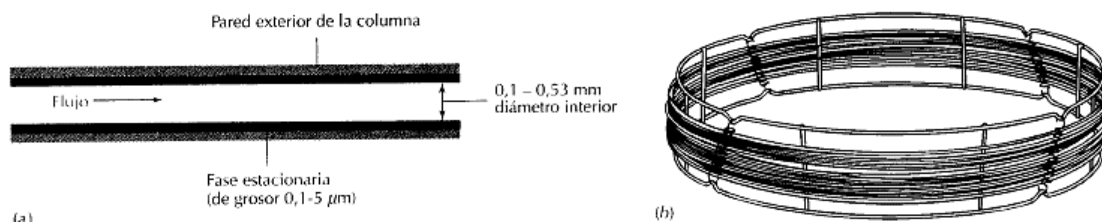
#### 4.3.2.2.3 Configuraciones de columna y hornos

##### 4.3.2.2.3.1 Columnas

En cromatografía de gases se usan dos tipos generales de columnas, las empaquetadas o de relleno y las tubulares abiertas o capilares. En la figura 8, se observan las características de una columna cromatográfica. Hasta la fecha,

la mayor parte de la cromatografía de gases se ha realizado con columnas de relleno. Sin embargo, en la actualidad esta situación está cambiando rápidamente y parece probable que en un futuro próximo, excepto para ciertas aplicaciones especiales, las columnas de relleno serán sustituidas por las más eficaces y rápidas columnas capilares (Douglas A, 2008).

Las columnas cromatográficas varían en longitud desde menos de 2 hasta 50 m, o más. Se construyen de acero inoxidable, vidrio, sílice fundida, o Teflón. A fin de poder colocarse en el interior de un termostato (Douglas A, 2008).



**Figura 8. Características de una columna cromatográfica.**

Fuente: Asignatura Análisis Químico, Grado ciencia y tecnología de los Alimentos, Curso académico, 2012.

#### 4.3.2.2.3.2 Hornos (o estufas)

La temperatura de la columna es una variable importante que para un trabajo preciso ha de regularse a las décimas de grado, por ello la columna normalmente se introduce dentro de un horno termostatzado. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido. En la práctica, con una temperatura igual o ligeramente superior al punto de ebullición promedio de la muestra, se obtienen tiempos de elución razonables (2 a 30 min) (Villa, 2011). Para muestras con un amplio intervalo de ebullición, a menudo es conveniente emplear una programación de temperatura, con lo que se aumenta la temperatura de la columna bien de forma continua bien por etapas, al mismo tiempo que tiene lugar la separación (Valencia, 2008).

Las columnas cromatográficas se enrollan y sujetan en una canasta que se monta en el interior de un horno (Douglas A, 2008).

El horno de la columna debe poder ser calentado y enfriado rápidamente. Esto requiere de un sistema de flujo de aire adecuado y bien diseñado (EPA, 2007). En la mayoría de los diseños el chorro de aire pasa a través de las resistencias de calentamiento, después por medio de deflectores que conforman la pared interior del horno, pasan por la columna y de vuelta al ventilador para recalentarse y recircular (Douglas A, 2008). Los hornos se construyen usualmente con acero inoxidable delgado. Para la programación de temperatura es deseable disponer de un intervalo de velocidades de programación desde 0. 1 hasta 50°C/min. Debe ser posible sostener la

temperatura en cualquier momento dentro del programa durante un tiempo (Douglas A, 2008).

En general, la resolución óptima se asocia con una menor temperatura; sin embargo, la consecuencia de una reducción de temperatura es un aumento en el tiempo de elución y por tanto del tiempo que se necesita para completar un análisis. Las temperaturas iniciales subambientales son útiles cuando se trabaja con columnas capilares. Las temperaturas se deben mantener alrededor de la temperatura deseada con precisión de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$  en el caso de trabajo isotérmico y de  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Durante la programación de temperatura (Villa, 2011).

#### 4.3.2.2.4 Detectores

Durante el desarrollo de la cromatografía de gases se han investigado y utilizado docenas de detectores. En las secciones que siguen a continuación, se describen los utilizados más frecuentemente (Douglas A, 2008).

En cromatografía de gases un detector ideal tiene las siguientes características:

1. Adecuada sensibilidad. Lo que constituye una adecuada sensibilidad no se puede evaluar de forma cuantitativa. Por ejemplo, las sensibilidades de los detectores que se van a describir difieren por un factor de 107 (Martínez, 1996). Aunque todos se utilizan extensamente y son adecuados en ciertos casos; sin embargo, en algunas aplicaciones los menos sensibles no resultan convenientes. En general, las sensibilidades de los detectores actuales se encuentran en el intervalo de  $10^{-8}$  a  $10^{-15}$  g de analitos (Douglas A, 2008).
2. Buena estabilidad y reproducibilidad.
3. Una respuesta lineal para los analitos que se extienda a varios órdenes de magnitud.
4. Un intervalo de temperaturas de trabajo comprendido desde la temperatura ambiente hasta al menos  $400^{\circ}\text{C}$ .
5. Un tiempo de respuesta corto que lo haga independiente del caudal.
6. Alta fiabilidad y manejo sencillo. Hasta el punto de estar a prueba de la impericia de operadores inexpertos.
7. Respuesta semejante para todos los analitos o por el contrario, una respuesta selectiva y altamente predecible para una o más clases de analitos.
8. No destructivo de la muestra.

De hecho, no hay detector que reúna todas esas características y tampoco es probable que pueda llegar a diseñarse nunca (Villa, 2011).

#### 4.3.2.2.3.1 Detector de ionización de llama (FID).

Es uno de los detectores con más uso y versatilidad. Básicamente es un quemador de hidrógeno/oxígeno, donde se mezcla el efluente de la columna (gas portador y analito) con hidrógeno (Douglas A, 2008). Inmediatamente, este gas mezclado se enciende mediante una chispa eléctrica, produciéndose una llama de alta temperatura. La mayoría de compuestos orgánicos al someterse a altas temperaturas pirolizan y se producen iones y electrones, que son conductores eléctricos (Villa, 2011). En la figura 9, se presenta a continuación el esquema de un detector de ionización de llama (FID).

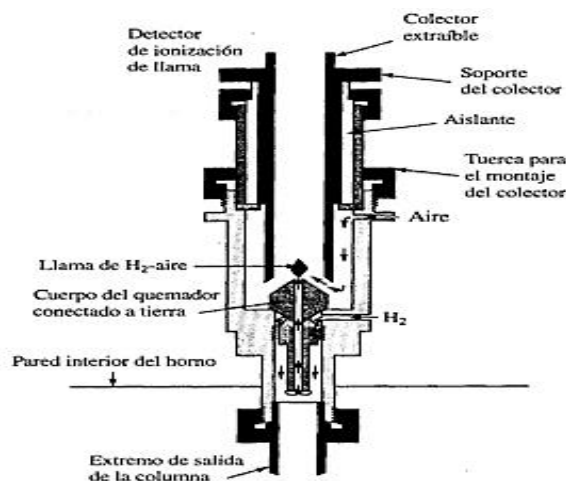
Este hecho se aprovecha estableciendo una diferencia de potencial de unos centenares de voltios entre la parte inferior del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama. La corriente generada es baja (del orden de los 10-12 A), por lo tanto debe ser amplificada mediante un amplificador de alta impedancia (Villa, 2011).

El proceso de ionización que se da en la llama es complejo, pero se puede aproximar el número de iones producidos al número de átomos de carbono transformados en la llama. Esto produce que sea un detector sensible a la masa (al número de átomos de carbono que salen de la columna) más que a la concentración, por lo tanto no le afectan demasiado los cambios en el flujo de salida (Villa, 2011).

Existen algunos grupos funcionales que no dan respuesta en este detector, como el carbonilo, alcohol, halógeno o amina, y tampoco responden gases no inflamables como el CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, agua y óxidos de nitrógeno. Este hecho, más que limitar el ámbito de aplicación de este detector, permite el análisis de muestras contaminadas con alguno de los compuestos mencionados.

Ventajas:

- Alta sensibilidad.
- Amplio intervalo lineal de respuesta, 10<sup>7</sup> unidades.
- Bajo ruido de fondo (elevada relación señal/ruido).
- Bajo mantenimiento, fácil de fabricar.



**Figura 9. Detector de ionización de llama (FID).**

**Fuente:** Asignatura Análisis Químico, Grado ciencia y tecnología de los Alimentos, Curso académico, 2012.

#### 4.3.2.2.5 Curva de calibración

Se inyectan cantidades exactas del analito, luego se representan los valores de las áreas del pico en función del peso conocido inyectado. Se obtiene así una curva de calibración; debería ser lineal y pasar por el origen (no hay muestra, no hay respuesta).

Ahora, se inyecta una cantidad exacta del material desconocido. Se mide el área del pico y a partir de la curva de calibración se calcula la cantidad de muestra presente en el material desconocido.

$$\% \text{ en peso } A = \frac{\text{Área } (A) \cdot \left(\frac{g}{\text{área}}\right)}{g \text{ inyectados}} \cdot 100 \qquad \text{Ecuación 1}$$

#### 4.3.2.2.6 Registro de datos o sistema de datos

Es el dispositivo en el cual rápidamente se interpreta la señal del GC por medio de un hardware. Generalmente hay dos tipos de sistemas utilizados, el integrador- computadores y el microprocesador-basado en integradores, este último tiene la capacidad de convertir la señal de análogo a digital produciendo el cromatograma como señal análogo y el digital para reportar análisis cuantitativos (Pérez, 2014).

#### 4.4 Técnicas de estandarización.

La estandarización es un método analítico que depende de la técnica analítica a la que pertenezca el método, la matriz, el analito, la cantidad de parámetros de estandarización y de la logística empleada para su desarrollo, puede de un tiempo más o menos considerable.

Un método debe estandarizarse cuando es necesario verificar que sus parámetros de calidad se adecuan al problema analítico que se resuelve en el laboratorio.

Cuando se necesita verificar que sus parámetros de aptitud son adecuados para usar para un problema analítico particular. Ejemplos:

- Cuando se desarrolla un método nuevo
- Cuando se revisa un método ya establecido para mejorar o extender a un nuevo problema
- Cuando el control de calidad indica que el método en uso está cambiando con el tiempo
- Cuando se usa un método ya establecido en un laboratorio diferente o con diferente analista o con diferente instrumental
- Para demostrar la equivalencia entre 2 métodos, por ej. Un método nuevo y una norma

Estos parámetros a seguir son:

##### 4.4.2 Límite de detención

Es la menor cantidad que puede ser distinguida del fondo con cierto nivel de confianza especificado (Guía de cromatografía UCV, 2008).

Para un resultado analítico que es muy cercano al valor del blanco, se plantea la duda de si el valor corresponde a valores aleatorios del blanco o a la presencia real del analito. La señal de fondo es producida por el blanco y exhibe ruido. El límite de detección (LD) corresponde a una señal  $k$  veces la desviación estándar del ruido de fondo. Típicamente el valor de  $K$  es igual a 4 ( $LD=3\sigma_F$ ). Los valores por encima del LD pueden ser atribuidos a la presencia del analito y los valores por debajo del LD son indicativos de la ausencia de analito en cantidades detectables. (OAA; DC-LE-05) (Guía de cromatografía UCV, 2008).



#### 4.4.3 Límite de cuantificación

Es la menor cantidad que puede ser determinada cuantitativamente con una incertidumbre asociada para un dado nivel de confianza (Guía de cromatografía UCV, 2008).

Para el análisis cuantitativo debe quedar claro que sólo se emplean valores atribuibles al analito. El límite de cuantificación es entre 3 y 10 veces el límite de detección según cada caso (OAA, DCLE-05) (Haidong Zhou, 2009).

El límite de cuantificación se emplea cuando se realizan determinaciones de analitos a nivel de trazas. Por determinación de una incertidumbre máxima permisible de los resultados (dada como dispersión relativa del 30% por ej.) por medio de la determinación de la concentración más pequeña que se puede medir con este valor máximo. Este límite depende entonces de las exigencias de la incertidumbre.

#### 4.4.5 Sensibilidad

Es una medida del factor de respuesta del instrumento como una función de la concentración. Normalmente se mide como la pendiente de la curva de calibración. Es el cambio de la respuesta del instrumental que se corresponde con el cambio de la concentración del analito.

Dentro del rango lineal de un método, si se intercepta la curva de respuesta, la sensibilidad es un parámetro útil para calcular y usar en la fórmula de cuantificación.

A veces se usa la sensibilidad para referirse al límite de detección del equipo, pero esto no se aprueba generalmente (Guía de cromatografía UCV, 2008).

#### 4.4.6 Porcentaje de recuperación (% Rec)

Proporción de la cantidad de analito presente en la porción de la muestra o adicionado a ésta, que es cuantificada por el método de ensayo (Arias, 2012).

Normalmente se utiliza para evaluar la recuperación en porcentaje (% de recuperación) del analito presente o agregado a una muestra de control de calidad. Evalúa la eficiencia de extracción, proceso de preparación o interferencias que pueden existir al aplicar el método de ensayo.

La fracción de analito adicionada a una muestra de prueba (fortificada o con "spike") previa al análisis, el porcentaje de recuperación (% R) se calcula de la siguiente manera:

$$\% R = \left( \frac{CF - CU}{CA} \right) \times 100 \qquad \text{Ecuación 2}$$

Dónde:

- CF = Concentración del analito medida en la muestra fortificada
- CU = Concentración de analito medida en la muestra sin fortificar
- CA = Concentración de analito adicionada.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 Contaminación de los PCPS:

Para la contaminación y elaboración de las curvas de calibración de las muestras, se procedió a preparar una solución madre concentrada, con un volumen de 1 L, obteniéndose una concentración de 40 mg/L de cada uno de los PCPs de interés (Bromuro de cetil-trimetilamonio, Hexametilentetramina, Trietanolamina, Hidroquinona, Galaxolide, Dihidrojasmonato, Benzofenona). Se realizaron 3 ensayos de manera aleatoria, cada análisis se realizó semanalmente, efectuando la curva de calibración y la contaminación de las muestras para el porcentaje de recuperación que se determina según la ecuación 2, con el fin de calcular el método más eficaz dependiendo de los resultados de cada ensayo.

En la siguiente tabla se presentan las referencias y marcas de cada uno de los estándares en estudio.

ESTÁNDARES	PUREZA (%)	N° CAS	MARCA	REFERENCIA
Bromuro de cetil trimetilamonio	99	57-09-0	Merck (200 g)	4161772
Hexametilentetramina	99,5	100-97-0	MERCK(250g)	1332433
Hidroquinona	99,4	123-31-9	MERCK(250g)	8223330250
Trietanolamina	99	102-71-6	MERCK(250ml)	K39050979
Galaxolide	50	1222-05-5	SAFC	W520608-1KG
Dihidrojasmonato	96	24851-98-7	SAFC	N340504-1KG-K
Benzofenona	99	119-61-9	MERCK (250g)	8.01801.0250

Tabla 2. Características de los Estándares utilizados en la contaminación.

### 5.2. Elaboración de la curva de calibración:

Para estimar la concentración de los PCPs en la muestra de manera confiable, se prepararon curvas de calibración según sus concentraciones que van desde 5 mg/L a 50 mg/L.

Estas curvas se realizaron para calcular la concentración en la cual se recuperó los contaminantes en la muestra y comprobar el método empleado para su extracción.

### 5.2.1 Análisis cualitativo:

Se realizó con ayuda de patrones: los tiempos de retención de los picos desconocidos, se compararon con los tiempos de retención de compuestos conocidos y en las mismas condiciones experimentales.

### 5.2.2 Análisis cuantitativo:

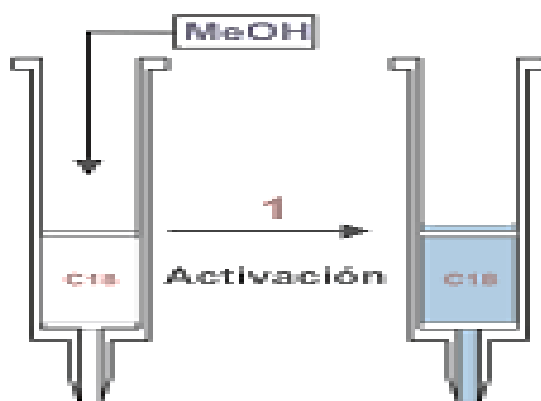
En cromatografía de gases los parámetros cuantitativos son la altura o el área, del pico del analito, los cuales son comparados con la de uno o más patrones.

## 5.3 Metodología de la extracción.

Para la extracción de los PCPs, se utilizó la técnica de extracción en fase sólida (SPE).

### 5.3.1 Extracción en fase sólida (SPE) o clean up.

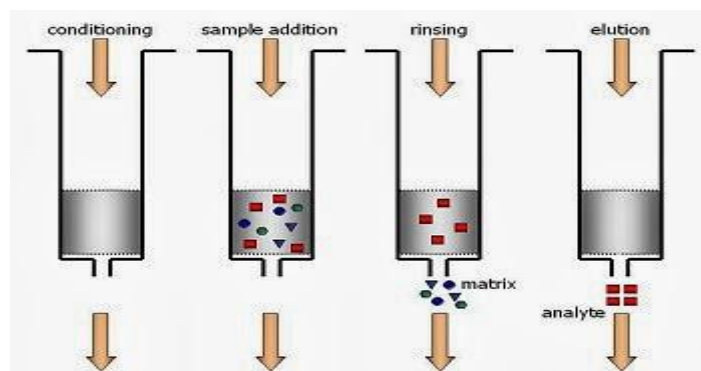
La limpieza de los PCPs se realiza para minimizar las interferencias que pueden afectar en la separación, la detección y la cuantificación, como son algunos extractos orgánicos que contienen los compuestos en estudio, eliminando así las impurezas, hidratando la fase estacionaria y facilitando la transferencia de materia con la muestra (Pérez, 2014). En la figura 10, se presenta el proceso de acondicionamiento de la columna de extracción en fase sólida (SPE).



**Figura 10. Acondicionamiento de la columna de extracción en fase sólida (SPE)**

Fuente: Czombal S.L, Hacer 30-32. 08038 BARCELONA, Extracción en fase sólida EFS-SPE

En ella se hace pasar la muestra a través de una columna de SPE (polar, apolar, intercambio iónico etc.) que consiste en retener algunos de los compuestos y el resto pasan inalterados. En la siguiente figura se presenta el proceso de extracción en fase sólida (SPE).



**Figura 11. Esquema del procedimiento de SPE como método de extracción.**

Fuente: ARIAS G. A, Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de *luffa cylindrica*, Universidad Tecnológica de Pereira, 2012.

Para la extracción SPE de las muestras se utilizó cartucho ENVI-carb que está compuesto por una resina polimerica de aminopropil, contenido de 5 % de carbono grafitado y cartucho C-18 que está compuesto por una superficie de sílice, su estructura es  $H_3SiOH$  y son los más populares porque son rígidos, económicamente favorables, reproducibles y estables. Estos cartuchos ayudan a retener (extraer) analitos polares y apolares. Para ello se utilizaron diferentes métodos con el fin de obtener un ensayo eficaz que garantice el acondicionamiento y elución de cada uno de los compuestos.

Para cada análisis, se utilizó un volumen de muestra de 1L de agua desionizada donde estaban contenidos todos los PCPs, (Bromuro de cetil-trimetilamonio, Hexametilentetramina, Trietanolamina, Hidroquinona, Galaxolide, Dihidrojasmonato, Benzofenona). De allí se tomó una alícuota de 200 mL, medida con una probeta. Este se filtro en una bomba al vacío a través de un filtro de Banda azul  $0,45 \mu m$  de 47 mm de Millipore (Fischer), y después se acidificó a pH 2 con ácido clorhídrico concentrado. Finalmente se procedió a limpiar la muestra a través del proceso de extracción (SPE).

### 5.3.1.1 Proceso de extracción.

#### 5.3.1.1.1. Ensayo N°1.

En este ensayo se utilizó una columna de extracción polimérica en fase sólida cartucho ENVI-carb. El cartucho fue activado con 5 mL de acetonitrilo, inmediatamente se hizo pasar la muestra en el cartucho para garantizar su limpieza y retener los analitos de interés. Se procedió a filtrar con una velocidad de flujo de 10 mL/min la cual se controló mediante una bomba al vacío, para que la muestra pueda pasar a través de la columna con una superficie de contacto uniforme y un tiempo de contacto (flujo) constante (GIL, 2012). Después se dejó secar el cartucho por 30 min, de allí se eluyeron los analitos con 5 mL de acetato de etilo. El extracto se evaporó hasta 1 mL bajo una corriente suave de nitrógeno y se reconstituyó en 1,5 mL. Finalmente, las

soluciones se almacenaron en viales de 1,5 mL con tapa de septum perforable (Agilent), refrigerándolas para su posterior análisis cromatográfico.

#### 5.3.1.1.4 Ensayo N°2.

Antes de la aplicación de la muestra, la columna SPE-C18 se acondicionó al pasar consecutivamente a través 3 mL de metanol, 3mL de agua destilada y 3 mL agua destilada acidificada a (pH 3,0). Seguidamente se acidificó (pH 3,0) agua purificada conteniendo los analitos de interés. La muestra se homogenizó bien y se adicionó a través del cartucho polimérico. Después se eluyó la muestra con 5 mL de ácido fórmico al 5% en metanol. De allí el extracto se evaporó hasta 1 mL bajo una corriente suave de nitrógeno. Los resultantes de los extractos de metanol fueron almacenados en viales de 1,5 mL para ser analizados directamente por el cromatografo de gases.

#### 5.3.1.1.5 Ensayo N°3.

Para este último ensayo de extracción de los PCPs, se realizó la extracción a través de la columna de extracción polimérica en fase solida cartucho ENVI-carb, la cual fue activada con 5 mL acetona / agua destilada (1:1). Seguidamente se hizo pasar la muestra a través del cartucho y se procedió a filtrar con una velocidad de flujo de 10 mL/min. Esta velocidad se controló mediante una bomba al vacío para que la muestra pueda pasar a través de la columna con una superficie de contacto uniforme y un tiempo de contacto flujo constante (Canosa 200). Después se dejó secar el cartucho por 30 min y de allí se eluyeron los analitos con 5 mL de acetato de etilo. El extracto se evaporó hasta 0,5 mL, bajo una corriente suave de nitrógeno, y se reconstituyo en 1,0mL. Finalmente, las soluciones se almacenaron en viales de 1,5 mL con tapa de septum perforable (Agilent), refrigerándolas para su posterior análisis cromatográfico.

### 5.4 Análisis cromatográfico:

Las muestras se inyectaron en un cromatógrafo de gases de la Escuela de Química de la Universidad Tecnológica de Pereira, con detector de ionización por llama (FID) equipado con autoinyector AOC-i20+s, automuestreador AOC-20s, inyección Split-splitless. El equipo de cromatografía de gases (GC-FID), utilizado para el análisis, se muestra a continuación en la Foto 1.



Foto 1. Cromatografo de gases de la Universidad Tecnológica de Pereira, utilizado para el análisis de los PCPs. Por Valeria Duque

#### 5.4.1 condiciones instrumentales (GC-FID).

Las condiciones cromatograficas del equipo (GC-FID), se muestran a continuación en la tabla 3.

<b>Inyector</b>	
Temperatura	40 cm s <sup>-1</sup>
Modo de inyección	Splitless
Volumen de inyección	1 µL
<b>Columna</b>	Capilar
Fase estacionaria	DB5 (5 % fenil, 95 % dimetilpolsiloxano)
Dimensiones	30 m x 0.25 mm i.d x 0.25 µm
<b>Programa de temperaturas</b>	
Temperatura inicial	60°C(2min)
Rampa de temperaturas	15°C/min hasta 320°C(manteniendo la T x 5 min)
Tiempo total de análisis	50 min
Gas portador	He
Flujo de columna	1.0 min (constante)

Tabla 3. Condiciones instrumentales del cromatografo de gases.

#### 5.4.2 Gas de arrastre.

El gas portador para este análisis fue helio al 99.99% en pureza a una velocidad constante lineal promedio de 40 cm s<sup>-1</sup>.

#### 5.4.3 Método cromatográfico.

El cromatógrafo de gases se programó a una temperatura inicial de 60°C por dos minutos, seguido de un aumento de la temperatura de 60°C a 120°C con

una rata de 15°C/min, luego de 120°C a 160°C con una rata de 4°C, después de 160°C a 220°C con una rata de 7°C, seguido de 220°C a 290°C con una rata de 5°C y por último se llevara hasta 320°C con una rata de 10°C/min, y se mantiene a esta temperatura por 10 minutos.

#### 5.4.4. Columna cromatográfica

Las características de la columna son 30 m longitud x 0.25 mm diámetro interno x 0.25 µm espesor de película de es DB-5 (5 % fenil, 95 % dimetilpolsiloxano).

En la figura 12 se presenta el diagrama de flujo del método cromatográfico (GC-FID).

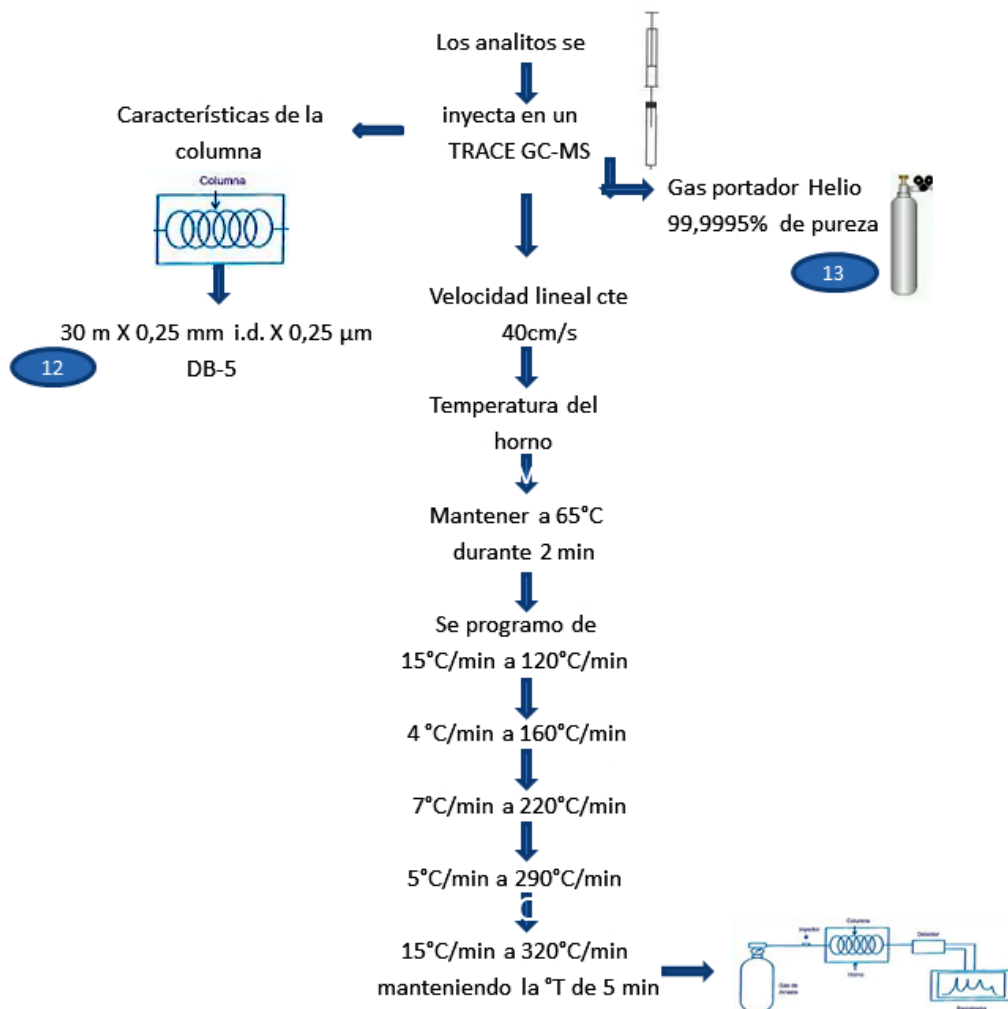


Figura 12. Diagrama de flujo. Cromatografía de gases

## 5.5 Análisis cromatográfico para los Estándares de los PCPs.

Inicialmente se realizó el análisis cromatográfico de los analitos de interés, (Galaxolide, Dihidrojasmonato, Benzofenona, Hidroquinona, Hexametilentetramina, Bromuro de cetil-trimetilamonio, Trietanolamina.) Cada muestra se preparó a 20 ppm utilizando diferente solvente por la polaridad de los PCPs, para la Hidroquinona, Hexametilentetramina, Bromuro de cetil-trimetilamonio y Trietanolamina por ser compuestos polares se usó Metanol tipo HPLC y para los compuestos apolares, Galaxolide, Benzofenona y Dihidrojasmonato, se utilizó Acetona tipo HPLC obteniendo de esta manera las alturas, o áreas de picos en función de la concentración representativos de cada PCPs.

## 5.6 Calibración

Para la calibración del método se realizaron diluciones a partir de los estándares, se prepararon patrones para preparar las curvas de calibración los PCPs, que van comprendidas entre los valores de 5ppm hasta 50ppm. En la siguiente tabla se observan las concentraciones para la preparación de la curva.

Patrones	Concentración (mg/L)
1	5
2	15
3	25
4	35
5	50

Tabla 4. Concentraciones de los patrones para la preparación de las curvas de calibración.

## 5.7 Tratamiento estadístico

Para cada curva de calibración de los PCPs, se calcularon datos estadísticos necesarios para la confiabilidad del método.

$R^2$ : Coeficiente de correlación

Relación lineal

LD: Limite de detección

LC: Limite de cuantificación

Sensibilidad.



El parámetro de coeficiente de relación  $R^2$  fue suministrado por el software de referencia Gc solution del cromatógrafo de gases, la relación lineal de las curvas de calibración se determinó realizando una representación gráfica, de la cual se obtuvo la ecuación de la recta pendiente.

Los valores de los datos LD y LC se calcularon a partir de la relación señal/ruido; el cual es el más empleado para métodos instrumentales cromatográficos. El LC se calculó para la concentración que proporcione una señal 10 veces superior a la señal producida por el ruido de fondo (blanco), el LD será igual a la concentración de analito que proporcione una señal 3 veces superior a éste (Arias, 2012).

### **5.8 Contaminación de PCPs en muestras reales.**

Se realizó un aporte para el Grupo de investigación Agua y saneamiento de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Tecnológica de Pereira, donde se ha incluido el desarrollo de la técnica en un ensayo de fitotoxicidad, este ensayo consistió en evaluar la tolerancia de cuatro especies vegetales (*Heliconia*, *Zingiber officinale*, *Thypha Latifolia*, *phramites australis*) al ser expuestas a una mezcla de productos farmacéuticos y de cuidado personal.

Un ensayo de fitotoxicidad, consiste en determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre las plantas de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de las plantas, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos (Castillo, 2004). También incluyen reducción del crecimiento, alteraciones en la reproducción, y los cambios de comportamiento.

Básicamente el ensayo de fitotoxicidad tuvo una duración de tres semanas, donde se realizó la contaminación de 13 de los ensayos, para lo cual se tomaron los cuatro individuos de cada especie y se colocaron cada una en un recipiente de vidrio de 8L en agua potable con una solución nutriente estándar (NPK), tapado con papel aluminio para el control de algas, luego fueron adicionados una mezcla de los PCPs seleccionados y se realizaron mediciones de las concentraciones de concentración de PCPs al inicio del experimento, para las mediciones se realizaron extracciones, obteniendo las concentraciones a través de la técnica de cromatografía de gases, y de esta manera reportar resultados de porcentaje de remoción y estado final de las plantas.

En las siguientes imágenes se muestra la preparación de los diferentes ensayos:



**Foto 2. Momento de preparación de cada ensayo. Por Sandra Rincón**



**Foto 3. Momento de contaminación en los ensayos de fitotoxicidad. Por Sandra Rincón**

Para los ensayos fueron utilizados dos de los PCPs. (Bromuro de cetil-trimetilamonio, Hidroquinona). Se contaminaron a una concentración de 40 mg/L.



**FOTO 4. Preparación de los diferentes ensayos de fitotoxicidad. Por Valeria Duque**

### 5.8.1 Recolección de las muestras.

La recolección de las muestras se realizó siguiendo las recomendaciones del Estándar Methods, for the Examination of Water and Wastewater. Las muestras de agua se conservaron refrigeradas a 4° C y en ausencia de luz (botellas de vidrio ámbar) a su pH natural en un periodo máximo de cuatro días para garantizar su estabilidad. En la siguiente imagen se observa la preparación para la toma de muestras.



Foto 5. Momento de la toma de muestra de los 13 ensayos. Por Sandra Rincón

### 5.8.2 Extracción en fase solida (SPE)

Para la extracción y limpieza de los PCPs en el ensayo de fitotoxicidad, se utilizó la técnica de extracción en fase solida (SPE).

En cada análisis se utilizó un volumen de muestra de 1L de cada ensayo, tomándose un alícuota de 200 mL y se procedió a filtrar por medio de un filtro de Banda azul 0,45  $\mu\text{m}$  de 47 mm de Millipore (Fischer), y después se acidificó a pH 2 con ácido clorhídrico concentrado.

En la siguiente imagen se muestra el proceso de filtración.



Foto 6. Filtración de muestras. Por Valeria Duque

Para la extracción SPE Se utilizaron cartuchos ENVI-carb, que ayudan a retener (extraer) analitos polares, los cuales son afines con los analitos utilizados en la contaminación para el ensayo de fitotoxicidad, estos son absorbidos en el soporte y luego eluidos, los cartuchos ENVI-carb contienen partículas esféricas de 125  $\mu\text{m}$  lo que supone una gran ventaja para aplicaciones de gran volumen y flujo rápido.

En la siguiente imagen se presenta el proceso de extracción con cartucho polimérico ENVI-carb.



FOTO 7. Extracción en fase solida (SPE). Por Sandra Rincón

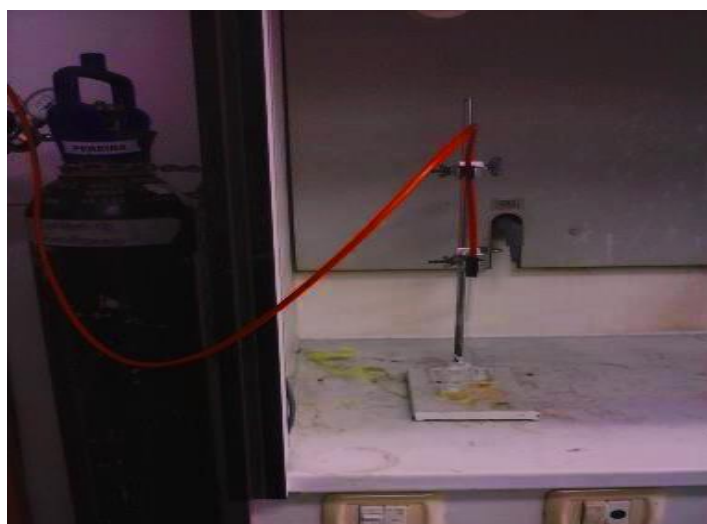
Los cartuchos fueron activados eluyéndose con 10 mL de acetonitrilo tipo HPLC en esta etapa la activación de la muestra con acetonitrilo es muy importante para “humidificar” la fase, luego se procede a retener los analitos en el absorbente, las interacciones entre las moléculas de la muestra y la fase estacionaria controlan la retención, con una velocidad de flujo de 10mL/min. Este caudal fue controlado por un equipo de extracción al vacío indicado en la siguiente imagen:



**Foto 8. Equipo de Extracción en fase solida con velocidad de flujo 10ml/min. Por Sandra Rincón**

Por último los analitos fueron eluidos con 5 mL de acetato de etilo. El extracto se evaporó hasta sequedad bajo una corriente suave de nitrógeno y se reconstituyo en 1 mL de metanol.

En la siguiente imagen se presenta el proceso de evaporación de la muestra.



**Foto 9. Evaporación del extracto de PCPs con nitrógeno. Por Valeria Duque**

### 5.8.3 Método cromatográfico.

El método cromatografico para este análisis es el descrito en el numeral 5.4.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan las cromatogramas de cada PCPs, (Bromuro de cetiltrimetilamonio, Hexametilentetramina, Trietanolamina, Hidroquinona, Galaxolide, Dihidrojasmonato, Benzofenona) de estudio.

- Hexametilentetramina.

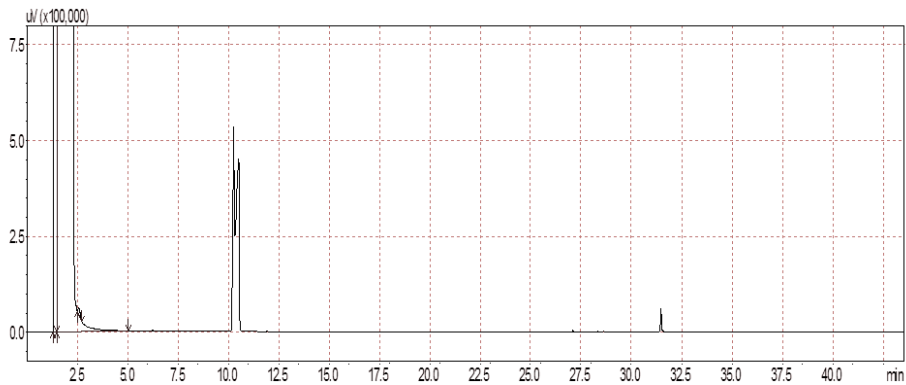


Figura 13. Cromatograma de Hexametilentetramina

- Bromuro de cetiltrimetilamonio



Figura 14. Cromatograma de Bromuro de cetil-trimetilamonio.

- Trietanolamina

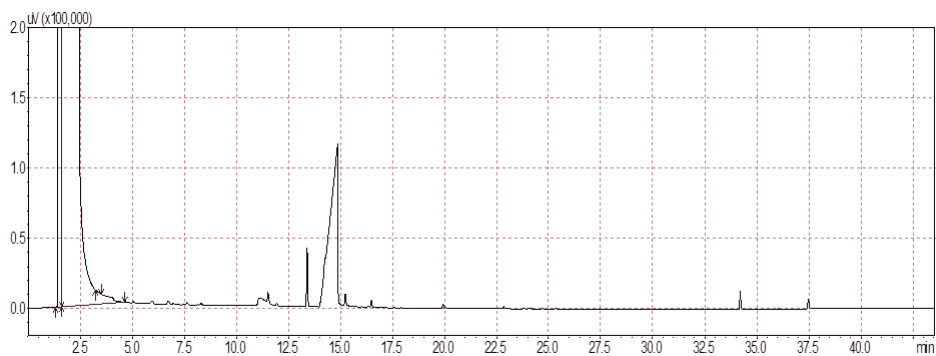


Figura 15. Cromatograma de Trietanolamina

- Hidroquinona

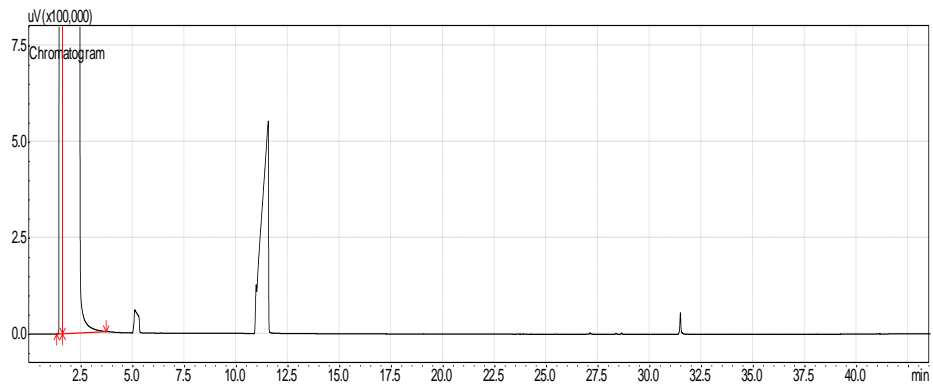


Figura 16. Cromatograma de Hidroquinona

- Dihidrojasmonato

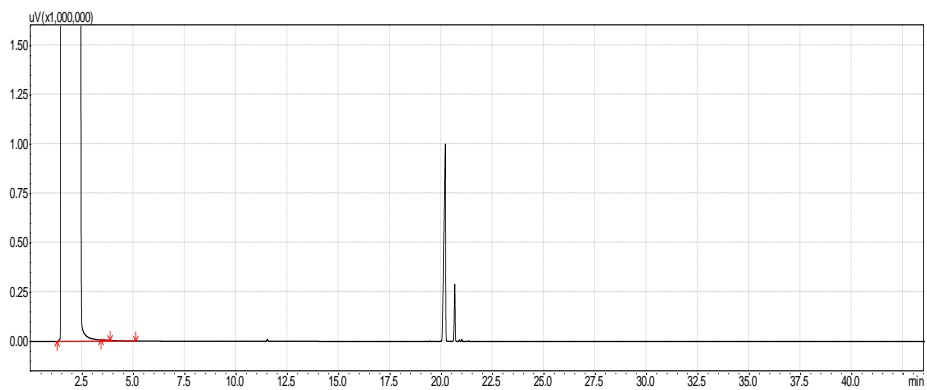


Figura 17. Cromatograma de Dihidrojasmonato

- Galaxolide

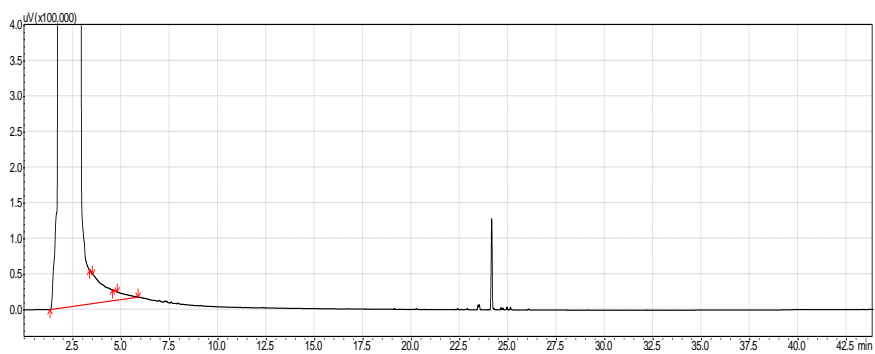


Figura 18. Cromatograma de Galaxolide

- Benzofenona

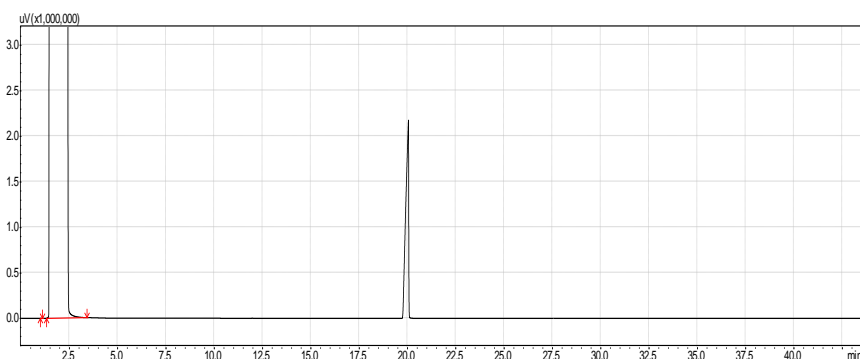


Figura 19. Cromatograma de Benzofenona

En la siguiente tabla se presentan los tiempos de retención de los PCPs en los cromatogramas.

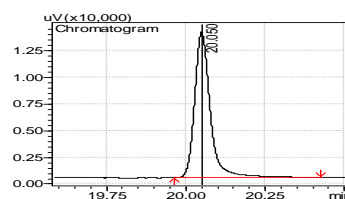
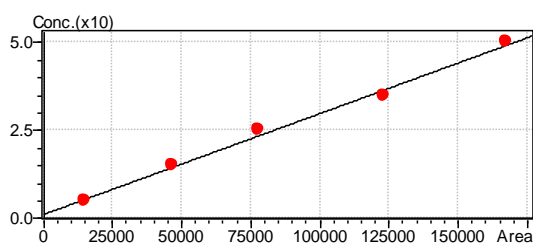
N°	Productos de cuidado personal (PCPs)	Tiempo de retención (min)
1	Hexametilentetramina	10.141
2	Bromuro de cetil-trimetilamonio	7.544
3	Trietanolamina	14.124
4	Hidroquinona	11.115
5	Dihidrojasmonato	20.189
6	Galaxolide	23.794
7	Benzofenona	20.046

Tabla 5. Tiempos de retención de los PCPs.

### 6.1 Calibración.

A continuación se representan gráficamente las curvas de calibración del Dihidrojasmonato, Trietanolamina y Galaxolide.

1. Curva de calibración de Dihidrojasmonato.



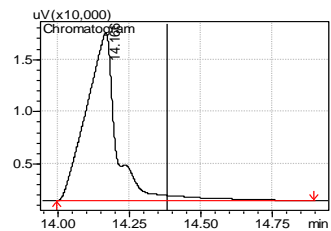
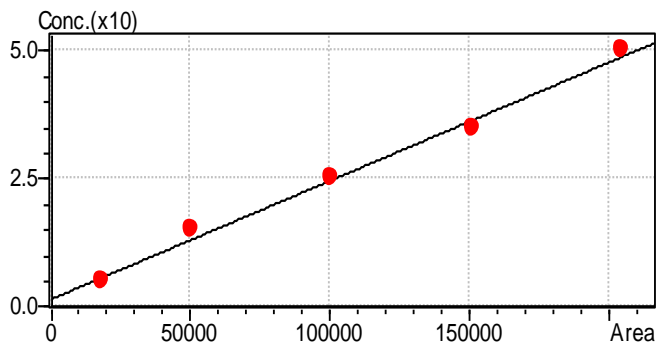


Le v	Concentración (mg/L)	Área
1	5,000	14.799
2	15,000	46.842
3	25,000	77.611
4	35,000	123.247
5	50,000	167.636

$$Y = 3350,5x$$

$$R = 0.9977275$$

## 2. Curva de calibración de la Trietanolamina.

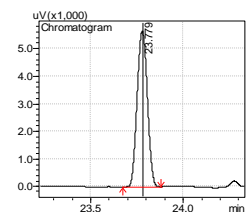
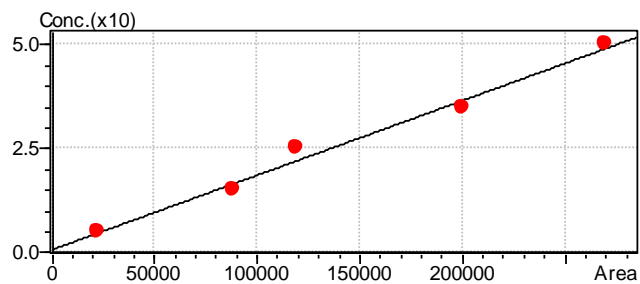


Level	Concentración (mg/L)	Área
1	5,000	18,489
2	15,000	50,352
3	25,000	100,607
4	35,000	151,203
5	50,000	204,935

$$R = 0.9970144$$

$$Y = 4,1091x$$

## 2. Curva de calibración de Galaxolide



Level	Concentración (mg/L)	Área
1	5,000	22.330
2	15,000	88.254
3	25,000	119.565
4	35,000	200.092
5	50,000	270.059

$$R = 0.9943770$$

$$y = 5419,7x$$

Los demás cromatogramas se presentan en el **Anexo 1**.

## 6.2 Tratamiento estadístico.

Los resultados de los datos estadísticos se encuentran suministrados en la tabla N°6.

Productos de cuidado personal (PCPs)	Sensibilidad	R <sup>2</sup>	LD	LC
Hexametilentetramina	3.4033	0.9951626	0.4236	0.715
Bromuro de cetil-trimetilamonio	4.1196	0.9874612	0.5737	0.969
Trietanolamina	4.1091	0.9940377	0.0428	0.072
Hidroquinona	3629,5	0.9996600	0.4137	0.699
Dihidrojasmonato	3350,5	0.9954601	0.1119	0.163
Galaxolide	5419,7	0.9887857	0.077	0.112
Benzofenona	7163,4	0.9974010	0.021	0.032

Tabla 6. Resultados de coeficiente de relación, LD, LC, y sensibilidad de los compuestos

Según los datos obtenidos los resultados de coeficiente de correlación (R<sup>2</sup>), para la mayoría de los datos son de R<sup>2</sup> ≥ 0.99 indicando un comportamiento lineal (Arias, 2012).

El promedio de los coeficientes de correlación R<sup>2</sup> es de 0.994420, indicando que en general las curvas de calibración presentan un comportamiento lineal pues el valor de R<sup>2</sup> es cercano a la unidad (Arias, 2012).

El valor de la sensibilidad se relaciona al valor de la pendiente de las curvas de calibración. Al observar los resultados de la tabla 7 se deduce que se obtuvo valores de sensibilidad buenos, debido a que a mayor pendiente mejor sensibilidad del método, permitiendo detectar los mínimos cambios de concentración de los analitos en la muestra.

Se determinaron los límites de detención (LD) y límites de cuantificación (LC). Los límites de detección, estimados como la mínima concentración detectada más no cuantificada bajo las condiciones experimentales, para lo cual indica que se logra una detección mínima del LD en 0.021 de la Benzofenona y la detección mínima del LC en 0.032. en la Benzofenona

### 6.3 Porcentajes de recuperación

Para los ensayos N<sup>o</sup> 1, 2 y 3 de extracción en fase solida (SPE), según el acondicionamiento de los cartuchos (SPE-C18 y SPE-ENVI-carb), respectivamente, se obtuvieron los siguientes cromatogramas donde se indican los tiempos de retención de los PCPs y las concentraciones arrojadas por el software Gc Solution del cromatografo.

#### Ensayo N<sup>o</sup> 1 Acondicionamiento del cartucho ENVI-carb con acetonitrilo.

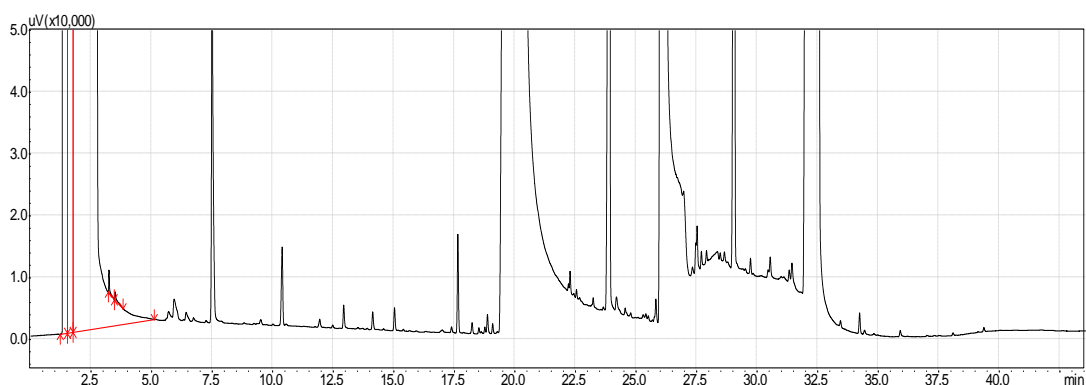
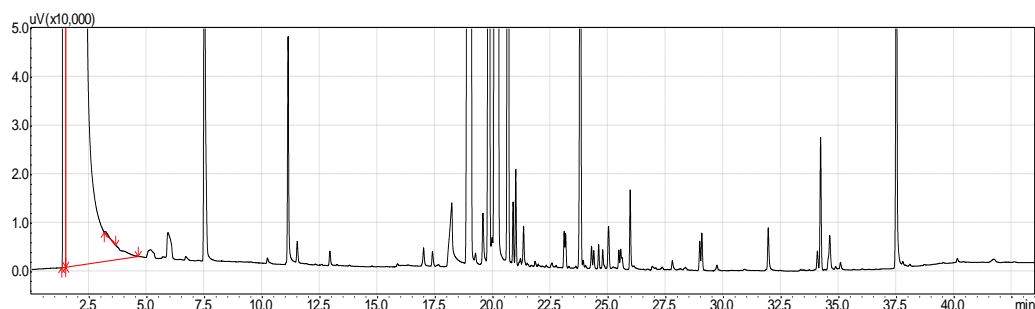


Figura. N<sup>o</sup> 20 Cromatograma de ensayo N<sup>o</sup> 1 arrojado por el cromatografo.

PCPs	Tiempo de retención (min)	Concentración (mg/L)	Porcentaje de recuperación
Bromuro de cetil trimetilamonio	7.497	47.29106	118,220
Hexametilentetramina	10.389	16.49390	41,23475
Hidroquinona	11.112	39,203	98,0075
Trietanolamina	14.128	3,37068	8,4267
Galaxolide	23.781	NI	-
Dihidrojasmonato	20.052	NI	-
Benzofenona	19.830	NI	-

Tabla N<sup>o</sup> 7. Datos de resultados arrojados por el software del cromatografo. NI: No identificado

**Ensayo N° 2** Acondicionamiento del cartucho polimérico (C-18) con 3 mL de agua destilada, 3 ml de agua destilada acidificada con HCl concentrado y 3 mL de metanol.

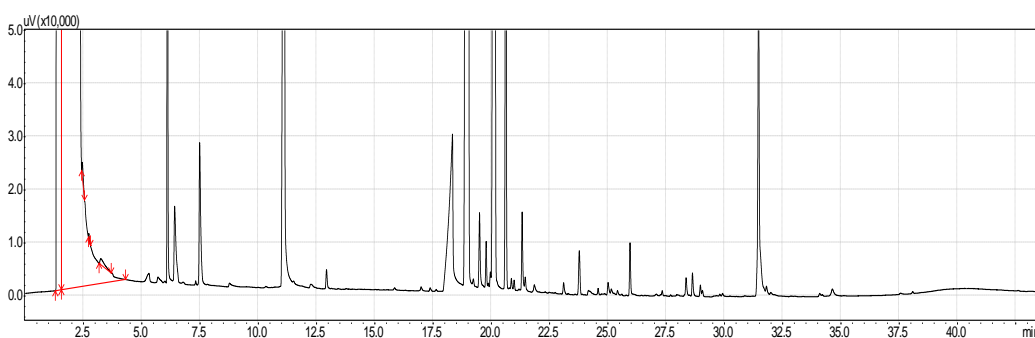


**Figura. 21** Cromatograma de ensayo N° 2 arrojado por el cromatografo.

PCPs	tiempo de retención (min)	Concentración (mg/L)	Porcentaje de recuperación
Bromuro de cetil trimetilamonio	7.486	NI	-
Hexametiltramina	10.222	8.33312	20.83
Hidroquinona	11.118	47.29265	127.14
Trietanolamina	ND	ND	ND
Galaxolide	23.781	NI	-
Dihidrojasmonato	20.052	NI	-
Benzofenona	19.830	NI	-

**Tabla N° 8.** Datos de resultados arrojados por el software del cromatografo. ND: No detectado. NI: No identificado

**Ensayo N° 3** Acondicionamiento del cartucho (ENVI-carb) con acetona y agua



**Fig. 22** Cromatograma de ensayo N° 3 arrojado por el cromatografo.

PCPs	tiempo de retención (min)	Concentración (mg/L)	Porcentaje de recuperación
Bromuro de cetil trimetilamonio	7.488	25.61165	64.029

Hexametilentramina	10.323	7.53096	18.8274
Hidroquinona	11.112	NI	-
Trietanolamina	ND	ND	ND
Galaxolide	23.781	27.9901	70
Dihidrojasmonato	20.052	NI	-
Benzofenona	19.830	NI	-

**Tabla N° 9. Datos de resultados arrojados por el software del cromatografo. ND: No detectado. NI: No identificado.**

En el ensayo N° 1, 2 y 3 se observan las influencias importantes de las variables SPE, tales como el volumen y pH de la muestra, el tipo de cartucho, el acondicionamiento de la fase con los solventes adecuados y la elución de los PCPs con acetato de etilo, permitieron una alta eficiencia de remoción en los compuestos de Bromuro de cetil-trimetilamonio con un porcentaje de 118%, Hidroquinona con 98% en el primer ensayo, y en el segundo ensayo, Hidroquinona con un porcentaje de 127.14% y para el tercer ensayo, Galaxolide con un 70%.

Según los parámetros establecidos por el método 1694 de la norma EPA (Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos), señalan que un valor mínimo de recuperación aceptado es de 70% y un máximo es de 130% (EPA, 2007), para lo cual, estos compuestos cumplen con lo requerido en porcentajes de recuperación.

La naturaleza no porosa de la fase de carbono del cartucho utilizado (ENVI-carb), permitió el procesamiento rápido y de adsorción de los compuestos, el cual ofrece una afinidad extrema a compuestos polares y no polares orgánicos De ambas matrices no polares y polares cuando se usan bajo condiciones de fase inversa.

Las interacciones que se presentaron entre los analitos y los grupos apolares de la fase estacionaria (ENVI-carb), fueron eficientes, ya que los solventes que se utilizaron en el acondicionamiento, lavado y elución para este tipo de analitos fueron los adecuados atendiendo a sus propiedades físicas y químicas las cuales favorecieron las fuerzas de retención y las fuerzas de elución (Villa, 2011).

El solvente que se utilizó en la elución de los PCPs, fue acetato de etilo el cual es un disolvente fuerte y capaz de romper las interacciones hidrófobas de los analitos y los grupos funcionales de la fase estacionaria (ENVI-carb) (Villa, 2011), por lo tanto este disolvente extractor fue eficiente para el análisis.

En el ensayo N<sup>o</sup> 2, con fase estacionaria (C18) la Hidroquinona obtiene un buen porcentaje de recuperación debido a la acidificación en el proceso de extracción ya que en algunos casos, el ajuste del pH de la muestra es necesario para estabilizar y aumentar su retención en la fase (Silveira, 2013).

Para el ensayo N<sup>o</sup> 3 con cartucho polimérico (ENVI-carb) el resultado fue positivo con un porcentaje de 70% de Galaxolide. Al utilizar la mezcla acetona y agua (1:1) para el acondicionamiento del absorbente y la elución con acetato de etilo, lo que favoreció la retención de los compuestos tanto polares como apolares. Para este caso la interacción entre el analito y la fase estacionaria permitió que los compuestos tuvieran mejor retención en la fase, obteniendo mejor resultado en el análisis.

Algunos compuestos obtuvieron porcentajes de recuperación mayores a 130%, tales como Dihidrojasmonato y Benzofenona y compuestos que presentaron porcentajes por debajo del 70% como Hexametilentetramina y Trietanolamina. Esto pudo deberse a:

- ✓ Compuestos como Benzofenona y Dihidrojasmonato presentan un tiempo de retención cercano y por consiguiente la señal del detector sea incrementada y no se presenta de forma clara cada uno de los compuestos.
- ✓ También se estima que el detector no presento buena sensibilidad dado el efecto matriz. El efecto matriz consiste en una disminución o aumento de la respuesta del sistema cromatográfico inducida por algunos componentes propios de la matriz (Ahumada, 2010). La elución de impurezas con tiempos de retención iguales a las del analito trae consigo varias consecuencias tales como:
  1. El pico del analito sea enmascarado ocasionando que se reporte un falso negativo.
  2. La señal del detector sea incrementada llevando a problemas de sobrestimación.
  3. La señal del detector sea reducida, ocasionando una mala estimación de la cantidad real del analito en la muestra.

#### **6.4 Contaminación de PCPs en muestras reales**

Teniendo en cuenta que en la extracción en fase solida (SPE) de los PCPs se obtuvieron porcentajes de recuperación de 98% y 118%, se hace necesario aplicar un factor de corrección que permita determinar la concentración correcta de los analitos, para ello se utilizó la siguiente ecuación.

$$Cr = Ce * Fc$$

Dónde:

Cr: concentración de la muestra real.

Ce: concentración obtenida en el equipo.

Fc: factor de concentración (relación entre el volumen final al que se concentró la muestra, con el volumen inicial del cual se partió).

Se calcula la concentración de la muestra real relacionando el resultado obtenido y el porcentaje de recuperación dado por el método más eficiente que se obtuvo para los PCPs.

Para determinar los porcentajes de remoción se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Remoción (\%)} = (Ci - Cf) / Ci \times 100$$

Donde Ci= Concentración inicial y Cf= Concentración final. Los resultados de las concentraciones reales y los porcentajes de remoción obtenidas en la extracción de la muestras, se presentan en la tabla 10.

**Tabla 10. Extracción 20-05-2014**

Concentración final de los analitos usados en la contaminación. <b>EXTRACCIÓN (20/05/2014)</b>						
	Concentración de la			Concentración del		
	Hidroquinona (mg/L)		% de remoción	Bromuro de cetil-trimetilamonio		% de remoción
Ensayos				(mg/L)		
	Concentración Inicial de la Hidroquinona	Concentración Final de la Hidroquinona		Concentración Inicial del Bromuro de cetil-trimetilamonio	Concentración Final del Bromuro de cetil-trimetilamonio	
Heliconia 1	40	0,012	99,97	40	0,0358	99,9105
Heliconia 2	40	0,0002	99,9995	40	0,0228	99,943
Heliconia 3	40	ND	0	40	0,0208	99,948
Matandrea 1	40	ND	0	40	0,0152	99,962
Matandrea 2	40	0,0397	99,90075	40	0,0217	99,94575
Matandrea 3	40	0,0315	99,92125	40	0,0299	99,92525
Typha1	40	0,0357	99,91075	40	0,0189	99,95275
Typha2	40	ND	0	40	ND	0

Typha3	40	ND	0	40	0,0271	99,93225
Phragmites 1	40	ND	0	40	0,0306	99,9235
Phragmites 2	40	0,06	99,85	40	0,018	99,955
Phragmites 3	40	ND	0	40	0,0219	99,94525

Tabla 10. Toma de muestras. Plantas H1, H2, H3: *Heliconia psittacorum*. Plantas Z1, Z2, Z3: *Zingiber officinale*. Plantas T1, T2, T3: *Thypha latifolia*. Plantas P1, P2, P3: *Phragmites australis*, ND: No Detectado.

A partir de los resultados obtenidos en este ensayo se confirma que muchas de las plantas de prueba absorbieron y removieron gran cantidad de estos contaminantes, destacando que estas especies de plantas son adecuadas para ensayos de fitotoxicidad,

Su poder de proliferación, capacidad de absorber nutrientes y bioacumulación de contaminantes en el agua, las convierte en una herramienta útil, en el tratamiento de aguas residuales.

Estos ensayos son útiles para identificar el efecto que diferentes concentraciones de un contaminante específico puedan tener sobre las especies presentes en un ecosistema.

A través de la técnica de extracción en fase sólida (SPE), se observa que las condiciones utilizadas para este ensayo fueron eficientes, presentando una buena remoción y buena recuperación para estos dos analitos, según los resultados obtenidos por medio de la técnica analítica de cromatografía de gases.



Foto 10. Estado final de las plantas. Por Valeria Duque.





**Foto 11. Estado final de las plantas. Por Sandra Rincón.**

El proceso de remoción biológica de las plantas, depende de la captación de la planta sembrada, la velocidad de remoción de los contaminantes, dependen de la velocidad con la que la planta crezca y la concentración de la materia que contamina en el tejido de la planta. (Paredes y Kuschik, 2001).

Para este proyecto se realizó una guía como producto derivado de los análisis, los detalles de esta se encuentran en el **Anexo 2**.

## 6. CONCLUSIONES.

- Se logró el desarrollo de la técnica cromatográfica (GC-FID) para la determinación de contaminantes emergentes tipo productos de cuidado personal, obteniéndose confiabilidad del método, ya que se calculó un promedio de correlación lineal  $\geq 0.99$  y los LD, LC son adecuados para el análisis de trazas de los PCPs.
- Se desarrolló la técnica de extracción en fase sólida (SPE) lográndose la limpieza, separación y purificación de los PPCPs para Bromuro de cetiltrimetilamonio, Galaxolide, Hidroquinona, presentándose porcentajes de recuperación de 70% al 130% según el método 1694 de la norma EPA (Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos).
- El desarrollo de la técnica de extracción en fase sólida (SPE) para el Dihidrojasmonato, Benzofenona, Hexametilentetramina, Trietanolamina, no fueron eficientes, debido a que se presentaron porcentajes de recuperación menores de 70% o mayores de 130% según el método 1694 de la norma EPA (Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos), por lo tanto, los solventes de acondicionamiento, lavado y elución que se utilizaron en cada ensayo no fueron los adecuados para estos analitos y por consiguiente, la fase estacionaria no tendría afinidad alguna con los compuestos.
- La elección de los soportes poliméricos (C-18 y ENVI-carb), para este análisis demostraron un buen mecanismo de retención para el bromuro de cetiltrimetilamonio, Hidroquinona y Galaxolide ya que retienen de forma eficiente los compuestos apolares y polares.
- El desarrollo de la técnica por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID), aporta una herramienta de análisis con la cual se pueden presentar datos confiables y reproducibles, para realizar investigación y análisis de contaminantes emergentes tipo PCPs.

## 7. RECOMENDACIONES

- Para lograr un mejor porcentaje de recuperación de los compuestos es necesario realizar un estudio adecuado de las variables de SPE, tales como, el acondicionamiento del soporte sólido (cartucho), la mejor interacción del solvente con la fase absorbente, el solvente utilizado para la elución de los compuestos por el cartucho utilizado.
- Se hace necesario utilizar otro tipo de solventes o mezclas de estos en la técnica de extracción en fase sólida (SPE) de forma tal que se puedan obtener mejores resultados de recuperación.
- Algunas muestras necesitan ser acidificadas, la acidificación de la solución es importante ya que en algunos casos, el ajuste del pH de la muestra es necesario para estabilizar y aumentar su retención en la fase.
- Algunos compuestos tales como Hexametilentetramina y Trietanolamina requieren un tipo de detector más selectivo como el detector de nitrógeno-fosforo que proporcione mejores resultados de porcentajes de recuperación.
- Para compuestos como Dihidrojasmonato y Benzofenona que presentaron tiempos de retención similares sería conveniente realizar un estudio adecuado en las condiciones cromatográficas, o el uso de un detector más selectivo como el detector de captura electrónica.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

Garcia, Gómez C. 2011 Emerging contaminants: effects and removal treatments. Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau Terre et Environnement), Université du Québec. Canada.

Díaz, Marian. 2012. Productos Farmacéuticos y de higiene personal como Contaminantes. F.C. Medioambiental La Tirajala. Fundación Canaria Medioambiental. España.

Greenpeace. 2005. Análisis químico de 36 aguas de colonia y perfumes. Publicado por Greenpeace Internacional. Campaña de tóxicos de Greenpeace. Recuperado de: <http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/other/eau-de-t-xicos-una-investigac.pdf>.

Akunna, L.C. Saalu, O.S. Ogunmodede, B. Ogunlade, G.A. Adefolaju and A.J. Bello, 2011. The Effects of Two Nigerian Made Perfumes on the Liver of Adult Wistar Rat. Journal of Medical Sciences.

Haidong, Zhou. HUANG, Xia. Gao, Mijun. Wang, Xiaolin. XianghuaWEN. 2009. Distribución y eliminación de almizcles policíclicos en tres plantas de tratamiento de aguas residuales de Beijing, China Revista de Ciencias Ambientales, Volumen 21, Número 5, páginas 561-567.

Becerril, José Elías. 2009. Contaminantes emergentes en el agua. 10 de agosto Volumen 10 Número 8. ISSN: 1067-6079 Recuperado de: <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num8/art54/int54.htm>.

Gil, Miriam Janneth. 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. Volumen 7 Numero 2.

Brigden, Kevin. Labunska, Iryna. Santillo, David & Paul Johnsto. 2000. Vertidos en la cuenca Matanza- Riachuelo, Parque Industrial Burzaco y Planta de Tratamiento de efluentes cloacales de AySA. Buenos Aires. Doney, C. 2004. Legado Químico Contaminación en la infancia. V Recuperado de: <http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/report/contaminacion/legado-qu-mico-contaminaci-n.pdf>

Enguita, Ana Lucia. 2013. Hydroquinone: Environmental Pollution, Toxicity, and Microbial Answers. BioMed Research International. Volume 2013, Article ID 542168, 14 pages.

Supelco. Solid Phase Extraction Products, Improve Sensitivity and Increase Throughput

Sánchez, Prado Lucía. 2009. Estudio de la fotodegradación de compuestos orgánicos mediante microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrometría de masas. Universidad de Santiago de Compostela.

Martínez, Calvo José Antonio. 1996. La perfusión de branquias como modelo de valoración de la calidad de agua y su relación con la producción intensiva de truchas. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria Departamento de Producción Animal. Madrid.

García, María. 2010. Santiago de Compostela. Desarrollo de nuevas metodologías analíticas basadas en la espectrometría de masas en tándem para la determinación de residuos de plaguicidas en productos de origen animal y compartimentos medioambientales relacionados. Trabajo desarrollado en el Centro de Investigación Agrarias de Mabegondo.

Silveira, Sergiane S. Caldas, Juliana R. Guilherme, Fabiane. Costa Bruno de S. Guimarães. 2013. Quantification of Pharmaceuticals and Personal Care Product Residues insurface and Drinking Water Samples by SPE and LC-ESI-MS/MS. J. Braz. Chem. Soc. Sociedade Brasileira de Química. Vol. 24, No. 9, 1385-1395. Brasil.

Canosa, Rodríguez María del Pilar. 2009. Desarrollo de metodología analítica para determinación de Triclosán y Parabenes. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales. Universidad Santiago de Compostela.

Valencia, López Juan Pablo. 2008. Estandarización de la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de metilésteres de ácidos. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química Programa de Tecnología Química Pereira.

Brigden, Labunska. Stringer, R., Johnston, P. Santillo, D. & Ashton, J. 2000. Contaminantes orgánicos y metales pesados en vertidos y sedimentos del Riachuelo. Laboratorios de Investigación de Greenpeace, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Exeter, Exeter, Reino Unido.

Villa, Flores Lina María, Arroyave, García John Edgar. 2011 Estandarización de la técnica de Cromatografía de Gases con detector de ionización de llama para la determinación de Btex (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno) en matrices acuosas. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química Programa de Tecnología Química Pereira.

Douglas, A. Skoog, Stanley R. Crouch, F. James Holler. 2008. Principios de análisis instrumental / Principles of Instrumental Analysis. Cengage Learning Editores.

Pérez, Miguel. 2014. Calidad y Prevención de Riesgos Laborales. Gestión de la calidad y prevención en la empresa. Reproducibilidad y repetitividad. Recuperado de: <http://miquelpes.com/archives/141>

Guía de cromatografía. (2008). Universidad Central de Venezuela. Escuela de química. Recuperado de: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia%20para%20cromatografia.pdf>

Arias, González Andrés Mauricio. 2012. Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroides en semillas de luffa cylindrica. Universidad Tecnológica de Pereira Facultad de Tecnología escuela de Química Pereira.

EPA. 2007. Productos farmacéuticos y Productos de Cuidado Personal en el agua, Suelos, sedimentos y biosólidos por HPLC / MS / MS. Recuperado de <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload>.

Castillo, Gabriela. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México.

Guide to Solid Phase Extraction. Sigma Aldrich. Recuperado de: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4538.pdf>

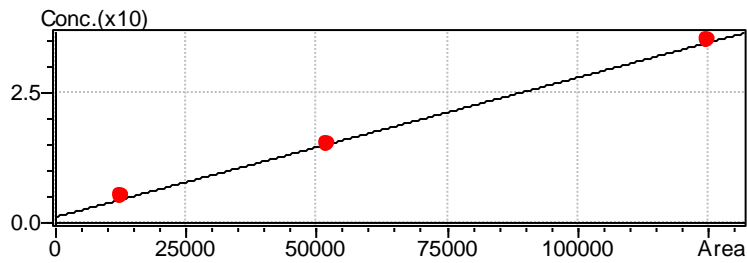
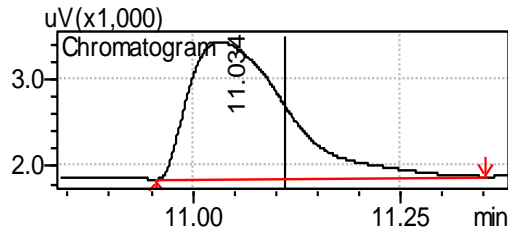
Ahumada, Forigua Diego Alejandro. 2010. Reducción del efecto matriz en el análisis de residuos de plaguicidas por cromatografía de gases. Bogota. Colombia

Boque Ricard. La selectividad en Analisis Químico, Grupo de Quimiometria y Cualimetria. Universidad Rovira ( Tarragona).

## ANEXOS.

### ANEXO 1. Curvas de calibración de los PCPs

- Hidroquinona



Level	Concentración(ppm)	Área
1	5,000	12.854
2	15,000	52.098
3	25,000	95.998
4	35,000	125.033
5	50,000	157.225

$$Y = aX + b$$

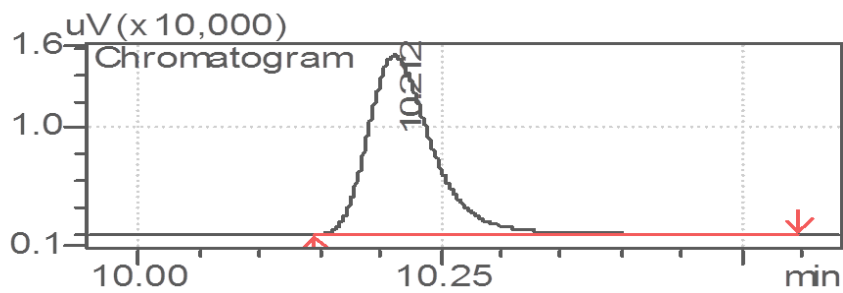
$$b = -0.6686775$$

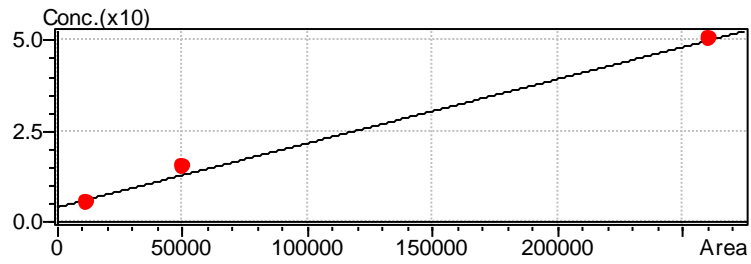
$$R^2 = 0.9996600$$

$$R = 0.9881646$$

$$y = 3629,5x$$

- Hexametilentetramina





Lev	Concentración(ppm)	Área
1	5,000	12,263
2	15,000	50,614
3	25,000	87,479
4	35,000	118,267
5	50,000	261,119

$$Y = aX + b$$

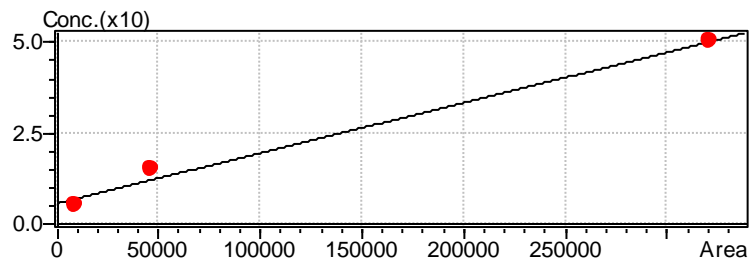
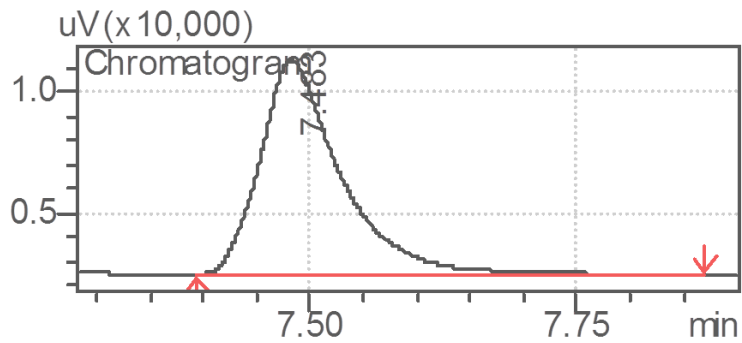
$$b = 7.29073$$

$$R^2 = 0.9951626$$

$$R = 0.9646940$$

$$y = 3,4033x$$

- Bromuro de cetil-trimetilamonio



Lev	Concentración(ppm)	Área
1	5,000	9,005



2	15,000	46,877
3	25,000	96,103
4	35,000	157,157
5	50,000	321,601

$$Y = aX + b$$

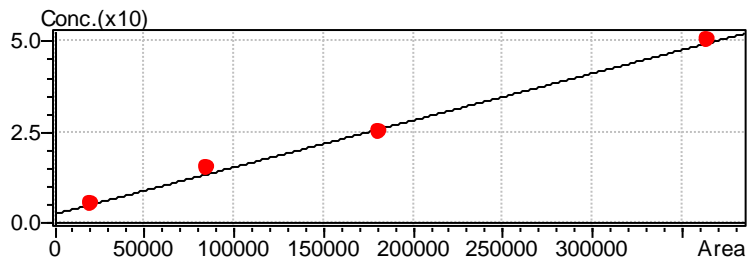
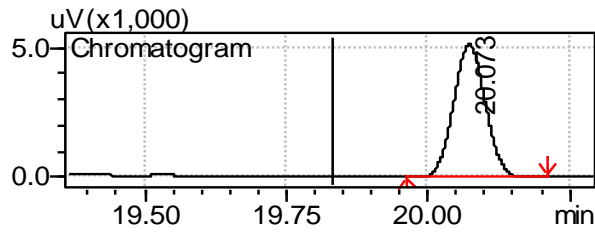
$$b = 8.500759$$

$$R^2 = 0.9896070$$

$$R = 0.9732359$$

$$y = 4,1196x$$

- Benzofenona



Lev	Concentración(ppm)	Área
1	5,000	12,263
2	15,000	50,614
3	25,000	87,479
4	35,000	118,267
5	50,000	261,119

$$Y = aX + b$$

$$b = 5.992112$$

$$R^2 = 0.9896070$$

$$R = 0.9947899$$

$$y = 7163,4x$$

## ANEXO 2.

**SEMILLERO DE CROMATOGRAFIA DE GASES  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA QUÍMICA  
UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA**

**DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES TIPO  
PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL POR LA TÉCNICA DE  
EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE) Y CROMATOGRAFÍA DE  
GASES CAPILAR (GC-FID) EN MATRICES AMBIENTALES**

### CONTENIDO

1. ALCANCE.....	2
2. MEDIDA DE SEGURIDAD.....	2
3. CONCEPTO/ ABREVIATURAS.....	3
4. PRINCIPIO.....	3
5. APARATOS Y EQUIPOS.....	6
6. REACTIVOS Y MATERIALES.....	6
7. MUESTRAS Y MUESTREOS.....	7
8. PROCEDIMIENTOS.....	8
9. CALCULOS.....	13
10. BIBLIOGRAFÍA.....	13

## 1. Alcance

Los métodos Extracción en Fase Solida y Cromatografía de gases son usados en esta guía para la separación, determinación y cuantificación de contaminantes emergentes tipo productos de cuidado personal en matrices acuosas.

## 2. Fichas de seguridad:

Actividad	Riesgo	Medidas de seguridad	N° CAS
Manipulación de ácido clorhídrico concentrado (HCL)	Corrosivo, toxico	Manipular en cabina de gases y usar guantes, gafas y caretas	7647-01-0
Manipulación de hexano	Muy toxico, cancerígeno	Usar guantes y caretas	110-54-3
Manipulación de methanol	Toxico, inflamable	Usar guantes y caretas	67-56-1
Manipulación acetato de etilo	Toxico, cancerígeno	Usar elementos de protección personal	141-78-6
Manipulación de sulfato de sodio anhídrido	Bajo riesgo	Usar elementos de protección personal	7757-82-6
Manipulación del acetonitrilo	Toxico, inflamable	Usar guantes, caretas	75-05-8

## 3. Concepto/ abreviaturas

**SPE:** La extracción en fase solida (SPE) es una técnica que sirve para extraer, limpiar y purificar extractos orgánicos eliminando las interferencias que hayan sido extraídas previamente (Chao, 2010).

**Contaminantes emergentes:** Son contaminantes desconocidos que aun no se encuentran regulados. Hoy en día se habla de contaminantes emergentes y se refiere a productos farmaceuticos, del cuidado personal, surfactantes, aditivos industriales, plastificantes, plaguicidas (Chao, 2010).

**Productos de cuidado personal:** Muchos de estos productos son usados como ingredientes activos o preservativos en cosméticos, productos de baño o fragancias. En ocasiones estas sustancias son usadas en cantidades mayores a las recomendadas. Los productos de cuidado personal se diferencian de los farmacéuticos ya que en grandes cantidades pueden ser directamente

introducidos al ambiente; por ejemplo estos productos pueden ser liberados dentro de las aguas o volatilizados en el aire (Gil, 2012).

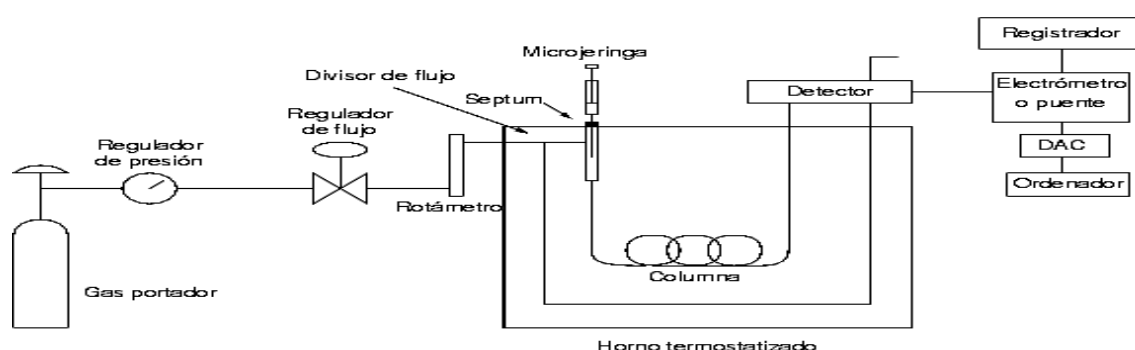
## 4. Principio

### 4.1 Cromatografía de gases.

La cromatografía es básicamente una técnica de separación, su gran capacidad para resolver muestras complejas ha conducido a utilizarla cada vez más como técnica analítica.

Entre las técnicas cromatograficas utilizadas con fines analíticos, la cromatografía de gases es probablemente la técnica de más amplia utilización, ninguna técnica analítica puede ofrecer su capacidad de separación o su sensibilidad a la hora de analizar compuestos volátiles.

Para realizar una separación mediante cromatografía de gases, se inyecta una pequeña cantidad de la muestra a separar en una corriente de gas inerte a elevada temperatura. Esta corriente de gas atraviesa una columna cromatografica que separa los componentes de la mezcla por medio de un mecanismo de partición (cromatografía gas-liquido), de adsorción (cromatografía gas-solido) o, en muchos casos, por medio de una mezcla de ambos. En cromatografía de gases los analitos (siempre en estado gaseoso) se distribuyen entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria que puede ser un sólido o una delgada película liquida que recubre al solido dependiendo de la fase estacionaria que se utilice solido-liquido. La cromatografía en fase gaseosa se clasifica en: cromatografía gas-solido (CGS) y cromatografía gas-liquido (CGL). De ambas la más selectiva y la que presta mayores usos es la (GCL) (Gil, 2012). A continuación se presenta el diagrama de un sistema de cromatografía de gas-liquido.



**Figura 6. Diagrama de un sistema de cromatografía gas –liquido.**

Fuente: VILLEGAS Carlos Augusto, Evaluación de grado contaminación de pesticidas organoclorado del río Otún, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de gases, Universidad Tecnológica de Pereira, 2008

## 4.2 Técnica de Extracción

Extracción en fase sólida (SPE):

La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica de preparación de muestras aplicada a partir de los años 70, que se puede utilizar para extraer compuestos de una matriz, o para limpiar extractos orgánicos eliminando las interferencias que hayan sido extraídas previamente. Como técnica de extracción, es un proceso mediante el cual cantidades traza de un analito son selectivamente retenidas, separadas y concentradas a partir de volúmenes relativamente grandes de muestras líquidas, gaseosas o extractos de muestras sólidas (Chao 2010).

En ella se hace pasar la muestra a través de una columna de SPE (polar, apolar, intercambio iónico etc.) Que consiste en retener algunos de los compuestos y el resto pasan inalterados. SPE permite la concentración de la muestra con un riesgo mínimo de pérdida o contaminación de la misma: El componente de interés resulta retenido en una fase sólida mientras que los contaminantes de la matriz se eluyen (Canosa, 2009).

Las principales funciones que realiza la SPE son:

La preconcentración de trazas, estabilización de muestras, cambio de fases y limpieza de muestras.

El absorbente de la SPE está contenido en tres posibles formatos: discos, cartuchos y jeringas el primero se utiliza principalmente para concentrar grandes volúmenes de muestras, entre 2 y 4 L permitiendo flujos de paso de líquidos muy elevados debido a la escasa resistencia al paso de muestra que poseen, mientras que los cartuchos y jeringas pueden ser fácilmente integrados en sistemas *on-line* con el equipo de medida (Chao, 2010).

El proceso de concentración de la muestra consta de las siguientes etapas básicas:

Acondicionamiento de la fase estacionaria:

Se hace pasar a través del cartucho un disolvente o mezcla de disolventes adecuados, eliminando así las impurezas, hidratando la fase estacionaria y facilitando la transferencia de materia con la muestra (Chao, 2010).

Paso de la muestra a través del material adsorbente:

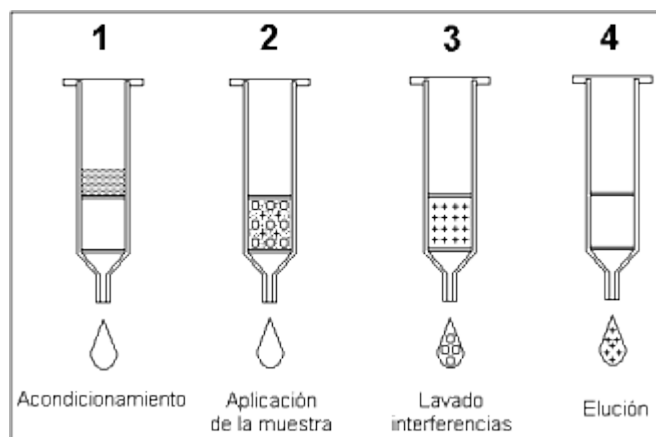
El objetivo de esta etapa es retener cuantitativamente el analito, consiguiendo además un cierto grado de selectividad.

Lavado:

Se utilizan disolventes con gran afinidad por las interferencias.

Elución:

Con un disolvente apropiado se recupera el analito de la fase adsorbente. Por lo general se utiliza un pequeño volumen del disolvente orgánico, aunque también se pueda realizar una desorción térmica (Chao, 2010)



**Figura 5. Esquema del procedimiento de SPE como método de extracción**

Fuente: Análisis vínicos, soluciones cromatográficas. Pagina web: [www. Analisisvinicos.com](http://www.Analisisvinicos.com)

## 5. Aparatos y equipos:

- Estufa
- Balanza analítica
- Bombas de vacío
- Equipo de extracción para SPE de 12 puestos
- Cabinas de extracción para gases

## 6. Reactivos y materiales:

- 13 beaker de 200 ml
- 13 beaker de 50 ml
- 2 probetas de 1000 ml y 200 ml
- 2 pipetas aforadas de 5 y 10 ml
- 3 vidrio reloj grande
- Varilla de agitación
- 13 frascos ámbar para el muestreo
- frasco de filtración
- 1 frasco lavador
- 3 espátulas de metal

- Pinzas de metal pequeña
- Soporte universal
- Acetonitrilo
- Metanol
- Hexano
- Acetato de etilo
- HCL (concentrado)
- Standard de (Bromuro de cetiltrimetilamonio, Hexametilentetramina, Trietanolamina, Hidroquinona)
- Etanol
- Gas nitrógeno
- Cartuchos ENVI-carb
- Sulfato anhídrido
- filtro de Banda azul
- Papel indicador

## **7. Muestras y muestreos:**

### **7.1 Contaminación de muestras**

Se preparan 12 muestras. Cada muestra tendrá 3 especies seleccionadas de plantas, donde se coloca cada una en un recipiente a un volumen de 8 L con una solución nutriente estándar (NPK), tapado con papel aluminio para el control de algas. Luego se adiciona la mezcla de los analitos de interés (Bromuro de cetiltrimetilamonio, Hidroquinona) seleccionados.

Para la contaminación de los humedales se prepara una mezcla en un matraz aforado de 1L con los analitos de interés (Bromuro de cetiltrimetilamonio, Hidroquinona) en una concentración de 40 ppm, luego estos son adicionados a cada recipiente.

### **7.2 Preparación del blanco**

Se prepara un blanco, en un recipiente a un volumen de 8L con agua potable donde se adiciona solo los analitos de interés a una concentración de 40 ppm (ver procedimiento 7.1)

### **7.3 Toma de Muestra.**

Inicialmente se debe realizar 3 recolecciones de la muestra durante 3 semanas, con el fin de observar el comportamiento de los diferentes contaminantes y en el blanco, para la toma de muestras se introduce una varilla de agitación en el recipiente para homogenizar la solución, luego se recolecta 1L de la muestra medida con una probeta de 1L para luego ser adicionada con un embudo en los envases ámbar con capacidad para 1L, donde son llevadas inmediatamente a refrigeración.

### **7.4 Preservación de la muestra.**

La recolección de la muestra se llevara a cabo, siguiendo las recomendaciones del Stándard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Las muestras se conservaran refrigeradas a 4° C a su pH natural el periodo máximo de almacenamiento suele ser entre uno y cuatro días para garantizar su estabilidad.

### **7.5 Calibración**

Para estimar la concentración de los analitos en la muestra de manera confiable se preparan curvas de calibración según sus concentraciones que van desde 5 ppm a 50 ppm.

Estas curvas se realizaron para calcular la concentración en la cual se recuperó los contaminantes en la muestra y comprobar el método empleado para su extracción.

## **8. Procedimiento.**

### **8.1 Extracción en fase solida (SPE)**

Para la extracción y limpieza de los analitos se debe utilizar la técnica de extracción por fase solida (SPE). En ella se hace pasar la muestra a través de una columna de SPE (polar, apolar, intercambio iónico etc.) Que consiste en retener algunos de los compuestos y el resto pasan inalterados

Para cada análisis se utiliza un volumen de muestra de 1L, donde se toma una alícuota de 200 ml, medida con una probeta. Este se filtra en una bomba al vacío a través de un filtro de Banda azul 0,45 µm de 47 mm de Millipore (Fischer), y después se acidifica a pH 2 con ácido clorhídrico concentrado.

La muestra adicionada se percola a través de una extracción polimérica en fase sólida cartucho SPE-ENVI-carb. Los Cartuchos activados se eluyen con 10 ml de hexano/acetato de etilo (1:1), con una velocidad de flujo de 10 ml/min, esta velocidad se controla, con una bomba de vacío para que la muestra pueda pasar a través de la columna con una superficie de contacto uniforme y un tiempo de contacto (flujo) constante. Después se dejan secar los cartuchos



por 30 min, se eluyen los analitos con 5 ml de acetato de etilo donde el extracto se evapora hasta 20  $\mu\text{L}$  bajo una corriente suave de nitrógeno, y se reconstituye en 175 $\mu\text{L}$  de metanol.

## 8.2 Determinación por cromatografía de gases.

Tratamiento cromatográfico.

Las muestras se inyectan en un cromatografo de gases con detector de ionización por llama, equipado con autoinyector AOC-i20+s, automuestreador AOC-20s, inyección Split-splitless, y un sistema de inserción directa controlado por un software GCMS solution.

Condiciones instrumentales (GC-FID):

<b>Inyector</b>	
Temperatura lineal	40 $\text{cm s}^{-1}$
Modo de inyección	Splitless
Volumen de inyección	1 $\mu\text{L}$
<b>Columna</b>	Capilar
Fase estacionaria	DB5 (5 % Fenil, 95 % Dimetilpolsiloxano)
Dimensiones	30 m x 0.25 mm i.d x 0.25 $\mu\text{m}$
<b>Programa de temperaturas</b>	
Temperatura inicial	60°C(2min)
Rampa de temperaturas	15°C/min hasta 320°C(manteniendo la T x 5 min)
Tiempo total de análisis	50 min
Gas portador	He
Flujo de columna	1.0 min (constante)

Gas de arrastre:

El gas portador para este análisis será Helio al 99.99% en pureza en una velocidad constante lineal promedio de 40  $\text{cm s}^{-1}$ .

## Método cromatográfico

El cromatógrafo de gases se programa a una temperatura inicial de 60°C por dos minutos, seguido de un aumento de la temperatura de 60°C a 120°C con una tasa de 15°C/min, luego de 120°C a 160°C con una tasa de 4°C, después de 160°C a 220°C con una tasa de 7°C, seguido de 220°C a 290°C con una tasa de 5°C y por último se llevara hasta 320°C con una tasa de 10°C/min, y se mantiene a esta temperatura por 10 minutos.

## Columna cromatografía

Las características de la columna son 30 m x 0.25 mm i.d x 0.25 µm DB-5.

En la figura 3 se presenta el diagrama de flujo del método cromatográfico (GC-FID).

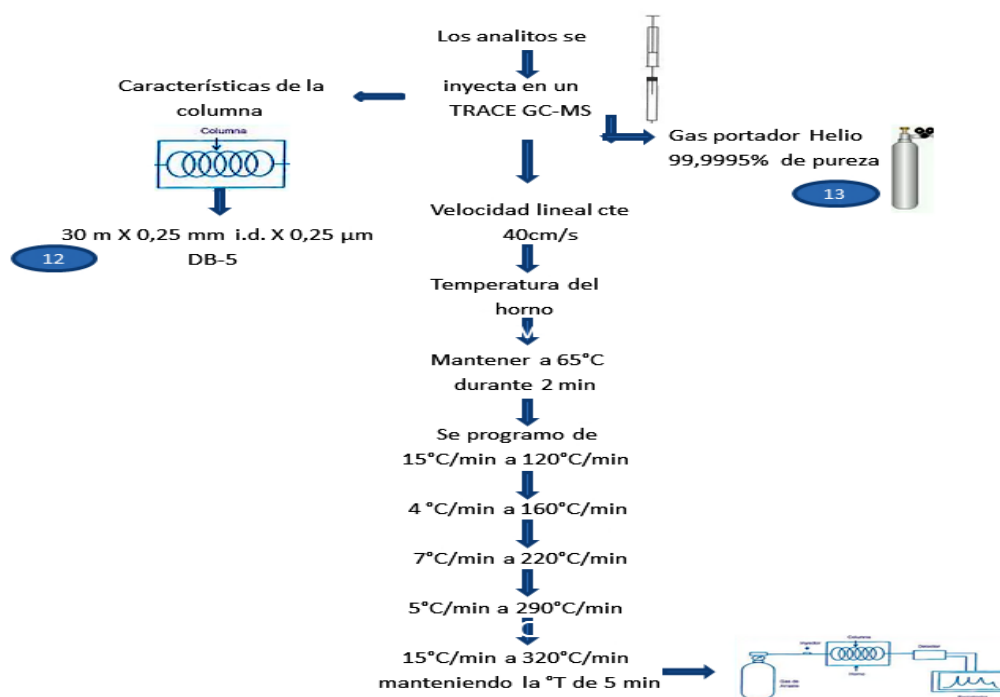


Fig. 3 Diagrama de flujo. Cromatografía de gases

### 8.3 Curvas de calibración de las muestras analizadas:

Para el análisis de las curvas de calibración de cada uno de los estandars se preparan patrones con diferentes concentraciones los cuales se llevan al cromatógrafo de gases, donde son inyectados siguiendo el método

cromatografico descrito en la figura 4. Donde se representaran las alturas o áreas de pico de cada uno de los analitos; en función de la concentración.

Análisis cuantitativo y cualitativo:

Análisis cualitativo:

Se realiza con ayuda de patrones: los tiempos de retención de los picos desconocidos se comparan con los tiempos de retención de compuestos conocidos y en las mismas condiciones experimentales.

Análisis cuantitativo:

En cromatografía de gases los parámetros cuantitativos son la altura, o el área, del pico del analito, los cuales son comparados con la de uno o más patrones.

## 9. Cálculos:

Porcentaje de recuperación

$$\% \text{ Recuperación} = ([ ] \text{ final } ) / ([ ] \text{ inicial } ) \times 100$$

[ ] Final: concentración final hallada después de la extracción

[ ] Inicial: concentración inicial cuando se contaminaron los humedales construidos.

Porcentaje de remoción

La remoción se entiende como la capacidad del sistema para eliminar parte de la concentración de contaminantes que se encuentra en el agua residual. En este estudio, para el cálculo del porcentaje de la remoción de contaminantes emergentes de tipo productos de cuidado personal, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Remoción (\%)} = (C_i - C_f) / C_i \times 100$$

Donde  $C_i$  = Concentración inicial y  $C_f$  = Concentración final

## 10. Bibliografía

Chao, García María. 2010. Santiago de Compostela. Desarrollo de nuevas metodologías analíticas basadas en la espectrometría de masas en tándem para la determinación de residuos de plaguicidas en productos de origen animal y compartimentos medioambientales relacionados. Trabajo desarrollado en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (INGACAL-CIAM).

Gil, Miriam Janneth. 2012. Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. Volumen 7 Numero 2.

Canosa, Rodríguez María del Pilar. 2009. Desarrollo de metodología analítica para determinación de Triclosán y Parabenos. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales. Universidad Santiago de Compostela, 2009 - 290 páginas.