



DETECCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y DEGRADACIÓN QUÍMICA OXIDATIVA DE AGROQUÍMICOS EN VINAZAS

Ing. Qca. Adriana Patricia
del Milagro Chaile
2020



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUCUMÁN
facet
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y TECNOLOGÍA



**Universidad Nacional de Tucumán
Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología**

**TRABAJO DE POSGRADO PARA LA OBTENCIÓN DEL
GRADO ACADÉMICO SUPERIOR DE DOCTOR EN
CIENCIAS EXACTAS E INGENIERÍA**

**CARRERA DE DOCTORADO EN CIENCIAS EXACTAS E
INGENIERÍA**

Acreditada por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU). Categoría A. Resol 115/12. Reconocimiento Oficial y Validez Nacional de Título Res. Ministerial N° 6/2019.

Comisión Académica

**Dr. J Guillermo Etse.
Dra. Sonia Vrech
Dra. Marta Zossi
Dra. Ana Georgina Elias
Dr. Fernando Daniel Mele
Dr. Enzo Martinelli (Universidad de Palermo, Italia).**



Universidad Nacional de Tucumán Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología

Honorable Consejo Directivo

Dra. Ana María Sfer

Ing. Sergio Daniel Saade

Ing. Hugo Daniel Anaya

Lic. María Isabel Giannini

Ing. María Florencia Nanni

Lic. Nicolás Guillermo Auvieux

Sr. Pablo Emmanuel Almeda

Sr. Guillermo Benjamín Torres

Sr. Marcos Alejandro Bulacios

Sr. Armando B. Falcón

Ing. Osvaldo Heredia

Decano

Dr. Ing. Miguel Angel Cabrera

Vice Decano

Mg. Ing. Eduardo Martel



Trabajo de Posgrado Titulado

DETECCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y DEGRADACIÓN QUÍMICA OXIDATIVA DE AGROQUÍMICOS EN VINAZAS

Tesista:

Ing. Qca. Adriana Patricia del Milagro Chaile

Directora:

Dra. Mercedes Marta Elsa Ferreyra de Ruiz Holgado

Comisión de Supervisión:

Dr. Guillermo Etse

Dra Nora Perotti

Este trabajo de Tesis Doctoral se realizó en:

- Laboratorio de la Cátedra de Química General del Departamento de Ingeniería de Procesos y Gestión Industrial, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, UNT. Av Independencia 1800. San Miguel de Tucumán.
- Laboratorio Central Sociedad Aguas del Tucumán, Av Sarmiento 991. San Miguel de Tucumán.

Con el apoyo financiero de:

- Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT).
- Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología. UNT

A mis padres, por darme tanto amor...

A Cris, por creer en mí y en que todo lo puedo...

A Pau, por demostrarme que sólo es cuestión de esfuerzo...

A Marce, por su optimismo, que me ayuda a ver siempre lo bueno...

A Dios, por su infinita bondad...

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. M. M. Elsa Ferreyra de Ruiz Holgado, por permitirme realizar este trabajo bajo su dirección, por su colaboración y por todo el tiempo dedicado. Por contagiarme ganas en los momentos difíciles, por su enorme espíritu, tanto para la investigación como para vivir con intensidad. Sin duda una gran persona que hizo este sueño, posible.

A los miembros de la Comisión de Seguimiento, al Dr Guillermo Etse y sobre todo, a la Dra Nora Perotti por su predisposición para escucharme y sus valiosos aportes en las presentaciones de los Informes de Avances. Por darme ánimo para continuar y por destacar la importancia de ir escribiendo los resultados logrados.

A los miembros de la Comisión Académica de la carrera, especialmente al Dr. Mele y la Dra Elías, por su dedicación para concretar esta etapa final.

Al Sr Decano, Dr Miguel Cabrera y el honorable Consejo Directivo de la FACET, por permitirme realizar estudios de cuarto nivel, y por autorizar el uso de las instalaciones del Laboratorio de Química General para la realización de los ensayos.

A Sociedad Aguas del Tucumán, por permitirme el uso del equipamiento para la realización de ensayos.

A la Universidad Nacional de Tucumán, por el apoyo financiero a través del Proyecto de Investigación del Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT).

A Nancy Sánchez y Soledad Medina, por su colaboración en realización de algunos ensayos.

A mis compañeros, docentes de la Cátedra de Química General, por el apoyo que me brindaron.

INDICE

I- Resumen.....	21
II- Introducción General.....	23
III- Objetivo General.....	27
IV- Objetivos Específicos.....	27
V- Justificación.....	28
CAPÍTULO 1- MARCO TEÓRICO.....	29
1.1 Plaguicidas.....	30
1.1.1 Definición.....	30
1.1.2 Clasificación de Plaguicidas.....	31
1.1.3 Antecedentes de uso de Plaguicidas.....	34
1.1.4 Plaguicidas Organoclorados (PO). Características.....	35
1.1.5 Efectos sobre el Ambiente.....	38
1.1.6 Transporte en el Ambiente.....	43
1.1.7 Efectos sobre los Organismos Vivos.....	47
1.1.8 Presencia en el ambiente y Regulación del Uso de Plaguicidas.....	49
1.1.9 Plaguicidas Organoclorados en Argentina.....	52
1.1.10 Legislación en Argentina.....	55
1.2 Vinaza.....	59
1.2.1 Generalidades.....	59
1.2.2 Proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar.....	61
1.2.3 Caracterización de vinazas.....	63
1.2.4 Disposición Final de Vinazas.....	66
1.3 Procesos de Oxidación Avanzada (POA).....	69

1.3.1 Generalidades.....	69
1.3.2 Clasificación.....	70
1.3.3 Usos y aplicaciones de los POA.....	72
1.3.4 Uso de peróxido de hidrógeno en POA.....	73
CAPÍTULO 2 – MÉTODOS.....	77
2.1 Determinación de Plaguicidas Organoclorados en vinaza.....	78
2.1.1 Generalidades.....	78
2.1.2 Fundamentos teóricos.....	79
2.1.3 Componentes del sistema cromatográfico empleado.....	82
2.1.3.1 Fase móvil.....	82
2.1.3.2 Inyector tipo Split/Splitless.....	82
2.1.3.3 Horno de la columna.....	83
2.1.3.4 Columna tipo capilar.....	83
2.1.3.5 Detector.....	85
2.1.3.6 Dispositivo de registro o sistema de datos.....	86
2.1.4 Pretratamiento de muestras.....	87
2.1.4.1 Extracción Líquido-Líquido.....	87
2.1.4.2 Extracción en Fase Sólida (SPE, Solid Phase Extraction).....	89
2.1.5 Método para determinación de PO en vinazas.....	92
2.1.5.1 Reactivos.....	92
2.1.5.2 Patrones.....	93
2.1.5.3 Equipos.....	94
2.1.5.4 Calibración.....	97
2.1.5.5 Procedimiento para muestras.....	97

2.1.5.6	Expresión de resultados.....	98
2.2	Demanda Química de Oxígeno (DQO) por Espectrofotometría.....	99
2.2.1	Fundamentos teóricos.....	99
2.2.2	Preparación de soluciones.....	100
2.2.3	Materiales y equipos.....	101
2.2.4	Calibración.....	101
2.2.5	Procedimiento para muestras.....	102
2.3	Determinación de pH.....	102
2.4	Determinación de Sólidos Totales (ST) en vinazas.....	103
2.5	Determinación de Sólidos Sedimentables (SS).....	104
2.6	Determinación de Conductividad.....	105
2.7	Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO).....	107
2.8	Índice de Biodegradabilidad.....	107
2.9	Validación de Métodos Analíticos.....	108
2.9.1	Límite de Detección (LD).....	110
2.9.2	Límite de Cuantificación (LQ).....	110
2.9.3	Linealidad.....	111
2.9.4	Precisión.....	111
2.9.5	Exactitud.....	112
2.9.6	Recuperación.....	113
2.9.7	Selectividad.....	113
CAPÍTULO 3: VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYOS-RESULTADOS.....		114
3.1	Detección de Plaguicidas Organoclorados por Cromatografía Gaseosa.....	115
3.1.1	Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ).....	118

3.1.2	Linealidad.....	121
3.1.3	Exactitud.....	125
3.1.4	Precisión.....	127
3.1.5	Recuperación.....	129
3.2	Resultado de la Validación de Método de Determinación de DQO.....	134
3.2.1	Calibración.....	135
3.2.2	Límite de Detección y Límite de Cuantificación.....	137
3.2.3	Linealidad.....	138
3.2.4	Exactitud y Precisión.....	138
3.3	Conclusiones Parciales.....	141
	ANEXO1-CAPÍTULO 3: Tabla de t de Student.....	143
	CAPÍTULO 4: DETERMINACIÓN DE PRESENCIA DE PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN VINAZAS DE INGENIOS TUCUMANOS...	144
4.1	Identificación de muestras y caracterización Físico-química de vinazas.....	145
4.2	Detección de PO en muestras de vinazas crudas.....	148
4.3	Análisis de PO en vinazas concentradas provenientes de una destilería con sistema de evaporación múltiple efecto.....	152
4.4	Ensayos de evaporación de vinaza en laboratorio y detección de PO en fracciones concentradas.....	156
4.5	Conclusiones Parciales.....	159
	ANEXO1 CAPÍTULO 4: Gráfica de peso específico aparente y °Brix.....	161
	CAPÍTULO 5: ENSAYOS DE OXIDACIÓN DE VINAZAS CON PERÓXIDO DE HIDRÓGENO.....	162
5.1	Ensayos experimentales.....	163
5.2	Resultados y Discusión.....	165
5.2.1	Evaluación de DQO durante el tratamiento oxidativo.....	165

5.2.2	Modificación de Índice de Biodegradabilidad.....	170
5.3	Determinación de la cantidad óptima de oxidante.....	171
5.4	Determinación experimental de la cinética.....	172
5.5	Sales generadas durante el tratamiento de oxidación.....	175
5.6	Conclusiones Parciales.....	178
CAPÍTULO 6: EFECTOS DE LA OXIDACIÓN SOBRE PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS.....		180
6.1	Oxidación de soluciones acuosas de plaguicidas organoclorados.....	181
6.1.1	Ensayos Experimentales.....	181
6.1.2	Resultados y Discusión.....	183
6.2	Oxidación de vinaza diluida adicionada con Plaguicidas Organoclorados.....	186
6.2.1	Ensayos Experimentales.....	186
6.2.2	Resultados y Discusión.....	186
6.3	Oxidación de vinaza cruda adicionada con plaguicidas organoclorados.....	188
6.3.1	Ensayos Experimentales.....	188
6.3.2	Resultados y Discusión.....	189
6.4	Conclusiones Parciales.....	193
Anexo 1- Capítulo 6: CROMATOGRAMAS		
	Ensayos de oxidación de una solución acuosa de PO.....	194
Anexo 2- Capítulo 6: CROMATOGRAMAS		
	Ensayos de oxidación de vinaza diluida (1:100), adicionada con PO.....	196
Anexo 3- Capítulo 6: CROMATOGRAMAS		
	Ensayo de oxidación con peróxido de hidrógeno, de vinaza adicionada con PO.....	198
CAPÍTULO 7: PROPUESTA PARA DISEÑO DE PLANTA DE TRATAMIENTO DE VINAZAS.....		200
7.1	Antecedentes.....	201

7.2 Cálculos de diseño para el tratamiento de vinazas por oxidación.....	205
7.3 Elección del Tipo de reactor.....	206
7.4 Ecuaciones de diseño del reactor TAC.....	207
7.5 Cálculo del volumen del reactor para diseño en paralelo.....	209
7.6 Cálculo del Volumen del Reactor para Diseño en Serie.....	211
7.7 Consideraciones finales.....	214
7.8 Conclusiones Parciales.....	214
CAPÍTULO 8 CONCLUSIONES FINALES Y PROYECCIONES.....	216
BIBLIOGRAFÍA.....	222
PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES EN REUNIONES CIENTÍFICAS.....	245

INDICE DE TABLAS

Tabla 1- Producción de etanol, por destilería. Tucumán, zafra 2017-2018.....	24
Tabla 1.1- Clasificación de plaguicidas, según los criterios más usuales.....	31
Tabla 1.2- Clasificación de plaguicidas según su peligrosidad.....	32
Tabla 1.3- Constante de la Ley Henry (H) y volatilidad de plaguicidas.....	44
Tabla 1.4- Propiedades de plaguicidas que indican su potencial para contaminar acuíferos.....	46
Tabla 1.5- Normas que establecieron prohibiciones de uso de los PO estudiados. (Argentina).....	57
Tabla 1.6- Valores Guías de PO en el Decreto 831/93 reglamentario de la Ley 24051 (Argentina).....	58
Tabla 1.7- Caracterización físico-química de vinazas generadas por destilerías de Tucumán.....	65
Tabla 1.8- Composición química de la vinaza según la fuente empleada en la fermentación.....	66
Tabla 1.9- Potencial de oxidación de diferentes especies.....	70
Tabla 2.1- Tipos de Extracción en Fase Sólida (SPE, por sus siglas en inglés).....	91
Tabla 2.2- Especificaciones de los patrones certificados usados como referencia.....	94
Tabla 2.3- Condiciones de trabajo- Cromatógrafo Gaseoso HP6890 con Inyector Automático.....	95
Tabla 2.4- Preparación de soluciones patrones de PO para calibración, a partir de una solución intermedia mezcla.....	96
Tabla 2.5- Rangos de trabajo para medición de DQO.....	99
Tabla 2.6- Especificaciones técnicas del pHmetro ALTRONIX MODELO TPX-I.....	103
Tabla 2.7- Especificaciones técnicas del Conductímetro ALTRONIX MODELO CTX-II	106
Tabla 2.8- Criterios de Biodegradabilidad de efluentes según la relación DBO_5/DQO ...	108
Tabla 2.9- Alcance de la validación de métodos.....	109
Tabla 3.1- Tabla para calibración en 3 puntos de concentración, de cada PO del estudio.....	117
Tabla 3.2- Cálculo de Límite de Detección y Límite de Cuantificación, realizados con 10 mediciones en condiciones de repetibilidad.....	119

Tabla 3.3- Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ) de Plaguicidas Organoclorados en vinaza, expresado en ppb ($\mu\text{g/L}$).....	120
Tabla 3.4- Verificación de Linealidad, cálculo de Residuos, para cada nivel de concentración y para cada plaguicida organoclorado del estudio.....	123
Tabla 3.5- Concentración de patrones (MRC) preparados para ensayos de precisión y exactitud del método cromatográfico.....	126
Tabla 3.6- Comprobación de sesgo, en 3 rangos de concentraciones y prueba de significancia.....	127
Tabla 3.7- Desviación estándar y coeficiente de variación porcentual para comprobación de Precisión de Repetibilidad, con 7 mediciones independientes, en 3 niveles de concentración.....	128
Tabla 3.8- Cálculo de la precisión en condiciones de Precisión Intermedia, con 10 mediciones independientes, en tres niveles de concentración.....	129
Tabla 3.9- Preparación de 2 muestras de 500 mL de vinaza adicionada con solución intermedia mezcla de PO, para ensayos de recuperación Concentración teórica de cada compuesto.....	130
Tabla 3.10-Ensayos de recuperación, con vinazas adicionadas en dos concentraciones.....	131
Tabla 3.11- Prueba de significancia para verificación de ensayos de recuperación de PO en muestras de vinazas adicionadas con plaguicidas organoclorados.....	133
Tabla 3.12- Patrones de biftalato de potasio para calibración de DQO en 4 puntos de concentración y absorbancia leída a 420 nm. Rango 1.....	135
Tabla 3.13- Patrones de biftalato de potasio para curva de calibración de DQO en 4 puntos de concentración, y absorbancia leída a 600 nm. Rango 2.....	136
Tabla 3.14- Cálculo de Límite de Detección y Límite de Cuantificación del método espectrofotométrico para determinación de DQO.....	137
Tabla 3.15- Ensayos para determinación de Exactitud en términos de Sesgo y CV%, con test de Student como prueba de significancia.....	139
Tabla 3.16- Ensayos para estudio de Precisión de Repetibilidad. Método de determinación de DQO por método colorimétrico de reflujo cerrado.....	140

Tabla 3.17- Resumen de parámetros de Validación de Método de Determinación de Plaguicidas Organoclorados en vinaza, por Cromatografía Gaseosa.....	142
Tabla 4.1- Descripción de las muestras de vinaza analizadas en el estudio.....	145
Tabla 4.2- Caracterización físico-química de vinazas empleadas en el estudio.....	146
Tabla 4.3- Valores promedios de parámetros físico-químicos analizados en vinaza y valores límites permitidos por la legislación provincial.....	148
Tabla 4.4- Plaguicidas organoclorados en vinazas crudas provenientes de 4 destilerías ubicadas en la provincia de Tucumán. Método cromatográfico con extracción líquido-líquido.....	149
Tabla 4.5- Plaguicidas organoclorados en vinaza cruda de la destilería L y en muestras de vinazas provenientes del sistema de evaporación en 4 etapas. Método cromatográfico con extracción líquido-líquido.....	153
Tabla 4.6- Balance de masa en evaporadores, agua evaporada y verificación del contenido de heptacloro en la muestra de vinaza L ₁ y en las fracciones concentradas.....	154
Tabla 4.7- Concentración de Plaguicidas Organoclorados en vinazas sometida al proceso de evaporación, en escala laboratorio.....	157
Tabla 4.8- Contenido de lindano y heptacloro en la muestra de vinaza F1 durante la concentración por evaporación, en laboratorio.....	158
Tabla 5.1- DQO en función del tiempo para diferentes cantidades de solución de peróxido de hidrógeno (30 % m/V). El volumen de vinaza oxidada en los ensayos fue de 20 mL, con DQO inicial de 90800 ppm y 11 ⁰ Brix.....	165
Tabla 5.2- Separación de sales insolubles a 25 °C de la vinaza tratada 5 días con diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno.....	177
Tabla 6.1- Prueba de significancia, test de Student, para 6 mediciones de concentración de lindano, heptacloro y metoxicloro, por cromatografía gaseosa.....	185
Tabla 6.2- Concentración de PO en la vinaza diluida 1:100, adicionada con PO, durante la oxidación con peróxido de hidrógeno.....	187
Tabla 6.3- Concentración de PO en vinaza cruda durante el tratamiento oxidativo con peróxido de hidrógeno. Medidas por cromatografía gaseosa con extracción en fase sólida.....	189

Tabla 7.1- Ejemplos de aplicación de procesos Fenton para tratamiento de aguas residuales de diferentes industrias y tipos de reactores usados.....	202
Tabla 7.2- Variables de diseño para operación de reactores TAC en serie y en paralelo.....	213

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1- Aldrín (1,2,3,4,10,10-hexacloro-1,2,4 α ,5,8,8 α -hexahidro-1,4-endo, exo-5,8-dimetanonaftalina).....	35
Figura 1.2- (a) cis-clordano (conocido como α -clordano). (b) trans-clordano (conocido como γ -clordano o beta-clordano).....	36
Figura 1.3- Síntesis del DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano) mediante tratamiento de clorobenceno con hidrato de tricloroacetaldehido (hidrato de cloral) en presencia de ácido sulfúrico o cloruro de aluminio.....	37
Figura 1.4- Heptacloro (1,4,5,6,7,8,8-Heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-metano-1H-indeno).....	38
Figura 1.5- Lindano (1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano).....	39
Figura 1.6- Metoxicloro.2,2-bis(p-metoxifenilo)-1,1,1-tricloroetano.....	40
Figura 1.7- Esquema de características de plaguicidas organoclorados y su movilidad en el ambiente.....	47
Figura 1.8- Acumulación de DDT en la cadena trófica.....	48
Figura 1.9- Sustancias químicas sometidas a regulación internacional. Convenio de Estocolmo (2001).....	51
Figura 1.10- La Argentina, localidad a 300 km de Santiago del Estero.....	52
Figura 1.11- Producción de Bioetanol en Tucumán. 2008-2017.....	60
Figura 1.12- Proceso de obtención del etanol a partir de caña de azúcar.....	61
Figura 1.13- Ubicación geográfica de las destilerías en Tucumán. Fuente: Estación Experimental Agropecuaria Famaillá y Ministerio de Energía y Minería.....	64
Figura 1.14- Tecnologías de Oxidación Avanzada. Clasificación según Poyatos (2010).....	71
Figura 1.15- Formación de radicales hidroxilos, a partir de peróxido de hidrógeno y diferentes precursores.....	73
Figura 2.1- Esquema de un cromatógrafo de gases.....	79
Figura 2.2- Microjeringas de vidrio.....	82
Figura 2.3- Esquema de un inyector split/splitless, en modo split 50:1, significa que por cada volumen que ingresa a la columna, 50 se ventean.....	83
Figura 2.4- Diseño de horno del cromatógrafo Agilent Technology.....	83

Figura 2.5- Tipos de columnas capilares, dimensiones y características de la fase estacionaria.....	84
Figura 2.6- Fase estacionaria de columnas capilares no polares.....	85
Figura 2.7- Esquema del detector de Captura de Electrones.....	86
Figura 2.8- Esquema de la extracción líquido-líquido.....	88
Figura 2.9- Cartuchos para SPE. Fuente: Merck.....	90
Figura 2.10- Etapas del procedimiento de Extracción en Fase Sólida.....	92
Figura 2.11- Material de Referencia Certificado marca AccuStandar usado como patrones y solventes Merck: Metanol, n-Hexano y agua cromatográfica.....	93
Figura 2.12- Esquema de Procesamiento de muestras de vinaza para detección de PO por Cromatografía Gaseosa.....	97
Figura 2.13- Termoreactor DQO. Modelo TR-105.....	101
Figura 2.14- Espectrofotómetro UV Vis. Modelo 752. Biotraza.....	101
Figura 2.15- pHmetro marca Altronix.....	102
Figura 2.16- Determinación de Sólidos Sedimentables en cono de Imhoff.....	105
Figura 2.17- Conductímetro Altronix.....	106
Figura 3.1- Cromatogramas del nivel 2 y nivel 3 de la curva de calibración de plaguicidas organoclorados.....	116
Figura 3.2- Curva de calibración de heptacloro, DDT y aldrín, hechas con ChemStation.....	116
Figura 3.3- Correcciones de desviación estándar (S) respecto del blanco y del número de réplicas para la estimación del Límite de Detección.....	118
Figura 3.4- Verificación de Linealidad. Para cada compuesto, se muestra el coeficiente de correlación y la ecuación de la recta.....	122
Figura 3.5- Gráfica de la distribución de los residuos para comprobación de linealidad.....	124
Figura 3.6- Cromatograma de muestra de vinaza adicionada con plaguicidas organoclorados, correspondiente a la Muestra B, de mayor concentración.....	131
Figura 3.7- Promedio de Recuperación % de cada plaguicida del estudio en muestra de vinaza y una primera aproximación de valor máximo y mínimo aceptables.	134

Figura 3.8- Curva de calibración para determinación de DQO, Rango 1.....	135
Figura 3.9- Curva de calibración para determinación de DQO. Rango 2.....	136
Figura 4.1- Esquema del proceso de evaporación de vinazas, en 4 etapas.....	151
Figura 4.2- Disminución de la masa de heptacloro en vinaza L1 durante la evaporación.....	154
Figura 4.3- Concentración de vinazas, equipo de evaporación en escala laboratorio.....	155
Figura 4.4- Variación de la masa de lindano y heptacloro en la vinaza F1 en la concentración por evaporación.....	158
Figura 5.1- Equipo de trabajo usado para la reacción de oxidación.....	164
Figura 5.2- Evolución de la masa reaccionante durante 1,2 y 5 días de reacción (Las fotos corresponde al ensayo N° 5: 20 mL de vinaza y 20 mL de peróxido de hidrógeno).....	166
Figura 5.3- DQO de la mezcla reaccionante en función del tiempo, para reacción de oxidación de 20 mL de vinaza con diferentes volúmenes de oxidante.....	167
Figura 5.4- Remoción porcentual de DQO de vinaza tratada con diferentes volúmenes de oxidante, a los 5 días de reacción.....	168
Figura 5.5- Determinación de la cinética de la reacción de oxidación de 20 mL de vinaza y 13 mL peróxido de hidrógeno.....	174
Figura 5.6- Recuperación de sales inorgánicas insolubles generadas por oxidación de vinazas con peróxido de hidrógeno.....	176
Figura 5.7- Masa de sales recuperadas por reacción de oxidación de vinaza con diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno, a los 5 días.....	177
Figura 6.1- Pretratamiento de las soluciones acuosas de plaguicidas organoclorados por extracción en fase sólida (SPE).....	182
Figura 6.2- Variación de la concentración de lindano, heptacloro y metoxicloro en solución acuosa por oxidación con H ₂ O ₂	183
Figura 6.3- Degradación % de metoxicloro, lindano y DQO, por ataque oxidativo con peróxido de hidrógeno, en función del tiempo.....	187
Figura 6.4- Extracción en fase sólida de vinaza inicial y vinaza tratada, a diferentes tiempos de reacción.....	189

Figura 6.5- Curva de degradación de plaguicidas organoclorados en vinaza cruda, por proceso oxidativo con peróxido de hidrógeno.....	190
Figura 7.1- Esquema de la producción de etanol. Fuente: destilería Ing. Leales.....	201
Figura 7.2- Resumen de las alternativas de tratamiento para la vinaza y combinaciones de tecnologías existentes en aplicación o bien en proyectos (Morandini y Quaia, 2013).....	204
Figura 7.3- Esquema del diseño de proceso de tratamiento de vinaza por oxidación.....	205
Figura 7.4- Construcción de lagunas de oxidación con geomembranas. Fuente: Grupo TDM. http://www.tdm.com.pe/soluciones-impermeabilizacion-lagunas-de-oxidacion.php	206
Figura 7.5- Esquema de un reactor Tanque Agitado Continuo (TAC), para tratamiento de vinaza por oxidación con peróxido de hidrógeno.....	207
Figura 7.6- Reactores TAC conectados en paralelo.....	209
Figura 7.7- Reactores TAC en serie.....	211
Figura 7.8- Gráfica de reactores en serie en función del volumen total de los mismos, para oxidación de vinazas con peróxido de hidrógeno.....	213

I- RESUMEN

Este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de estudiar la presencia de agroquímicos organoclorados en vinazas, su comportamiento durante el tratamiento de concentración y durante la oxidación química. La vinaza es un efluente de particular importancia regional, por sus características químicas y por el volumen que se origina durante el proceso de fermentación para la obtención de bioetanol. Teniendo en cuenta que las vinazas se usan como abono y fuente de potasio en suelos empobrecidos, es importante conocer el comportamiento de los Plaguicidas Organoclorados (PO) durante el tratamiento, a fin de evitar que sean reciclados al ambiente.

Se analizaron muestras reales de vinazas provenientes de ingenios azucareros de la provincia y se detectó la presencia de Heptacloro, Lindano y Metoxicloro, con mayor frecuencia. Para lograr cuantificarlos se puso a punto un método por cromatografía gaseosa, realizando ensayos de validación, para asegurar la confiabilidad de los resultados. Además, se trabajó con fracciones de vinaza proveniente del proceso de evaporación, en cuatro etapas. Se verificó que gran parte del contenido de PO de las vinazas, se trasladaba a la fase vapor y si, luego se venteaban a la atmósfera, existe el riesgo que, por desconocimiento de la presencia de éstos compuestos, se favorezca la contaminación difusa.

Se llevaron a cabo ensayos de tratamiento de vinazas por Proceso de Oxidación Avanzada (POA), usando Peróxido de Hidrógeno como fuente de radicales hidroxilos, a distintas relaciones de peróxido/vinaza, en un reactor semi batch. Se consideró Demanda Química de Oxígeno (DQO) como variable indicadora del avance de la reacción y se determinó la cinética de la reacción oxidativa, concluyendo que se trata de una reacción de primer orden respecto de DQO, con una constante de reacción de 0,3694 1/día. Se logró una disminución importante de DQO (85%), partiendo de una vinaza con DQO inicial de 90.800 mg/L y cantidad estequiométrica de oxidante. Si bien no se alcanzaron los valores de DQO permitidos por la normativa (250 y 500 µg/L, para ser depositados en agua y suelo, respectivamente), el tratamiento propuesto es alentador por su simpleza y bajo costo. Se observó, además, una mejora sustancial en las características físicas del efluente, con disminución del color, aumento de la transparencia y de la Biodegradabilidad. Luego del proceso de oxidación se logró una recuperación de sales de

potasio equivalente a 10,54 g por litro de vinaza, esto es importante ya que aumentaría el valor del proceso.

Se trabajó con ensayos de oxidación sobre soluciones acuosas de plaguicidas organoclorados, los resultados obtenidos reflejaron una disminución de 7% de Lindano y de 8 % de Heptacloro y Metoxicloro, a los 5 días de ensayo. Se aplicó el proceso oxidativo en muestras de vinazas adicionadas con plaguicidas organoclorados. Los resultados mostraron que, a los 3 días se logró una disminución entre 80 y 90 % Lindano y Metoxicloro, mientras que para Aldrín, DDT, Clordano y Heptacloro, fue del 100%. Se cree que el contenido de iones metálicos presentes en la vinaza, favoreció el proceso oxidativo, actuando como catalizador en reacciones tipo Fenton, disminuyendo la DQO del efluente y la destrucción de contaminantes persistentes.

Con los resultados logrados, se realizaron los cálculos iniciales para el diseño de una planta de tratamiento de vinazas, considerando necesario la incorporación de un intercambiador de calor, donde se lograría disminuir la temperatura de la misma, y una pileta para almacenamiento. Luego se propone el diseño de reactores tipo Tanque Agitado Continuo (TAC) con disposición en serie y en paralelo, calculando el volumen de los mismos. Puede observarse que resultó más conveniente la disposición de 3 reactores en serie, ya que el volumen de cada uno es menor, como así también el volumen total y el tiempo de residencia. Estos cálculos reflejan que el tratamiento es factible de incorporar como un anexo en el proceso de producción de bioetanol, pero aún es necesario continuar con las investigaciones, realizando el tratamiento completo en escala piloto, antes del diseño final a escala industrial con la incorporación de los servicios auxiliares.

II- Introducción General

Tucumán es una de las provincias del Noroeste Argentino de mayor importancia desde el punto de vista industrial. Las principales industrias de la región son los ingenios azucareros, las destilerías de alcohol y la industria citrícola. La industria cañera tiene la particularidad que, al diversificarse para la obtención de energía y derivados, produce residuos secundarios, entre ellos la vinaza, a los que hay que aplicar un tratamiento y un adecuado uso para evitar la contaminación del medio ambiente.

Según Chanfón y Lorenzo (2014), los residuos industriales más contaminantes por su carga orgánica de 60000 a 90000 mg/L de DQO, provienen de la industria alcoholera. Se manifiesta que en las torres de destilación se obtiene como residuo vinaza en una proporción de 12 a 18 litros por cada litro de alcohol destilado a 96°G.L. (de la Cruz, 2002).

En nuestro país, en el año 2006, mediante la Ley 26.093 Régimen de Regulación y Promoción para la Producción y Uso Sustentables de Biocombustibles, se establece que todo combustible líquido caracterizado como gasoil o dieseloil y nafta que se comercialice dentro del territorio nacional, deberá ser mezclado con la especie de biocombustible denominada "biodiesel" o "bioetanol", respectivamente, en un porcentaje del cinco por ciento (5%) como mínimo de estos últimos, medido sobre la cantidad total del producto final. En Tucumán se inauguró la sede de la Dirección Nacional de Agroenergía con el objetivo de incentivar la generación de bioetanol a partir de la caña de azúcar, por lo que se pensó en Tucumán como eje de la producción de bioetanol por su especialización en la caña de azúcar. A partir de abril de 2016, el porcentaje de bioetanol por litro de nafta en la Argentina subió al 12 % (Resol 37/2016) y el Gobierno Nacional estableció que este volumen extra de bioetanol provendrá exclusivamente de las empresas del noroeste argentino; es decir, al biocombustible derivado de la caña de azúcar. Esto llevó a un incremento sustancial en la generación de vinazas.

Durante 2018 se produjeron en Tucumán un total de 299.086,21 m³ de etanol. En la Tabla 1 se muestran datos referentes a la producción de alcohol por destilería en la zafra 2017-2018, según datos publicados por el Centro Azucarero Argentino. Tomando como referencia que por cada litro de etanol se producen 13 L de vinaza, se puede calcular que en el mismo período se generaron alrededor de 3.800.000 m³ de vinaza.

Tabla 1- Producción de etanol, por destilería. Tucumán, zafra 2017-2018.

Ingenios	Caña Bruta Molida Total [Tn]	Azúcar Físico Total [Tn]	Azúcar Equivalente [Tn] según DDJJ	Rendimiento Azúcar Equivalente [%]	Alcohol Total Elaborado [m ³]
Aguilares	415.262	30.931	30.934	7,449	-
Bella Vista	671.748	40.858	59.471,75	8,853	16.747,95
Concepción	2.522.560	237.914	245.344,99	9,726	28.981,80
Cruz Alta	684.374	46.677	46.674,11	6,820	-
Famaillá	872.344	84.714	84.715,25	9,711	6.462,97
La Corona	774.940	36.859	63.293,76	8,128	26.413,14
Florida	1.931.803	65.104	156.300,60	8,091	93.923,68
Providencia	1.264.607	124.312	124.310,84	9,830	-
Trinidad	1.822.010	113.092	148.672,11	8,160	38.118,74
Leales	1.034.464	87.185	88.319,44	8,538	12.754,26
Marapa	558.290	41.381	48.591,54	8,704	25.475,19
Nuñorco	586.782	54.748	59.398,23	10,123	-
San Juan	292.453	16.031	25.558,86	8,739	4.386,23
Santa Bárbara	676.245	53.253	65.225,25	9,645	17.979,12
Santa Rosa	1.078.667	66.821	91.392,86	8,473	27.843,13
TOTAL	15.186.549	1.099.880	1.338.203,57		299.086,21

Fuente: Centro Azucarero Argentino (2018). <http://centroazucarero.com.ar/>
 DDJJ: Declaración Jurada; Tn: tonelada

En los últimos años todos los estudios sobre vinazas estuvieron centrados en su carga orgánica y alta concentración de sales para un determinado uso final. Se consideran tres procesos principales de tratamiento de las vinazas:

(1) fabricación de fertilizantes mediante compostaje.

(2) como fuente de potasio sobre zonas agrícolas o en suelos improductivos, previa concentración por evaporación hasta al menos 60 grados Brix.

(3) como fuente energética vía incineración.

En la fabricación de compost, se agrega vinaza previamente concentrada, a pilas de productos remanentes del cultivo y procesamiento de la caña de azúcar (hojas y cachaza), luego se mezclan para homogeneizar y mantener disponible la materia orgánica para la acción de los microorganismos, proveer el oxígeno necesario y disipar el calor. El producto final se usa como abono en los campos agrícolas (Lim y col., 2016). Este es un proceso relativamente económico, pero las principales desventajas radican en el elevado tiempo necesario para la acción de los microorganismos (puede alcanzar hasta 35 días), y la necesidad de grandes áreas de compostaje, además de la energía necesaria para la evaporación de la vinaza.

Se sabe que el cultivo de la caña de azúcar remueve potasio del suelo, y que éste se concentra en la vinaza durante la fabricación del alcohol. Por ello, el uso de vinaza para fertirrigación se convirtió en una práctica muy extendida desde la década del 80, con la reincorporación de potasio al suelo. La mayoría de las destilerías que usan esta práctica concentran primero la vinaza hasta cerca de 60 grados Brix, para ahorrar costos de transporte. La concentración inhibe además la acción de los microorganismos por lo que el producto se puede almacenar durante algún tiempo. La limitación más importante de este proceso es el elevado consumo de energía (Sim y Wu, 2010).

Finalmente, el uso de vinaza como fuente energética por la vía de incineración tiene como limitación la necesidad de trabajar a temperaturas inferiores a 700 °C (las sales de potasio funden a esta temperatura) y el requerimiento energético para concentrar la vinaza.

Se han propuesto otros usos y tratamiento para la vinaza generada, por ejemplo, biodigestión anaeróbica para la obtención de biogás; producción de proteína unicelular y alimento animal. Los altos costos de producción, altos costos energéticos y largos períodos de producción o la imposibilidad del uso de toda la vinaza generada, son algunas de las desventajas que han conducido a que estas alternativas no sean las más generalizadas (Pérez y Garrido, 2006; Satyawali y Balakrishnan, 2008; España Gamboa y col. 2011; Cabrera, 2013).

Sin embargo, ninguno de los tratamientos anteriores tiene en cuenta el contenido de ciertos agroquímicos en vinaza. Estos compuestos deben ser eliminados previamente porque pueden influir negativamente sobre dichos tratamientos y contaminar los productos obtenidos en cada caso.

En trabajos de vieja data (Kotzias y Sparta, 1993; Vivas y col, 2005) se muestran ya, que los efluentes acuosos que contienen compuestos organoclorados se caracterizan por tener una muy baja concentración de los mismos, dada su baja solubilidad en agua. Estos compuestos tienen una gran peligrosidad para el medio ambiente debido a la capacidad de extensión en el ciclo hidrológico y fundamentalmente por su gran estabilidad química.

En Tucumán, existen antecedentes de la presencia de agroquímicos clorados en el ambiente: en agua (Chaile y col, 1999), en sedimentos (Traccanna y col, 2006); en otras partes del mundo, en diversos productos de la agricultura como aceites vegetales (García y col, 2006), en fórmulas infantiles (Izquierdo y col, 2004), en frutas, verduras, jugos, en leche de vaca (Prado, 1998), incluso en leche materna (Lenardón, 2000).

La Secretaría de Estado de Medio Ambiente de la provincia de Tucumán (SEMA) prohíbe explícitamente el volcado de los efluentes industriales sin tratamiento previo; en la resolución N° 30 expresa que los líquidos residuales deberán ajustarse a los parámetros establecidos en el Anexo I (Niveles de calidad de los efluentes industriales y cloacales), donde se indican los principales parámetros, así como los máximos valores tolerados para cada uno de ellos, según sea su disposición final en cursos de agua superficial (natural o artificial) y/o absorción por suelo. Entre los parámetros especiales, se establece que el contenido máximo de plaguicidas organoclorados en efluentes debe ser de 50 µg/L, para descarga en agua superficial, natural o artificial, y ausencia, para descarga en suelo, sea en pozos absorbentes, lagunas, riego, etc.

Siendo estos compuestos altamente persistentes y al no conocerse aún cuál es la dinámica de degradación en procesos actuales de tratamiento de vinazas, se pretende estudiar y desarrollar un proceso químico oxidativo que los elimine, en conjunto con la materia orgánica presente en la vinaza.

Goyes y Bolaños (2005) estudiaron procesos oxidativos para destrucción de compuestos recalcitrantes en vinaza, usando agua supercrítica. Este método se ha considerado como una técnica promisoría para el tratamiento de desechos acuosos. Se trabaja en condiciones cercanas o superiores a la temperatura y presión críticas del agua, 374 °C y 3205 psi. A estas condiciones el agua es un medio de reacción no polar (Vogel y col, 2002; Kritzer y Dinjus, 2001), en el cual el oxígeno molecular y los compuestos orgánicos son completamente miscibles permitiendo el contacto en fase homogénea, sin resistencias a la transferencia de masa y a una temperatura suficientemente alta que

facilita la rápida conversión de la materia orgánica a gases de combustión en tiempos de reacción inferiores a 5 minutos (Vogel y col, 2002).

En conclusión, el aporte científico y tecnológico de esta tesis es proponer un tratamiento químico oxidativo para degradación de compuestos organoclorados contenidos en vinazas, conjuntamente con la materia orgánica. Hasta la actualidad solo existen propuestos tratamientos por electro-oxidación, por oxidación biológica e incluso por electro-oxidación combinado con ósmosis inversa (Cañizares y col, 2009.; Ballesteros y col, 2009; Pérez y col, 2012), procesos que representan una elevada inversión.

III- Objetivo general

Estudiar la presencia de agroquímicos en vinazas, su degradación durante el proceso de concentración al vacío y durante procesos de oxidación química.

IV- Objetivos Específicos

- a) Proponer, desarrollar y validar un método adecuado para determinar residuos de plaguicidas en vinazas, por cromatografía gaseosa (GC, siglas en inglés)
- b) Determinar y cuantificar la presencia de Plaguicidas Organoclorados (PO) en vinazas de ingenios tucumanos.
- c) Reproducir en laboratorio el proceso de concentración de las vinazas que se lleva a cabo en la industria a fin de conocer el destino de los PO durante este proceso, y si es posible, cuantificar la presencia de los mismos en cada etapa de evaporación.
- d) Aplicar un proceso químico oxidativo a la vinaza, usando un oxidante económico y que no adicione residuo tóxico al efluente, como un tratamiento alternativo de vinazas y evaluar el comportamiento de PO durante el mismo.
- e) Aplicar el mismo proceso químico oxidativo a mezclas acuosas de concentración conocida de PO detectados en las vinazas, con seguimiento cuantitativo.

f) Proponer un nuevo tratamiento final adecuado del efluente.

V- Justificación

Se investigó el contenido de plaguicidas organoclorados en vinazas. No se encontraron datos o registros en la bibliografía, respecto de la presencia de estos compuestos persistentes y perjudiciales para la salud en el efluente industrial. Teniendo en cuenta que uno de los usos propuestos para la vinaza es como abono y como fuente de potasio en suelos empobrecidos, es importante conocer el comportamiento de los PO durante los procesos de tratamiento a fin de evitar que sean reintroducidos al ambiente.



Capítulo 1

CAPITULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 Plaguicidas

1.1.1 Definición

Bajo el término plaguicidas se incluye cualquier sustancia destinada a atraer, repeler, prevenir, destruir o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. Aquí se incluyen también a las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores de crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de plantas o inhibidoras de la germinación y sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte (Farrera, 2004; FAO, 2013).

Todos los plaguicidas son sustancias tóxicas diseñadas para interferir o modificar mecanismos fisiológicos fundamentales de los insectos o hierbas, que también son compartidos por otros animales, ácaros, hongos, roedores, caracoles, gusanos, entre otros. Estos compuestos también pueden afectar indirectamente a los organismos por alteración de otros que les sirven de alimento, o por afectar la calidad del hábitat.

En 1998, la Agencia de Protección Ambiental (EPA, en inglés) de los E.E.U.U. mantenía registrados 620 ingredientes activos, la mayoría son sustancias orgánicas con las que se formulan aproximadamente 20.000 productos diferentes. En la mezcla se asocian además excipientes o diluyentes, que constituyen una gran proporción del producto y cuyos efectos nocivos pueden superar los del propio ingrediente activo; tal es el caso del tetracloruro de carbono y el cloroformo, considerados potentes hepatotóxicos y neurotóxicos. Los plaguicidas comercializados también contienen impurezas, que son elementos químicos altamente tóxicos como las dioxinas de algunos herbicidas del tipo clorofenoxi, la etilentiourea en fungicidas del tipo etilen-bis-ditiocarbamato o el isomalatión en el malatión (Ramírez y Lacasaña, 2001).

1.1.2 Clasificación de Plaguicidas

Los plaguicidas se clasifican de acuerdo a una gran variedad de criterios, que se resumen en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1- Clasificación de plaguicidas, según los criterios más usuales

Según el organismo que controla	
Insecticida: Larvas, hormigas, pulgas.	Rodenticida: Roedores
Acaricida: Ácaros	Bactericida: Bacterias
Nematicida: Nematodos	Fungicida: Hongos
Molusquicida: Moluscos	Herbicida: Malezas
Según la estructura química	
Compuestos organofosforados: malatión	Compuestos organoestánicos: cihexatina
Compuestos organoclorados: DDT	Tiocarbamatos: mancozeb, maneb
Carbamatos: carbaril, metomil, propoxur	Derivados del ácido fenoxiacético: silvex
Peritroides y piretrinas: permetrina	Compuestos Inorgánicos: Arsénico.
Compuestos organomercuriales	Bipiridilos: diquat, paraquat
Derivados del cloronitrofenol: dinoterb	
Por su forma de acción	
Inmediata	Residual
Por su forma de aplicación	
Fumigantes	Adhesivos
Polvos	Aerosoles
Por su forma de penetración	
Digestivos	Tegumentarios
Respiratorios	Deshidratantes
De acuerdo a su vida media en el ambiente	
No persistentes: $t_{1/2}$ de días hasta 12 semanas. Ej: malatión, diazinón, carbarilo.	
Persistentes: $t_{1/2}$ de varios meses a 20 años. Ej: DDT, aldrín, dieldrín	
Moderadamente persistentes: $t_{1/2}$ de 1 a 18 meses. Ej: paratión, lannate	
Permanentes: $t_{1/2}$ Indefinidamente. Ej: compuestos con mercurio, plomo, arsénico	

$t_{1/2}$: Lapso de tiempo necesario para que se degrade la mitad del compuesto o mezcla aplicada.

La Toxicidad es la capacidad de una sustancia química de causar daños a los organismos vivos. Depende de cantidad de la sustancia administrada o absorbida y del tiempo expuesto a la misma. Los plaguicidas afectan directamente a los organismos vivos causando la muerte por toxicidad aguda, o afectando el crecimiento, la supervivencia, por factores reproductivos u otras funciones según su toxicidad crónica.

Por ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2009; OMS, 2019) ha recomendado una clasificación de los plaguicidas según su peligrosidad (Tabla 1.2), entendiéndola como su capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto. Esta clasificación se basa en la dosis letal media (DL₅₀) aguda, por vía oral o dérmica.

Tabla 1.2- Clasificación de plaguicidas según su peligrosidad.

CLASE	DL ₅₀ (mg/kg de peso corporal)	
	ORAL	DÉRMICA
Ia Extremadamente peligroso	<5	< 50
Ib Altamente peligroso	5-50	50-200
II Moderadamente peligroso	5-2000	200-2000
III Levemente peligroso	>2000	>2000
Poco probable que presente peligrosidad	5000 o más	

DL₅₀ : Dosis Letal Media; Fuente: OMS, 2019.

Dosis o Concentración Letal 50 (DL₅₀), es la cantidad de miligramos de ingrediente activo por kilogramo de peso corporal requerido para matar al 50% de los animales de laboratorio expuestos. La DL₅₀ en el caso de los plaguicidas, debe determinarse para las diferentes rutas de exposición (oral, dérmica y respiratoria) y en diferentes especies de animales. Sin embargo, un producto con una baja dosis letal media (DL₅₀) puede causar efectos crónicos por exposición prolongada (PAN, 2009).

La FAO recomienda en su Código de Conducta sobre Plaguicidas, que los plaguicidas Clase Ia y Ib, no se utilicen en los países en desarrollo, y que si es posible, se eviten también los de Clase II. Algunas empresas de supermercados tienen en cuenta la categoría de toxicidad aguda de la OMS como uno de sus criterios para prohibir o restringir el uso de determinados plaguicidas peligrosos por parte de los productores agrícolas que integran sus cadenas de proveedores (PAN, 2009).

Los Plaguicidas Organoclorados fueron los plaguicidas más ampliamente utilizados, desde 1940 (Ruiz Toledo y col., 2018). Su estructura química corresponde a la de los hidrocarburos clorados, lo que les confiere una alta estabilidad física y química, haciéndolos insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos. Estas características favorecen la persistencia en el ambiente y lenta biodegradabilidad. A causa de su alta lipofilicidad tienden a acumularse principalmente en el tejido celular subcutáneo, en el componente graso de la leche materna y de la sangre (Shao y Gu, 2016). Productos representativos de este grupo son el DDT, el aldrín, el dieldrín y el endrín, así como el endosulfán y el lindano.

Los plaguicidas organofosforados son ésteres, amidas o tioles derivados de los ácidos fosfórico, fosfónico y ortofosfórico. Se descomponen con mayor facilidad y se degradan por oxidación e hidrólisis, dando origen a productos solubles en agua, tentativamente menos persistentes y poco acumulables en el organismo humano. Pertenecen a este grupo el paratión, el malatión, el diazinón, el clorpirifos y el diclorvos (Badii y Varela, 2015).

Los carbamatos son otro grupo de plaguicidas que pueden ser de tres tipos principales: derivados de ésteres carbamatados, derivados del ácido tiocarbámico, carbamatos propiamente dichos, que se emplean como herbicidas. Todos ellos son relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental y cuentan con cierta selectividad. Su degradación se realiza por oxidación y sus metabolitos finales son hidrosolubles pudiendo excretarse por la orina y las heces. Entre los más comunes se encuentran el lannate, el carbarilo o carbaril (Marrero y col., 2017).

Las piretrinas (P) son plaguicidas obtenidos por secado, molienda y pulverización de la flor del crisantemo, cuyo polvo contiene del 1 al 3% del principio activo. Las principales piretrinas son las cinerinas I y II, las jasmolinas I y II, y las piretrinas I y II, consideradas estas últimas como las de efecto más potente. Tienen una relativa selectividad, por lo que su toxicidad es baja. Las moléculas de piretrinas son neuroactivas, de baja absorción dérmica, con un metabolismo rápido y no dejan residuos en la atmósfera.

Los piretroides son piretrinas sintéticas que se dividen en dos tipos:

- a) sin grupo alfaciano, como permetrina y resmetrina.
- b) con grupo alfaciano, como fenvalerato, diametrina y cipermetrina.

Todos son metabolizados por hidrólisis, oxidación y conjugación, con poca tendencia a acumularse en los tejidos. Además son rápidamente degradados en el

ambiente, pues aunque se absorben masivamente por el suelo, se eliminan fácilmente con el agua (Ramírez y Lacasaña, 2001).

1.1.3 Antecedentes de uso de plaguicidas.

La historia de los PO comienza con el descubrimiento del DDT, sintetizado por Zeidler en 1874, pero las propiedades insecticidas fueron realmente descubiertas por Muller en 1939, como resultado de investigaciones enfocadas al desarrollo de armas químicas que originalmente fueron probadas en insectos. En 1942 el compuesto se patentó en Suiza. En poco tiempo se convirtió en el insecticida más usado en el mundo. El DDT se utilizó por primera vez durante la Segunda Guerra Mundial para proteger a los soldados estadounidenses contra enfermedades transmitidas por vectores y se comercializó en los EEUU en 1945. Toda la producción se usaba para protección contra malaria, tifus y contra moscas y otros insectos que constituían plagas. Como resultado, el mosquito responsable de la transmisión de la malaria fue erradicado de EEUU en 1953. Sin embargo, se utilizaron cantidades más elevadas para el control de plagas agrícolas y forestales (Linares Mazariegos, 2007).

En otros países el uso civil de estos compuestos se inició un poco más tarde, así las dos décadas siguientes fueron testigo del amplio uso a nivel mundial de PO, especialmente DDT, aldrin y dieldrin, en EEUU y hexaclorociclohexano, en Gran Bretaña y Japón. La OMS estimó que, hasta 1971, más de un billón de personas se salvó de contraer malaria por el uso de DDT.

La pujante industrialización, los intereses económicos de los grandes productores de plaguicidas, así como la necesidad de controlar químicamente las plagas, favoreció su fabricación y consumo a escala mundial. La aparición de insectos resistentes originó, una carrera incesante en la búsqueda de compuestos análogos más efectivos y selectivos con las plagas, lográndose así nuevos compuestos como metoxicloro, análogo al DDT (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Luego de algunos años se han hecho evidentes los efectos indeseables de los plaguicidas sobre la salud del ser humano y sobre el medio ambiente. Independientemente de sus beneficios, es evidente que los plaguicidas son sustancias químicas deliberadamente tóxicas, creadas para interferir en algún sistema biológico en particular y que carecen de selectividad real. Afectan simultáneamente, y en mayor o

menor grado, tanto a la especie blanco como a otras categorías de seres vivos, particularmente al ser humano. Miles de productos se comercializaron en todo el mundo, sin que sus efectos nocivos sean realmente conocidos y evaluados, de manera de limitar su producción, lo que ha llevado a restringir y/o prohibir su uso, en los países desarrollados, a partir de los años 70.

1.1.4 Plaguicidas Organoclorados. Características

Son compuestos químicos sintéticos que constituyen plaguicidas de amplio espectro, preparados por la cloración de varios hidrocarburos. Dentro del grupo de PO pueden distinguirse tres subgrupos (Zaragoza y col, 2016):

- a. Derivados de los etanos: DDT y compuestos análogos, tales como DDE, DDD.
- b. Serie de los ciclohexanos: dentro de los cuales el más conocido es lindano, que corresponde al isómero gamma del hexaclorociclohexano.
- c. Ciclodienos: aldrín, dieldrín, endrín, clordano, heptacloro y toxafeno.

Los PO son compuestos no polares, poco solubles en agua, estables a la luz solar, a la humedad, al aire y al calor. Son muy afines a la materia orgánica de los sedimentos por lo que se pueden encontrar en el lecho y el material particulado de los cursos de agua superficial. En los países en donde se han utilizado estos compuestos, todavía es frecuente encontrar residuos de ellos en los alimentos precisamente por ser muy estables en el ambiente (PAN, 2009).

A continuación se detallan algunas características de los PO comprendidos en el presente estudio.

1.1.4.1- Aldrin

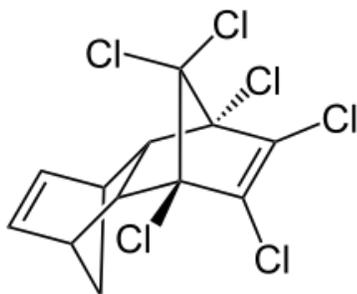


Figura 1.1- Aldrín (1,2,3,4,10,10-hexacloro-1,2,4 α ,5,8,8 α -hexahidro-1,4-endo,exo-5,8-dimetanonaftalina)

Es un compuesto clorado de la familia de los ciclopentadieno (ciclodienos) (Figura 1.1). Irrumpieron en el mercado de agroquímicos en 1950 y se utilizaron hasta 1970 como insecticidas (combate de termitas, langosta, tucura, etc.) para cultivos extensivos (maíz, algodón, otros). Desde 2002 se encuentra prohibido en forma generalizada a nivel mundial e interrumpida su fabricación. (ATSDR-1, 2002).

Aldrin se adsorbe en el suelo ($\log K_{oc}$ 5,4 a 7,7) y se degrada lentamente en el mismo. Se volatiliza lentamente desde el suelo y el agua, puede trasladarse grandes distancias adsorbidas en el polvo o partículas del aire y ser transportadas por el viento. Las plantas pueden traslocar aldrin desde el suelo y almacenarlo en hojas y raíces. Los peces y animales que ingieren materiales contaminados con aldrín, lo bioacumulan en su tejido graso. Se bioconcentra a lo largo de la cadena alimentaria verificándose que las especies que se alimentan de vegetales acumulan menos niveles en su grasa que los que se alimentan de otros animales o peces. Los factores de bioconcentración (BCF, en inglés) indican que la magnificación de las concentraciones por la cadena trófica es importante.

1.1.4.2- Clordano

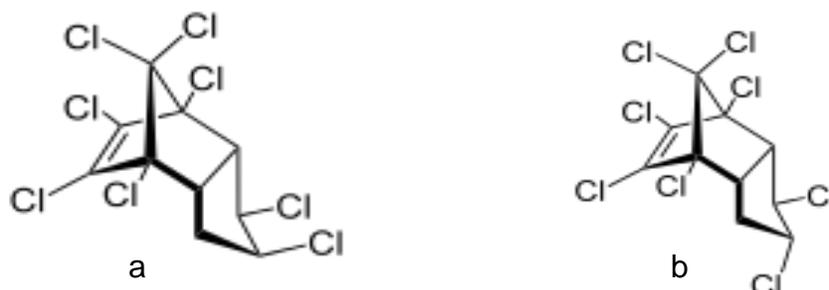


Figura 1.2- (a) cis-clordano (conocido como α-clordano). (b) trans-clordano (conocido como γ-clordano o beta-clordano)

Sustancia química sintética que se utilizó como pesticida en Estados Unidos desde 1948 a 1988 y que se conoce con sus nombres comerciales Octachlor® y Velsicol 1068®. El clordano es un líquido espeso que, de acuerdo con su pureza, puede ser entre incoloro y ámbar. En términos de olor, también puede ser inodoro o tener un olor leve e irritante. El clordano comercial es una mezcla de sustancias químicas relacionadas, algunos de los componentes principales son transclordano, cis-clordano, beta-clordano, heptacloro y trans-nonacloro (Figura 1.2). Es una sustancia combustible y a temperaturas por encima

de 56° C pueden formarse mezclas explosivas vapor/aire. Las formulaciones líquidas contienen disolventes orgánicos que pueden ser inflamables. Se descompone al calentarla intensamente, al arder y en contacto con bases produciendo humos tóxicos.

Hierve a 175 °C; a 25°C la presión de vapor es de 0,0013 atm, por lo que es poco volátil. Su densidad relativa al agua se encuentra entre 1,59 a 1,63, dependiendo de la formulación comercial. Desde 1983 hasta 1988, el único uso aprobado del clordano era para la fumigación de termitas en las casas. También se utilizaba como pesticida en cultivos agrícolas, céspedes y jardines. En 1988, la EPA prohibió el uso del clordano en Estados Unidos, aunque se continuó su producción para fines de exportación. (ATSDR, 1994).

1.1.4.3- DDT e Isómeros

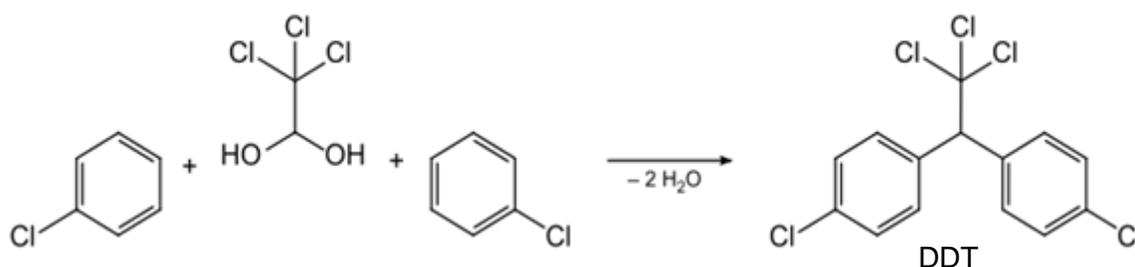


Figura 1.3- Síntesis del DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano) mediante tratamiento de clorobenceno con hidrato de tricloroacetaldehído (hidrato de cloral) en presencia de ácido sulfúrico o cloruro de aluminio

El DDT (Figura 1.3) es un plaguicida usado extensamente en el pasado para controlar insectos en cosechas agrícolas e insectos portadores de enfermedades como malaria y tifus. El DDT de calidad técnica es un mezcla de tres formas de DDT: p,p'-DDT (85%), o,p'-DDT (15%) y de pequeñísimas cantidades de o,o'-DDT. Todas estas formas son sólidos blancos cristalinos, sin sabor y casi sin olor. También puede contener DDE (diclorodifenildicloroetileno) y DDD (diclorodifenildicloroetano) como contaminantes, que son productos de degradación del DDT.

Su punto de ebullición es igual a 260 °C. Su punto de fusión es igual a 108,5 °C. Es poco soluble en agua ($5,50 \times 10^{-3}$ mg/L a 25 °C), muy soluble en lípidos, en dioxano, o-diclorobenceno, aceite mineral, diclorodifluorometano y dibutilftalato. Es poco volátil (presión de vapor $1,6 \times 10^{-7}$ mm Hg a 20 °C) y en combustión forma gases tóxicos y

corrosivos que incluyen al cloruro de hidrógeno. El uso del DDT se prohibió en Estados Unidos en el año 1972 excepto en casos de emergencias de salud pública. Sin embargo, aún es usado en países subdesarrollados, principalmente para controlar la malaria. Se encuentra presente en muchos sitios de desechos y las liberaciones desde estos sitios pueden continuar contaminando el ambiente.

El DDT en particular y los PO en general, pueden ingresar al aire adheridos a partículas sólidas o en forma de vapor, desde cursos de agua y suelos contaminados; de esta manera pueden ser arrastrados por el viento y depositado nuevamente en suelo, por las lluvias. Este ciclo se repite y como resultado, pueden ser transportados largas distancias en la atmósfera. Se han encontrado en pantanos, nieve y en animales de ambas regiones polares, donde nunca se usó. DDT puede permanecer en el suelo por mucho tiempo, hasta 50 años. El DDT puede degradarse lentamente por acción de algunos microorganismos, a DDE y DDD. En agua superficial, se une a partículas presentes en el agua y se deposita en el sedimento. Se acumula en tejido graso de peces y mamíferos acuáticos (por ejemplo focas y ballenas), alcanzando niveles miles de veces más altos que en el agua. (ATSDR-2, 2002)

1.1.4.4- Heptacloro y Epóxidos

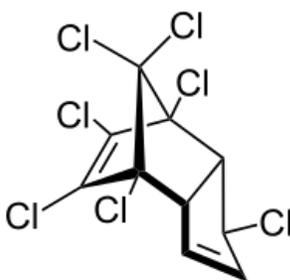


Figura 1.4- Heptacloro (1,4,5,6,7,8,8-Heptachloro-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-metano-1H-indeno)

El heptacloro (Figura 1.4) es un compuesto de la familia de los ciclodienos, aductos clorados del ciclopentadieno. Su metabolito principal es la forma epoxidada (epóxido de heptacloro). Fue utilizado ampliamente como hormiguicida, pero su uso fue restringido y prohibido desde fines de la década del 80. Forma parte de la primera lista contemplada por el Convenio de Estocolmo. La exposición de por vida de animales al heptacloro produjo tumores en el hígado. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, en inglés) y la EPA han clasificado al heptacloro y también al epóxido

como posiblemente carcinogénico en seres humanos (ATSDR, 2007). El heptacloro puro es un polvo blanco, y el de calidad técnica, de menor pureza, es un polvo de color canela. Tiene un olor similar al alcanfor. El heptacloro no se incendia fácilmente y no es explosivo. No se disuelve en agua fácilmente.

1.1.4.5- Lindano

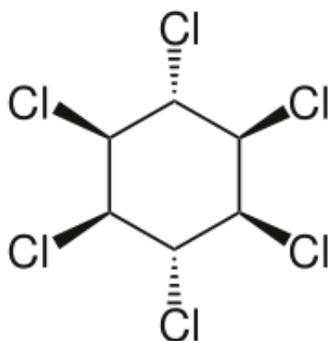


Figura 1.5- Lindano (1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano).

El Lindano (Figura 1.5), también conocido como gama-hexachlorociclohexano, (γ -HCH), Gamexane, Gammaxene, Gammallin (nombre comercial), es un halogenuro de alquilo, usado como insecticida y actualmente prohibido en todas sus formulaciones y usos, por ser dañino para la salud humana y el ambiente. Es un polvo cristalino incoloro o de color blanco, con olor mohoso o ligeramente aromático. El lindano en su estado puro es inodoro. Su punto de fusión es igual a 112,5 °C. Su solubilidad en agua es de 7,3 ppm a 25 °C. Es muy soluble en petróleo e hidrocarburos, pero ligeramente soluble en aceites minerales. Esta sustancia se descompone en contacto con superficies calientes, formando gases tóxicos y corrosivos que incluyen al fosgeno y cloruro de hidrógeno. Además, se descompone en contacto con bases, produciendo triclorobenceno, o en contacto con el polvo de acero, aluminio y zinc. Es emitido al aire en forma de vapor o de partículas. En la atmósfera puede persistir por largos períodos y viajar grandes distancias antes de precipitarse con la lluvia y el polvo, o ser degradado por la luz del sol y por radicales hidroxilo. En general es muy persistente en el ambiente, en suelos de zonas lluviosas o de riego intensivo con bajo contenido de materia orgánica puede lixiviarse, representando un riesgo de contaminación para las aguas subterráneas (ATSDR, 2005).

Su volatilización puede ser importante en agua y suelos húmedos de zonas tropicales con altas temperaturas. Se bioacumula significativamente en los organismos, tanto acuáticos como terrestres (microorganismos, invertebrados, peces y aves) y en humanos, biomagnificándose a lo largo de la cadena trófica. Puede ser absorbido por las plantas a través de la aplicación directa, el agua o los vapores. Sus residuos se almacenan y persisten en las plantas ricas en lípidos, sobre todo en las raíces y en pequeña proporción en tallos, hojas y frutos, debido a que su translocación hacia las partes aéreas es limitada. En los tejidos vegetales es metabolizado a una velocidad variable dependiendo de la especie (Domínguez y col., 2018).

El lindano ha sido utilizado en todo el mundo no sólo en agricultura, sino que se usó en salud pública para el control de enfermedades transmitidas por vectores, como la malaria, en lociones y champús para el tratamiento de la escabiosis y pediculosis y en medicina veterinaria para el combate de ectoparásitos de animales (Girish y Mohammad Kunhi, 2013; Zhou y col., 2018).

1.1.4.6- Metoxicloro

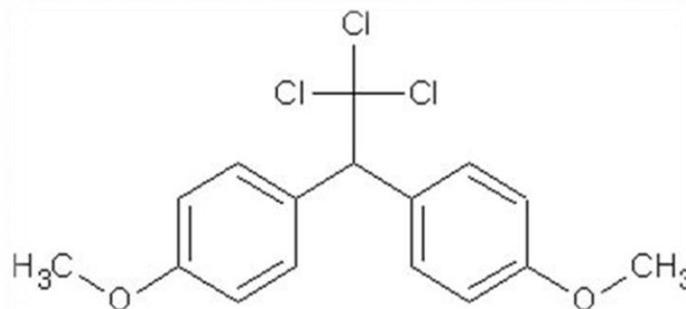


Figura 1.6- Metoxicloro 2,2-bis(p-metoxifenil)-1,1,1-tricloroetano

Es un insecticida que se utiliza en la producción de hortalizas, frutales, árboles, forrajes y animales de granja. Se presenta como cristales incoloros, con ligero olor a fruta. Su punto de fusión es igual a 87 °C. Su densidad relativa es de 1,41 a 25 °C. Su solubilidad en agua es igual a 0,10 mg/L a 25 °C. Es muy soluble en la mayoría de los disolventes aromáticos, clorados y cetónicos y es ligeramente soluble en alcohol y en aceites de petróleo. Tiene una presión de vapor muy baja. Se descompone al calentarse y al quemarse, produciendo vapores tóxicos y corrosivos que incluyen al cloruro de

hidrógeno. Ataca algunas formas de plásticos, hules y recubrimientos. Reacciona con oxidantes y álcalis, especialmente en presencia de metales catalíticamente activos, con la pérdida de cloruro de hidrógeno (ATSDR-3, 2002). Metoxicloro (Figura 1.6) tiene potencial cancerígeno para el hígado y los testículos en ratones. La base de datos de estudios de toxicidad a corto y largo plazo y de toxicidad para la función reproductora, es insuficiente. (OMS, 2019).

1.1.5 Efectos sobre el ambiente

Se entiende por contaminación antrópica a la introducción por el hombre, directa o indirectamente, de sustancias o formas de energía causando efectos perjudiciales tales como daños a los recursos vivos, peligro para la salud humana, deterioro de la calidad de las aguas, del suelo y del aire.

Los residuos de plaguicidas en suelos, agua, alimentos, aire o seres vivos, aún en pequeñísimas concentraciones, constituyen una forma de contaminación del ambiente (Terán Mogro, 2007). El uso histórico y continuo de DDT para el control de vectores transmisores de enfermedades como la malaria ha llevado a la contaminación de suelos en áreas urbanas y periurbanas (Mansouri y col., 2017). Las causas de contaminación ambiental debidas a PO pueden ser por el uso agropecuario y sanitario de los mismos, ya que una parte de estos persiste en el medio después de ejercer su acción biológica contra el objetivo que se desea controlar; también los desechos de la industria de síntesis o de formulación de PO; y el arrastre en el terreno constituye también otra causa indirecta de contaminación, dependiendo de varios factores, tales como las condiciones climáticas (vientos, temperatura), la formulación del producto y, finalmente, la forma de aplicación. Los vientos fuertes y las altas temperaturas favorecen el arrastre. Por su parte los polvos se dispersan más en el ambiente que los líquidos (Aksoy y col., 2013).

Los suelos son el principal reservorio ambiental para estos contaminantes persistentes. Forman enlaces estables con la materia orgánica del suelo, donde permanecen en forma no extraíble. Sin embargo, cambios en las condiciones ambientales del suelo pueden modificar esta situación, haciendo que se vuelvan fácilmente extraíbles. Por ejemplo, un aumento de 1° C en la temperatura del aire produce un aumento en la volatilización de estos compuestos de los suelos, del 8 por ciento (Rodríguez y col., 2019).

También desde el agua se contamina la atmósfera, ya que, al ser poco solubles en agua, tienden a situarse en la interfase agua-aire. Se calcula que a partir de 1 ha de agua tratada pueden pasar en un año, unos 9 kg de DDT (PLAGBOL, 2008).

En caso de aguas subterráneas o de embalses superficiales, la contaminación puede ocurrir por lixiviación y lavado superficial del suelo. Más del 90 % del DDT aplicado permanece en la capa de 0–5 cm, aún después de una precipitación de 400 mm de lluvia. Estos compuestos son arrastrados por las corrientes superficiales o se mueven adsorbidos a las partículas del suelo.

Estudios hechos en Brasil muestran que las especies acuáticas (bentónicas) que se alimentan en el lodo del fondo de los ríos, presentan concentraciones de DDT 10 veces mayores que las que se alimentan cerca de la superficie (PLAGBOL, 2008).

La desaparición de los residuos de PO que han quedado en el ambiente es lenta, aun cuando ha cesado su aplicación, la contaminación persiste durante mucho tiempo (PLAGBOL, 2008).

Los PO son resistentes a la degradación en el suelo debido a factores como una fuerte adsorción, la hidrofobicidad o una estructura que es resistente a la degradación microbiana. La deposición atmosférica y el intercambio de gases a través de las estomas son los principales mecanismos de absorción de PO por las plantas; posteriormente los contaminantes se trasladan a otros tejidos de la planta y se acumulan en sus ceras y lípidos hidrofóbicos. La cantidad que las raíces pueden absorber del suelo es limitada, ya que estos contaminantes están fuertemente adheridos a las partículas del suelo. Por esa razón, los suelos pueden considerarse como depósito y fuente de plaguicidas persistentes de baja y mediana volatilidad, que pueden ingresar a la cadena alimentaria una vez que las plantas los absorben de la atmósfera. Aún se necesita más información sobre las interacciones específicas con los componentes del suelo y posible absorción por las plantas, especialmente en países en desarrollo, donde aún se siguen usando para combatir la malaria (Rodríguez y col., 2019).

Las transformaciones químicas, tales como el paso de aldrín a dieldrín por oxidación; o la de heptacloro a su epóxido, no se pueden considerar procesos de degradación, puesto que los productos tienen propiedades insecticidas y, a menudo, son más estables en el medio que el producto que les dio origen.

La degradación por agentes físicos se produce mayormente por interacción con la luz ultravioleta, como ser las transformaciones de DDT en DDE. La degradación

microbiológica constituye la vía principal de transformación de estos compuestos en el ambiente, con una cinética de degradación lenta, teniendo en cuenta que el número de microorganismos que los puede atacar es limitado. Por ejemplo, DDT es degradado por procesos enzimáticos de bacterias, hongos y algas, en forma anaeróbica o aeróbica, el producto final, en muchos casos, es DDE, de mayor toxicidad aguda y mayor estabilidad (Sánchez y col., 2008).

1.1.6 Transporte en el ambiente

Para entender cómo se comporta un PO en el ambiente se necesita conocer las propiedades físico-químicas de la molécula y su mecanismo de transporte, así como las características del medio ambiente y la geografía del lugar en el que se le encuentra.

Las características físico-químicas de las sustancias indican cómo interactúan con el medioambiente. La solubilidad, la presión de vapor, la volatilidad, el coeficiente de carbono orgánico (K_{oc}) y el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}), brindan información que permiten predecir el lugar donde puede encontrarse un plaguicida en altas concentraciones, o su tiempo de permanencia en el ambiente.

Los mecanismos de transporte expresan las formas en que se mueven los plaguicidas en el medio ambiente, desde la fuente emisora hasta los puntos donde existe exposición para el ser humano o la biota. Así, el transporte ambiental de plaguicidas involucra movimientos de gases, líquidos y partículas sólidas dentro de un medio determinado y a través de las interfaces entre el aire, el agua, el suelo y los sedimentos, plantas y animales (Rodríguez y col., 2019).

Las características físicas y las condiciones climáticas del sitio de estudio contribuyen al transporte de los contaminantes (INECC-1). Además, se deben tener en cuenta los siguientes factores físico-químicos que influyen en el destino de los contaminantes y en el transporte ambiental:

- Volatilización: La volatilidad representa la tendencia del plaguicida a pasar a la fase gaseosa. Todas las sustancias orgánicas son volátiles en algún grado dependiendo de su presión de vapor, del estado físico en que se encuentren y de la temperatura ambiente. Un plaguicida con presión de vapor mayor a 10,6 mmHg puede volatilizarse fácilmente y tiende a alejarse del lugar donde fue aplicado. Los plaguicidas con presión de vapor menor a $1,0 \cdot 10^{-8}$ mmHg, tienen bajo potencial para volatilizarse. Si la solubilidad en

agua es alta con relación a su presión de vapor, el plaguicida se disolverá principalmente en agua. Un parámetro indicativo de la tendencia de un plaguicida a volatilizarse del agua o suelo húmedo es la Constante de la Ley de Henry, H, que indica el coeficiente de partición aire-agua, es decir la relación entre la presión de vapor del plaguicida y su solubilidad en agua. Un valor alto de la Constante de Ley de Henry, indica que un plaguicida tiene un potencial elevado para volatilizarse del suelo húmedo; un valor bajo predice un mayor potencial de lixiviación del plaguicida. Un resumen de lo expresado puede verse en la Tabla 1.3. (INECC-1).

Tabla 1.3- Constante de la Ley de Henry (H) y volatilidad de plaguicidas

VOLATILIDAD	RANGO DE VALORES de H (atm.m ³ /mol)		
No volátil	Menor a 3.10 ⁻⁷	Constante H baja	
		<ul style="list-style-type: none"> • Presión de vapor baja • Alta solubilidad 	Puede disolverse en agua
Baja volatilidad	3.10 ⁻⁷ a 1.10 ⁻⁵	<ul style="list-style-type: none"> • Potencial para lixiviar 	
Volatilidad Moderada	1.10 ⁻⁵ a 1.10 ⁻³	Constante H alta	
		<ul style="list-style-type: none"> • Presión de vapor alta • Solubilidad baja 	Puede evaporarse
Alta Volatilidad	Mayor a 1 x 10 ⁻³	<ul style="list-style-type: none"> • Alto potencial para volatilizarse de suelo húmedos 	

- **Persistencia:** Se define como la capacidad de cualquier plaguicida para retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio en el cual es transportado o distribuido, durante un período limitado después de su emisión. Si la vida media y la persistencia es mayor a la frecuencia con la que se aplica, tienden a acumularse tanto en los suelos como en la biota (INECC-2).

- **Vida media:** La vida media está definida como el tiempo (días, semanas o años) requerido para que la mitad del plaguicida presente después de una aplicación se descomponga en productos de degradación. En general, se considera:

-Vida media en suelo: Es el tiempo requerido para que un plaguicida se degrade en el suelo, en general depende del tipo de organismos presentes en el suelo, el tipo de suelo, pH y temperatura, entre otros.

-Vida media por fotólisis: Es el tiempo requerido para que la mitad de un plaguicida aplicado, expuesto a la luz del sol se degrade.

-Vida media por hidrólisis: Es el tiempo requerido para que la mitad de un plaguicida aplicado se degrade por la acción del agua.

- Solubilidad en agua: La solubilidad en agua es una medida que indica la máxima concentración de un plaguicida que puede disolverse en un litro de agua, en la mayoría de los casos, a 20 a 25 °C. Los plaguicidas con solubilidad mayor se adsorben con baja afinidad a los suelos y por lo tanto, son fácilmente transportados por una fuerte lluvia, riego o escurrimiento, hasta los cuerpos de agua superficial y/o subterránea. El departamento de Regulación de Plaguicidas en California (Estados Unidos), determinó que si la solubilidad mayor a 3 mg/L tiene potencial para contaminar agua subterránea. Sin embargo, tiempo después, se encontraron plaguicidas con valores menores de solubilidad en agua subterránea, lo cual indica que este parámetro es una garantía (INECC-1).

- Coeficiente de adsorción de carbono orgánico (K_{oc}): Llamado también coeficiente de adsorción suelo/agua. Se define como la relación entre la masa de plaguicida adsorbido por unidad de masa de suelo, y la masa del plaguicida que permanece en solución, en el equilibrio. El valor depende del tipo y pH del suelo, por lo que se calcula para cada plaguicida, en función de valores experimentales de carbono orgánico conocido, de cada suelo. Un K_{oc} elevado indica que el plaguicida orgánico se fija con firmeza en la materia orgánica del suelo, por lo que poca cantidad del compuesto se mueve a los acuíferos. Por ejemplo, DDT presenta un valor de K_{oc} de 243.000 mL/g por lo que se considera que se adhiere fuertemente al suelo, mientras que lindano tiene un valor de K_{oc} entre 1081 y 1347 mL/g.

- Coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow}): El coeficiente de partición octanol/agua, K_{ow}, es una medida de cómo una sustancia química puede distribuirse entre dos solventes inmiscibles: agua (un solvente polar) y octanol (un solvente relativamente no polar, que representa a las grasas). El K_{ow} proporciona un valor de la polaridad de un plaguicida, que es frecuentemente utilizado en modelos para determinar como un plaguicida puede distribuirse en el tejido adiposo animal.

$$K_{ow} = \frac{C_{octanol}}{C_{agua}} \quad \text{Ecuación 1.1}$$

Donde C es la concentración molar en cada medio físico. Los plaguicidas con una vida media y un K_{ow} altos pueden acumularse en tejido graso y bioacumularse a lo largo de la cadena alimenticia (INECC-2).

En general, las propiedades descritas son de mucha ayuda para predecir el comportamiento de los plaguicidas en el ambiente, pero no son valores rigurosos ya que la movilidad de las sustancias químicas depende de factores químicos, físicos y ambientales. La Agencia de Protección Ambiental (EPA), de los Estados Unidos, realizó estudios durante 10 años, asociando ciertas propiedades de los plaguicidas con la lixiviación; en la Tabla 1.4 se resumen las propiedades que indican la potencialidad de un plaguicida para contaminar acuíferos, según EPA.

Tabla 1.4- Propiedades de plaguicidas que indican su potencial para contaminar acuíferos, EPA.

PROPIEDADES FÍSICAS O QUÍMICAS	VALORES DETERMINADOS
Solubilidad en agua	Mayor de 3 ppm
Constante de Henry	Menor 10^{-2} atm.m ³ /mol
K_{oc}	de 300 a 500 mL/g de C orgánico
Vida media por hidrólisis	Mayor a 25 semanas
Vida media por fotólisis	Mayor de 1 semana

K_{oc} : Coeficiente de absorción de C orgánico

En la Figura 1.7 se esquematizan las propiedades que facilitan la movilidad de plaguicidas organoclorados en el ambiente. Dicha movilidad se encuentra favorecida por los siguientes mecanismos de transporte:

Difusión: Provoca el flujo de materiales desde zonas más concentradas a las menos concentradas. Para medir la difusión de un compuesto en el suelo hay que considerar la interacción conjunta de parámetros tales como la porosidad, los procesos de adsorción, la naturaleza del compuesto, etc.

Lixiviación: Está ligado a la dinámica del agua, a la estructura del suelo y a factores propios del plaguicida. Los compuestos aplicados al suelo, podrían desplazarse con el agua y lixiviar a través del perfil, alcanzando las capas más profundas y el acuífero.

Evaporación: La tasa de pérdida de un plaguicida por volatilización depende de su presión de vapor, de la temperatura, de su volatilidad intrínseca y de la velocidad de difusión hacia la superficie de evaporación.

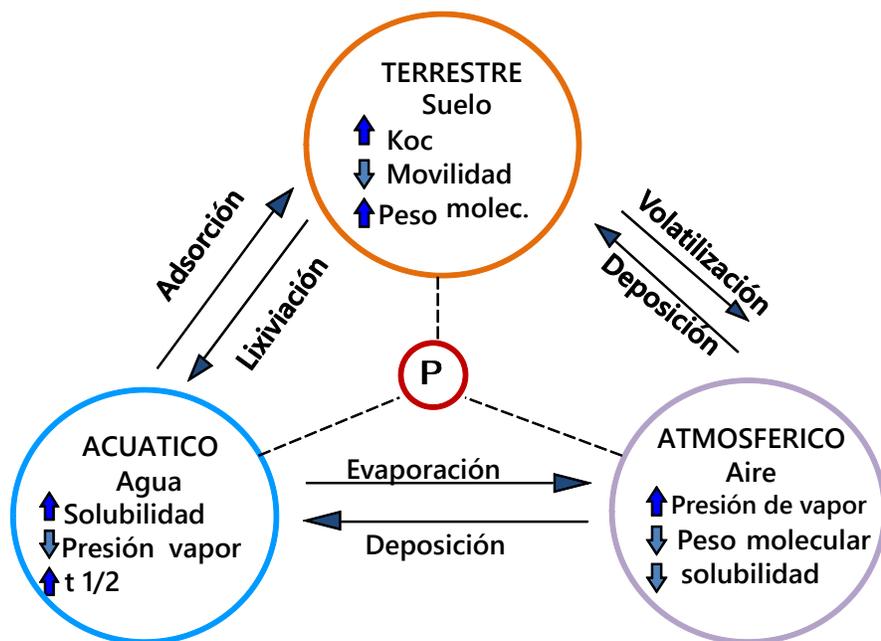


Figura 1.7- Esquema de características de plaguicidas organoclorados y su movilidad en el ambiente

1.1.7 Efectos sobre los organismos vivos

Los PO liberados en el ambiente tienen afinidad por el tejido graso y se concentran en él, conduciendo a un fenómeno de biomagnificación, es decir, aumenta su concentración en cientos e incluso millones de veces a medida que los organismos son devorados por sus depredadores, lo que hace que estos contaminantes se desplacen por los diferentes eslabones de las cadenas tróficas. De este modo, los PO alcanzan las mayores concentraciones en las especies que están en los niveles más elevados de las cadenas alimentarias, como los peces, aves depredadoras y mamíferos, incluyendo osos polares, nutrias, focas, delfines, ballenas y seres humanos (Benítez, 2012). En la Figura 1.8 se esquematiza el caso de la biomagnificación de DDT

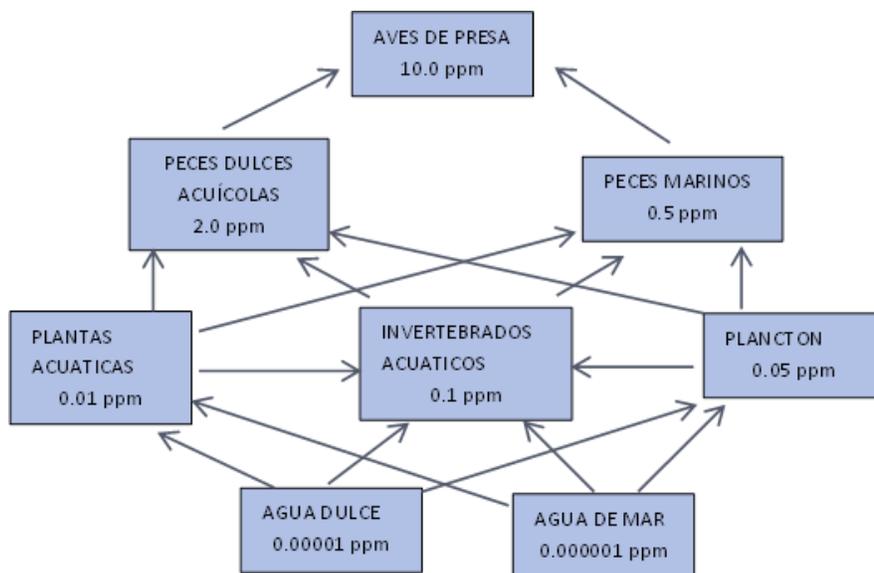


Figura 1.8: Acumulación de DDT en la cadena trófica

Cuando se sintetizaron plaguicidas, como el DDT, eran considerados como un gran adelanto en materia de salud pública. Sin embargo, poco a poco comenzaron a emerger las evidencias de los efectos perjudiciales, la disminución de las poblaciones de aves fue el signo más visible de su ineludible presencia. DDT es muy tóxico para los peces y otros organismos acuáticos, se descompone con lentitud y puede permanecer durante décadas en el medio ambiente. Queda almacenado en el tejido adiposo, por lo que exposición a lo largo de toda una vida puede traducirse en altos niveles de DDT en la grasa humana y hasta en la leche materna. Debido a que el DDT ha sido transportado por el agua y el viento a todas partes del mundo, se ha transformado en un tema de preocupación global (Beckman, 2007).

Los PO pueden ingresar al organismo a través de los sistemas digestivo y respiratorio, o por la piel. En este último caso, el grado de penetración depende también del tipo de compuesto que se trate. Por ejemplo, el DDT es poco absorbido por la piel, mientras que aldrín lo hace con mayor rapidez, y en mayor proporción. Por otro lado, cuando estas sustancias se encuentran disueltas en grasas animales o vegetales aumenta, aún más, su absorción (Sánchez y col., 2008).

Los efectos crónicos producidos por los PO incluyen cáncer, problemas reproductivos, alteración del sistema inmunológico, disrupciones hormonales, alteraciones

en el comportamiento y disminución de la inteligencia, entre otros efectos (Bejarano, 2004).

Se considera que los PO son disruptores endocrinos porque causan desequilibrios hormonales, debido a que se pueden imitar, sustituir o inhibir la acción de las hormonas, lo que provoca un gran número de reacciones bioquímicas incontroladas, a muy bajas concentraciones, especialmente en el desarrollo embrionario (Bejarano, 2004).

La presencia de disruptores endocrinos en la vida silvestre ha ocasionado trastornos en el desarrollo reproductivo, cambios de conducta sexual (feminización de machos y masculinización de hembras), defectos de nacimiento y depresión del sistema inmunológico. Algunos estudios sobre disminución del esperma, pérdida de fertilidad, aumento de cáncer de mama, de próstata y de testículos, aumento de la hiperactividad de los niños y problemas de aprendizaje, consideran como causa posible de ello la acción de disruptores endocrinos de los PO (Bejarano, 2004; Repetto y col., 2006).

Los PO tienen un efecto transgeneracional, lo que significa que la exposición a ellos se inicia desde la concepción. Los que se acumulan en los tejidos grasos pueden pasar a la sangre y traspasar la placenta durante el desarrollo embrionario y fetal, así como excretarse en la leche materna y transferirse a los bebés durante la lactancia.

La mayor vía de exposición humana se produce a través de los alimentos. La OMS ha establecido niveles de ingestión diaria aceptables para algunos PO, sin embargo, es cuestionable que estos niveles de tolerancia representen medidas reales de protección dado que no hay “dosis seguras” de disruptores endocrinos o sustancias que producen cáncer.

Los PO forman parte de la carga corporal tóxica que pasa a las futuras generaciones. La carga corporal se refiere al volumen total de las sustancias químicas que están presentes en el cuerpo humano en un momento determinado. Los científicos estiman que hoy todos los individuos, llevan en sus cuerpos al menos 700 contaminantes, además de muchas otras sustancias químicas que no han sido bien estudiadas (Bejarano, 2004).

1.1.8 Presencia de PO en el ambiente y Regulación de uso.

En 1994, 103 países adoptaron el Programa Ambiental de las Naciones Unidas (UNEP, en inglés) con un acuerdo para la protección del medio ambiente marino que

contempla la reducción de 12 sustancias conocidas como Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs). Se reconoció que los COPs son transportados de manera global por el aire y el mar, dando lugar a un aumento en sus concentraciones lejos del sitio original de uso.

Las Comisiones sobre los COPs de UNEP trabajaron hacia un acuerdo global para prohibir y eliminar 12 compuestos, originando el Convenio de Estocolmo sobre COPs, firmado el 23 de mayo del 2001, que representa un avance en la lucha contra la contaminación global del planeta y plantea una serie de retos y oportunidades para las organizaciones que promueven la protección de la salud y el medio ambiente. La Convención de Estocolmo pide medidas internacionales sobre la que denomina "docena sucia", integrada por 12 COPs (Figura 1.9). La presencia de COPs en el ambiente debe su origen a fuentes antropogénicas asociadas con la fabricación, uso y eliminación de determinados productos químicos. Algunos de estos compuestos son conocidos plaguicidas (aldrín, clordano, DDT, dieldrín, endrín, heptacloro, mirex, entre otros). Algunos otros se emplean como aditivos o auxiliares en una variedad de aplicaciones industriales (PCBs y hexaclorobenceno). Otros COPs, como dioxinas (PCDDs) y furanos (PCDBFs) se generan como subproductos no intencionales en todo tipo de procesos de combustión entre los que se encuentran la quema de basura, incineración de residuos sólidos y en incendios forestales.

El Convenio de Róterdam, entró en vigencia el 24 de febrero de 2004 y tiene como objetivos promover la responsabilidad compartida y los esfuerzos conjuntos de las partes en la esfera del comercio internacional de ciertos productos químicos peligrosos a fin de proteger la salud humana y el medio ambiente frente a posibles daños; contribuir a su utilización ambientalmente racional, facilitando el intercambio de información acerca de sus características, estableciendo un proceso nacional de adopción de decisiones sobre su importación y exportación y difundiendo esas decisiones.

La presencia de estos contaminantes en países en vías de desarrollo es principalmente debido a que se usaron en cultivos agrícolas y para combatir epidemias como el tifus y la malaria. Y en los países desarrollados es principalmente debido a la fabricación, uso y eliminación de productos químicos orgánicos y a los aditivos o auxiliares de aplicaciones industriales. (Papale, 2003).

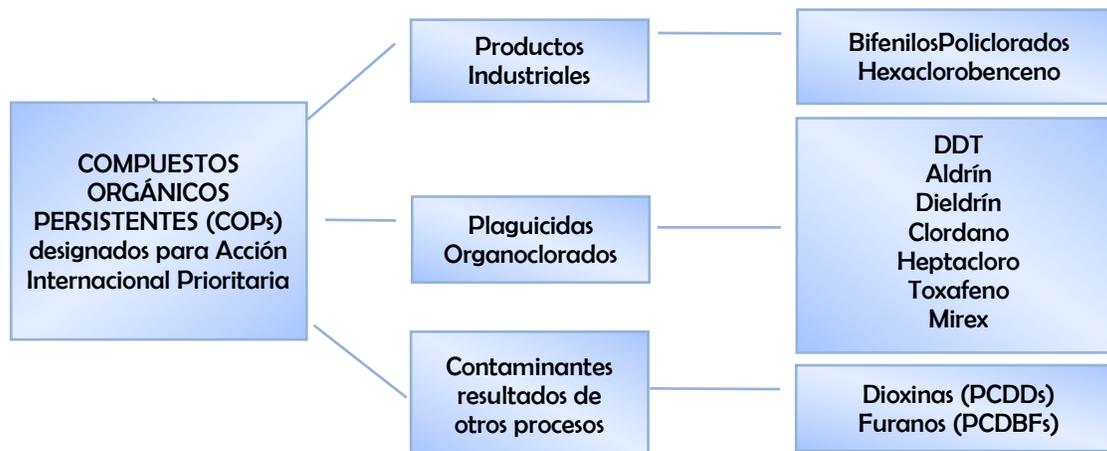


Figura 1.9- Sustancias químicas sometidas a regulación internacional. Convenio de Estocolmo (2001)

En 1985, la Red de Acción Contra Plaguicidas (PAN, por sus siglas en inglés) difundió que productos agrotóxicos que estaban prohibidos en su país de origen se utilizaban intensamente en otros países, causando 14.000 muertes al año.

En Colombia se han encontrado existencias almacenadas de DDT hasta el año 2006 de 160.732 kg de DDT en las ciudades de Bogotá, Cartagena, Honda y Puerto Inírida, en su mayoría propiedad del Ministerio de la Protección Social, debido a su uso para el control de la malaria. Se estima un total de 5.000 m³ de suelo contaminado en Colombia con DDT (Betancur y col., 2013).

En México, estos plaguicidas se encuentran prohibidos desde 1999, y no se emplean, sin embargo, los resultados de estudios de monitoreo revelan evidencias de su presencia en muestras de suelo superficial, de alimentos y en humanos (Waliszewski e Infanzón, 2011).

Recientemente, Investigadores de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) estudiaron la concentración y distribución de plaguicidas organoclorados en la Laguna del Hito (Cuenca), un área protegida por varias directivas nacionales e internacionales. Los resultados revelan concentraciones que conllevan un riesgo superior al máximo aceptable para la salud humana o los ecosistemas (Sánchez Palencia y col., 2017).

1.1.9 Plaguicidas Organoclorados en Argentina

En Argentina se conocen casos de contaminación del ambiente con PO, como el entierro o el volcado al agua de plaguicidas obsoletos o prohibidos. Uno de los casos más resonantes ocurrió, en junio de 1990, en la localidad denominada Argentina, de Santiago del Estero, donde fueron enterradas en frágiles bolsas plásticas, en terrenos de la estación ferroviaria, 30 Tn de Gamexane, mezcla de plaguicidas organoclorados (lindano, clordano, aldrín, DDD y otros), fabricado por la empresa de capitales británicos ICI (ex Duperial), todos de uso prohibido por la legislación argentina y por las normas de la mayoría de los países. A pesar de encontrarse bajo investigación judicial, permaneció sin pronunciamiento definitivo durante trece años. En el año 2003, la Cámara de la Industria Química y Petroquímica, se hizo cargo de la remoción, traslado y disposición final del material tóxico, mediante la contratación de una empresa neozelandesa (Figura 1.10)



Figura 1.10- Argentina, localidad a 300 km de Santiago del Estero, en 1990 se convirtió en el depósito tóxico más grande de Sudamérica, 30 Tn de PO fueron enterrados a 80 metros de la Estación, en terrenos de Ferrocarriles. Fuente: Galería fotográfica Greenpeace Argentina. http://images.greenpeace.org.ar/fotos/displayimage.php?album=1135&pid=12238#top_display_media

En 1972, la empresa Bayer enterró 12 Tn de plaguicidas en la localidad rionegrina de El Cuy, ubicada a 50 km al sur de la ciudad de General Roca. El hecho se descubrió en 1997, la justicia no sancionó a Bayer porque en la época en que fueron enterrados, no

existía legislación que reglamentara el destino final de este tipo de productos. Luego, la firma acordó retirar el material y llevarlos a Alemania. Como otro ejemplo de este tipo de caso, puede mencionarse el incendio (julio 2003) de un depósito de plaguicidas en Paraguay, con probables derrames al Río Paraguay y al Riacho Formosa (Huerga y San Juan, 2005).

En Argentina, publicaciones en diversas revistas científicas dan cuenta de la presencia de PO en el ambiente:

- Ya desde los 70, estudios realizados en agua y nieve han demostrado la presencia de PO en muestras obtenidas en el Sector Antártico Argentino y la costa Atlántica. Las concentraciones de p,p'-DDT halladas fueron 9 ng.L^{-1} (Villaamil Lepori y col., 2013).
- En un trabajo similar, se investigaron PO en los ríos Paraná y Uruguay; se halló HCB (hexaclorobenceno), α , β y γ HCH (hexaclorociclohexano), aldrín, endrín, heptacloro y su epóxido, p,p' DDT y p,p' DDE (diclorodifenildicloroetileno), con frecuencias y concentraciones variables. Las concentraciones de los diferentes PO fueron menores a 1 ng/L excepto para DDT e isómeros que llegó a $5,61 \text{ ng/L}$ (Villaamil Lepori y col., 2013).
- En la cuenca del Río Negro, en la Patagonia Argentina, se reportó la presencia de PO en suelos, sedimentos, material particulado en suspensión y en agua de cursos acuáticos. En todas las matrices, se hallaron PO, lo que indica el impacto de la agricultura en la cuenca. Los niveles más altos descritos correspondieron al pp'-DDE (entre 42 y 1270 ng/g peso seco) (Miglioranza y col., 2013).
- En aguas superficiales del río Reconquista-Buenos Aires, se midieron PO (α , β y γ HCH, heptacloro, epóxido de heptacloro, aldrín, endrín, dieldrín, op 'y pp' DDT; op 'y PP' DDE; α y γ clordano). El 35 % contenía PO en una concentración mayor que el límite de detección. El DDT y su metabolito DDE solo se hallaron en una sola estación y heptacloro estuvo presente en el 50 % de las muestras. En todos los lugares, se encontró que los niveles de plaguicidas fueron entre 40 y 400 veces superiores a los límites legales establecidos para la protección de la vida acuática (Rovedatti y col., 2001).
- También se investigaron 18 PO en sedimentos del estuario de Bahía Blanca, entre abril de 2005 y marzo de 2009. Los resultados indican niveles medios para PO,

comparados con otros lugares del mundo, comprendidos entre 3,54 y 63,79 ng/g de peso seco. Se encontró además una tendencia a la disminución en la carga de estos contaminantes en el ambiente respecto a datos anteriores (Arias y col., 2011).

- En la laguna de Mar Chiquita, en la cual desemboca el Río Suquía (Córdoba, Argentina), se evaluaron los PO en muestras de agua. Se halló HCH (21,65 ng/L) en cantidades que superaron los niveles propuestos por la legislación argentina (Ballesteros y col., 2014).

De acuerdo con los resultados de numerosos trabajos, los PO son los compuestos que más aparecen en varias especies de la fauna silvestre. Cid y col. (2007), hallaron PO en tejido adiposo de aves del Embalse La Florida en la provincia de San Luis, en concentraciones entre 2,68 - 19,2 µg/g de tejido adiposo.

En la Patagonia Andina se investigó la concentración de DDT en tejidos de trucha marrón (*Salmo trutta*). La relación de DDT/DDE reflejó exposiciones antiguas a DDT y mostró un predominio de DDE (Ondarza y col., 2011).

Villaamil Lepori y col. (2013), recopilaron datos de Plaguicidas Organoclorados en alimentos como leche, carnes, maíz, frutas y verduras, donde en todos los casos se detectó presencia de por lo menos un compuesto organoclorado.

Un Informe presentado por el Grupo de Reflexión Rural (Aituto, 2006), que se sustenta en datos suministrados por los pobladores de algunas localidades afectadas por fumigaciones, indica que la mayoría de las denuncias se han registrado en las provincias de Córdoba y de Santa Fe.

En el Barrio Itzaingó, localizado en Córdoba capital, se ha detectado, en suelo la presencia de Malatión, Clorpirifós, alfa-Endosulfan, cis-Clordano, isómero de DDT, Beta-Endosulfán y Lindano. En agua de los domicilios se detectaron presencia de Endosulfán y Heptacloro. Sobre un total de 30 niños examinados, 23 llevan en su sangre lindano. (Villaamil Lepori y col, 2013)

Estudios realizados por toxicólogos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (UBA), en muestras de leches maternizadas, yogures y postres disponibles en el mercado, informaron que sólo el 10 % de ellas estaba libre de PO. Los residuos detectados en las muestras de lácteos fueron: heptacloro y epóxido de heptacloro (presentes en el 57,4 % de las muestras), en el 53,3% el grupo del HCH (hexaclorociclohexano); en el 31,7% DDT total y aldrin-dieldrin; en el 28,7%, clordano; en

el 18,8% endrin; y en el 9,9% endosulfán y HCB (Hexaclorobenceno). (Villaamil Lepori y col., 2013).

En Tucumán, varias publicaciones dan cuenta de la presencia de PO en el ambiente. El único antecedente de relevamiento de condiciones de uso de plaguicidas en las producciones de limón, caña de azúcar, granos y hortalizas, fue realizado por Sosa y col. (1994), quienes concluyeron que en la provincia de Tucumán no se realizan controles del nivel de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas, ni en ningún otro producto destinado al consumo interno; alrededor de un 20% de las explotaciones almacenan al menos parte de los plaguicidas en el interior de viviendas y en la mayoría de los casos, los productos son usados sin asistencia técnica; el lavado de los equipos usados con plaguicidas se realiza en cursos de aguas o en cercanías de bombas manuales que provee agua de uso doméstico.

Por otra parte, en el año 2009 se publicó un libro digital cuyo nombre es Base de Datos Hidroquímicos de la Provincia de Tucumán, 1990-2004 (Apella y col., 2009), donde se midieron parámetros físico-químicos, microbiológicos y orgánicos en agua de los ríos de la provincia de Tucumán, monitoreados durante 15 años. En esta publicación se informa presencia de lindano y metoxicloro en la mayoría de los ríos afluentes del Salí, que recorren amplias zonas de cultivos del oeste de la provincia. Así, el río Salí funciona como colector natural de la cuenca, para desembocar luego en las aguas del embalse de Río Hondo, en Santiago del Estero.

Romero y col. (2012) informaron la presencia de PO en muestras de leche materna; en el 100% de las muestras evaluadas se detectó residuos de por lo menos un Plaguicida Organoclorado. Heptacloro y DDT se detectaron en cantidades mayores que el límite máximo de residuos según el CODEX. Se observó un alto grado de contaminación de acuerdo al origen de las muestras, ya que madres provenientes de zonas rurales presentaron mayores contenidos de PO.

1.1.10 Legislación en Argentina

En la Constitución Nacional 1953/60, el derecho a un ambiente sano ya era reconocido como derecho implícito; a partir de la reforma constitucional de 1994, se reconoció de modo expreso el derecho de todos los habitantes a gozar de un ambiente

sano y equilibrado, el deber de preservarlo y la obligación de las autoridades de proveer a la protección de ese derecho (Art 41 CN).

Así, la Ley de Política Ambiental Nacional, conocida como Ley General del Ambiente (LGA), Ley de Presupuestos Mínimos N° 25675 (B.O. 28/11/2002) establece los presupuestos mínimos para el logro de una gestión sustentable y adecuada del ambiente, la preservación y protección de la diversidad biológica y la implementación del desarrollo sustentable. Fija los objetivos de la política ambiental, determina que la ley regirá en todo el territorio de la Nación. Incluye entre sus preceptos que la interpretación y aplicación de la Ley y de toda otra norma a través de la cual se ejecute la política ambiental, deberá sujetarse a principios tales como: precaución, prevención, equidad intergeneracional, responsabilidad y sustentabilidad. Tiene carácter de Ley mixta (además de presupuestos mínimos contiene normas de derecho común). Establece el concepto de daño ambiental y reconoce al daño ambiental colectivo, incluyendo los elementos de responsabilidad objetiva de restablecimiento al estado anterior a su producción que cause daño ambiental y el deber de indemnización sustitutiva.

En el año 2002 se sancionó la Ley de Presupuestos Mínimos sobre Gestión Integral de Residuos Industriales de Actividades de Servicios, Ley N° 25612 (B.O. 29/07/2002); en 2003 se aprobó la Ley de Presupuestos Mínimos para Agua, N° 25688 (B.O. 03/01/2003) y en 2004, la Ley de Presupuestos Mínimos de Libre Acceso a la Información Pública Ambiental, Ley 25831 (B.O. 07/01/2004).

En la República Argentina está reglamentada la elaboración, formulación, fraccionamiento, distribución, transporte, almacenamiento, comercialización y aplicación de los productos fitosanitarios a través de leyes, decretos, resoluciones emanadas de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación (SAGPYA, hoy Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca) y SENASA, o sus antecesores, Instituto Argentino de Sanidad y Calidad Vegetal, o Servicio Nacional de Sanidad Vegetal. En 1996, a través del Decreto 1585/96, se estableció que el SENASA es la autoridad nacional competente para el control y registro de productos fitosanitarios.

En la Tabla 1.5 se muestra un resumen de las normas que prohibieron el uso de los agroquímicos comprendidos en el presente trabajo de tesis, y los organismos rectores correspondientes, extraída de Químicos Prohibidos y Restringidos en Argentina (Ministerio de Salud, 2016).

Tabla 1.5- Normas que establecieron prohibiciones de uso de los PO estudiados (Argentina).

	HERRAMIENTA NORMATIVA	ORGANISM O RECTOR	COMENTARIO
ALDRIN	Decreto 2121/90 http://goo.gl/yyl0li	MAGyP–SV	Prohibición total.
	Resolución SAGPyA 513/98 http://goo.gl/iKPnYM	MAGyP–SV	Prohibir la importación, comercialización y uso de los principios activos Clordano y Lindano, y sus formulaciones. SENASA cancelará inscripciones
CLORDANO	Disposición ANMAT 8224 / 2016 https://goo.gl/lfyGQx	Ministerio de Salud	Prohibido en insecticidas domisanitarios
	Ley 18073/69 http://goo.gl/ayla04	Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca– Sanidad Animal	Prohíbese el uso de: a) Dieldrín, Heptacloro, los isómeros del HCH para tratamiento de praderas, cultivos de cereales, forrajeras u otro cultivo usado en la alimentación del ganado. b) Dieldrín, HCH, Heptacloro, Clordano para tratamiento de especies bovina, ovina, caprina, porcina y equina.
	Decreto 2678/69 http://goo.gl/DQ6QPO		
DDT	Decreto 2121/90 http://goo.gl/yyl0li	MAGyP–SV	Prohibición total.
	Resolución MSN 133/91	Ministerio de Salud	Prohibición total para Salud Humana
HEPTACLORO	Disposición ANMAT 8224 / 2016 https://goo.gl/lfyGQx	Ministerio de Salud	Prohibido en insecticidas domisanitarios
	Resol. SAGPyA 1030/92 y 27/93 (http://goo.gl/PXeeGQ) y (http://goo.gl/UShrHz)	MAGyP–SV	Prohibición total / Todos los usos cancelados
	Resolución SAGPyA 513/98	MAGyP–SV	Idem Clordano
LINDANO	Disposición ANMAT 617/11 https://goo.gl/VJHgNB	Ministerio de Salud	Suspéndase la comercialización y uso de especialidades medicinales que contengan Lindano, en todas sus formas, presentaciones y cantidad.
	Resolución 709/1998 https://goo.gl/2isHaZ	Ministerio de Salud	Queda prohibido el uso de sustancias clasificadas por OMS en grupo I.

METOXICLORO	Disposición ANMAT 8224 / 2016 https://goo.gl/lfyGQx	Ministerio de Salud –Salud Pública	Prohibido en insecticidas domisanitarios.
	Resolución SAGPyA 750/00 http://goo.gl/oM1bJU	MAGyP–SV	Prohibición total

MAGyP-SV: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca-Sanidad Vegetal; SAGPyA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos; SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Alimentaria OMS: Organización Mundial de la Salud; ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

A nivel Nacional, el Decreto 831/93 de la ley 24051, establece valores guías para agua de consumo y para agua dulce superficial (Tabla 1.6). En barros, la normativa fija como límite, por lo general 100 veces el valor fijado en agua. La referencia tomada por la ley corresponde a la Guía de Calidad de Agua de la Organización Mundial de la Salud.

En la provincia de Tucumán, la Secretaría de Medioambiente (SEMA) establece en el Anexo I, “Niveles de calidad de los efluentes industriales y cloacales”, donde detalla los parámetros que deben cumplir todo tipo de efluente para ser volcado en el cuerpo de agua superficial (natural o artificial) o para absorción en suelo. En tal sentido fija un valor menor que 0,05 mg/L de Plaguicidas Organoclorados Totales, en efluentes para descargar en cuerpo de agua superficial; y ausencia de los mismos para disposición en suelo.

Tabla 1.6- Valores Guías de PO en el Decreto 831/93 reglamentario de la Ley 24051 (Argentina).

Plaguicida Organoclorado	Anexo II. Valor Guía Agua bebida humana	Anexo II. Valor Guía para agua dulce superficial	Anexo VI. Límites establecidos para barros
LINDANO	3 µg/L	0,01 µg/L	0,3 mg/L
HEPTACLORO y EPÓXIDOS	0,1 µg/L	0,01 µg/L	0,01 mg/L
ALDRÍN	0,03 µg/L	0,004 µg/L	0,003 mg/L
CLORDANO	0,3 µg/L	0,006 µg/L	0,03 mg/L
DDT e ISÓMEROS	1 µg/L	0,001 µg/L	0,1 mg/L
METOXICLORO	30 µg/L	0,03 µg/L	2 mg/L

1.2 Vinaza

1.2.1 Generalidades

En el año 2000, se consolidaba la tendencia en los principales mercados de exigir combustibles más amigables con el ambiente (siendo ellos uno de los principales responsables de emisiones de gases efecto invernadero), a partir de la vigencia del Tratado de Kyoto. Esta tendencia se profundizó con el paso del tiempo, de acuerdo a los compromisos asumidos por Argentina, derivados del acuerdo celebrado en la Cumbre de Cambio Climático de París, Francia. Así, el desarrollo de fuentes alternativas de energía se convertía en una cuestión estratégica. El Congreso de la Nación tomaba este tema con la mayor responsabilidad, sancionando las leyes que permitieron al Gobierno de Argentina iniciar un proceso de diversificación de la matriz.

El biocombustible más importante y con más aplicaciones en la actualidad es el alcohol carburante, o bioetanol (etanol, BioEtOH), un alcohol producido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en la remolacha, maíz, cebada, trigo, caña de azúcar, sorgo u otros cultivos energéticos, que mezclado con la gasolina produce un biocombustible de alto poder energético con características muy similares a la gasolina, pero con una importante reducción de las emisiones contaminantes en los motores tradicionales de combustión. El bioetanol se obtiene a partir de la caña de azúcar en países tropicales como Brasil e India, a partir de melazas de remolacha azucarera en algunos países europeos como Francia, y a partir de almidón en los EEUU (Cardona y Sánchez, 2017).

En el año 2009 las únicas destilerías que suministraron etanol a las refinerías fueron Alconoa y Bioenergía La Corona S.A., aportando alrededor de 2.600 m³ entre ambas. El volumen creció significativamente en el año 2010 con la incorporación de la producción de seis destilerías más. El cupo establecido por la Secretaría de Energía para 2011 fue de 210.741m³, lo que implica un incremento del 85% con relación a 2010. (Pérez y col, 2011)

A partir de abril de 2016, el porcentaje de bioetanol por litro de nafta en la Argentina subió al 12% (Resol 37/2016 del Ministerio de Energía y Minería). De acuerdo a los datos del 2018, la provincia de Córdoba es la principal productora a nivel país con un 39% del total (unos 430000 m³) en las tres plantas ubicadas en Alejandro Roca, Río Cuarto y Villa

María. En segundo lugar, se ubicó la provincia de Tucumán, que representó el 25% de la elaboración a nivel país (280978 m³).

En la Figura 1.11 se puede observar el crecimiento en la producción de bioetanol, desde el año 2010 a 2017, dicha gráfica se elaboró con los datos suministrado por el Instituto de Promoción de Azúcar y Alcohol de Tucumán de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, disponibles en la página web del Ministerio de Desarrollo Productivo del Gobierno de la Provincia de Tucumán.

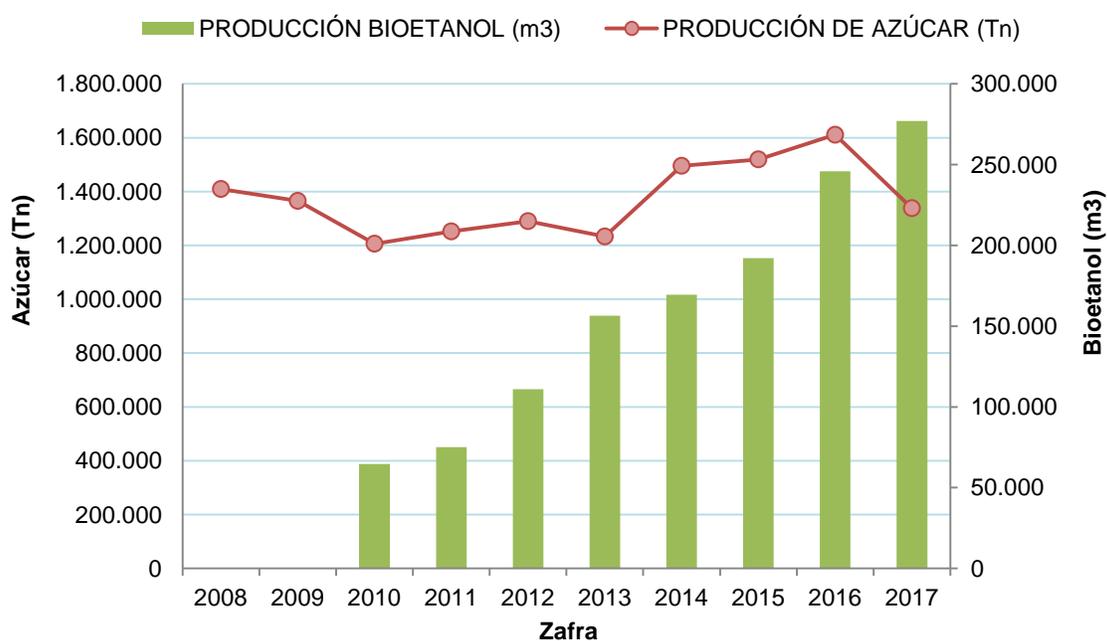


Figura 1.11- Producción de Bioetanol en Tucumán. 2008-2017. Fuente: Instituto de Promoción de Azúcar y Alcohol de Tucumán, Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Ministerio de Desarrollo Productivo. <http://producciontucuman.gob.ar/producciones-primarias-y-agroindustriales/>

En el proceso de obtención de etanol se producen residuos secundarios, entre ellos la vinaza, a los que hay que darle tratamiento y un adecuado uso para evitar la contaminación del ambiente. Algunas destilerías, en la búsqueda de disminuir la generación de vinazas, implementaron un sistema de reciclado de vinaza, con la incorporación de un sistema de concentración. El ingenio La Florida, de la Compañía Azucarera Los Balcanes, fue el primero en iniciar la zafra 2019 con la inauguración de un

concentrador de vinaza de múltiple efecto, a través del cual, en una primera etapa, de un litro de etanol se producirán 7,5 litros de vinaza. (Infocampo, 2019).

1.2.2 Proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar

En la Figura 1.12 se muestra el esquema del proceso de obtención de alcohol carburante a partir de la caña de azúcar.

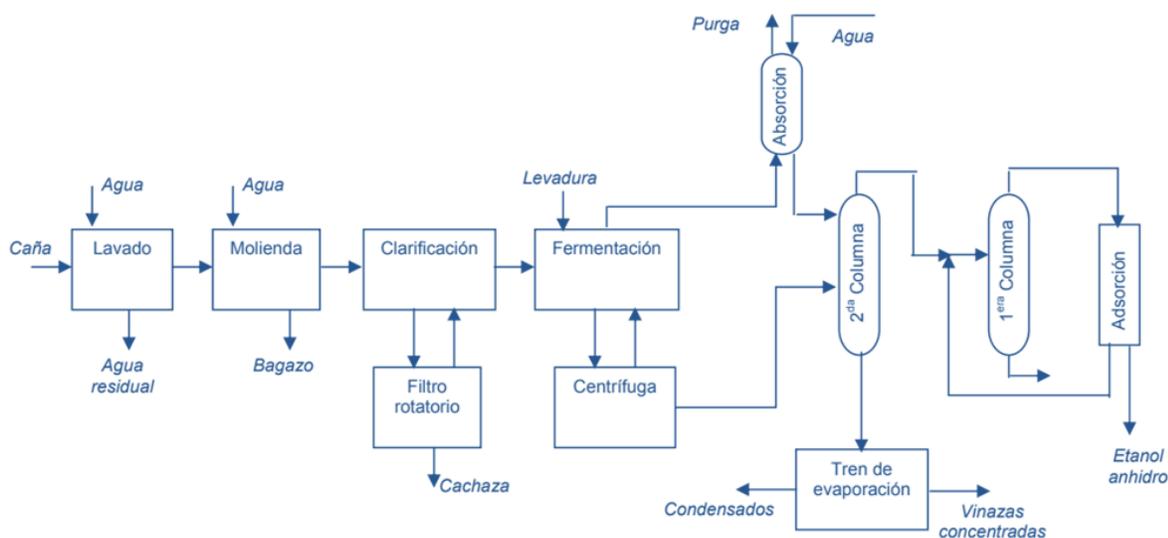


Figura 1.12- Proceso de obtención del etanol a partir de caña de azúcar

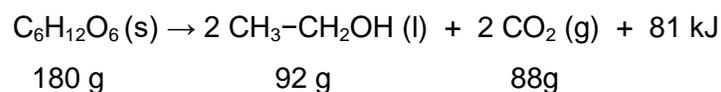
El etanol producido a partir de azúcares tiene varias etapas (Ing. Leales, 2018):

1- Generación y Adecuación del sustrato azucarado: Las melazas (mieles finales), miel negra (melazas blackstrap), se obtienen como subproducto final en la elaboración del azúcar de caña. Es una mezcla compleja que contiene sacarosa, azúcar invertido, sales y otros compuestos solubles que normalmente están presentes en el jugo de caña, algunos de ellos son sustancias reductoras no fermentables (Tellez, 2004). Antes de realizar el proceso de fermentación alcohólica, las melazas se acondicionan por esterilización, dilución, adición de nutrientes (N y P).

2- Fermentación y generación del vino: El etanol de la caña se produce por fermentación de melaza, usando la levadura *Sacharomice Cereviseae*, que se caracteriza por ser un microorganismo facultativo: por eorobiosis transforma los azúcares en biomasa y por anaerobiosos produce la glicólisis donde glucosa (y/o fructosa) se transforma en

aldehído pirúvico y luego en alcohol etílico, con desprendimiento de calor y dióxido de carbono. La fermentación se inicia agregando levadura prensada en tanques prefermentadores, con los azúcares mencionados, aire, nutrientes y ácido sulfúrico (para mantener el pH del medio entre 5 y 5,5). La temperatura se mantiene entre 30-32 °C. Finalizada la fermentación se procede a la separación del vino (mosto fermentado sin levadura) y la levadura. Esta última se envía al prefermentador, donde se prepara para iniciar un nuevo ciclo. Se produce un vino con una graduación de 8,5-9 % v/v de alcohol.

De acuerdo a la estequiometría de la reacción y considerando que la densidad del etílico puro a 20°C es 0,7893 g/cm³, 100 g de glucosa producen 64,753 mL de alcohol. Este valor teórico sirve de referencia en la conversión de azúcares simples (hexosas) a volumen de alcohol etílico y se conoce como el Factor de Gay Lussac.



El rendimiento fermentativo normal es del orden del 90%, valor que puede ser incrementado, dando a la fermentación la capacidad volumétrica suficiente y recuperando el alcohol etílico que CO₂ arrastra como micro gotas (1,2-1,5 % del peso del CO₂ liberado). Se pueden obtener cerca de 70 L de Etanol/tn de caña y 9 L Etanol/tn de melaza, además de aproximadamente 100 kg de azúcar.

3-Destilación y generación de vinaza (Colombo y col., 2015): Los esquemas actuales consisten generalmente en dos o tres columnas de destilación, dependiendo de la pureza que se requiera del etanol y otros productos de interés. El vino se recibe en tanques (cubas volantes) desde donde se envía hacia una de las columnas de destilación. El vapor lleva hacia el tope de la columna a los más volátiles, en este caso el alcohol etílico y otros compuestos originados en la fermentación. Hacia el fondo de la columna se mueve el vino que cada vez se agota más, hasta llegar al pie de la columna con trazas de alcohol que no sobrepasan el 0,05 % v/v y se transforma en vinaza.

El alcohol sale del tope de la columna destiladora a una concentración del 45-50 % v/v (Flema de Mal Gusto), pasa la columna depuradora, donde por el fondo se obtiene flema de buen gusto (30-40 % v/v de etanol). Ésta se envía a una columna rectificadora, y a unos cuantos platos cerca del tope de la columna, se extrae el alcohol Buen Gusto de 96 % v/v, se enfría y se envía a receptores para su control y posterior almacenaje.

1.2.3 Caracterización de vinazas

La vinaza puede definirse como el efluente resultante de la producción de alcohol a partir de la fermentación-destilación de melaza y jugo de caña de azúcar. Es un residuo líquido de color marrón, con un gran contenido de sólidos suspendidos, olor a miel final y sabor a malta, presenta pH ácido, elevados valores de Demanda Química de Oxígeno (DQO), entre 70.000 y 150.000 mg/L, y de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), entre 35.000 y 60.000 mg/L. Aproximadamente la mitad de los sólidos se deben a compuestos no volátiles provenientes del caldo de fermentación, orgánicos no fermentescibles, compuestos fenólicos, polifenólicos y azúcares residuales (Sangave y col., 2007; Robles y col., 2012). Los valores conductividad eléctrica y de porcentaje de cenizas indican que presenta un elevado contenido de sales minerales (Ahmed y col., 2013).

Por ello, se considera como un residuo líquido que impacta negativamente el ambiente, especialmente, a los recursos hídricos, ya que disminuye la luminosidad de las aguas, la actividad fotosintética, y el oxígeno disuelto; producen además eutrofización, contribuye al aumento de poblaciones de insectos y vectores, y como resultado al desarrollo de enfermedades (Bermúdez y col, 2000).

Zúñiga y Gandini (2013) caracterizaron vinazas provenientes del proceso de obtención de etanol a partir de dos fuentes: de substratos sintéticos producidos en el laboratorio que simulan las condiciones de los residuos de caña; y a partir de los hidrolizados de residuos de caña de azúcar. Los resultados señalaron que, en general, las vinazas de los substratos de fermentación sintéticos son de naturaleza ácida, presentan un alto contenido de sólidos en suspensión (700 a 4500 mg/L), altas DQO (10200 a 43000 mg/L) y altas DBO₅ (6200 y 17100). De igual forma para los nitratos y fosfatos. Las vinazas de los hidrolizados de residuos de caña de azúcar tienen pH ácido, presentan alto contenido de sólidos disueltos (3400-3700 mg/L) y suspendidos (3800-5300 mg/L). Las concentraciones de DQO varían de 35000 a 42300 mg/L, mientras que para la DBO₅ se encontraron valores que van desde 17000 hasta 22000 mg/L.

La composición elemental de vinaza refleja la del material de procedencia. De forma tal, que está compuesta por materiales orgánicos y nutrientes minerales que son parte de compuestos y constituyentes vegetales, como aminoácidos, proteínas, lípidos, ácidos diversos, enzimas, bases, ácidos nucleicos, clorofila, lignina, quinonas, ceras, azúcares y hormonas (Valeiro y Portocarrero, 2017).

Tabla 1.7- Caracterización físico-químicos de vinazas generadas por destilerías de Tucumán

Parámetro	Promedio	Rango
pH (25°C)	5,1	4,8 – 5,4
Conductividad(25°C)(S/cm)	26,54	24,1 – 28,7
DQO (mg/L)	98.753	90.000 – 110.000
DBO (mg/L)	42.940	32.000 – 54.000
Relación DBO/DQO)	0,43	0,29 – 0,60
Humedad (% m/m)	90,2 %	89 – 92

Fuente: Comisión Provincial de Vinazas 2009. DQO: Demanda Química de Oxígeno. DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno.

De los constituyentes inorgánicos de la vinaza, el 64% corresponde a potasio. Puede observarse que su composición es bastante variada, dependiendo de las características de la materia prima usada en la producción de alcohol, del sustrato empleado en la fermentación, del tipo y eficiencia de la fermentación, de la destilación, de la variedad y maduración de la caña, del tipo de suelo sembrado y de las condiciones climáticas de cada región.

En la Tabla 1.8 muestra la composición de vinazas generadas con diferentes productos de la caña de azúcar (melaza, jugo y mezcla de ambos). Se observa que los valores de pH corresponden a medio ácido; la materia orgánica es el componente principal, destacando también los contenidos de potasio y calcio, mientras que el hierro es el micronutriente que presenta mayor proporción, seguido de cobre y manganeso (Zúñiga y Gandini, 2013).

La descarga de vinazas a los cuerpos de agua y el suelo ocasiona un severo impacto ambiental. La provincia de Santiago del Estero enfrentó graves daños ecológicos, como contaminación de las aguas y mortandad de peces de todos los tamaños y especies, en el embalse de Termas de Río Hondo, afirmando que se ocasionaron como consecuencia del vertido de vinaza por las destilerías tucumanas en la cuenca Salí-Dulce.

Por tal motivo, se han propuesto diversas alternativas de tratamiento, de uso y reutilización de vinazas, de modo que el impacto ambiental pueda ser reducido e incluso eliminado.

Tabla 1.8- Composición química de la vinaza según la fuente empleada en la fermentación.

Fuente Composición	Melaza	Mixto melaza-jugo melaza	Jugo
N (Kg/m ³)	0,77	0,46	0,28
P ₂ O ₅ (Kg/m ³)	0,19	0,24	0,20
K ₂ O (Kg/m ³)	6,00	3,06	1,47
CaO (Kg/m ³)	2,45	1,18	0,46
MgO (Kg/m ³)	1,04	0,53	0,29
SO ₄ ⁼ (Kg/m ³)	3,73	2,67	1,32
Materia orgánica (Kg/m ³)	52,04	32,63	23,44
Fe (Kg/m ³)	80	78	69
Cu (mg/L)	5	21	7
Zn (mg/L)	3	19	2
Mn (mg/L)	8	6	7
pH	4,4	4,1	3,7

1.2.4 Disposición final de vinazas

Brasil es el primer productor de bioetanol, además de ser el mayor productor de caña de azúcar a nivel mundial. En 2016 se cosecharon cerca de 9 millones de hectáreas y se produjeron más de 30 mil millones de litros de etanol; con lo que, en un cálculo aproximado, debieron generar y disponer alrededor de 390 mil millones de litros de vinazas (CONAB; 2016). Eso lo convierte en la principal referencia mundial en el tema.

La primera vez que se habló de fertirrigación con vinazas fue en 1950, un trabajo presentado por Almeida y otros, en el VIII Congreso Internacional de Industrias Agrícolas, realizado en Bruselas, donde discutía el uso de vinaza como fertilizante aplicado al suelo (citado por Valeiro y Portocarrero, 2017).

En primer momento se sugirió la aplicación de 500 a 1.000 m³ de vinaza por hectárea, cantidad que más tarde se tornó contraproducente para algunos tipos de suelos.

Este aspecto no permitió que la práctica de la fertirrigación se generalizara como era de esperarse. Desde la década de los 80, hubo numerosas ideas y proyectos que buscaban una solución definitiva que fuese viable y segura para el problema de la disposición de las vinazas.

Los trabajos publicados (Christofolletti y col, 2013; Jiang y col, 2012; Laime y col, 2011), mencionan tratamientos posibles para la vinaza:

1. Concentración del residuo a cerca de 60% de sólidos totales, permitiendo una disminución del volumen para facilitar la manipulación y uso como fertilizante, o su transformación en proteína para ración animal, o incluso su incineración.

2. Fermentación o digestión tanto aerobia como anaerobia para la obtención de levaduras y bacterias con alto tenor proteico (aerobio); y gas metano y fertilizante (anaerobio).

3. Aplicación en el cultivo con objetivo de adicionar nutrientes y materia orgánica.

A pesar de la viabilidad técnica de estas opciones, la realidad es que, en 2014, el 97% del volumen de vinazas producidas en Brasil fue aplicado como fertilizante y riego en los propios cultivos de caña de azúcar (da Silveira, 2015).

En general, existe consenso en que el uso de las vinazas puede resultar en modificaciones de las propiedades del suelo. Esos efectos dependen de varios factores, como la cantidad aplicada, el tipo de suelo y su composición química, el tipo de cultivo y las circunstancias económicas del proceso. Sin embargo la disposición de las vinazas en suelos cañeros es la alternativa más difundida en el mundo. De la experiencia brasileña queda claro que la aplicación de vinaza al suelo sin criterios en cuanto a dosificación, puede causar un desequilibrio de nutrientes, que pueden ser lixiviados. En suelos más abundantes en potasio, se propone una ecuación que calcula la cantidad a aplicar en función de los contenidos de este elemento en suelo y vinaza (Valeiro y Portocarrero, 2017):

$$TX_{\text{APLICACIÓN}} = \frac{[(0,05 \cdot CIC - K_{\text{suelo}}) \cdot 3744 + 185]}{K_{\text{vinaza}}} \quad \text{Ecuación 1.2}$$

Donde: $TX_{\text{APLICACIÓN}}$ = Tasa volumétrica de aplicación de vinaza (m^3/ha)

CIC = Capacidad de Intercambio Catiónico (cmol/dm^3), a pH 7 dado por el análisis del suelo;

K_{suelo} = potasio en suelo en cmol/dm^3 , a una profundidad de 0 a 80 cm, dado por el análisis de suelo; 3744 es un valor constante para transformar resultados del análisis de fertilidad a kg de K, en un volumen de 1 ha por 0,80 m de profundidad

185 es la masa en kg de K_2O extraído por el cultivo por ha por cosecha

K_{vinaza} = concentración de K en la vinaza ($\text{kgK}_2\text{O/m}^3$)

Además, debido al uso irracional de vinazas en suelo, se han constatado inconvenientes en la calidad de la materia prima, sobre todo un atraso en el ciclo de madurez, reducción en el contenido de sacarosa del jugo y un incremento en la producción de cenizas que ocasiona dificultades en la cristalización del azúcar, todo lo cual disminuye los rendimientos industriales en términos de azúcar ensacado.

Las industrias sucro-alcoholeras producen altos volúmenes de líquidos y sólidos derivados de sus procesos de producción, por lo que la Secretaría de Estado de Medio Ambiente (SEMA) de la provincia de Tucumán, fijó pautas de manejo para los subproductos mayoritarios que se obtienen en los procesos agroindustriales. En este sentido se redactaron protocolos generales de manejo de la vinaza y cachazas, en respectivas resoluciones.

Las alternativas de manejo de la vinaza contempladas para la provincia de Tucumán son su aplicación en suelos cañeros y en suelos no productivos.

En la Resolución N° 040 (2011) se destacan los antecedentes de aplicación de vinaza en suelos cañeros, como fuente de nitrógeno, potasio y materia orgánica. Se mencionan además que se pueden aplicar dosis de hasta $150 \text{ m}^3/\text{ha/año}$ de vinaza pura sin afectar el cultivo ni el suelo.

La Resolución N° 047 (2011) plantea otra alternativa, que está relacionada con la utilización de vinazas en suelos improductivos. En estos los contenidos de sales solubles presentes, especialmente sódicas, son superiores a los tolerados por los cultivos económicamente rentables. Estos suelos son caracterizados como salinos, salinos sódicos o sódicos, y presentan inconvenientes para la infiltración del agua, debido a la insuficiente estructuración del suelo, causada principalmente por el efecto dispersante del catión predominante (sodio). La disposición de la vinaza en dichos suelos podría mejorar esta propiedad física y reducir los valores de pH, aporta sales solubles y presenta en su

composición una elevada proporción de materia orgánica, lo que se considera podría llegar a contrarrestar el efecto del ión sodio.

Esta alternativa podría ser tomada como el primer paso en la recuperación de este tipo de suelos. Se señala que es factible realizar aplicaciones frecuentes de vinaza, siempre y cuando no superen la tasa de evaporación del período considerado (de 7 mm a 10 mm/semana) en los meses de menor evaporación (junio-julio). Esta tasa puede ser mayor en los meses restantes. En ambas resoluciones se indican parámetros de suelo que deben ser monitoreados (Morandini y col, 2016)

En la actualidad, numerosos grupos de investigación y técnicos del sector vuelcan su experiencia en lograr una solución económica y factible para la disposición final de vinazas, ya que el volumen de la misma aumenta con el aumento en la producción de alcohol y excede cualquier uso propuesto hasta ahora.

1.3 Procesos de Oxidación Avanzada

1.3.1 Generalidades

La contaminación de las aguas constituye un problema prioritario en materia de medio ambiente, ya que se trata de un bien escaso que se ha utilizado de manera intensiva durante las últimas décadas.

A diferencia de las aguas urbanas, en las que la mayoría de los compuestos orgánicos son fácilmente biodegradables, los efluentes industriales poseen composición variable y gran cantidad de compuestos difíciles de degradar (compuestos recalcitrantes o refractarios), o cuya degradación biológica se produce tan lentamente que hace ineficaz este tipo de sistemas (compuestos persistentes), por lo que el tratamiento suele ser más específico y avanzado.

Los procesos de Oxidación Avanzada (POA) resultaron ser unos de los métodos más eficientes para la remoción de contaminantes contenidos en aguas superficiales, subterráneas, y en residuos industriales líquidos. (García Gámez y col, 2011)

En general en el tratamiento de aguas las tecnologías de oxidación avanzada se utilizan cuando los efluentes poseen contaminantes con alta estabilidad química y/o una baja biodegradabilidad (Poyatos y col, 2010).

La oxidación avanzada se basa en la generación de radicales hidroxilos. Estos radicales tienen un alto potencial rédox (2,9 V) y son capaces de destruir e incluso de

mineralizar cualquier contaminante orgánico. Las reacciones químicas que se producen se caracterizan por su no-selectividad y por las altas velocidades de reacción, entre 10^7 y 10^{10} M.s^{-1} (Sanz y col., 2013).

Los procesos involucrados poseen una mayor factibilidad termodinámica y una velocidad de oxidación muy incrementada por la participación de los radicales hidroxilos, $\bullet\text{OH}$. En la Tabla 1.9, se presentan los potenciales de oxidación de distintas especies y se observa que, después del flúor, el $\bullet\text{OH}$ es el oxidante más energético. (Salas Colotta, 2010)

Tabla 1.9 - Potencial de oxidación de diferentes especies.

Potencial de Agente oxidante	E_0 (V)
Fluor (F)	3,06
Radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$)	2,90
Oxígeno atómico (O)	2,42
Ozono (O_3)	2,08
Peróxido de hidrógeno	1,78
Cloro (Cl_2)	1,36
Oxígeno molecular (O_2)	1,23

Incluso, los radicales $\text{OH}\bullet$ pueden modificar la estructura química de compuestos orgánicos recalcitrantes convirtiéndolo en compuestos más simples, de menor masa molecular, menos tóxicos a los microorganismos y, consecuentemente, más biodegradables (Collins y Bolton, 2016).

Los radicales hidroxilos se generan in situ por la aplicación directa o por la combinación de agentes oxidantes como el ozono, el peróxido de hidrógeno, la radiación ultravioleta o las sales férrico/ferrosas, entre otras.

1.3.2 Clasificación

Entre la gran variedad de tecnologías disponibles las más comunes son la combinación UV y peróxido ($\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$) (Li y col, 2011), el reactivo Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$) (Gogate, 2011) y dos de sus variantes como el foto-Fenton (Saatci, 2010) y el hierro cero-

valente (Fe^0) (Kallel y col, 2009), que es una combinación de las anteriores, o la fotocatalisis UV/ TiO_2 (Ovhal y col, 2010).

Una de las posibles formas de clasificación de este tipo de tecnologías la ofrece Poyatos (2010), que distingue principalmente las tecnologías homogéneas y heterogéneas; y la utilización de energía en el proceso (Figura 1.14).



1.14- Tecnologías de Oxidación Avanzada. Clasificación según Poyatos (2010).

Se ha probado la eficacia de la oxidación avanzada en la destrucción de contaminantes como los hidrocarburos halogenados, compuestos aromáticos (benceno, fenol, tolueno), compuestos orgánicos volátiles, detergentes, tintas o pesticidas, así como en contaminantes inorgánicos (Tijani y col., 2014; Sichel y col., 2011; Sadjadi, 2014; Rauf y Ashraf, 2009; Quici y col.; 2005; Pouran y col., 2015; Pera Titus y col., 2004; Ma y col., 2007; Liu y col., 2013; Iurascu y col., 2009).

1.3.3 Usos y aplicaciones de los POA

Los procesos de oxidación avanzada presentan ventajas sobre otros procesos para tratamiento de efluentes, como ser:

- Capacidad potencial para llevar a cabo una profunda mineralización de los contaminantes orgánicos y oxidación de compuestos inorgánicos, hasta dióxido de carbono e iones (cloruros, nitratos, etc).
- Reactividad con la inmensa mayoría de compuestos orgánicos, hecho especialmente interesante dado que el tratamiento biológico secundario y los tratamientos químicos convencionales no consiguen una adecuada degradación de ciertos contaminantes.
- Descomposición de los reactivos utilizados como oxidantes en productos inocuos, por lo que entra en la categoría de tecnología limpia, transformando los contaminantes en otros productos de menor toxicidad.
- Son sencillos de operar, ya que en su mayoría se producen a temperatura ambiente.

Una de las principales desventajas del uso de estos procesos es, en algunos casos, el consumo de energía, por lo que las convierte en una alternativa costosa.

A pesar de los numerosos estudios en el tema, la oxidación avanzada no ha tenido hasta la fecha una implantación real en el tratamiento de efluentes contaminados, siendo este uno de sus retos a futuro.

Sanz y col. (2013), presentan un resumen de trabajos realizados desde 2004, con ejemplos de aplicación de oxidación avanzada en el tratamiento de efluentes industriales con elevada carga orgánica.

Actualmente se trabaja en la utilización de la oxidación como un pretratamiento a un sistema biológico, la utilización de la luz solar como fuente de energía o la utilización de catalizadores de última generación.

1.3.4 Uso de peróxido de hidrógeno en POA

El proceso con peróxido de hidrógeno adquiere singular importancia ya que se trata de un oxidante económico que no genera residuos. El peróxido de hidrogeno se ha utilizado durante varios años para el tratamiento de efluentes industriales y de aguas potables, principalmente con el objetivo de remover materia orgánica. El H_2O_2 es un oxidante versátil, superior al cloro, dióxido de cloro y permanganato de potasio. Tiene la capacidad de producir radical hidroxilo vía catálisis, bien sea en presencia o ausencia de radiación. La característica selectiva del peróxido de hidrógeno favorece su uso en diferentes aplicaciones. Puede oxidar compuestos orgánicos complejos en compuestos menores, menos tóxicos y más biodegradables ajustando factores como el pH, temperatura, dosis, tiempo de reacción, adición de catalizadores (Stefan, 2017)

Por otro lado, la velocidad de la reacción de peróxido de hidrógeno con sustancias contaminantes complejas puede ser muy lenta por lo que se aplicó combinada con otros oxidantes de manera de favorecer la formación de radicales hidroxilos (Figura 1.15)

El uso de dos o más oxidantes combinados permite aprovechar los posibles efectos sinérgicos entre ellos, produciéndose una destrucción adicional de la carga orgánica.

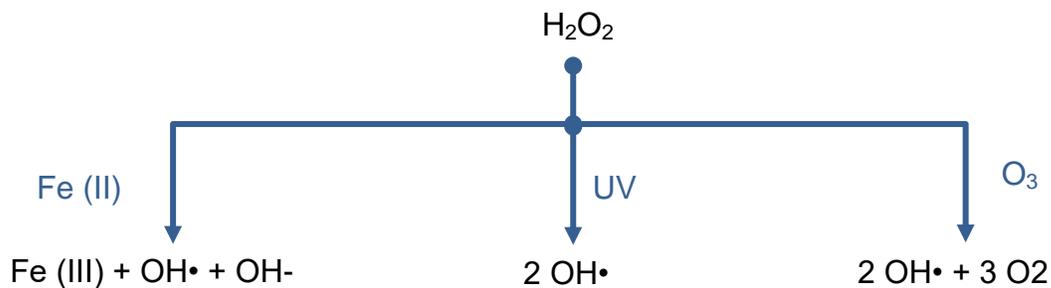


Figura 1.15- Formación de radicales hidroxilos, a partir de peróxido de hidrógeno y diferentes precursores.

HJH Fenton (1894) fue el primero en describir la oxidación del ácido tartárico en presencia de peróxido de hidrógeno y iones ferroso, por lo que la oxidación de sustratos orgánicos e inorgánicos por hierro (II) y H_2O_2 es conocida como reacción de Fenton.

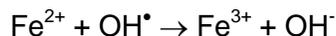
El mecanismo de la reacción de Fenton aún está bajo investigación debido a la incertidumbre de la identidad de las principales especies involucradas. La reacción típica

de Fenton se muestran a continuación (Domenech y col., 2001), es el paso inicial donde se produce el radical hidroxilo, oxidante fuerte.

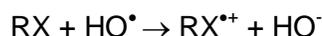
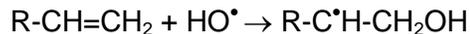


Luego, los radicales hidroxilos pueden reaccionar por 2 caminos:

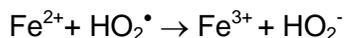
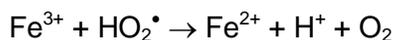
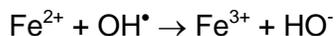
- Oxidación de Fe^{2+} , reacción improductiva:



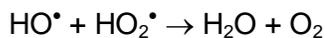
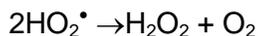
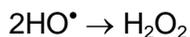
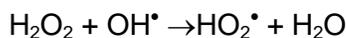
- Oxidación de la materia orgánica, reacción deseada: por abstracción de hidrógeno de átomos de carbono alifáticos, adición electrofílica a dobles enlaces o anillos aromáticos, y reacciones de transferencia de electrones



En el proceso, el H_2O_2 se consume continuamente durante la reacción, y el hierro añadido en pequeñas cantidades sirve como catalizador. Litter y Slodowicz (2017) afirmaron que la regeneración de Fe^{2+} se puede lograr mediante la adición continua de H_2O_2 al sistema donde están presentes iones Fe^{3+} , produciéndose además las reacciones siguientes, que conjuntamente con la reacción inicial de formación de radicales hidroxilos, limitan la velocidad en la química de Fenton.



Las mismas autoras proponen que durante el proceso Fenton ocurren también las siguientes reacciones, consumiendo radicales OH^\bullet , formando un radical menos reactivo (HO_2^\bullet).



El exceso en la aplicación del peróxido de hidrógeno y altas concentraciones de radicales OH^\bullet origina reacciones competitivas que producen efectos inhibitorios en la

degradación de los compuestos orgánicos. Estos efectos se pueden verificar en trabajos reportados en la literatura (Covinich y col, 2014) cuando el peróxido de hidrogeno está en exceso, actúa capturando los radicales hidroxilos.

Estas reacciones ocurren también con iones metálicos de transición como el Fe (III), Mn(II) o el Cu (I), y se las conoce como reacciones tipo Fenton (Doménech y col, 2001; Litter y Slodowicz, 2017):



El grado y la velocidad total de mineralización son independientes, del estado de oxidación inicial del Fe. En cambio, la eficiencia y la velocidad inicial de mineralización son mayores cuando se parte de Fe (II).

El Fe (II) es abundante y no tóxico; además, el peróxido de hidrógeno es fácil de manejar y ambientalmente benigno. Sin embargo, el proceso requiere la adición continua y estequiométrica de Fe (II) y H_2O_2 , es decir, necesita una alta concentración de Fe, teniendo en cuenta que un exceso de Fe (II) puede causar condiciones para el atrapamiento de HO^\bullet .

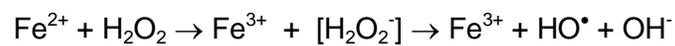
El radical hidroxilo (OH^\bullet) forma parte de los radicales libres del oxígeno, llamadas también Especies Reactivas del Oxígeno (ROS, siglas en inglés), junto al superóxido y moléculas no radicales como H_2O_2 o el ozono. El grupo O-H sin carga, tiene un electrón sin compartir que se sitúa sobre el oxígeno y se representa como $^\bullet\text{OH}$, o también OH^\bullet

Michaelis (1951), describió la reducción del oxígeno como un mecanismo molecular de transferencia de un electrón, en 4 pasos, con formación de radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y radical hidroxilo (HO^\bullet) como los intermediarios de la reducción parcial del oxígeno y con formación de agua como producto final de la reducción.



Se considera que el oxígeno es un biradical con 2 electrones no apareados en su radical externo, ambos con el mismo giro paralelo, impidiendo que capte 2 electrones simultáneamente, por lo que al reaccionar va captando los electrones de a uno.

En el proceso Fenton los iones Fe^{2+} acomplejados ceden 1 electrón a una molécula de peróxido de hidrógeno, que luego se descompone para formar radicales hidroxilos.



Este proceso se ha usado con éxito para tratar efluentes industriales con contenido de materia orgánica como compuestos alifáticos y aromáticos clorados, PCBs, nitroaromáticos, colorantes azo, clorobenceno, PCP, fenoles, clorofenoles, octacloro-p-dioxina y formaldehído. Pocos compuestos no pueden ser degradados por este reactivo, entre ellos acetona, ácido acético, ácido oxálico, las parafinas y algunos compuestos organoclorados.

En laboratorio, se usan sales ferrosas puras, pero en escalas mayores normalmente se emplea sulfato ferroso amónico (20% de hierro activo).



Capítulo 2

CAPITULO 2

MÉTODOS

2.1 Determinación de Plaguicidas Organoclorados en vinazas

2.1.1 Generalidades

La International Unión of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) define cromatografía como un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es estacionaria (fase estacionaria) mientras que la otra (la fase móvil) se mueve en una dirección definida (McNair y Miller, 2009).

En la Cromatografía Gaseosa (GC, en inglés), la fase móvil es un gas que fluye a través de una columna que contiene a la fase estacionaria. Esta fase estacionaria puede ser un sólido poroso (cromatografía gas-sólido o CGS), o bien una película líquida delgada que recubre un sólido particulado o las paredes de la columna (cromatografía gas-líquido o CGL).

Una porción de muestra se inyecta en el puerto de inyección, generalmente con una microjeringa, donde se evapora instantáneamente y es ingresada a la columna por la corriente del gas transportador que fluye constantemente. La separación de los componentes de la muestra se basa en la interacción con las fases móvil y estacionaria, debido a fenómenos físicos:

- Adsorción (en la Cromatografía Gas-Sólido): la fase estacionaria es un sólido finamente dividido que retiene a los solutos por adsorción sobre su superficie.
- Partición (en la Cromatografía Gas-Líquido): determinada por la solubilidad de los componentes de la muestra con la fase estacionaria líquida, impregnada en el soporte sólido.

Los componentes de la muestra se trasladan en el interior de la columna a diferentes velocidades, por lo que emergen de la columna a diferentes tiempos. La presencia de estos componentes en el gas transportador se detecta por medios físicos o químicos (detector), y la respuesta del detector pasa a un dispositivo de registro, en algunos casos, después de una integración electrónica (Figura 2.1).

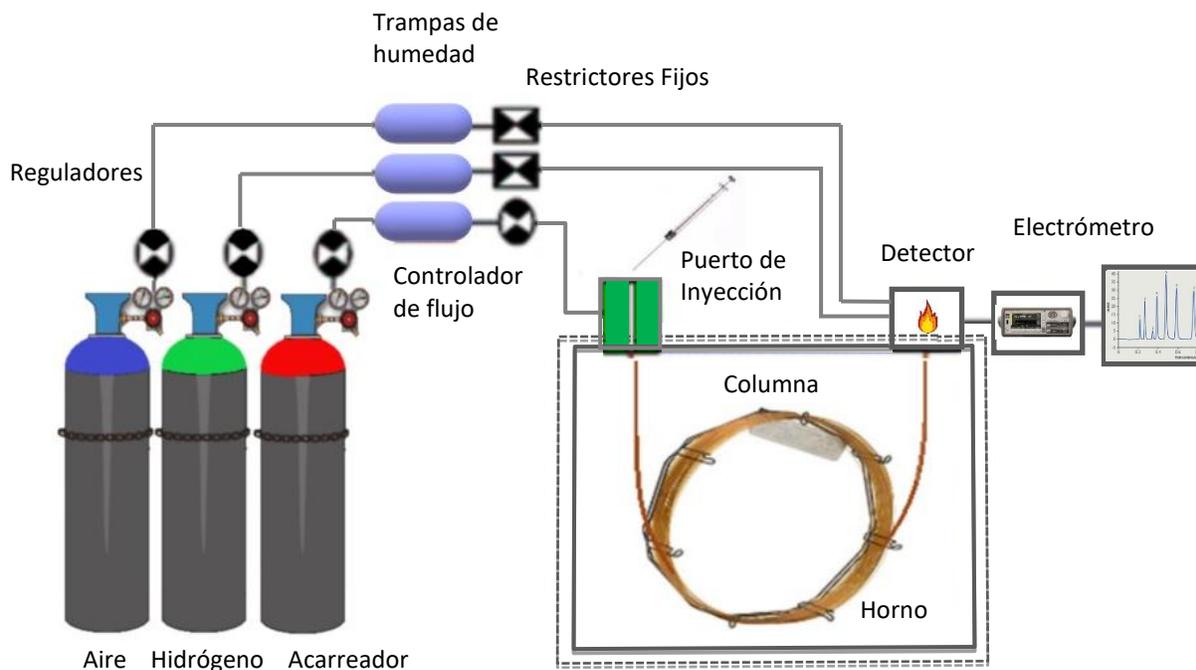


Figura 2.1- Esquema de un cromatógrafo de gases

2.1.2 Fundamentos teóricos

El movimiento de las sustancias durante la cromatografía es el resultado de dos fuerzas oponibles: la fuerza debido al flujo de la fase móvil y la fuerza debido a la acción del adsorbente que adhiere las sustancias produciendo un retardo. Las moléculas se encuentran alternando entre estar pegadas al adsorbente o despegadas en el flujo. Como consecuencia, algunos componentes se mueven más lentamente es porque están siendo unidas más fuertemente a la fase estacionaria, mientras que aquellas que se mueven más rápidamente son menos solubles o de poca afinidad.

Se han propuesto muchas teorías con complejos modelos matemáticos para explicar el comportamiento de los solutos en las columnas cromatográficas. Las más estudiadas son (Poole, 2012):

- Teoría de los Platos Teóricos (Martin y Synge)
- Teoría Cinética (Van Deenter, Zuiderweg, Klinkenberg y Sjenitzer)
- Teoría desarrollada para columnas capilares (Golay)

La más estudiada es la Teoría de los Platos Teóricos (Theoretical Plates Theory), la cual plantea que una columna cromatográfica está constituida por una serie de placas, o platos, donde se establecen una serie de equilibrios de distribución de soluto entre las fases móvil y estacionaria, a medida que avanza por la columna. Supone constante el volumen de la fase móvil entre platos, el volumen de la fase estacionaria en cada plato (longitud de la columna L dividida en N platos) y que el valor de coeficiente de distribución es constante e independiente de la concentración del soluto. La eficacia de la columna para separar solutos depende del número de platos teóricos, aumentando cuando aumenta N, es decir cuanto menor sea la altura equivalente de cada plato teórico, H. La principal desventaja es la falta de conexión entre la eficiencia de la columna y las propiedades fisicoquímicas de la partícula, además que se basa en muchas suposiciones.

La ecuación de esta teoría:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{w}\right)^2 \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde:

N= número de platos teóricos, adimensional

t_R = tiempo de retención de un compuesto, minutos

w= ancho del pico a media altura, minutos

La Teoría Cinética considera las variaciones en las velocidades de flujo, debido a las diferentes rutas que puede tomar el analito durante su migración a través del empaque: la difusión axial o longitudinal del soluto en la fase móvil, la resistencia a la transferencia de masas entre la fase móvil y la fase estacionaria. La ecuación de Van Deemter calcula la altura del plato teórico, H (ó HETP, por sus siglas en inglés)

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u \quad \text{Ecuación 2.2}$$

Donde:

H: altura equivalente a una placa teórica, milímetros

$U = L / t_{\text{aire}}$, promedio de la velocidad lineal, cm/seg

A= $2 \cdot \lambda \cdot d_p$ difusión aparente

B= $2 \cdot \gamma \cdot D_m$, coeficiente del término debido a la difusión molecular

C= $(8/\pi)(k'/[1+ k']^2)(d_f/D_s)$ coeficiente del término debido a la resistencia a la transferencia de masas

En la teoría para las columnas capilares se considera que la difusión aparente no contribuye de manera apreciable al ensanchamiento de los picos. El coeficiente relacionado con la difusión molecular tiene un valor de 1, debido a que la distancia que recorre la partícula es igual a la longitud de la columna. El término relacionado con la transferencia de masas viene dado en función del diámetro de la columna, pues en este tipo de columna es más importante que el tamaño de partícula de relleno. La ecuación de esta teoría es un caso particular de la ecuación de la Teoría Cinética.

Un término muy usado en cromatografía es el coeficiente de reparto (K), que se define como la relación de concentración de soluto en la fase estacionaria (C_E) y la concentración de soluto en fase móvil (C_m), a temperatura constante.

$$K = \frac{C_E}{C_m} \quad \text{Ecuación 2.3}$$

Un valor de coeficiente de distribución grande favorece la buena separación de los componentes, pero incrementa el tiempo necesario para la elución, lo que provoca ensanchamiento de banda del componente.

La circulación del gas portador responde a la ley de Darcy, que correlaciona la velocidad lineal del gas que circula por la columna con el gradiente de presión (McNair y Miller, 2009).

$$v = \left(\frac{k}{\eta} \right) \cdot \left(\frac{dP}{dz} \right) \quad \text{Ecuación 2.4}$$

Donde:

v= velocidad lineal en un punto de la columna

z=distancia a la entrada de la columna

η = viscosidad del gas

dP= gradiente de presión de un elemento

dz= longitud de columna

k=constante de permeabilidad.

2.1.3 Componentes del sistema cromatográfico empleado

2.1.3.1 Fase móvil

La fase móvil para la cromatografía gaseosa es un gas inerte puro, como helio, nitrógeno o argón. El uso de helio es más extendido por su alta eficiencia y altos valores de flujo, pero N_2 ultrapuro es más económico, por lo que se usó Nitrógeno ultrapuro (99,9995% de pureza)

2.1.3.2 Inyector tipo Split/Splitless

El inyector es una cámara situada a la entrada de la columna, calentada a temperatura superior al punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra. Se emplean microjeringas que permiten la inyección de 0,1-10 μ l de muestra (Figura 2.2).



Figura 2.2- Microjeringas de vidrio.

El sistema de inyección consta de un septum (membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra con jeringa); un liner de vidrio que se encuentra dentro de la cámara de vaporización; una ventana de split y unas válvulas de flujo de gases. El inyector permite operar en 2 modos:

- Split: significa con venteo, una fracción de la muestra inyectada y vaporizada pasa a la columna, y el resto se ventea a través de la ventana de split. Se fija la relación de split deseada. (Figura 2.3)
- Splitless: significa sin venteo, la muestra que se inyecta ingresa completa a la columna, la ventana de split se encuentra cerrada.

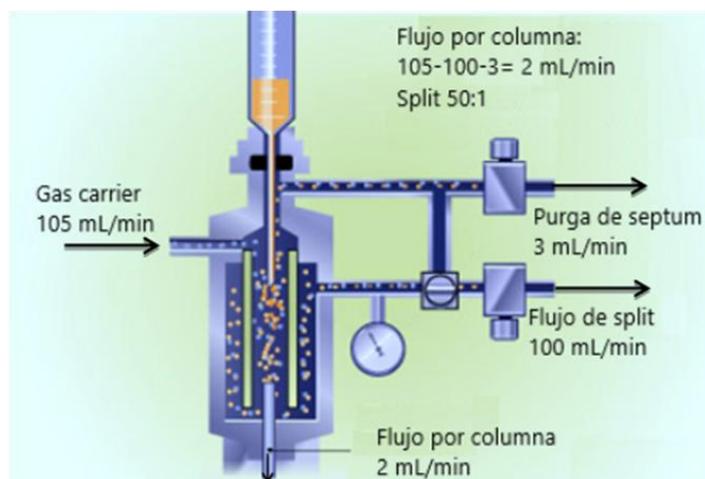


Figura 2.3- Esquema de un inyector split/splitless, en modo split 50:1, que significa que por cada volumen de muestra que ingresa a la columna, 50 se ventean.

2.1.3.3 Horno de la columna

La columna se conecta en un extremo al puerto de inyección, y en el otro al detector, desde el interior del horno, en el centro, evitando que tome contacto con las paredes (Figura 2.4). Permite calentamiento usando rampas de temperatura programadas.

2.1.3.4 Columna del tipo capilar

Es la parte en la cual ocurre la separación de los analitos, dado a que ésta contiene en su interior la fase estacionaria. La elección de la fase se hace teniendo en cuenta la polaridad de los solutos a separar. Las fases se pueden clasificar en:



Figura 2.4- Diseño de horno de cromatógrafos AgilentTechnology

- No polares: para separar una sustancia poco o nada polar. El más utilizado son las siliconas para trabajar hasta más de 300°C.
- Con carácter ligeramente polar: utilización general, buena selectividad para mezclas mixtas.
- De polaridad media o alta: no aptos para hidrocarburos no aromáticos. Aceite de U con LB-550X, polifenil éter, Carbowax 1540, succinato de butanodiol.
- Columnas con fase mixta: para resolución de separaciones parciales con dos o más líquidos. Presentan la posibilidad de separar hasta 50 sustancias mezclando dos, tres y cuatro líquidos para formar la columna final.

El uso de columnas capilares permitió mejorar la sensibilidad de los métodos cromatográficos (Figura 2.5). Son flexibles, con un revestimiento exterior de un polímero de piliimida, térmicamente estable. Se pueden enrollar en bobinas alrededor de un soporte circular metálico. Se llaman también columnas tubulares abiertas y la fase estacionaria es una película que recubre la pared interior de la columna (es líquida a altas T). En general, se distinguen 3 tipos de columnas capilares: las de pared cubierta (WCOT); soporte revestido (SCOT) y de capa porosa o poros adsorbentes (PLOT).

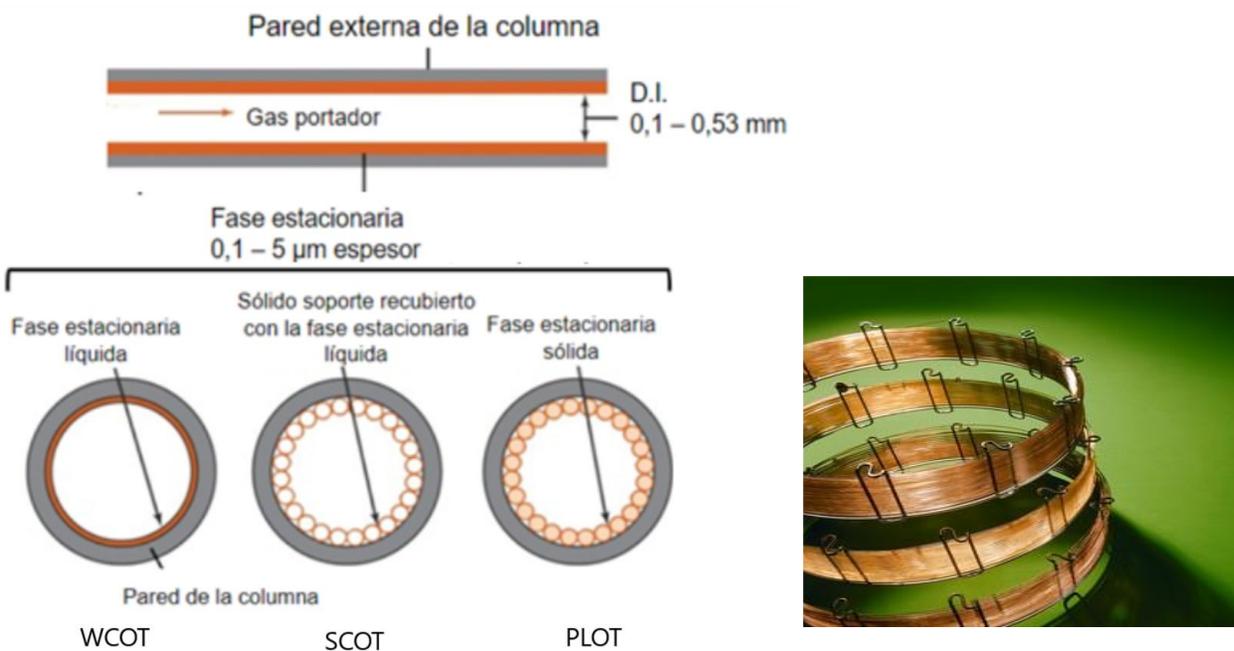


Figura 2.5- Tipos de columnas capilares, dimensiones y características de la fase estacionaria

Las WCOT tienen diámetros internos que van desde 0,1 hasta 0,53 mm, longitud entre 10 y 100 m y un espesor de película de 0,1 a 50 µm, además están hechas de sílica fundida. Las SCOT tienen similar espesor de película, pero no son de sílica fundida y pueden soportar mayor cantidad de muestra. Las PLOT están constituidas por poros adsorbentes (principalmente óxido de aluminio), espesor entre 0,5 – 50 µm y la longitud entre 10 a 30 metros

Para la detección de PO se usaron columnas capilares del tipo WCOT no polar con fase de dimetilpolisiloxano al 100 %, ó con un 5% de polaridad, es decir con fase estacionaria 5%fenil-dimetilpolisiloxano (Figura 2.6).

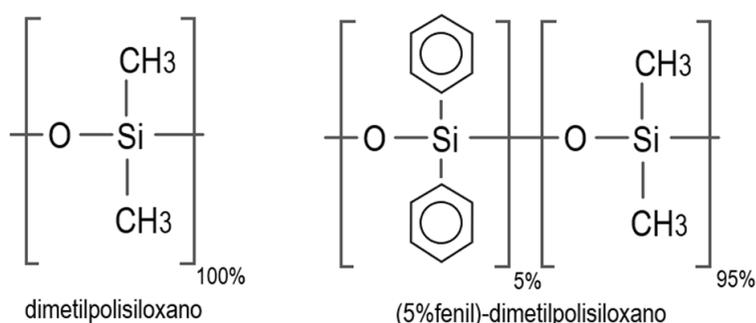


Figura 2.6- Fase estacionaria de columnas capilares no polares

2.1.3.5 Detector

Los detectores son dispositivos que identifican y cuantifican los componentes separados por la columna, que emergen en la corriente del gas acarreador, convirtiendo una señal de una propiedad física, no medible directamente, en una señal medible, elaborada por comparación entre el gas acarreador puro (blanco) y el mismo gas llevando cada uno de los componentes previamente separados en la columna. Luego se traduce en una señal eléctrica que es amplificada y registrada.

En base a la respuesta o selectividad, los detectores pueden ser universales o específicos, siendo los primeros los que responden a cualquier componente presente en la fase móvil, mientras que los específicos o selectivos, dan respuesta a un grupo de sustancias con características similares.

Un gran número de detectores han sido descritos y usados en CG, para diferentes aplicaciones (Poole, 2012). Para detección de PO la configuración del GC se usó con Detector de Captura de Electrones (ECD, en inglés).

El ECD consta de una celda radioactiva, sellada, con un electrodo recubierto de Ni^{63} . Su funcionamiento se basa en las emisión de partículas β que al colisionar con moléculas de gas carrier producen electrones de baja energía, generando una corriente entre un par de electrodos, llamada corriente permanente de la celda. Cuando el analito eluído de la columna ingresa al detector, atraviesa la corriente de electrones y la presencia de átomos muy electronegativos, como halógenos, atrapan los electrones libres de baja energía, para formar iones de carga negativa. Este proceso de captura de electrones provoca una disminución de la corriente, proporcional a la concentración. Se visualiza un pico negativo que se invierte durante la amplificación. (Figura 2.7).

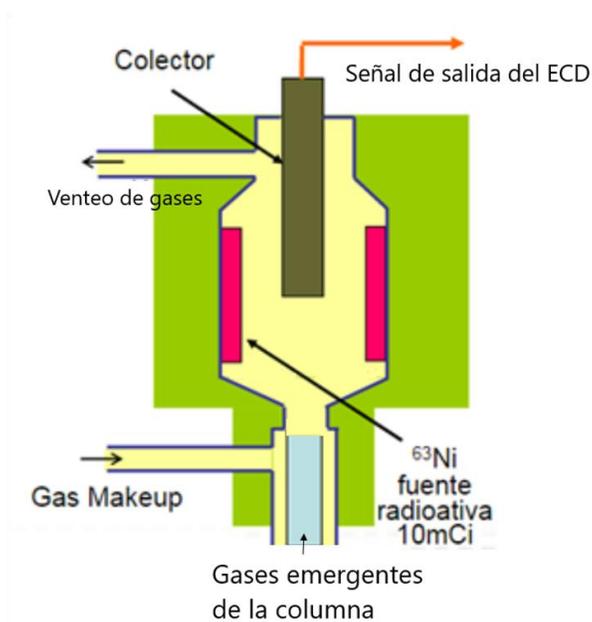


Figura 2.7- Esquema del detector de Captura de Electrones.

ECD es un detector de respuesta selectiva y no destructivo es decir que la muestra prácticamente no se modifica.

2.1.3.6 Dispositivo de registro o sistema de datos.

En la actualidad se usa el integrador por computadora, con un software potente, por ejemplo ChemStations. Es un software para control instrumental, adquisición y evaluación de datos para cromatógrafos de gases y HPLC, electroforesis, espectrofotometría. El software está diseñado para equipos personales compatibles con IBM con un sistema operativo Microsoft® Windows XP Professional. La interfase de usuario de ChemStation

presenta ventanas que agrupan las funciones del software según las tareas analíticas típicas:

- Método y Control: para controlar y adquirir datos del instrumento
- Análisis de datos: para revisar y volver a evaluar los datos adquiridos
- Diseño del informe: emite informes específicos de acuerdo a los requerimientos.

2.1.4 Pretratamiento de muestras

Muchos contaminantes suelen encontrarse a niveles traza en muestras, tanto biológicas como medioambientales, por lo que se requiere metodologías muy sensibles y selectivas para su determinación. El proceso de análisis a menudo consta de varias etapas, siendo generalmente la última de ellas la determinación cromatográfica. La efectividad de este análisis no depende únicamente del instrumento cromatográfico, sino que es el resultado de todas las operaciones intermedias a las que se somete la muestra.

El esquema general de las etapas intermedias en un proceso analítico se basa en:

- Extracción del analito de la muestra
- Limpieza del extracto
- Pre-concentración
- Medida cromatográfica

De acuerdo a la matriz, se aplican diferentes técnicas para cada etapa, si la muestra es sólida, líquida o gaseosa. Todas estas operaciones son fuentes probables de inexactitud e imprecisión que se introducen en el proceso analítico, por lo que es preciso el control de cada una de ellas para asegurar la eficiencia del proceso completo.

Se entiende por extracción a un proceso donde uno o varios compuestos de interés denominados analitos, son retirados de una ubicación principal (matriz) por medio de un solvente (para matrices sólidas y líquidas) o un adsorbente (para matrices gaseosas).

Para matrices acuosas, se usa extracción líquido-líquido y extracción en fase sólida.

2.1.4.1 Extracción Líquido-Líquido

La transferencia de materia se consigue mediante el contacto directo entre dos fases líquidas. Una de las fases es dispersada en la otra para aumentar la superficie de interfase y el caudal de materia transferida (Rouessac y Rouessac, 2007). La técnica se basa en el reparto del analito entre el medio orgánico y el medio acuoso, por lo que es

importante que el coeficiente de reparto K (cociente entre la solubilidad del compuesto en el medio orgánico y su solubilidad en el medio acuoso) tenga un valor elevado. Es sabido que el proceso de extracción se mejora haciendo varias extracciones con pequeños volúmenes (Phillip, 2008). Para realizar la extracción líquido-líquido en laboratorio se usa un embudo (ampolla) de decantación, como muestra la Figura 2.8.

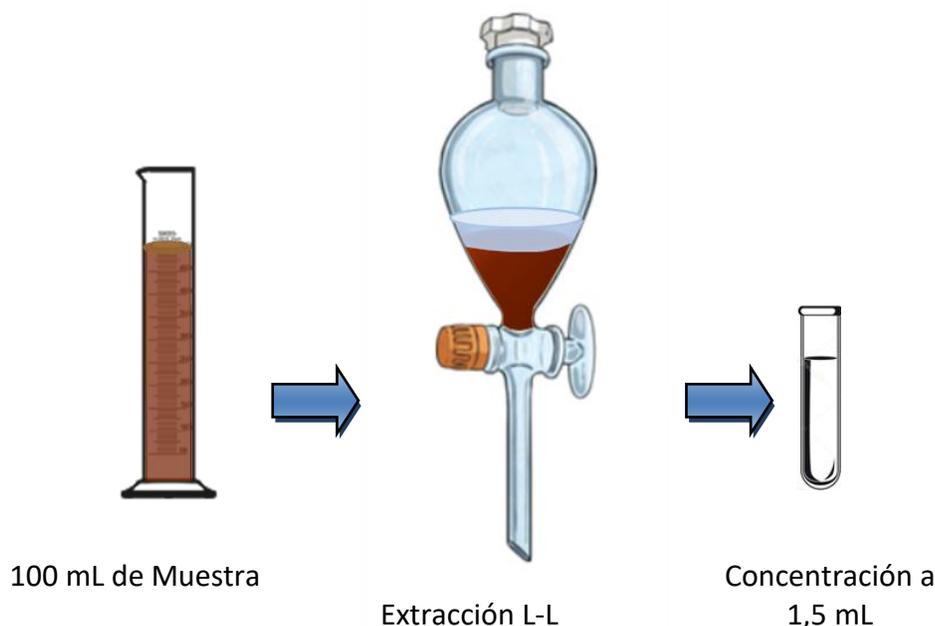


Figura 2.8: Esquema de la extracción líquido-líquido

La elección del disolvente de extracción se basa en las siguientes características (Tejeda y col., 2011):

-Selectividad: Es la efectividad del disolvente para separar el componente de interés si hay otro que compite en la extracción. Se compara la relación de concentraciones de ambos, en el disolvente, en equilibrio. Este valor debe ser mayor que 1.

-Coeficiente de reparto o distribución (K): K es la relación entre la concentración de A en el solvente de extracción y en la matriz, en el equilibrio. Si los valores de K son elevados, se requerirá menos solvente para la extracción.

-Insolubilidad del disolvente: Cuanto más insoluble sea el solvente se requerirá menores cantidades para la extracción.

-Recuperabilidad: el solvente debería ser recuperable para su reutilización.

-Densidad: mayor diferencia de densidades entre las fases menor uso de solvente.

-Tensión superficial: Un solvente con tensión superficial elevada, facilita la coalescencia de las emulsiones y la separación de las fases.

- Reactividad química: El disolvente debe ser estable y químicamente inerte.

Viscosidad, presión de vapor y punto de congelación del solvente deben ser bajos para facilitar el manejo y el almacenamiento.

2.1.4.2 Extracción en Fase Sólida (SPE, Solid Phase Extraction)

Es una alternativa cómoda, barata y rápida, ya que reduce significativamente el volumen de solvente usado respecto de la extracción líq-líq. Se basa en la retención de los analitos de interés, presentes en una muestra líquida, sobre un adsorbente sólido.

En el mercado existe gran variedad de cartuchos para SPE, relativamente económicos, en su mayoría desechables y con pocas limitaciones de solvente. Se trata de un recipiente de polipropileno con formato de jeringa, donde se empaqueta el adsorbente entre dos discos fritados (Figura 2.9). El adsorbente, generalmente un material poroso o un polímero, puede ser:

- en base a sílica, polímero inorgánico de fórmula molecular $(\text{SiO}_2)_x$, al final de las cadenas y en toda su superficie polimérica se ubican grupos hidroxilos que son los encargados de darle el carácter típico a las sílica, no polar, o polar.
- óxidos de aluminio, magnesio, titanio que cumplen una función muy similar a la de los grupos hidroxilos de la sílica.
- adsorbentes basados en polímeros, los cuales ayudan en ocasiones con los problemas que tienen los óxidos y la sílica.

La elección del tipo de adsorbente va a depender de la naturaleza del analito que se quiere separar y de la matriz en la que se encuentra. Una característica importante es la capacidad del sorbente, es decir la cantidad de analito que el adsorbente puede retener sin saturarse. Como regla general la capacidad es aproximadamente el 5% de la masa del material empaquetado. Esto significa que no deben aplicarse más de 5 mg de analitos en un cartucho SPE envasado con 100 mg de empaque.



Figura 2.9- Cartuchos para SPE. Fuente: Merck

SPE se puede usar de dos maneras:

- 1- Los analitos de interés se retienen en el material de empaque y luego se eluyen con un volumen pequeño de solvente apropiado para ser analizada por cromatografía.
- 2- Para limpieza de las muestras; los analitos de interés se recogen al pasar por el adsorbente, sin ser retenidos. Los contaminantes quedan en el empaque y son descartados junto con los cartuchos usados.

Los adsorbentes de extracción funcionan principalmente como fase normal, fase reversa o de intercambio iónico (Tabla 2.1).

De todas las fases adsorbentes, la C18 (octadecil) es la más popular, empleada casi rutinariamente para cualquier extracción de compuestos apolares de muestras polares, como, por ejemplo: plaguicidas organoclorados en aguas (Argueta y Beltetón, 2018; Arteaga y col, 2018; Molina y col, 2012) o antibióticos en orina (Tuerk, 2006).

La extracción en fase sólida comprende cinco etapas (Figura 2.10), aunque estos pasos son comunes para la mayoría de los procedimientos SPE, la naturaleza del analito, la muestra y el sorbente determinan los solventes a usar en cada paso.

Tabla 2.1- Tipos de Extracción en Fase Sólida (SPE, por sus siglas en inglés)

Tipos de SPE	Característica	Adsorbente (denominación)
En fase normal: los compuestos polares son extraídos muestra no acuoso	<i>Con adsorbentes polares:</i> interacción enlace hidrógeno de los OH ⁻ de la sílica o la alúmina. Para analitos de mediana polaridad	Silanol (-SiOH) Silicato de Mg (Florisil) Alúmina (Al ₂ O ₃)
	<i>Con adsorbentes polares enlazados:</i> para analitos polares, hay interacciones dipolo-dipolo. R son grupos amino, ciano ó dioles.	Cianopropil[-(CH ₂) ₃ -CN] Propilamino[-(CH ₂) ₃ -NH ₂] Diol [-(CH ₂) ₃ -O-CHOHCH ₂ OH]
En fase reversa: para enriquecer analitos no polares de una matriz polar	El adsorbente es menos polar que la fase móvil, interacción entre los enlaces del C-H de los analitos y los C-H del adsorbente. Es ideal para compuestos no polares.	Octadecil (C18)[- (CH ₂) ₁₇ CH ₃] Octil (C8) [-(CH ₂) ₇ CH ₃] Fenilpropil [-(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅] Etil [-CH ₂ -CH ₃]
SPE por intercambio iónico	Se utiliza para la extracción de analitos que pueden ser convertidos a su forma iónica a través de un ajuste en el pH.	Diamino; Amina cuaternaria, Acidopropilsulfónico

SPE: siglas en inglés de Extracción en Fase Sólida

- Acondicionamiento: Se emplean solventes para activar el adsorbente, por solvatación, dependiendo de la polaridad del adsorbente y de la matriz. Para activar adsorbentes hidrofóbicos se usa generalmente metanol o acetonitrilo, mientras que para los hidrofílicos se usa hexano o cloruro de metileno. Se recomienda usar de 2 a 4 volúmenes de lecho.
- Adsorción: Al aplicar la muestra por la parte superior del lecho de adsorbente los contaminantes de matriz pueden pasar por la columna sin ser retenidos, y otros componentes de la matriz pueden retenerse.
- Lavado del adsorbente: El lavado permite la eliminación de impurezas que puedan interferir, manteniendo los analitos en el lecho de adsorbente. El solvente

adecuado para remover impurezas debe ser muy selectivo o su polaridad muy afín con las impurezas presentes.

- Secado: Se recomienda el secado del adsorbente después del lavado, por lo general haciendo circular una corriente de nitrógeno puro a través de la columna durante 2 a 10 minutos. Esta etapa mejora el rendimiento de extracción.
- Elución: Los analitos que se encuentran retenidos en el adsorbente vuelven a la fase líquida por medio de un solvente adecuado. El volumen de elución debe ser el menor posible para mantener alto el factor de concentración.

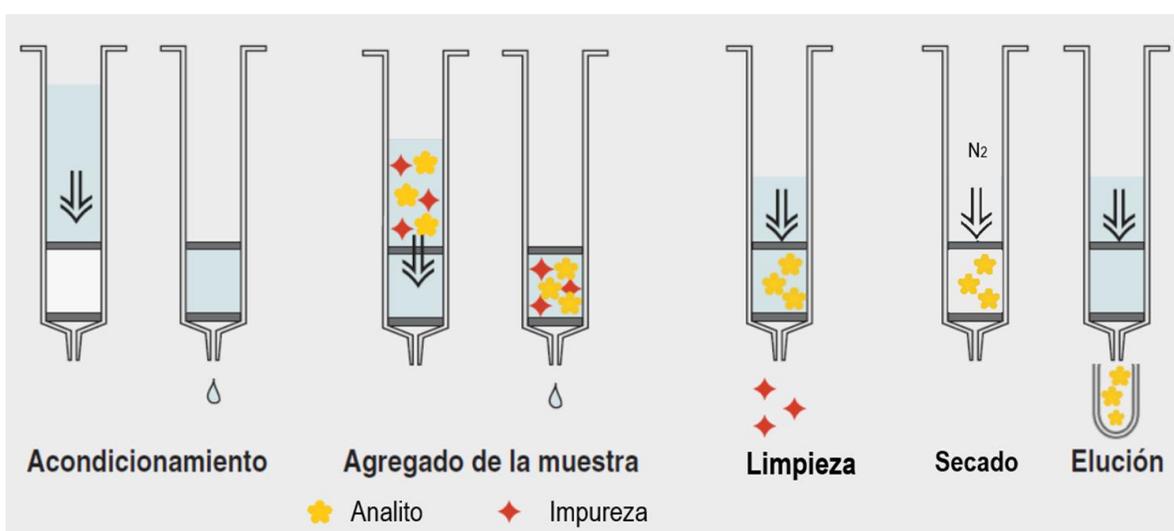


Figura 2.10:- Etapas del procedimiento de Extracción en Fase Sólida

2.1.5 Método para determinación de PO en vinazas

2.1.5.1 Reactivos

- n- Hexano, Merck, para cromatografía gaseosa ECD and FID, grado SupraSolv®. CAS 110-54-3. Pureza $\geq 99.8\%$
- Metanol, Merck. para cromatografía gaseosa ECD and FID, grado SupraSolv®.CAS 67-56-1. Pureza $\geq 99.8\%$
- Agua cromatográfica, Merck, para cromatografía gaseosa SupraSolv®. Materia orgánica menor a 30 ppb.
- Sulfato de sodio anhidro, Merck, con grado de pureza para análisis, activado durante 16 horas, a 650 °C.

- Florisil, Sigma, activado a 650 °C, apto para usar en análisis de residuos de pesticidas.

2.1.5.2 Patrones

Se trabajó con Material de Referencia Certificado (MRC), marca AccuStandard. El certificado de análisis emitido por el fabricante indica la trazabilidad al NIST (Siglas en inglés de National Institute of Standards and Technology), incertidumbre expandida y el método usado para su determinación. Cada MRC se presenta en ampollas de vidrio color caramelo conteniendo 1 mL de solución individual (Figura 2.11). Una vez abiertas las ampollas es importante conservar en viales herméticos y a baja temperatura, para evitar que se modifique su concentración.

En la Tabla 2.2 se detallan las especificaciones de los patrones certificados usados para este estudio.



Figura 2.11- Material de Referencia Certificado marca AccuStandar usado como patrones y solventes Merck: Metanol, n-Hexano y agua cromatográfica.

Tabla 2.2- Especificaciones de los patrones certificados usados como referencia

Plaguicida	µg/mL	N° CAS	Solvente	Masa Molar g/mol
Lindano	1000	58-89-9	n-Hexano	290,83
Heptacloro	1000	76-44-8	n-Hexano	373,32
Aldrin	1000	309-00-2	Metanol	364,90
HeptEpx A	100	1024-57-3	n-Hexano	389,32
HeptEpx B	1000	1024-57-3	n-Hexano	389,32
DDE	100	72-55-9	n-Hexano	318,03
Clordano	1000	57-74-9	n-Hexano	409,80
DDD	1000	72-54-8	Metanol	320,04
DDT	2000	50-29-3	n-Hexano	354,00
MTX	1000	72-43-5	Metanol	345,65

HeptEpx A: heptacloro epóxido A; heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; MRC: Material de Referencia Certificado.

2.1.5.3 Equipo

Cromatógrafo Gaseoso (GC) Hewlett Packard HP6890, equipado con inyector split/splitless y detector de captura de electrones (ECD). Se trabajó con inyector en modo Pulsed Splitless, con pulso de presión de 10 psi (0,35 min) para mejorar la resolución de los isómeros del heptacloro y permitir la inyección de 2 µL de muestra, sin que el volumen de vapor supere el del liner.

La inyección de muestras se llevó a cabo con inyector automático, HP7673 Automatic Sampler, configurado para efectuar 2 lavados de jeringa con metanol y 2 con hexano, pre-inyección y post-inyección, 3 enjuagues con muestra y 3 bombeos, eliminando posibles burbujas, antes de tomar el volumen de inyección deseado. Se midió con jeringas marca Hamilton, con aguja fija, de 10 µL.

Se trabajó con una columna capilar de sílica fundida marca J&W DB-5MS, con baja polaridad (5%) de 30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de película. Se empleó una columna HP1 (100 % no polar, 30 m de longitud, 0,32 mm de

diámetro interno y 1 μm de espesor fase estacionaria) para confirmación de identidad de cada uno de los picos de PO. Las condiciones de trabajo se indican en la Tabla 2.3.

La determinación cualitativa y cuantitativa se realizó por medio del software HP ChemStation, revisión A.04.01, provisto con el equipo, que compara tiempos de retención y áreas de picos correspondientes, de patrones y muestras.

La preparación de patrones para calibración y para ensayos de validación, se llevó a cabo con material volumétrico Clase A, cristalería especial para la determinación de residuos de plaguicidas, micropipetas automáticas de volumen variable Transferpette® marca Brand (2-10 μL ; 5-50 μL ; 20-200 μL y 100-1000 μL) tips descartables amarillos y azules.

Tabla 2.3- Condiciones de trabajo- Cromatógrafo Gaseoso HP6890 con Inyector Automático

Inyector		Columna	
Split/Splitless		Tipo	Capilar J&W DB-5MS
Temperatura	250 °C	Longitud	30 m
Modo inyección	Pulsed Splitless	Diámetro	320 μm
Presión	18,7 psi	Espesor del	0,25 mm
Pulso de presión	30 psi	Modo	flujo constante
Tiempo del pulso	0,35 min	Flujo inicial	2 mL/minuto
Flujo de purga	0,3 mL/min	Presión inicial	18,7 psi
Flujo total	3,7 mL/min	Velocidad	46 cm/seg
Detector		Inyector Automático	
Tipo	ECD	Jeringa	10 μL
Temperatura	350 °C	Vol Inyección	2 μL
Purga de ánodo	6 mL/min	Solvente 1	Metanol
Flujo auxiliar	60 mL/min	Solvente 2	Hexano
Horno de Temperatura Programada			
T Inicial	90 °C	Permanecer 1 min a 90 °C	
Rampa 1	30 °C/min	Hasta 180 °C, permanecer 1 min	
Rampa 2	3 °C/min	Hasta 200 °C, permanecer 3 min	
Rampa 3	20 °C/min	hasta 290 °C, permanecer 2 min	

2.1.5.4 Calibración

Para la calibración del equipo de cromatografía gaseosa se prepara una solución intermedia mezcla, en un matraz de 50 mL, que se obtiene por el agregado de cantidades volumétricas del MRC de cada plaguicida con una usando hexano como solvente.

A partir de una solución intermedia se preparan, por dilución, patrones de calibración en 3 niveles de concentración, midiendo 0,875, 1,250 y 2,500 mL de la misma en matraces de 25 mL. Los volúmenes medidos y concentraciones resultantes se indican en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4- Preparación de soluciones patrones de PO para calibración, a partir de una solución intermedia mezcla.

Plaguicida	MRC	Solución intermedia		Patrones de calibración		
	C_{MRC} ($\mu\text{g/mL}$)	V_{PO} (μL)	C_{PO} ($\mu\text{g/L}$)	Nivel 1 ($\mu\text{g/L}$)	Nivel 2 ($\mu\text{g/L}$)	Nivel 3 ($\mu\text{g/L}$)
Lindano	1000	25,0	500	17,50	25,0	50,0
Heptacl	1000	5,0	100	3,50	5,0	10,0
Aldrin	1000	5,0	100	3,50	5,0	10,0
HeptEpx A	100	50,0	100	3,50	5,0	10,0
HeptEpx B	1000	5,0	100	3,50	5,0	10,0
DDE	100	200,0	400	14,00	20,0	40,0
Clordano	1000	12,5	250	8,75	12,5	25,0
DDD	1000	25,0	500	17,50	25,0	50,0
DDT	2000	12,5	500	17,50	25,0	50,0
MTX	1000	25,0	500	17,50	25,0	50,0

C= concentración.; MRC: Material de Referencia Certificado; V=Volumen de solución intermedia preparada; V_{PO} = Volumen de cada patrón de plaguicida necesario para preparar la solución intermedia; HeptEpx A: heptacloro epóxido A; heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

Se inyectan en el sistema cromatográfico, 2 μL de cada solución de calibración, por duplicado, para lo cual se construye la tabla de secuencia de inyección en la ChemStation que comanda el equipo cromatográfico. También se construyen las curvas de calibración para cada plaguicida a partir de los valores de concentración y área de pico que se obtiene en las corridas cromatográficas de los tres niveles de concentración con que se calibra.

2.1.5.5 Procedimiento para muestras

La calibración y la validación del método cromatográfico se llevó a cabo desde la inyección de los extractos de muestra, ya que el pretratamiento puede variar dependiendo de la naturaleza de la misma. Esto ofrece la ventaja de poder usar la misma calibración para diferentes matrices ambientales, y es posible siempre que se acompañe con ensayos de recuperación cuyo resultado sea entre 80% y 120 %.

Se trabajó con extracción líquido-líquido, usando como solvente hexano, cuando la muestra de vinaza posee alto contenido de sólidos, expresado como grados Brix. Para muestras de vinazas tratadas o vinazas diluidas usó extracción en fase sólida (SPE).

Para la extracción líquido-líquido se usó 100 mL de vinaza medidos en una probeta perfectamente limpia, previo enjuague 3 veces con la muestra. Se pasó a una ampolla de decantación donde se agregaron 10 mL de hexano, se agitó vigorosamente, se dejó reposar unos minutos para la separación de las fases. Se separó la fase orgánica y luego se repitió el procedimiento con 2 porciones más de 10 mL de hexano. En algunos casos fue necesario agregar 1 o 2 mL de metanol para romper la emulsión. El esquema general de las etapas en el proceso de pretratamiento se muestra en la Figura 2.12

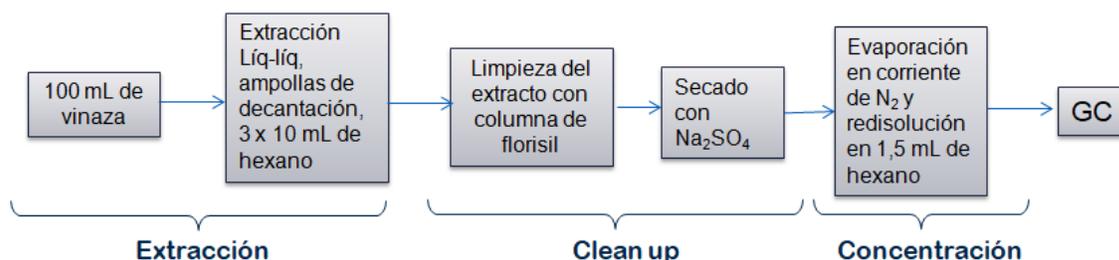


Figura 2.12- Esquema de Procesamiento de muestras de vinaza para detección de PO por Cromatografía Gaseosa.

A la fase orgánica se agrega una punta de espátula de florisil activado, se agita y se deja reposar. El sobrenadante se seca pasando a través de una columna de sulfato de sodio anhidro. A continuación se procedió a evaporar en corriente de nitrógeno, a temperatura ambiente, hasta sequedad y se redisolvió agregando 1,5 mL de hexano. Una porción de 1 mL del extracto se transfirió con micropipeta, a un vial de 2 mL con cierre hermético, compatible con el inyector automático. Se armó una tabla de secuencia para la inyección de 2 μ L del extracto en el sistema cromatográfico.

Para el proceso de extracción en fase sólida, se emplearon cartuchos de C18 (Bond Elut-C18, 500 mg-6mL, marca Varian). Se trabajó con 100 mL de muestra. Se colocaron los cartuchos en el bloque Manifold, y se acondicionaron usando 5 mL de n-hexano, 5 mL de metanol y 5 mL de agua cromatográfica. Cuidar que el escurrimiento no llegue a sequedad entre solvente y solvente. Luego se pasó a través del cartucho, 100 mL de muestra, los plaguicidas de interés quedan retenidos en el lecho, luego se lavó con 5 mL de solución al 5% de metanol en agua cromatográfica para limpiar de impurezas. Se dejó escurrir al máximo. Se procedió a eluir los compuestos de interés con 3 porciones de 1 mL de hexano. El eluato se secó pasando a través de una columna de sulfato de sodio anhidro y se recibió en un tubo de Khan, donde se evaporó a temperatura ambiente, hasta sequedad, en corriente de nitrógeno. Luego se redisolvió con 1,5 mL de hexano, se transfirió 1 mL del extracto en viales herméticos y se procedió a inyectar 2 µL en el sistema cromatográfico.

2.1.5.6 Expresión de resultados

La ChemStation emite reportes con los valores de concentración medidos en el extracto orgánico, valor que se logra por interpolación en la curva de calibración que se configura en la ChemStation, para cada plaguicida.

La concentración en las muestras de vinaza se calculó de la siguiente forma:

$$C_i = \frac{C_{leida} \cdot V_{extracto}}{V_{muestra}} \quad \text{Ecuación 2.5}$$

Donde:

C_i : concentración de cada plaguicida i , en la muestra, en µg/L

C_{leida} es la concentración de cada plaguicida en el extracto orgánico, se lee en reporte emitido por la ChemStation

$V_{Extracto}$ es el volumen de redisolución, volumen del extracto (1,5 mL)

$V_{muestra}$ es el volumen de la muestra de vinaza inicial (100 mL)

2.2 Demanda Química de Oxígeno (DQO) por Espectrofotometría

2.2.1 Fundamentos Teóricos

La mayoría de los efluentes industriales y domésticos poseen alto contenido de materia orgánica e inorgánica dependiendo de la actividad responsable de la generación de dicho efluente. Uno de los parámetros más representativos es la Demanda Química de Oxígeno (DQO), que se define como la cantidad de un oxidante específico que reacciona con material biodegradable y no biodegradable de una muestra, bajo condiciones controladas. La cantidad de oxidante consumida se expresa en términos de la equivalencia en oxígeno: mgO_2/L .

El método se basa en la oxidación de la materia orgánica por medio de un oxidante fuerte como el dicromato de potasio; cromo Cr (VI) de color naranja, presente en la solución de análisis, se reduce a Cr^{3+} de color verde, la reducción del cromo depende directamente de su reacción con la materia orgánica total existente en la muestra, por lo que permite cuantificar la materia oxidable, que se puede representar en la siguiente reacción, siendo M.O. la materia orgánica biodegradable y M.I. la materia inorgánica oxidable:



Se usó el método Micro de Reflujo Cerrado SM 5220D (APHA, 2005), aplicable para aguas naturales (superficiales y subterráneas) y líquidos residuales domésticos e industriales. Es una técnica espectrofotométrica, que mide hasta valores de DQO de 1400 mg/L , usando dos rangos de trabajo, como se indica en la Tabla 2.5, para valores altos de DQO se determinó el incremento de concentración de Cr^{3+} a 600 nm y para valores bajos de DQO se midió la disminución de concentración de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ a 420 nm.

Tabla 2.5- Rangos de trabajo para medición de DQO.

Rango	Concentración	λ (nm)
Rango 1	Límite Cuantificación - 200 $\text{mg O}_2/\text{L}$	600
Rango 2	200 - 1400 $\text{mg O}_2/\text{L}$	420

λ : Longitud de onda

Se trituran ligeramente 2 g y se seca a 120 °C por dos horas. Se pesan 1,19 g de KHP, se disuelve en agua destilada, enrasando en un matraz de 1000 mL. La solución patrón obtenida tiene una concentración de 1190 ppm lo que equivale a 1400 ppm de DQO. Es recomendable preparar semanalmente esta solución y mantenerla bajo refrigeración; se debe verificar que no haya crecimiento biológico visible.

2.2.3 Materiales y equipos

- Tubos de vidrio provistos de tapa roscada con junta de teflón (10 mL).
- Material volumétrico de vidrio, limpio, enjuagado con ácido clorhídrico.
- Reactor para DQO para operar a 150 ± 2 °C: Microdigital Termoreactor DQO Modelo TR-105. Controlador Novus N480D. Sensor de Temperatura PT100 (Clase B). (Figura 2.13)
- Espectrofotómetro UV-VIS. Biotraza. Modelo 752. (Figura 2.14)



Figura 2.13. Termoreactor DQO. Modelo TR-105

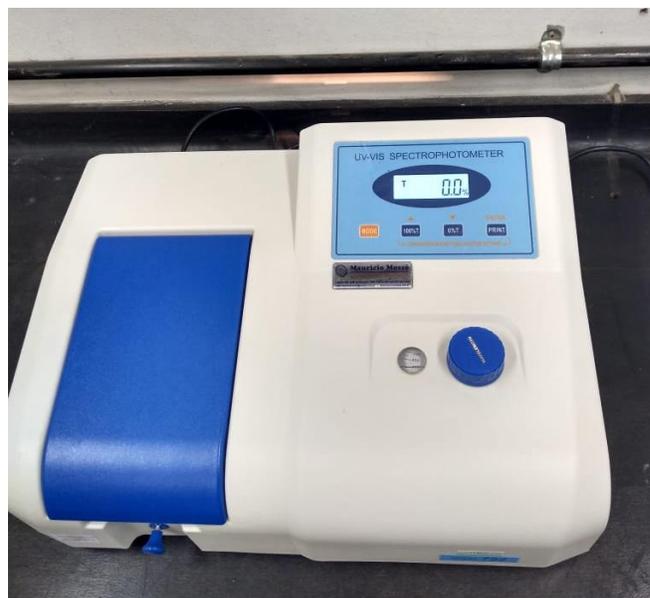


Figura 2.14. Espectrofotómetro UV Vis. Modelo 752. Biotraza

2.2.4 Calibración

-A partir de la solución madre de KHP, se prepararon por duplicado, 5 soluciones de calibración, en cada rango, de manera de cubrir concentraciones entre 10 y 1400 mg/L,

para valores bajos (de 10 a 200 mg/L) y para valores altos (200 a 1400 mg/L). Para el punto cero de la curva se usó agua destilada. Se siguió el mismo procedimiento que para las muestras y se graficó Absorbancias vs Concentración de DQO.

2.2.5 Procedimiento para muestras

Precalentar el digestor a 150 °C por 20 minutos. Mientras tanto, en cada tubo de digestión colocado en una gradilla, se midieron los siguientes volúmenes y luego se agitó para homogeneizar su contenido:

- 2,5 mL de muestra (volumen de muestra), o de una dilución de la misma.
- 1,5 mL de solución digestora
- 3,5 mL de solución catalizadora.

Se colocaron los tubos en el bloque de calentamiento del microdigestor, durante 2 horas. Transcurrido dicho tiempo, se dejaron enfriar los tubos en una gradilla y luego se lee absorbancia en el espectrofotómetro.

2.3 Determinación de pH

Se utilizó un equipo pHmetro digital de mesa marca ALTRONIX MODELO TPX- I (Figura 2.15), que posee un electrodo combinado y un termómetro incorporado para corregir la medición por la temperatura, según se muestra las especificaciones técnicas en la Tabla 2.7; Buffer patrones de pH a 25 °C: 4,00±0,02- 7,00±0,02 y 10,00±0,02, un agitador magnético, vasos de precipitación y agua destilada.

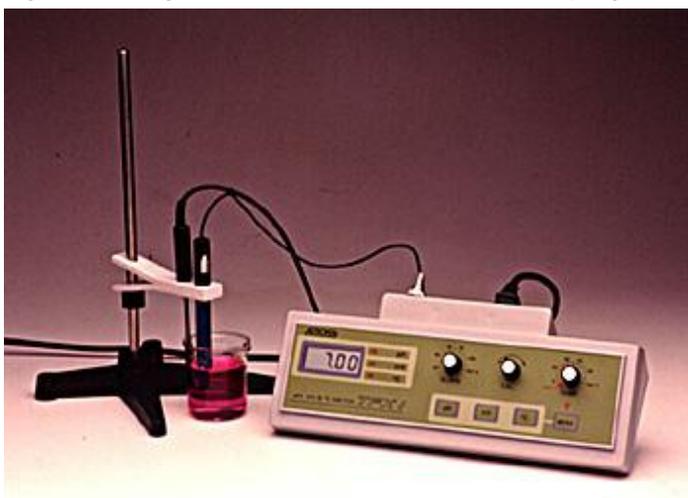


Figura 2.15- pHmetro marca Altronix

Tabla 2.6: Especificaciones técnicas del Termo/pHmetro ALTRONIX MODELO TPX-I

Rango de Medición	00,00 a 14,00 pH; ± 0000 a 1999 mV; - 50 a +125 °C
Resolución	pH = 0,01 /mV = 1 / °C = 0,1
Precisión	0,1% del valor leído 1 dígito
Impedancia de entrada	1013 ohms o mejor
Indicación	3 ½ dígitos con LCD de 7 segmentos
Desplazamiento por efecto térmico	Menor que 20 μ V/ ° C
Estabilidad	Dentro de 1mV/24 hs
Compensación de T	De 0°C a 100°C (Manual y automática)
Compensación de pendiente	De 92 a 102 % mV /pH Apto para titulación KARL FISCHER (% de humedad)
Corriente de polarización	3 μ A. Otros valores opcionales
Salida analógica	58mV por ud de pH; 1mV por unidad de mV; 10mV por unidad de °C
Gabinete	ABS inyectado, resistente a las salpicaduras e inmune a la corrosión, con teclado de policarbonato tipo membrana
Alimentación	220 V / 50 Hz \pm 10% (110V opcional).
Accesorios incluidos	Electrodo combinado (U.S.A.)- Termo compensador con sensor de platino (PT100)-Porta electrodo

Se realizó la calibración del instrumento siguiendo las instrucciones del fabricante, usando 3 puntos con buffer de pH 4, 7 y 10, con compensación de temperatura y se procedió a realizar las mediciones, sumergiendo el electrodo en la muestra de vinaza, con agitación moderada, de tal manera de minimizar la entrada de dióxido de carbono. Se enjuagó y secó el electrodo, dejando luego en la solución de reserva de los mismos.

Los resultados se reportaron en unidades de pH con una precisión de 0,1 y la temperatura con una precisión de 1 °C.

2.4 Determinación de Sólidos Totales (ST) en vinazas

Los Sólidos Totales (ST) de una muestra corresponden a toda la materia sólida que queda como residuo de evaporación a 105° C. Se siguió el método 2540 E (APHA, 2005).

Se colocaron las cápsulas de porcelana en mufla a $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora. Luego se dejó enfriar en desecador y se pesaron en balanza analítica.

Se colocaron 100 mL de muestra homogeneizada en la cápsula preparada y se procedió a evaporar en el baño de agua a sequedad. Luego, se puso en estufa a 103°C - 105°C durante 1 hora. Se enfrió en desecador y se pesó, repitiendo el ciclo de secado, enfriado en desecador y pesado, hasta peso constante.

Los resultados se calcularon con la siguiente fórmula

$$S.T. \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(P_2 - P_1) \times 1000 \text{ mL/L}}{V \text{ (mL)}} \quad \text{Ecuación 2.7}$$

Donde:

P_1 = peso de la cápsula preparada, en mg.

P_2 = peso de la cápsula más el residuo seco a 103 - 105°C , en mg.

V = volumen de muestra tomado en mL.

2.5 Determinación de Sólidos Sedimentables (SS)

Es un método volumétrico. Los sólidos sedimentables son los materiales que sedimentan en una muestra de vinaza en un período de tiempo definido. Para eso se usa un recipiente cónico graduado (cono Imhoff) cuya forma geométrica facilita la visualización y medición del volumen de material precipitado.

En un cono de Imhoff, se colocaron 1000 mL de muestra perfectamente mezclada, Se lee en la escala, el volumen del sedimento a los 10 minutos. (Figura 2.16)

A los 45 minutos, aproximadamente, se rasparon las paredes del cono con varilla de vidrio para desprender las partículas adheridas. Nuevamente se leyó el volumen del sedimento en la escala a las 2 hs de iniciado el ensayo.

Los resultados se expresan en mL de sólidos sedimentables/L de muestra a los 10 minutos y a las 2 hs. El límite inferior medible está en el rango de 0,1 mL/L.



Figura 2.16- Determinación de Sólidos Sedimentables en cono de Imhoff.

2.6 Determinación de Conductividad

Se utilizó el método SM2510 B, para la determinación de conductividad de soluciones acuosas (APHA, 2005). La conductividad es la capacidad que posee una solución acuosa de conducir la corriente eléctrica a 25°C, por lo que es proporcional a la cantidad de sales disueltas. El método consiste en la medida directa de la conductividad utilizando una celda previamente calibrada con soluciones de KCl.

Se empleó un conductímetro marca ALTRONIX Modelo CTX-II (Figura 2.17) con compensación automática de temperatura (ATC), termosonda y celda de platino. En la Tabla 2.7 se muestran las especificaciones técnicas. Las soluciones patrones usadas fueron:

- Solución estándar. 147 $\mu\text{S}/\text{cm} \pm 5 \mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C, KCl (0,001 M). Merck.
- Solución estándar. 1413 $\mu\text{S}/\text{cm} \pm 12 \mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C, KCl (0,01 M). Merck
- Solución estándar. 12,88 $\text{mS}/\text{cm} \pm 0,11 \text{mS}/\text{cm}$ a 25 °C, KCl (0,1 M). Merck

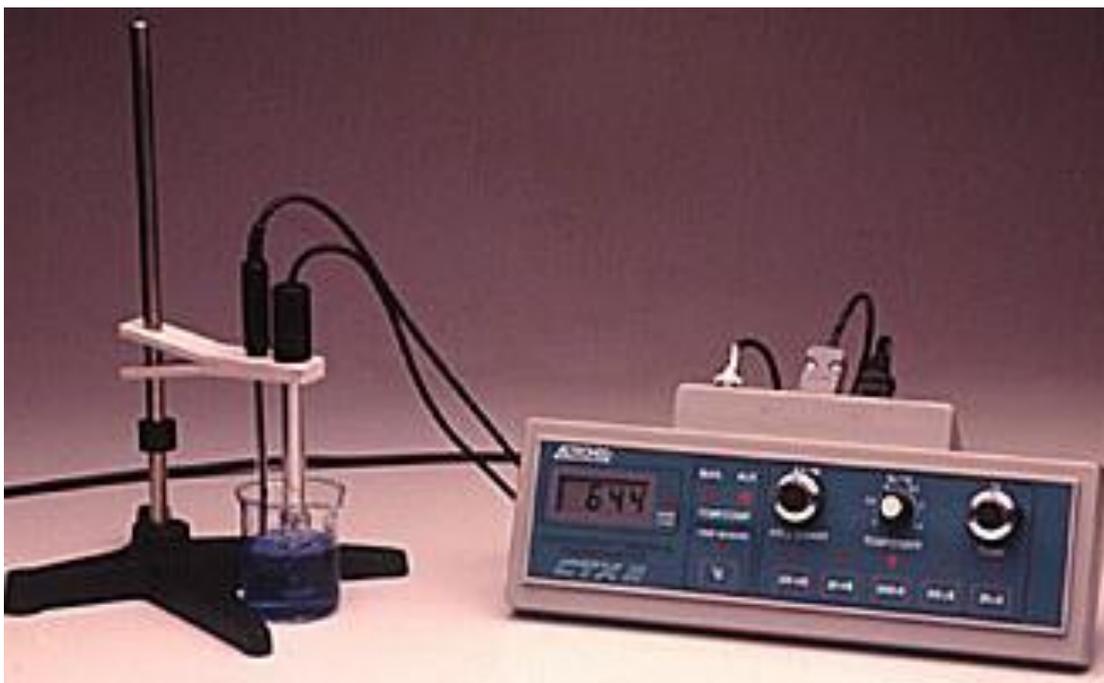


Figura 2.17- Conductímetro Altronix

Tabla 2.7- Especificaciones técnicas del Conductímetro ALTRONIX MODELO CTX-II

Rango de Medición	0-20,00 $\mu\text{S/cm}$, 0-200,0 $\mu\text{S/cm}$, 0-2000 $\mu\text{S/cm}$, 0-20,00mS/cm
Resolución	1% del valor leído
Precisión	0,1% del valor leído
Tensión máxima de excitación de celda	750 mV efectiva
Indicación	3 ½ dígitos en display LCD de 15 mm de altura
Ajuste de constante de la celda	De 0,1 a 10
Compensación de T	Manual o automática
Coefficiente de T	Ajustable entre 1%/°C y 3,5%/°C
Termómetro	Rango de Medición de 0°C a 100°C-Resolución 0,1 °C
Salida de registrador	Conductancia y temperatura.
Selector de escalas	Con teclas de membrana deformable de policarbonato
Gabinete	A prueba de ataque químico
Celda de Medición	Tipo inmersión con electrodos platinizados.

2.7 Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

Estos análisis fueron derivados a los laboratorios de la Sección Química del Área Industrial de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). La muestra o una dilución adecuada de la misma, es incubada por 5 días a 20°C en la oscuridad. Se mide la concentración de oxígeno disuelto antes y después de la incubación, y el consumo de oxígeno corresponde a la demanda bioquímica de oxígeno. Procedimiento técnico APHA QPT 35-40.

La prueba mide el oxígeno utilizado, durante un período de incubación especificado, para la degradación bioquímica de materia orgánica (requerimiento de carbono), y el oxígeno utilizado para oxidar materia orgánica. Es una medida de la materia orgánica biodegradable y por lo tanto mide los efectos ambientales de las aguas residuales ya que los cuerpos de agua tienen capacidad de autodepurarse por acción natural de los microorganismos siempre que la carga orgánica no supere dicha capacidad.

2.8 Índice de Biodegradabilidad

La biodegradabilidad es una propiedad que permite que los efluentes industriales puedan ser depurados por la acción de microorganismos que utilizan las sustancias orgánicas presentes en el efluente como alimento y fuente de energía para su metabolismo y reproducción. Suele usarse el Índice de Biodegradabilidad para caracterizar aguas residuales o efluentes, ya que proporciona información que permite seleccionar el tratamiento de depuración más adecuado (Pire y col., 2011).

La DBO_5 se define como la cantidad de oxígeno usado por los microorganismos no fotosintéticos para metabolizar los compuestos orgánicos degradables biológicamente, a una temperatura de 20°C; mientras que la DQO indica la cantidad de oxígeno requerida para oxidar completamente por medios químicos los compuestos orgánicos, biodegradables y no biodegradables, bajo condiciones estrictas. Un índice de biodegradabilidad sencillo y ampliamente utilizado es la relación:

$$\text{Índice de Biodegradabilidad} = \frac{DBO_5}{DQO} \quad \text{Ecuación 2.8}$$

Ardila y col. (2012) establecen que la relación DBO_5/DQO permite determinar la cantidad de materia orgánica e inorgánica contenida en una muestra de un efluente es

susceptible de ser depurada por los microorganismos en cinco días y por tanto el carácter de biodegradabilidad de los diferentes vertimientos. Así, de acuerdo con la Tabla 2.8, cuando la relación DBO_5/DQO es menor a 0,3, el efluente es mayormente no biodegradable, mientras que valores superiores a 0,7 favorecen las condiciones de recuperación por métodos biológicos.

Tabla 2.8- Criterios de Biodegradabilidad de efluentes según la relación DBO_5/DQO .

DBO_5/DQO	Carácter
Mayor de 0,8	Muy biodegradable
0,7 – 0,8	Biodegradable
0,3 – 0,7	Poco biodegradable
Menor de 0,3	No biodegradable

Fuente: Ardila y col, 2012

El objetivo de cualquier tratamiento aplicado a efluentes industriales puede concretarse en aumentar el valor de dicho índice para facilitar su tratamiento biológico. Así, la combinación adecuada de ambos tratamientos puede conducir a una solución óptima en términos técnico-económicos.

2.9 Validación de Métodos Analíticos

La validación de metodologías, junto con el control del aseguramiento de la calidad, permite demostrar que los métodos analíticos proporcionan resultados confiables. La validación consiste en evaluar las características del desempeño del método para demostrar que cumple con los requisitos para los cuales el método fue creado.

Según ISO/IEC 17025 (2017), validación es “confirmación mediante examen y aportación de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”. Durante la validación se especifican los analitos que el método puede determinar, en diferentes matrices, con distintas interferencias y en esas condiciones, los niveles de precisión y de exactitud que pueden alcanzarse (Magnusson y Örnemark, 2014).

En el proceso de validación del método está implícito que los ensayos se llevan a cabo usando equipos dentro de especificaciones, que están funcionando correctamente y calibrados adecuadamente; que se usan patrones de referencia certificados y trazables al

Sistema Internacional; asimismo, que el operador que realiza los estudios es competente en el campo de trabajo bajo estudio. (ISO/IEC 17025, 2017)

La extensión de la validación se depende del método que se quiere validar (OAA-1, 2019):

- Caso 1: Si se trata de un método normalizado que se aplica exactamente como está descrito.
- Caso 2: Si se trata de un método normalizado que se aplica con modificaciones que podrían afectar el resultado final.
- Caso 3: Si es un método nuevo, desarrollado por el laboratorio.

Así la validación tiene propósitos diferentes por lo que el alcance será diferente, como se muestra en la Tabla 2.9. ISO/IEC 17025 (2017), expresa que la validación es siempre un equilibrio entre costos, riesgos y posibilidades técnicas, por lo que en la validación se debe hacer lo mejor posible, teniendo en cuenta las limitaciones existentes, las herramientas disponibles, y la necesidad de compatibilidad metrológica.

Tabla 2.9- Alcance de la validación de métodos

Método de ensayo	Características de la validación
Caso 1: método normalizado: comprobación que se domina el ensayo y se utiliza correctamente	Parámetros de performance: límite de detección, límite de cuantificación, precisión, exactitud, incertidumbre de medición.
Caso2: método normalizado modificado: comprobación que los parámetros de desempeño no dependen de dicha modificación.	Los indicados anteriormente, más: robustez, recuperación, especificidad, estabilidad, reproducibilidad, linealidad o rango lineal, tipo de ajuste.
Caso 3: Método interno nuevo: comprobación que el método propio tiene desempeño suficiente para el objetivo de la aplicación.	Los indicados en el caso 2, y además: sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz,

A continuación, se resumen las definiciones de los parámetros de desempeño y el método de validación usado, de acuerdo a las recomendaciones de la Guía Eurachem (Magnusson y Örnemark, 2014).

2.9.4 Límite de Detección (LD)

Se define LD como la concentración más baja del analito que puede ser detectada por el método a un nivel de confianza especificado. LD depende de la precisión cerca de cero, por lo que se describe en términos de la estimación experimental de la desviación estándar de resultados cercanos a cero (Magnusson y Örnemark, 2014). En equipos de medición que generan una señal de base (ruido), algunos autores estiman el LD como la concentración del analito que produce una señal igual a 3 veces el ruido (Ahumada y col., 2012).

En este trabajo el LD se determinó haciendo 10 inyecciones independientes, de blancos de muestra fortificados a la menor concentración aceptable, en condiciones de repetibilidad, es decir que las mediciones se llevaron a cabo con el mismo equipo, mismo procedimiento, mismo operador y en un corto período de tiempo. Luego se calculó la desviación estándar (S), en Excel, y LD con la siguiente ecuación (OAA-1, 2019)

$$LD = 2 \cdot t_{n-1,99\%} \cdot S \qquad \text{Ecuación 2.9}$$

Donde t , es el estadígrafo de Student, para nivel de confianza del 99%, para (n-1) con n=10 mediciones. Lo que significa que en la prueba de hipótesis hay un 99 % de seguridad que la señal es diferente del ruido.

Con el propósito de la validación, normalmente es suficiente con proveer un valor aproximado del LD, es decir, el nivel en el cual la detección del analito se vuelve problemática, por lo que suele adoptarse un valor de LD igual a 3 desviaciones estándar (S) (ISO/IEC 17025:2017).

2.9.5 Límite de Cuantificación (LQ)

Es la concentración más baja del analito que puede determinarse con un nivel de incertidumbre aceptable (JCGM, 2012). Se dice también, la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco fortificado al mínimo. Este límite, generalmente es el punto más bajo de la curva de calibración.

El Límite de Cuantificación (LQ) se calculó de acuerdo con la mayoría de las convenciones, como la concentración del analito correspondiente a la desviación estándar obtenida a niveles bajos, multiplicada por un factor, k_Q . Según IUPAC (Thompson y col., 2002) el factor es igual a 10, por defecto, que correspondería a una desviación estándar relativa del 10 %.

$$LQ = 10.S$$

Ecuación 2.10

2.9.6 Linealidad

Se define Linealidad o Rango Lineal al intervalo de concentraciones del analito en el cual el método arroja resultados proporcionales a la concentración del analito. La linealidad del método se evalúa mediante la inspección visual del gráfico de respuesta vs concentración, con el apoyo estadístico y un gráfico de residuales de una regresión lineal

Para comprobación de linealidad se prepararon soluciones de patrones MRC en 4 niveles de concentración y se analizaron por triplicado. Para cada plaguicida se graficó área de cada pico (eje y) contra la concentración del analito (eje x). Se calcularon los coeficientes de correlación (r^2) y los residuos, estos últimos expresados por la diferencia entre el valor verdadero de área de pico y el valor predicho por la ecuación de la recta, para cada valor de concentración, para verificar distribución aleatoria de los residuos.

2.9.7 Precisión

Precisión es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas (JCGM, 2012). Las medidas de precisión más comunes son en condiciones de repetibilidad, de precisión intermedia y de reproducibilidad.

Precisión de repetibilidad: Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones sucesivas con mismo procedimiento, mismo observador, mismo equipo, mismo lugar, en período corto de tiempo.

Precisión intermedia: se refiere a mediciones realizadas con diferentes analistas, en períodos de tiempo prolongados, en un mismo laboratorio, con el mismo equipo.

Precisión de reproducibilidad: Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones sucesivas en diferentes condiciones, diferentes laboratorios, equipo, operador, etc.

Se realizaron 10 inyecciones de alícuotas de MRC, en 3 niveles de concentración, en condiciones de repetibilidad y de precisión intermedia. Se calculó la desviación estándar y coeficiente de variación porcentual (CV %). Se consideraron aceptables valores menores al 10 %. No fue posible el cálculo bajo condiciones de reproducibilidad, ya que era necesario requerir ensayos de colaboración con otros laboratorios.

2.9.8 Exactitud

Expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero. Se estudia en términos de “veracidad” (sesgo) y de “precisión” (cercanía de resultados unos con otros) y se expresa mediante medidas tales como desviación estándar (dispersión).

El sesgo es el error sistemático total, en contraste con el error aleatorio. Una diferencia sistemática mayor con respecto al valor de referencia aceptado se refleja por un valor de sesgo más grande.

Para determinar el sesgo se prepararon soluciones de MRC de varias concentraciones, dentro del rango lineal. Se realizaron 10 determinaciones de cada MRC, en condiciones de precisión intermedia y luego se calculó sesgo como la diferencia entre el valor medio de las mediciones y el valor del MRC. La precisión se evaluó con el cálculo de CV%.

Se comprueba Exactitud mediante una prueba de significancia, usando el test de t-Student, para comprobar si el sesgo es aceptable, es decir si no existen diferencias significativas entre el valor medio de las mediciones y el valor del MRC. Se calculó t con la siguiente ecuación:

$$t_{cal} = \frac{|\overline{X}_{crm} - \overline{X}_{metodo}|}{\sqrt{\left(\frac{U_{crm}}{k}\right)^2 + \left(\frac{s_1}{\sqrt{n}}\right)^2}} \quad \text{Ecuación 2.11}$$

t (dos colas) a (n -1) = 9 grados de libertad y un nivel de significancia del 5%, es 1,83.

Si $t_{cal} < 1,83$ la exactitud es aceptable.

2.9.9 Recuperación

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. Normalmente se utiliza Recuperación % (%R) para evaluar la recuperación del analito presente o agregado a una muestra de control y evalúa la eficiencia de extracción, del proceso de preparación o las interferencias que pudieran existir al aplicar el método de ensayo.

Se determinó mediante el análisis de muestras fortificadas con el analito de interés en diferentes rangos de concentraciones. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{|C_f - C_u|}{C_a} \times 100 \quad \text{Ecuación 2.12}$$

Donde:

C_f : concentración de analito medida en la muestra fortificada

C_u : concentración del analito en la muestra sin fortificar

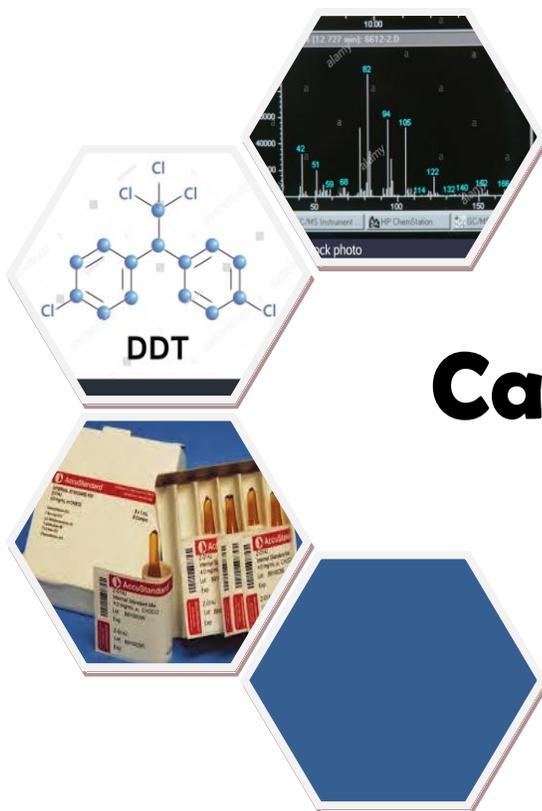
C_a : concentración teórica del analito adicionado en la muestra fortificada.

2.9.10 Selectividad

Se define como la capacidad de un método para determinar exactamente y específicamente el analito de interés en la presencia de otros componentes en la matriz bajo condiciones establecidas (JCGM, 2012).

Se determinó teniendo en cuenta que un pico en un cromatograma se asigna al analito con el mismo tiempo de retención del material de referencia. Por lo que se hace necesario soportar la evidencia repitiendo la cromatografía utilizando una columna de diferente polaridad para verificar si la señal del analito y la señal generada por el material de referencia continúan mostrando coincidencia con la segunda columna.

El método se considera validado cuando se demuestra que los parámetros de validación cumplen con los criterios planteados en la norma que se toma como referencia, entonces, se puede afirmar que el laboratorio domina el ensayo y los resultados obtenidos con el mismo, son confiables (Álvarez y col, 2008).



Capítulo 3

CAPITULO 3

VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYOS-RESULTADOS

3.1 Detección de Plaguicidas Organoclorados por Cromatografía Gaseosa

El objetivo es validar un método cromatográfico para detección y cuantificación de Plaguicidas Clorados en vinazas, evaluando parámetros de desempeño desde la inyección de extractos, y extrapolando los resultados a muestras de vinazas mediante ensayos de recuperación. Así, el método validado será útil para la detección de plaguicidas en matrices ambientales complejas, con características variadas, tal como las vinazas que suelen tener diferente composición dependiendo de su procedencia, y sobre todo diferente contenido de sólidos, esto es importante para decidir el tipo de pretratamiento de muestra a aplicar.

La validación de metodologías, junto con el control del aseguramiento de la calidad, permite demostrar que los métodos analíticos proporcionan resultados confiables al momento de cuantificar los plaguicidas organoclorados (ISO/IEC 17025, 2017).

Se trabajó con el equipo en las condiciones dadas por los parámetros del método indicados en la Tabla 2.3, con inyector automático. Se calibró inyectando patrones MRC, en 3 niveles de concentración; soluciones preparadas por dilución de una solución intermedia, que se obtuvo a partir de cantidades volumétricas de MRC individual de cada plaguicida, en hexano, según la Tabla 2.4.

En la Figura 3.1 pueden observarse los cromatogramas solapados de los dos niveles de concentración, a partir de los cuales se construyeron las curvas de calibración para cada plaguicida. Por medio del software HP ChemStation, revisión A.04.01, provisto con el equipo, se lleva a cabo la identificación de los picos por comparación con el tiempo de retención de patrones y se elabora una tabla con tiempos de retención, áreas de picos correspondientes y concentraciones de patrones. (Tabla 3.1).

En la Figura 3.2 se muestran, a modo de ejemplo, las gráficas de Área de Pico en función de Concentración de Heptacloro, DDT y Aldrín. Las curvas de calibración para

cada plaguicida, son elaboradas y guardadas en la ChemStation, al grabar el método correspondiente.

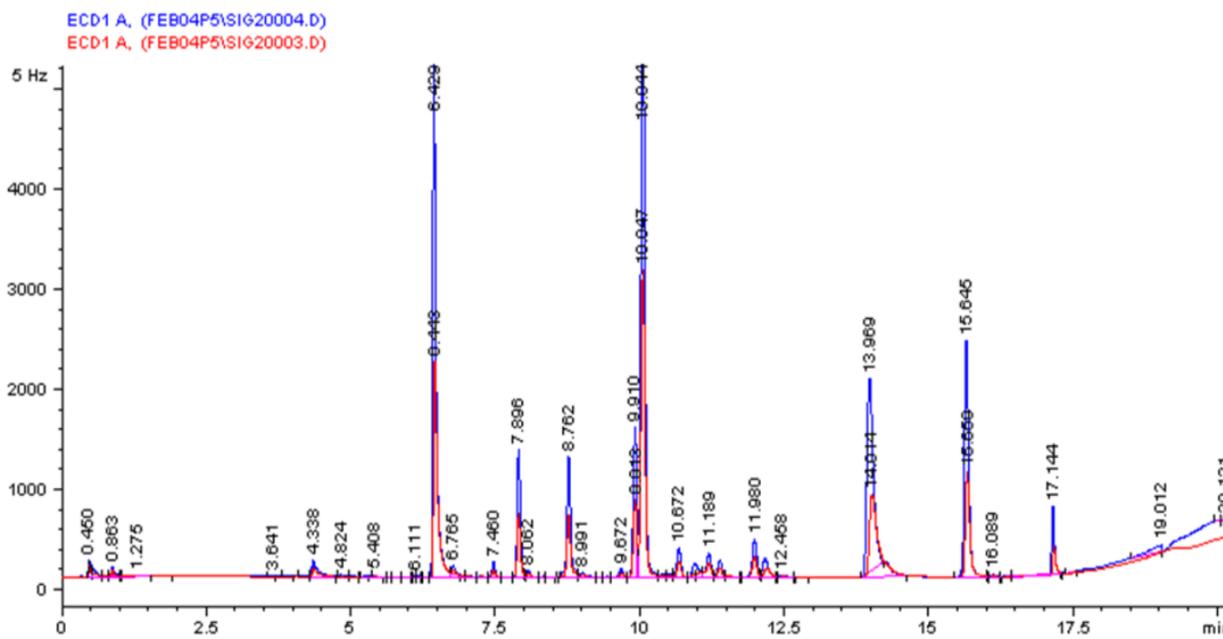


Figura 3.1- Cromatogramas del nivel 2 y nivel 3 de la curva de calibración de plaguicidas organoclorados

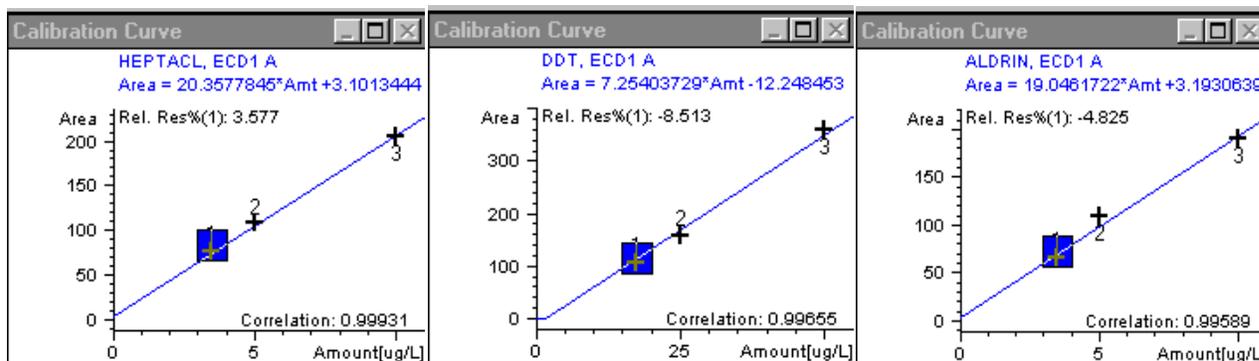


Figura 3.2- Curva de calibración de Heptacloro, DDT y Aldrín, hechas con ChemStation.

Tabla 3.1- Tabla para Calibración en 3 puntos, de cada PO del estudio.

RT	Señal	Compuesto	Lvl	CC[$\mu\text{g/L}$]	Área	Rsp.Factor	ISTD
6,443	ECD1 A	LINDANO	1	17,5	198,51	$8,82 \cdot 10^{-2}$	No
			2	25,0	324,3	$7,71 \cdot 10^{-2}$	
			3	50,0	692,42	$7,22 \cdot 10^{-2}$	
7,896	ECD1 A	HEPTACL	1	3,5	77,013	$4,54 \cdot 10^{-2}$	No
			2	5,0	107,64	$4,65 \cdot 10^{-2}$	
			3	10,0	204,38	$4,89 \cdot 10^{-2}$	
8,762	ECD1 A	ALDRIN	1	3,5	66,484	$5,26 \cdot 10^{-2}$	No
			2	5,0	109,19	$4,58 \cdot 10^{-2}$	
			3	10,0	189,45	$5,28 \cdot 10^{-2}$	
9,910	ECD1 A	H. EPÓX A	1	3,5	74,585	$4,69 \cdot 10^{-2}$	No
			2	5,0	102,24	$4,89 \cdot 10^{-2}$	
			3	10,0	221,06	$4,52 \cdot 10^{-2}$	
10,047	ECD1 A	H. EPOX B	1	3,5	66,347	$5,28 \cdot 10^{-2}$	No
			2	5,0	94,072	$5,32 \cdot 10^{-2}$	
			3	10,0	210,32	$4,75 \cdot 10^{-2}$	
10,672	ECD1 A	DDE	1	14,0	21,628	$6,47 \cdot 10^{-1}$	No
			2	20,0	43,767	$4,57 \cdot 10^{-1}$	
			3	40,0	73,901	$5,41 \cdot 10^{-1}$	
11,189	ECD1 A	CLORDANO	1	8,75	25,906	$3,38 \cdot 10^{-1}$	No
			2	12,5	57,718	$2,17 \cdot 10^{-1}$	
			3	25,0	65,11	$3,84 \cdot 10^{-1}$	
13,969	ECD1 A	DDD	1	17,5	237,83	$7,36 \cdot 10^{-2}$	No
			2	25,0	440,67	$5,67 \cdot 10^{-2}$	
			3	50,0	728,11	$6,87 \cdot 10^{-2}$	
15,645	ECD1 A	DDT	1	17,5	104,93	$1,67 \cdot 10^{-1}$	No
			2	25,0	157,3	$1,59 \cdot 10^{-1}$	
			3	50,0	359,77	$1,39 \cdot 10^{-1}$	
17,144	ECD1 A	MTX	1	17,5	63,687	$2,75 \cdot 10^{-1}$	No
			2	25,0	93,65	$2,67 \cdot 10^{-1}$	
			3	50,0	172,27	$2,90 \cdot 10^{-1}$	

Fuente: ChemStations. RT: tiempo de retención; Señal: indica el origen de la señal de salida, del detector de ECD; Lvl: nivel de calibración; CC: concentración; Area: es el área del pico; Rsp Factor: Factor de Respuesta; HEPTACL: heptacloro; H. EPÓX A: heptacloro epóxido A; H. EPÓX B: heptacloro epóxido B; MTX: metoxicloro; ISTD: Se refiere al Estándar Interno, que en este método no se usa.

Se planificaron ensayos de validación de acuerdo a la guía The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related (Magnusson y Orneemark, 2014).

El método de referencia responde a la denominación EPA 8080 (1996) Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyl by Gas Chromatography, por lo que se realizó una validación parcial, comprobando los siguientes parámetros: Límite de detección (LD), Límite de cuantificación (LQ), Linealidad, Exactitud, Precisión y Recuperación.

3.1.1 Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ)

El Límite de Detección se estimó mediante el análisis de 10 muestras de blancos de hexano fortificados con la mezcla de PO (MRC), a baja concentración, preparados independientemente, medidos una vez cada uno, en condiciones de repetibilidad, es decir mismo operador, mismo equipo, en iguales condiciones.

Se realizaron inyecciones simples de cada solución. La guía EuraChem (Eurolab España, 2016) indica corregir con el número de réplicas para cada solución (n) así como también la corrección con el blanco, como se muestra en la Figura 3.3.

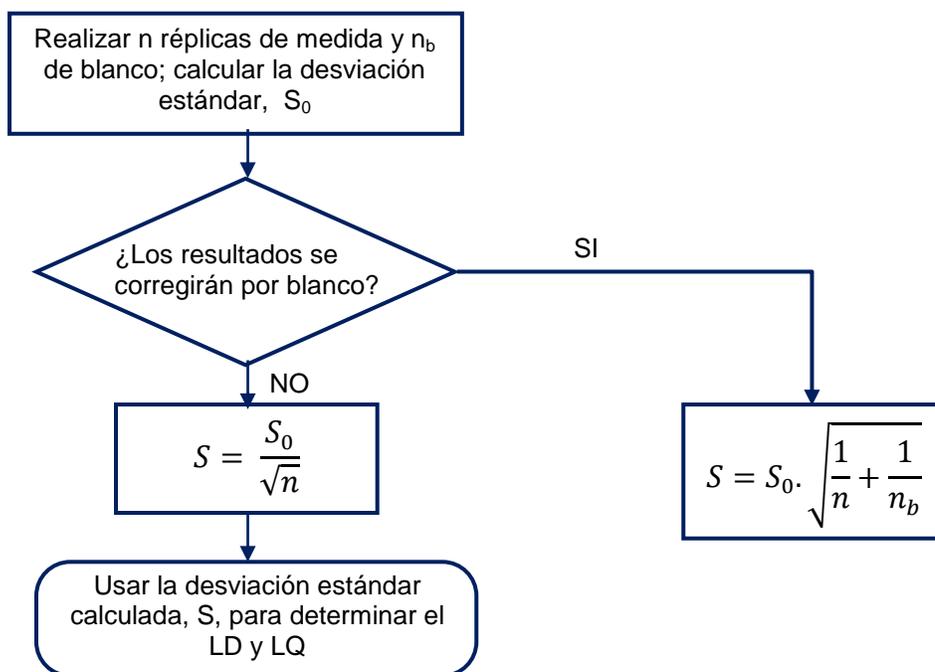


Figura 3.3- Correcciones de desviación estándar (S) respecto del blanco y del número de réplicas para la estimación del Límite de Detección.

En este caso, no fueron necesaria ambas correcciones ya que se no se hicieron réplicas de cada patrón, y no corresponde corrección por blanco.

En la Tabla 3.2 se muestran valores promedios de inyecciones simples de 10 soluciones mezcla de patrones MRC de PO, a baja concentración, medidos una vez, en condiciones de repetibilidad. Se calculó el valor de Desviación Estándar (S), el Coeficiente de Variación Porcentual, (CV%), el Límite de Detección y Límite de Cuantificación. La desviación estándar calculada, asociada a las 10 mediciones, es igual a la corregida, dado que cada medición se realizó 1 vez (n=1 réplica).

Para el cálculo del LD con la Ecuación 2.9, se usó el factor 3, considerando que, con el propósito de la validación, es suficiente proveer un valor aproximado del nivel en el cual la detección del analito se torna problemática. Esto se fundamenta en que el valor de t de Student de una cola, para infinitas mediciones ($\alpha = 0.05$) es 1,63, multiplicado por 2 y redondeado por defecto a una cifra significativa, se aproxima al valor usado.

El límite de cuantificación se calculó con la Ecuación 2.10, que corresponde, aproximadamente, a una desviación estándar relativa del 10 %.

Tabla 3.2- Resultados de los ensayos para cálculo de Límite de Detección y Límite de Cuantificación, realizados con 10 mediciones, en condiciones de repetibilidad.

	Concentración de patrón ($\mu\text{g/L}$)	Valor Medio ($\mu\text{g/L}$)	Desviación Estándar ($\mu\text{g/L}$)	Límite de Detección ($\mu\text{g/L}$)	Límite de Cuantificación ($\mu\text{g/L}$)
Lindano	17,50	16,90	0,940	2,82	9,40
Heptacl	3,50	3,20	0,273	0,82	2,73
Aldrin	3,50	3,50	0,293	1,18	2,93
HeptEpx A	3,50	3,40	0,277	0,83	2,77
HeptEpx B	3,50	3,30	0,207	0,62	2,07
DDE	14,00	13,70	1,172	3,52	11,72
Clordano	8,75	8,60	1,518	4,55	15,18
DDD	17,50	16,80	0,641	1,92	6,41
DDT	17,50	16,9	0,827	2,48	8,27
MTX	17,50	16,9	1,546	4,64	15,46

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

En cuanto a las muestras usadas para el cálculo de LD y LQ, la bibliografía aconseja usar blancos, pero esto se aplica en métodos en los que se obtiene una señal medible para el mismo. En cromatografía, se busca detectar un pico por encima del ruido del instrumento, por lo que se aconseja usar muestras con nivel de concentración baja, por lo general, blancos fortificados.

Extrapolando los resultados a muestras de vinazas, de acuerdo al procedimiento de preparación indicado anteriormente (extracción líquido-líquido, 100 mL de vinaza y extractos de 1,5 mL), se podrían estimar los resultados indicados en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3- Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LQ) de Plaguicidas Organoclorados en vinaza, expresado en ppb ($\mu\text{g/L}$)

	Límite de Detección ($\mu\text{g/L}$)	Límite de Cuantificación ($\mu\text{g/L}$)
Lindano	0,0420	0,1410
Heptacl	0,0120	0,0410
Aldrin	0,0180	0,0590
HeptEpx A	0,0120	0,0420
HeptEpx B	0,0093	0,0300
DDE	0,0530	0,1760
Clordano	0,0680	0,2280
DDD	0,0290	0,0960
DDT	0,0370	0,1240
MTX	0,0700	0,2320

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

Un resultado inferior al LD, se informa como “no detectado”, pero no deberá interpretarse como demostración de que el analito está ausente. Es decir, no se recomienda notificar tal resultado como “cero”. (OAA-2, 2019).

Criterio de aceptación:

Según la Guía Técnica N°1, Validación de Métodos y Determinación de la Incertidumbre de la Medición: Aspectos Generales sobre la Validación de Métodos, del Instituto de Salud Pública de Chile (Duffau y col., 2010), un criterio de aceptación adecuado es:

$$LD \ll LQ < LMP.$$

Siendo LMP, el Nivel Máximo Permitido o tolerancia establecida para un analito en la reglamentación. En general se sugiere:

- Para un LMP > 0,1 ppm → LQ < 1/5 LMP
- para un LMP < 0,1 ppm → LQ < 2/5 LMP.

El mismo criterio usa Hernández y col (2017) en la validación de métodos para el análisis de residuos de plaguicidas en productos vegetales.

Dado que la Resolución 30 de la SEMA indica como valor máximo 0,05 mg/L de Plaguicidas Clorados, se fija como criterio de aceptación que $LQ < 2/5 LMP$, es decir que el límite de cuantificación es aceptable si es menor a 0,02 mg/L, es decir 20 µg/L, considerando plaguicidas totales. La suma de los valores de concentración de Plaguicidas Organoclorados, calculados como Límite de Cuantificación (LQ), es de 1,169 µg/L, por lo que se puede concluir que se cumple con el criterio de aceptación. Dicho de otra manera, los Límites de Cuantificación calculados con el método, son suficiente y adecuados para el mismo.

3.1.2 Linealidad

Se prepararon soluciones independientes, de patrones MRC, en 4 niveles de concentración. Luego de las corridas cromatográficas se graficó área de cada pico (eje y) contra la concentración del analito (eje x), usando la ChemStation.

En la Figura 3.4 se muestran las gráficas de área de pico en función de concentración, para cada plaguicida, la ecuación de la recta que ajusta al modelo lineal y los valores de coeficiente de correlación.

Según la guía EuraChem (Eurolab España, 2016), la inspección visual de las gráficas permite observar el comportamiento lineal del método en el rango de trabajo, como se observa en la Figura 3.4, avalado por los valores de coeficiente de correlación que se encontraron entre 0,99994 y 0,99830.

Además, para cada plaguicida, se muestra la ecuación de la recta que correlaciona los datos de área y concentración. Con ésta se calcularon las áreas para cada concentración y los residuos, es decir la diferencia entre el valor de área calculada con la ecuación de la recta obtenida por correlación con el método de los Cuadrados Mínimos y el área medida en los cromatogramas, para cada valor de concentración (Tabla 3.4).

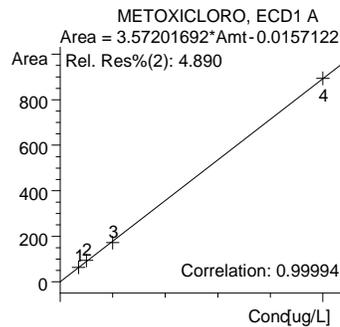
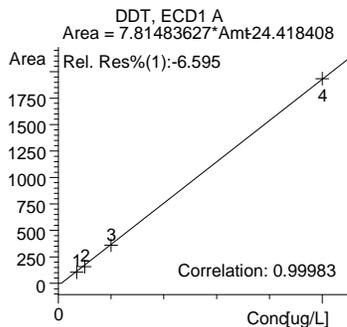
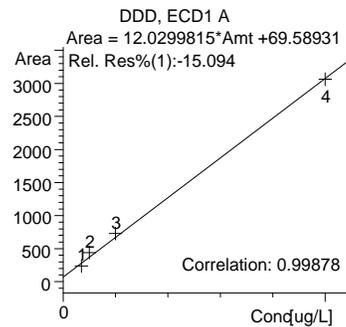
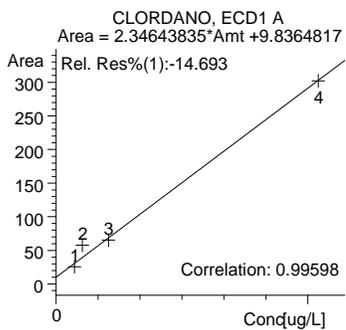
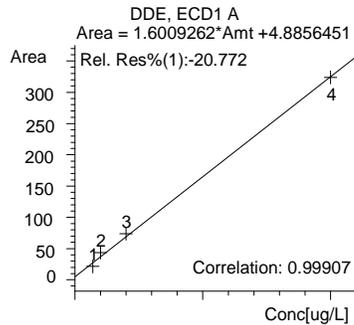
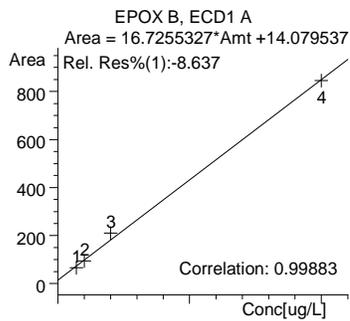
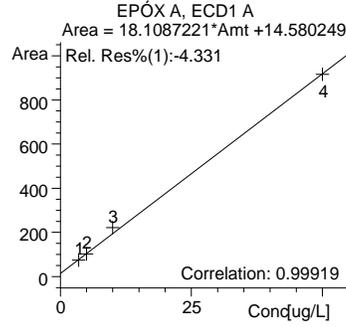
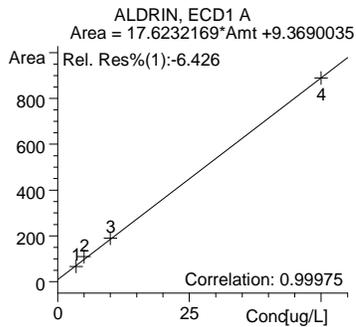
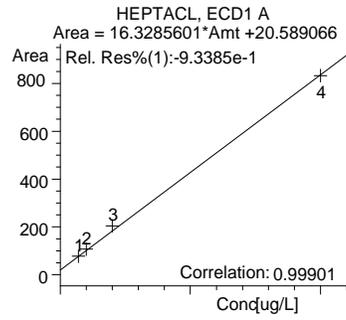
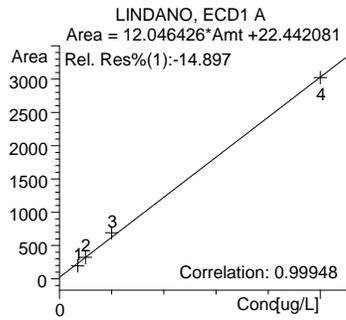


Figura 3.4- Verificación de Linealidad. Para cada compuesto se observa el coeficiente de correlación (r) y la ecuación de la recta.

Tabla 3.4- Verificación de Linealidad, cálculo de Residuos, para cada nivel de concentración.

Compuesto	Nivel	CC [µg/L]	Área medida	Ecuación: $a \cdot x + b$		Área calculada	Residuos
				a	b		
Lindano	1	17,5	198,51	12,0464	22,4420	233,2545	34,7445
	2	25	324,3			323,6027	-0,6972
	3	50	692,42			624,7633	-67,6566
	4	250	3022,9			3034,0485	11,1485
Heptacloro	1	3,5	77,013	16,3285	20,5890	77,7390	0,7260
	2	5	107,64			102,2318	-5,4081
	3	10	204,38			183,8746	-20,5053
	4	50	832,43			837,0170	4,5870
Aldrin	1	3,5	66,484	17,6232	9,3690	71,0502	4,5662
	2	5	109,19			97,4850	-11,7049
	3	10	189,45			185,6011	-3,8488
	4	50	888,91			890,5298	1,6198
HeptEpx A	1	3,5	74,585	18,1087	14,5802	77,9607	3,3757
	2	5	102,24			105,1238	2,8838
	3	10	221,06			195,6674	-25,3925
	4	50	915,46			920,0163	4,5563
HeptEpx B	1	3,5	66,347	16,7255	14,0795	72,6189	6,2719
	2	5	94,072			97,7072	3,6352
	3	10	210,32			181,3349	-28,9851
	4	50	845,36			850,3562	4,9962
DDE	1	14	21,628	1,6009	4,8856	27,2986	5,6706
	2	20	43,767			36,9042	-6,8628
	3	40	73,901			68,9227	-4,9783
	4	200	323,79			325,0709	1,2809
Clordano	1	8,75	25,906	2,3464	9,8364	30,3678	4,4618
	2	12,5	57,718			39,1670	-18,5510
	3	25	65,11			68,4974	3,3874
	4	125	302,28			303,1413	0,8613
DDD	1	17,5	237,83	12,0299	69,5893	280,1140	42,2840
	2	25	440,67			370,3389	-70,3311
	3	50	728,11			671,0884	-57,0216
	4	250	3061,6			3077,0847	15,4847
DDT	1	17,5	104,93	7,8148	-24,4184	112,3412	7,4112
	2	25	157,3			170,9525	13,6525
	3	50	359,77			366,3234	6,5534
	4	250	1932,5			1929,2907	-3,2093
MTX	1	17,5	63,687	3,5720	-0,0157	62,4946	-1,1924
	2	25	93,65			89,2847	-4,3653
	3	50	172,27			178,5851	6,3151
	4	250	893,73			892,9885	-0,7415

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; a: pendiente de la recta; b: ordenada al origen; CC: concentración

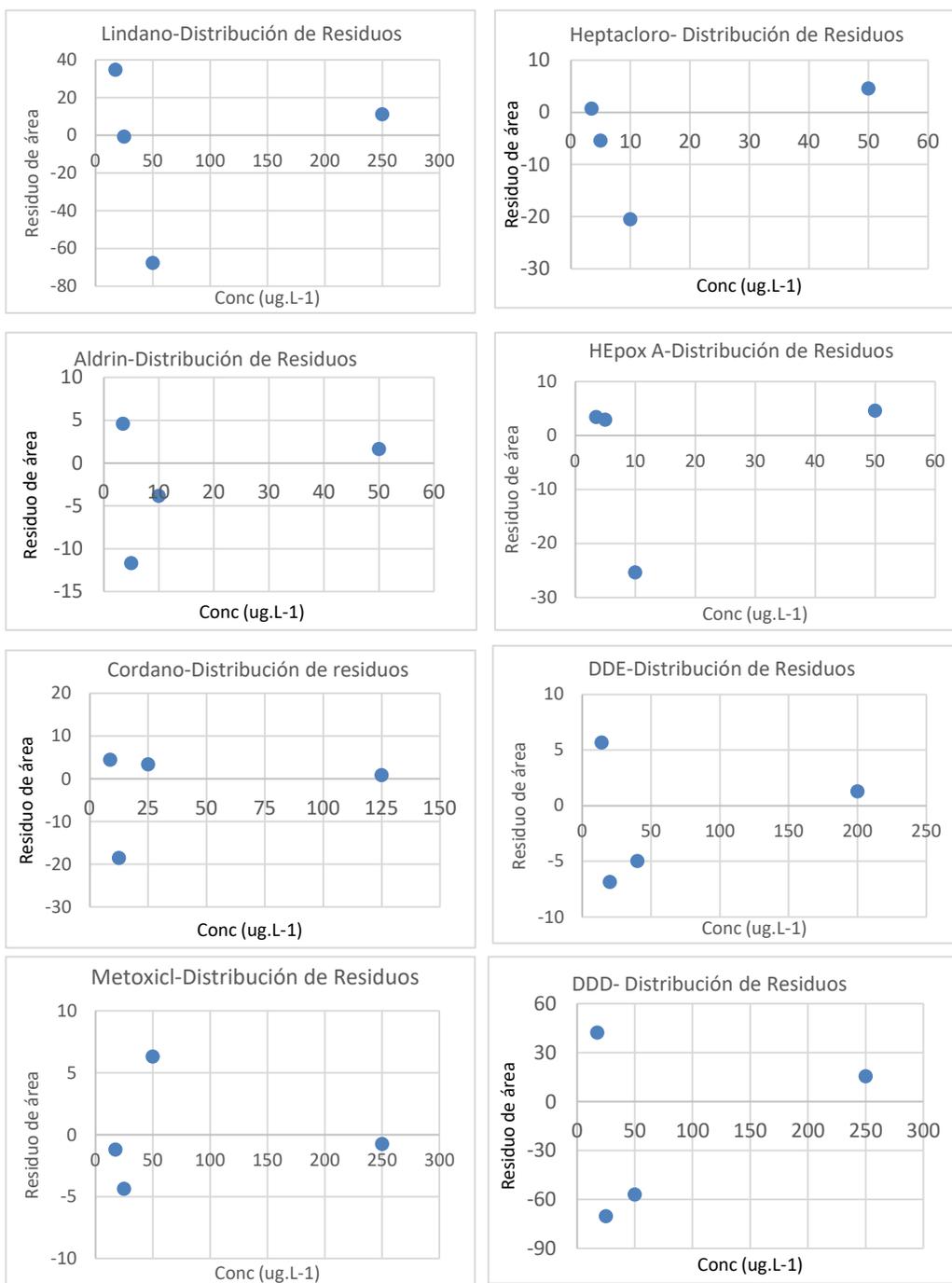


Figura 3.5- Gráfica de la distribución de los residuos para comprobación de linealidad

El valor del residuo indica cuanto se separa de la linealidad, el valor medido.

$$\text{Residuo} = \text{Área Calculada} - \text{Área medida}$$

Ecuación 3.1

Nótese que ChemStation calcula, en cada caso, el coeficiente de correlación (r). Este describe la existencia de una relación lineal entre dos variables observadas y el grado de asociación puede ser negativo o positivo. Por el contrario, el coeficiente de determinación (R^2) no se preocupa por el signo de la variación y muestra el tipo de asociación al explicar el modelo. Por lo tanto, debe usarse r para indicar la bondad y la dirección de una relación lineal (Raposo e Ibelli, 2020).

Se graficaron los residuos en función de concentración ($\mu\text{g/L}$). La existencia de tendencias sistemáticas indica no-linealidad (Eurolab, 2016). Se dice que hay tendencia cuando los residuos se separan del cero aumentando siempre o disminuyendo siempre, para valores de predicciones mayores. En la Figura 3.5, se verificó distribución aleatoria de los residuos, por lo que se puede concluir que la relación entre concentración y área de pico es lineal en el rango de trabajo, para cada plaguicida del estudio.

3.1.3 Exactitud

En el presente trabajo la exactitud se expresó en términos de 2 componentes: veracidad y precisión. La veracidad se refiere a la cercanía de la media de un conjunto de resultados producidos por el método respecto del valor real y se expresa en términos de sesgo. La precisión indica que tan cercanos están los resultados entre sí, y por lo general se expresa mediante la desviación estándar o el CV% (coeficiente de variación porcentual), que describe la dispersión de los resultados.

Para la estimación del sesgo se prepararon soluciones, usando MRC, en 3 niveles de concentración, que abarcó el rango de trabajo, nivel bajo, medio y alto (Tabla 3.5).

Se realizaron 7 mediciones de cada solución, en condiciones de precisión intermedia (mismo equipo, diferente operador, diferente día, soluciones preparadas independientemente). Se calculó el valor medio de las mediciones y la desviación estándar. Luego, se determinó sesgo y coeficiente de variación porcentual (CV %). con las siguientes ecuaciones:

$$Sesgo = |X_{MEDIO} - X_{MRC}| \quad \text{Ecuación 3.2}$$

$$CV\% = \frac{S}{X_{MEDIO}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3.3}$$

Donde: X_{MEDIO} es el valor medio de las 7 mediciones de cada PO; X_{MRC} es el valor del patrón de referencia, informado en el certificado de análisis; S es la desviación estándar de cada medición respecto del valor medio.

Tabla 3.5- Concentración de patrones (MRC) preparados para ensayos de precisión y exactitud del método cromatográfico.

	Nivel Bajo MRC ₁	Nivel Medio MRC ₂	Nivel Alto MRC ₃
Lindano	17.50 ± 0.18	37.50 ± 0.38	250 ± 2
Heptacl	3.50 ± 0.03	7.50 ± 0.07	50 ± 1
Aldrin	3.50 ± 0.03	7.50 ± 0.07	50 ± 1
HeptEpx A	3.50 ± 0.03	7.50 ± 0.07	50 ± 1
HeptEpx B	3.50 ± 0.03	7.50 ± 0.07	50 ± 1
DDE	14.00 ± 0.15	30.00 ± 0.30	200 ± 2
Clordano	8.75 ± 0.08	18.75 ± 0.20	125 ± 1
DDD	17.50 ± 0.18	37.50 ± 0.38	250 ± 2
DDT	17.50 ± 0.18	37.50 ± 0.38	250 ± 2
MTX	17.50 ± 0.18	37.50 ± 0.38	250 ± 2

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; MRC: Material de Referencia Certificado.

Se realizó una prueba de significancia con el modelo t de Student. Esta prueba permite comparar las medias de dos grupos de datos y determinar si, entre estos parámetros, las diferencias son estadísticamente significativas. En este caso se compara la media de un grupo de datos con el valor certificado del patrón.

Se calcula t_{calc} con la ecuación 2.11. Se compara con el llamado valor crítico de t, que se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad. Normalmente se utiliza el 95% o 99 % de confianza (un valor α de 0,05 ó 0,01, respectivamente). Si no existen diferencias significativas, t_{calc} debería ser inferior al t crítico (o conocido también como t de tabla).

Se usó, para cada PO, un MRC marca AccuStandard, cuyo certificado provisto por el fabricante, indica una incertidumbre expandida U igual al 1% del valor nominal, con un factor de cobertura, k, igual a 2. En la Tabla 3.6 se observa el sesgo obtenido para cada

plaguicida. En este caso se midió el sesgo del instrumento, ya que se trabajó con un MRC en hexano, con inyecciones directas.

En la prueba de significancia, el cálculo de t resultó menor que el t crítico, obtenido de tablas para $\alpha= 0,01$ y 6 grados de libertad, igual a 3,143. (Anexo 3.1). Se consideró que los valores obtenidos por el método para concentración de cada PO no son significativamente diferentes a la del MRC, es decir el sesgo es aceptable, con un 99% de confianza.

Tabla 3.6- Comprobación de sesgo, en 3 rangos de concentraciones y prueba de significancia

	NIVEL BAJO			NIVEL MEDIO			NIVEL ELEVADO		
	VM ₁ (µg/L)	Sesgo (µg/L)	t _{calc}	VM ₂ (µg/L)	Sesgo (µg/L)	t _{calc}	VM ₃ (µg/L)	Sesgo (µg/L)	t _{calc}
Lindano	16,99	0,51	1,42	34,80	2,70	2,07	241,37	8,63	2,53
Heptacl	3,09	0,31	3,03	7,99	0,49	2,09	54,20	4,20	2,76
Aldrin	3,70	0,20	1,33	8,07	0,57	2,83	54,80	4,80	2,92
HeptEpx A	3,42	0,08	0,78	8,22	0,72	2,99	54,30	4,30	2,44
HeptEpx B	3,26	0,24	3,03	7,06	0,44	2,73	48,60	1,40	1,15
DDE	13,73	0,28	0,62	28,60	1,40	1,34	192,75	7,25	1,71
Clordano	8,57	0,18	0,31	18,02	0,73	1,10	128,35	3,35	0,99
DDD	16,78	0,72	2,82	40,59	3,09	2,79	260,31	10,31	2,51
DDT	16,89	0,61	1,91	41,05	3,55	2,55	243,80	6,20	1,41
MTX	16,88	0,62	1,06	35,24	2,26	1,58	241,60	8,40	2,27

VM: Valor medio de las 7 mediciones para cada plaguicida; t_{calc}: estadígrafo calculado para el Test de Student; HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

3.1.4 Precisión

Dado que precisión es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas (JCGM, 2012), en el presente estudio, la precisión se determinó en condiciones de repetibilidad y de precisión intermedia. Para Precisión de Repetibilidad se prepararon 7 soluciones a partir de la misma solución intermedia, en tres niveles de concentración y se inyectaron el mismo día, con la misma jeringa, en las mismas condiciones. Para Precisión Intermedia se

prepararon 10 soluciones independientes del MRC, en 3 rangos de concentración y se inyectaron diferentes días, con diferentes operadores, jeringas distintas y condiciones ambientales diferentes. Se calculó la desviación estándar de repetibilidad y de precisión intermedia, y el coeficiente de variación porcentual (CV%). Se consideraron aceptables valores menores al 10 %.

La repetibilidad, corresponde a la precisión más alta esperada, dará una idea de la menor variabilidad esperada cuando un método se ejecuta por un solo analista, con un equipo en un período corto de tiempo; mientras que la reproducibilidad se refiere a la medida de precisión más baja ya que contempla mayor variabilidad en los resultados debido a que involucra diferentes equipos, laboratorios, etc; y es difícil de lograr en una validación interna. Por esta razón se consideran condiciones intermedias.

En las Tablas 3.7 y 3.8 se muestran los resultados obtenidos, en los que se observa que los valores de CV% en la Precisión de Repetibilidad fueron siempre menores al 10%, en los tres rangos de concentración. Lo mismo se observa en el caso de Precisión Intermedia. Estos resultados permitieron inferir que el método es exacto en todo el rango lineal.

Tabla 3.7- Desviación estándar y coeficiente de variación porcentual para comprobación de Precisión de Repetibilidad, con 7 mediciones independientes en 3 niveles de concentración

	Concentración baja			Concentración media			Concentración alta		
	VM ₁	S ₁	CV ₁ %	VM ₂	S ₂	CV ₂ %	VM ₃	S ₃	CV ₃ %
Lindano	16,99	0,94	5,5	34,80	3,46	9,9	241,37	8,50	3,5
Heptacl	3,10	0,18	5,8	7,12	0,65	9,1	54,10	4,50	8,3
Aldrin	3,54	0,21	5,9	7,80	0,38	4,9	55,35	2,20	4,0
HeptEpx A	3,32	0,28	8,3	7,75	0,40	5,2	52,48	3,55	6,8
HeptEpx B	3,30	0,10	3,0	8,00	0,51	6,4	54,30	4,20	7,7
DDE	13,83	0,54	3,9	28,85	4,20	14,6	195,35	10,20	5,2
Clordano	8,61	0,42	4,9	18,22	1,65	9,1	127,20	7,65	6,0
DDD	16,85	0,56	3,3	39,75	2,08	5,2	258,60	10,50	4,1
DDT	17,38	0,92	5,3	38,90	1,80	4,6	260,15	9,60	3,7
MTX	17,16	1,43	8,3	34,80	1,65	4,7	243,50	8,12	3,3

VM: Valor Medio de las 7 mediciones; S: Desviación estándar; CV%: Coeficiente de variación porcentual; HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

Tabla 3.8- Cálculo de la precisión en condiciones de Precisión Intermedia, con 10 mediciones independientes, en tres niveles de concentración.

	Concentración baja			Concentración media			Concentración alta		
	VM ₁	S ₁	CV%	VM ₂	S ₂	CV%	VM ₃	S ₃	CV%
Lindano	16,99	0,94	5,5	34,80	3,46	9,9	241,37	8,50	3,5
Heptacl	3,09	0,27	8,6	7,99	0,62	7,8	54,20	4,02	7,4
Aldrin	3,70	0,39	10,7	8,07	0,53	6,6	54,80	4,36	8,0
HeptEpx A	3,42	0,28	8,1	8,22	0,64	7,8	54,30	4,68	8,6
HeptEpx B	3,26	0,21	6,4	7,06	0,42	5,9	48,60	3,20	6,6
DDE	13,73	1,17	8,5	28,60	2,77	9,7	192,75	10,03	5,7
Clordano	9,77	1,01	9,7	18,02	1,76	9,8	128,35	8,96	7,0
DDD	16,78	0,64	3,8	40,59	2,93	7,2	260,31	10,51	4,0
DDT	16,89	0,83	4,9	41,05	3,70	9,0	243,80	11,35	4,7
MTX	16,88	1,55	9,2	35,24	3,81	10,3	241,60	9,35	3,9

MRC: Material de Referencia Certificado; S: Desviación estándar; CV%: Coeficiente de variación porcentual; HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

3.1.5 Recuperación

Se prepararon muestras fortificadas con PO en 2 niveles de concentración. Se trabajó con vinaza provista por el Departamento de Industrias Azucarera de la Universidad Nacional de Tucumán, con un contenido de sólidos de 7,4 Brix, a la que se agregó solución intermedia para lograr las concentraciones indicadas en la Tabla 3.9. Se procedió a agitar para homogeneizar y se dejó reposar 48 hs.

El procesamiento de las muestras de vinaza adicionada y vinaza original, como blanco de muestra, se llevó a cabo por triplicado, abarcando los pasos de extracción, limpieza y concentración. A partir de 100 mL de vinaza se procedió a la extracción de los PO con 3 porciones de 10 mL de hexano, en un matraz de separación. Se mezclaron los extractos, se limpiaron usando florisil, y se secaron pasando por una columna de sulfato de sodio anhidro. Los extractos se evaporaron en corriente de nitrógeno, hasta sequedad y se ajustó el volumen a 1,5 mL, con hexano. Se transfirió 1 mL de cada extracto a un vial con cierre hermético, apto para inyector automático, desde donde se inyectaron 2 µL al cromatógrafo gaseoso.

Tabla 3.9- Preparación de 2 muestras de 500 mL vinaza, adicionada con solución intermedia mezcla de PO para ensayos de recuperación. Concentración teórica de cada compuesto.

	Sol Intermedia (µg/L)	MUESTRA A (µg/L)	MUESTRA B (µg/L)
Lindano	500	0,375	0,750
Heptacl	100	0,075	0,150
Aldrin	100	0,075	0,150
HeptEpx A	100	0,075	0,150
HeptEpx B	100	0,075	0,150
DDE	400	0,300	0,600
Clordano	250	0,187	0,375
DDD	500	0,375	0,750
DDT	500	0,375	0,750
MTX	500	0,375	0,750

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

En la Figura 3.6 puede observarse el cromatograma correspondiente a vinaza a la que se adicionó la mezcla de plaguicidas para obtener la muestra de mayor concentración. En la cromatograma se observa una deriva de la línea de base al final de la corrida, debido a las características de la matriz multicomponente, por lo que se realizó integración manual, siguiendo la línea de base.

Nótese que las vinazas fueron fortificadas con PO de manera que los extractos contengan concentraciones dentro del rango de las curvas de calibración, equivalentes a 25 y 50 µg/L, para lindano, DDD, DDT y metoxicloro; 5 y 10 µg/L para aldrín, heptacloro y sus epóxidos; 20 y 40 µg/L para DDE y 12,5 y 25 µg/L para clordano.

Se calculó el porcentaje de recuperación con la ecuación 2.12, donde C_f correspondería al promedio de las concentraciones medidas de la muestra fortificada con PO, C_u concentración de la muestra de vinaza sin adición de PO y C_a sería el valor concentración teórica de cada PO.

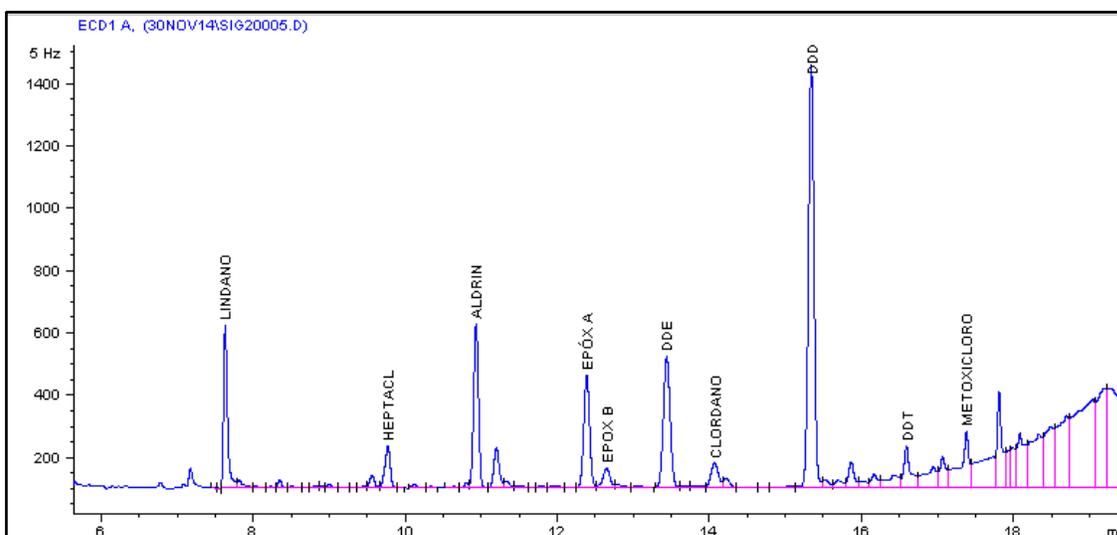


Figura 3.6- Cromatograma de muestra de vinaza adicionada con plaguicidas organoclorados, correspondiente a la Muestra B, de mayor concentración.

Tabla 3.10- Ensayos de recuperación, con vinazas adicionadas en dos concentraciones

	Valores Teóricos		Concentraciones Medidas				
	M_A ($\mu\text{g/L}$)	M_B ($\mu\text{g/L}$)	V_{MA} ($\mu\text{g/L}$)	V_{MB} ($\mu\text{g/L}$)	Blanco ($\mu\text{g/L}$)	Prom Rec % A	Prom Rec % B
Lindano	0,375	0,750	0,393	0,681	0,08	83,5	80,2
Heptacl	0,075	0,150	0,068	0,129	0,01	77,7	79,1
Aldrin	0,075	0,150	0,060	0,128	ND	80,4	85,3
Hept Epx A	0,075	0,150	0,076	0,180	ND	101,3	120,0
Hept Epx B	0,075	0,150	0,064	0,171	ND	84,9	114,3
DDE	0,300	0,600	0,233	0,490	ND	77,7	81,7
Clordano	0,187	0,375	0,160	0,310	ND	85,7	82,7
DDD	0,375	0,750	0,325	0,600	ND	86,6	80,0
DDT	0,375	0,750	0,398	0,560	ND	106,2	74,7
MTX	0,375	0,750	0,404	0,850	ND	107,8	113,3

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; M_A : muestra de vinaza fortificada con PO a baja concentración; M_B : Muestra de vinaza fortificada con PO a concentración alta. V_{MA} : valor medio de los resultados obtenidos para 3 réplicas, medidas por GC, de la muestra M_A . V_{MB} : valor medio de 3 réplicas de la muestra M_B ; Blanco: se refiere a blanco de muestra de vinaza; Prom Rec % A: Valor Promedio de recuperación porcentual de M_A . Prom Rec % B: Valor Promedio de Recuperación % de M_B .

En la Tabla 3.10 se presentan los resultados de los ensayos de recuperación, los valores medios de concentración de PO de las muestras fortificadas A y B, y de la muestra de vinaza (sin fortificar) considerada blanco de muestra, todas analizadas por triplicado.

Para evaluar los resultados de los ensayos de Recuperación (Duffau y col., 2010), se llevó a cabo la prueba de significancia de Student, por lo que se calculó el valor del estadígrafo t, con la siguiente ecuación:

$$t_{calc} = \frac{|(100 - \%R)|}{S \cdot \sqrt{n}} \quad \text{Ecuación 3.4}$$

Donde:

t_{calc} = t observado o calculado

R = Recuperación

S = Desviación estándar de las lecturas del porcentaje de recuperación

n = N° de lecturas o valores observados,

Se comparó con el valor crítico de t, extraído de tablas, para (n-1) grados de libertad y el porcentaje de seguridad deseado (1- α) para un error α de 0,05, es decir con un 95 % de confianza. Si el valor de t calculado es menor que el t crítico, se aceptan los valores de recuperación obtenidos ya que no existen diferencias significativas.

En la Tabla 3.11 se muestran los resultados obtenidos para ambas muestras. Se calculó el Valor Promedio de Recuperación, Desviación Estándar, Coeficiente de variación porcentual (CV%) y el estadígrafo t.

El CV% en la mayoría de los casos resultó menor al 10%, excepto en algunos plaguicidas como heptacloro, con un valor de alrededor de 12%; este valor se consideró aceptable, con observación en los próximos ensayos de recuperación.

En la prueba de significancia (Test de Student), el cálculo del estadígrafo t, resultó menor que el t crítico (4,303) para n-1 grados de libertad y 95 % de confianza (p=0,05). Esto significa que los valores de recuperación obtenidos, en los dos niveles de concentración no son estadísticamente diferentes de los valores teóricos.

Tabla 3.11- Prueba de significancia para verificar los ensayos de recuperación de PO en muestras de vinazas adicionadas con plaguicidas organoclorados

	Muestra A				Muestra B			
	V _M de Recup %	S	CV %	t _{calc}	V _M de Recup %	S	CV %	t _{calc}
Lindano	83,5	7,07	8,5	1,35	80,2	6,2	7,8	1,83
Heptacl	77,7	9,11	11,7	1,42	79,1	9,1	11,5	1,33
Aldrin	80,4	8,96	11,1	1,26	85,3	9,3	10,9	0,91
Hept Epx A	101,3	5,13	5,1	0,15	120,0	6,4	5,3	1,80
Hept Epx B	84,9	5,1	6,0	1,71	114,3	7,1	6,2	1,16
DDE	77,7	4,2	5,4	3,07	81,7	5,6	6,9	1,89
Clordano	85,7	7,6	8,9	1,08	82,7	8,2	9,9	1,22
DDD	86,6	6,5	7,5	1,19	80,0	5,4	6,8	2,14
DDT	106,2	4,41	4,2	0,81	74,7	6,1	8,2	2,39
MTX	107,8	6,01	5,6	0,75	113,3	9,3	8,2	0,83

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; V_M: Valor medio o promedio de las mediciones; S: desviación estándar de % de recuperación; CV%: coeficiente de variación porcentual de recuperación; t_{calc}.: estadígrafo de Student calculado.

Los valores promedios de Recuperación estuvieron entre 77% (para Heptacloro) y 108% (Metoxicloro) en el caso de concentraciones bajas; y entre 79% (Heptacloro) y 120% (Heptacloro Epóxido A) para la concentración más elevada.

Este estudio puede usarse para fijar primeros criterios de rangos de Recuperación % aceptables para muestras de control de calidad que se procesará junto con muestras reales. Durante el desarrollo del trabajo de investigación se incorporaran resultados de recuperación de muestras de control hasta que n (N° de muestras) sea suficiente para asegurar estadísticamente que el método está controlado, mediante la construcción de Gráficos o Cartas de Control. Una primera aproximación permitió admitir los rangos de recuperación aceptables, a partir de: Valor Medio \pm 2.S (APHA, 2005).

En la Figura 3.7, se muestra la gráfica de rangos de variación de Recuperación % para cada plaguicida, para tener en cuenta en el control de calidad de la determinación de

Plaguicidas Organoclorados en vinazas. Así, para lindano son aceptables Recuperación % entre 78 y 95%; para heptacloro entre 60 y 95%; aldrín entre 64 y 100%; heptacloro epóxido A entre 100 y 120 %; y así sucesivamente, como indica el gráfico.

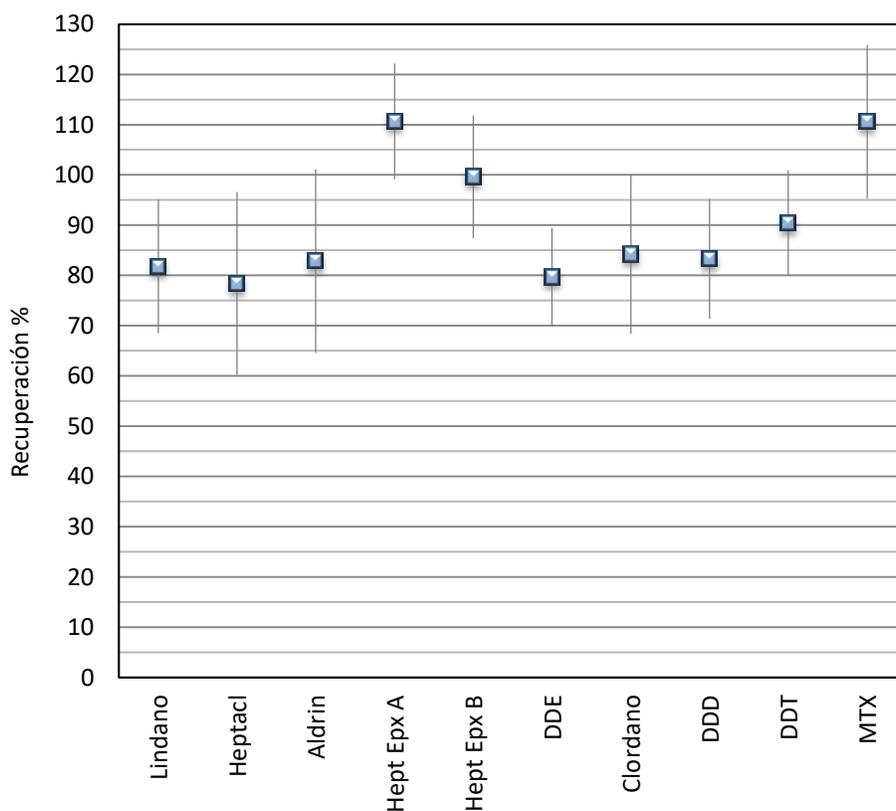


Figura 3.7- Promedio de Recuperación % de cada plaguicida del estudio en muestra de vinaza y una primera aproximación de valor máximo y mínimo aceptables. Nota: HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro

3.2 Validación del Método de Determinación de DQO

El método de referencia empleado es el de reflujo cerrado, Standard Methods 5220D (APHA, 2005). Muestras y patrones de procesaron según se indicó en el ítem 2.2.

Volumen de muestra, 2,5 mL

Volumen de reactivo de digestión, 1,5 mL

Volumen de reactivo de ácido sulfúrico, 3,5 mL

3.2.1 Calibración

La solución patrón de biftalato de potasio presenta una DQO teórica de 1400 mgO₂/L.

Rango 1: hasta 200 ppm

Se prepararon 500 mL de una solución intermedia de patrón de biftalato de potasio de 280 mg/L, a partir de la solución patrón de 1400 mg/L (ver ítem 2.2.2). La solución intermedia se usó para elaborar 4 soluciones de calibración (Tabla 3.12), que se procesaron como muestras, juntamente con un blanco de agua destilada. Se graficó absorbancia (a 420 nm) en función de concentración de DQO (Figura 3.8).

Tabla 3.12- Patrones de biftalato de potasio para calibración de DQO en 4 puntos de concentración y absorbancia leída a 420 nm. Rango 1

No. de estándar	Volumen de solución intermedia (mL)	DQO(mg/L)	ABSORBANCIA (420 nm)
0	0	0	0,7233
1	6,3	35	0,6262
2	8,9	50	0,5935
3	17,9	100	0,4466
4	35,7	200	0,1464

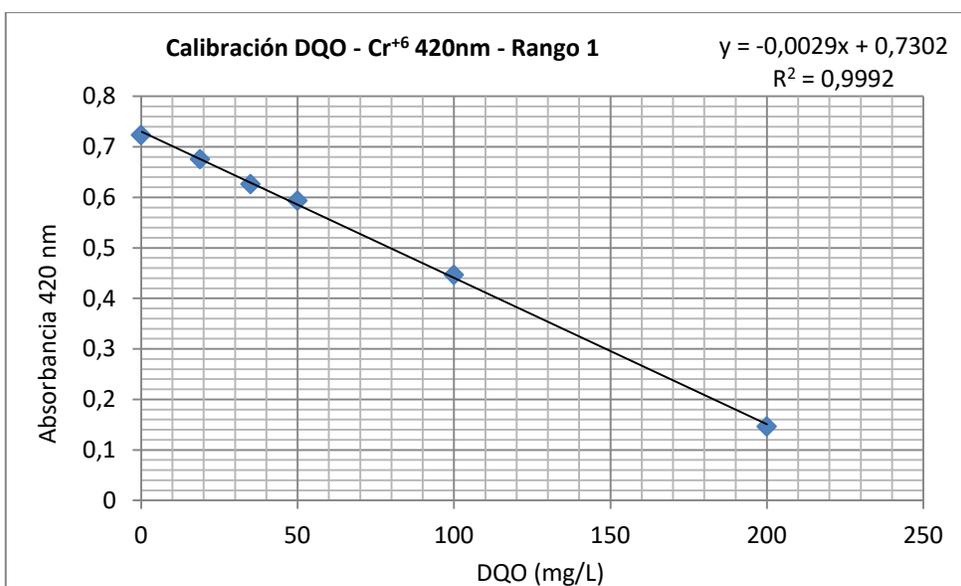


Figura 3.8- Curva de calibración para determinación de DQO, Rango 1.

Rango 2: 200-1400 ppm

A partir de la solución patrón de biftalato de potasio (1400 mg/L), se prepararon 7 soluciones de calibración. Se procesaron como las muestras y se leyó absorbancia en el espectrofotómetro, a 600 nm. Los resultados se muestran en la Tabla 3.13. En la Figura 3.9 se grafica la curva de calibración para rangos altos de DQO.

Tabla 3.13: patrones de biftalato de potasio para curva de calibración de DQO en 4 puntos de concentración, y absorbancia leída a 600 nm. Rango 2.

No. de estándar	Volumen de patrón de $C_8H_5KO_4$ (mL)	DQO (mg/L)	ABSORBANCIA (600 nm)
0	0	0	0,0015
1	3,6	100	0,0280
2	7,1	200	0,0510
3	14,3	400	0,1130
4	21,4	600	0,1610
5	35,7	1000	0,2600
6	42,9	1200	0,3120
7	50,0	1400	0,3612

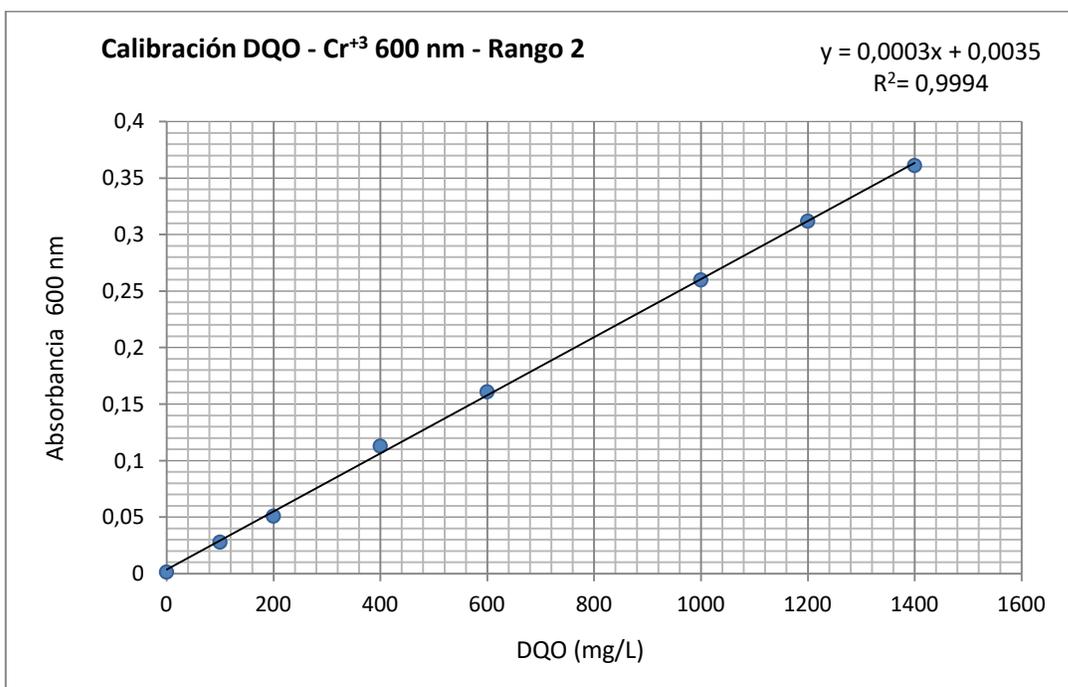


Figura 3.9- Curva de calibración para determinación de DQO. Rango 2

3.2.2 Determinación de Límite de Detección y Límite de Cuantificación

Se midieron 10 réplicas de un estándar de concentración teórica de DQO de 20 mg/L, preparados independientemente, medidos una vez cada uno, en condiciones de repetibilidad, Con los datos se calcula: el promedio, desviación estándar (S), el coeficiente de variación (% CV). Los límites de detección y cuantificación que se calculan con la desviación estándar, según las ecuaciones 2.9 y 2.10. Los resultados se observan en la Tabla 3.14.

Tabla 3.14- Cálculo de Límite de Detección y Límite de Cuantificación del método espectrofotométrico para determinación de DQO

N° Ensayo	Absorbancia 420 nm	DQO (mg/L)
1	0,6679	21,56
2	0,6742	19,39
3	0,6661	22,18
4	0,6667	21,98
5	0,6755	18,94
6	0,6618	23,67
7	0,6687	21,29
8	0,6731	19,77
9	0,6729	19,84
10	0,6652	22,49
Valor Medio		21,11 mg/L
Desviación Estándar (S)		1,55 mg/L
%CV		6,3 %
Límite de Detección: 3 x S		4,6 mg/L
Límite de Cuantificación: 10 x S		15,5 mg/L

%CV: coeficiente de variación porcentual.

3.2.3 Linealidad

Se observa que las curvas de calibración para ambos rangos presentan valores de coeficiente de correlación (r) de 0,9997 y 0,9996 respectivamente por lo que se puede afirmar que DQO se comporta en forma lineal en todo el rango de trabajo.

3.2.4 Exactitud y Precisión

Exactitud se expresa en términos de sesgo y precisión intermedia (JCGM, 2008). En este caso, dado que no se dispone de un material de referencia certificado (MRC), se usó un patrón de referencia preparado, considerando la concentración teórica. Para determinación de exactitud se realizaron 10 mediciones de cada estándar, dos niveles de concentración para el Rango 1 y en tres niveles para el Rango 2.

En la Tabla 3.15 se muestra el cálculo de Sesgo del método, Coeficiente de variación porcentual (CV%). También se muestra el resultado de la prueba de significancia, con el cálculo de t de Student, para demostrar si existen diferencias significativas entre el valor medio y el teórico.

Los valores calculados de Sesgo, en ambos rangos de trabajo, son aceptables, dado que con el test de Student se comprobó que no existen diferencias significativas entre el valor medio y el valor teórico, ya que el estadígrafo t calculado fue siempre menor que el valor crítico de t , para grado de libertad igual a 9, con un 95% de confianza. La precisión obtenida también resultó aceptable, avalado por Coeficientes de Variación Porcentual, siempre menor al 10%. Estos ensayos se realizaron en condiciones de precisión intermedia.

Para completar el estudio de precisión, y dado que se demostró aceptable la misma en condiciones de precisión intermedia, se procedió al cálculo de Precisión de Repetibilidad. Para esto se realizaron ensayos de 7 réplicas de cada patrón, 2 del rango 1 y 3 del Rango 2, en las mismas condiciones, mismo operador, equipo, a partir de soluciones preparadas independientemente. Se calcula el CV% para evaluar Precisión de Repetibilidad. Los resultados se muestran en la Tabla 3.16.

Tabla: 3.15- Ensayos para determinación de Exactitud en términos de Sesgo y CV%, con test de Student como prueba de significancia

N° de Ensayo	Rango 1				Rango 2					
	Estándar Bajo 20 mg/L		Estándar Alto 150 mg/L		Estándar Bajo 250 mg/L		Estándar Medio 600 mg/L		Estándar Alto 1000 mg/L	
	Absorb 420 nm	DQO mg/L	Absorb 420nm	DQO mg/L	Absorb 600nm	DQO mg/L	Absorb 600nm	DQO mg/L	Absorb 600nm	DQO mg/L
1	0,6679	21,56	0,3031	147,5	0,0658	242,35	0,1591	605,3	0,2591	994,5
2	0,6742	19,39	0,2518	165,2	0,0703	259,87	0,1496	568,4	0,2768	1063,2
3	0,6661	22,18	0,2796	155,6	0,0664	244,90	0,1654	629,6	0,2589	993,3
4	0,6667	21,98	0,2980	149,2	0,0653	240,57	0,1631	620,9	0,2827	1085,9
5	0,6755	18,94	0,2318	172,1	0,0718	265,59	0,1633	621,8	0,2566	984,7
6	0,6618	23,67	0,3099	145,1	0,0667	245,81	0,1536	583,9	0,2574	987,6
7	0,6687	21,29	0,3176	142,5	0,0703	259,85	0,1493	567,2	0,2583	990,9
8	0,6731	19,77	0,2852	153,6	0,0724	268,04	0,1675	637,8	0,2735	1050,2
9	0,6729	19,84	0,2469	166,9	0,0745	276,10	0,1527	580,2	0,2809	1079,1
10	0,6652	22,49	0,3047	146,9	0,0721	266,79	0,1684	641,3	0,2282	874,0
VM	21,1		154,5		257,0		605,6		1010,3	
S	1,55		10,25		12,6		28,59		62,8	
CV%	7,35		6,64		4,90		4,72		6,2	
Sesgo	1,1		4,5		7,0		5,6		10,3	
t _{calc}	0,99		0,54		0,53		0,18		0,19	
t_{crítico} = 2,26	t_{cal} < t_{crítico}				t_{cal} < t_{crítico}					

Abs: Absorbancia; DQO: Demanda Química de Oxígeno; VM: valor medio; S: Desviación estándar; CV%: Coeficiente de variación porcentual.

Según el método de referencia SM5220D (APHA, 2005), 5 laboratorios diferentes analizaron 48 muestras sintéticas de hidrógeno ftalato potásico dando un valor medio de DQO de 193 mg O₂/L con una desviación estándar de 17 mg O₂/L y coeficiente de variación 8,7%. En el mismo rango de concentración se obtuvo un coeficiente de variación porcentual de 4,9 % para DQO promedio de 150 mg/L, mientras que para 250 mg/L, el CV% fue de 1,9 %. En general la Precisión de Repetibilidad se considera aceptable, dado que en todo el rango de trabajo el Coeficiente de Variación Porcentual resultó menor al 10%.

Es decir, los resultados obtenidos al reproducir el método normalizado de DQO fueron menores que los informados en dicho método, por lo que se puede concluir que el método está controlado y se puede reproducir con buen desempeño obteniendo resultados validados.

Tabla 3.16- Ensayos para estudio de Precisión de Repetibilidad. Método de determinación de DQO por método colorimétrico de reflujo cerrado.

N° de Ensayo	Rango 1				Rango 2					
	Estándar bajo 20 mg/L		Estándar alto 150 mg/L		Estándar bajo 250 mg/L		Estándar medio 600 mg/L		Estándar alto 1000 mg/L	
	Abs 420nm	DQO mg/L	Abs 420nm	DQO mg/L	Abs 600nm	DQO mg/L	Abs 600nm	DQO mg/L	Abs 600nm	DQO mg/L
1	0,6756	18,86	0,3031	147,5	0,06708	247,35	0,15654	595,3	0,25917	994,5
2	0,6717	20,21	0,2926	151,1	0,07004	258,87	0,15734	598,4	0,27942	1073,2
3	0,6781	17,98	0,2811	155,1	0,06650	245,09	0,16022	609,6	0,25911	994,3
4	0,6674	21,7	0,2986	149,0	0,06740	248,57	0,15927	605,9	0,26982	1035,9
5	0,6601	23,2	0,2347	171,1	0,06920	255,59	0,16096	612,5	0,25922	994,7
6	0,6743	19,3	0,3013	148,1	0,06669	245,81	0,15618	593,9	0,25997	997,6
7	0,663	22,3	0,3002	148,5	0,06773	249,85	0,15446	587,2	0,25877	992,9
8	0,6775	18,2	0,2881	152,6	0,06726	248,04	0,15975	607,8	0,26321	1010,2
9	0,665	22,5	0,2614	161,9	0,06933	256,10	0,15523	590,2	0,26807	1029,1
10	0,6671	21,8	0,2989	148,9	0,06679	246,23	0,15577	592,3	0,23078	884,1
VM	20,6		153,4		250,2		599,3		1000,6	
S	1,92		7,59		4,89		8,94		48,52	
CV%	9,3		4,9		1,9		1,5		4,8	

Abs: Absorbancia; DQO: Demanda Química de Oxígeno; VM: valor medio; S: Desviación estándar; CV%: Coeficiente de variación porcentual.

3. 3 Conclusiones Parciales

- Se validó un método cromatográfico para la determinación de 10 plaguicidas organoclorados pertenecientes a la Docena Sucia, en muestras de vinazas, evaluando los parámetros Límite de Detección, Límite de Cuantificación, Linealidad, Exactitud y Precisión, en el sistema cromatográfico, desde la inyección de los extractos. Para la validación del método se realizaron 65 corridas cromatográficas. Los parámetros de desempeño calculados dieron resultados satisfactorios de acuerdo a los criterios de aceptación fijados. También fueron aceptables los ensayos de recuperación por lo que se pueden extrapolar los resultados de la validación, incorporando los pasos de procesamiento de las muestras, siempre que se acompañe con una muestra de control y se determine la Recuperación Porcentual. Así se puede usar el método para matrices complejas, como vinazas, o para otras matrices ambientales y obtener resultados confiables de manera rápida y con menores costos. Los parámetros de validación se resumen en la Tabla 3.17, donde se hicieron las aproximaciones válidas para evaluar el método al aplicar sobre muestras reales.
- Se llevó a cabo una primera validación de la técnica para determinación de DQO por el método colorimétrico, de reflujo cerrado, siendo los parámetros de validación los siguientes:
 - Límite de Detección: 5 mg/L
 - Límite de Cuantificación: 15 mg/l
 - Rango Lineal: Rango 1: 15-200 mg/L Rango 2: 200-1400 mg/L
 - Exactitud: Sesgo, en el rango 1, hasta 5 mg/L, con CV% de hasta 7,5% y en el Rango 2, hasta 10 mg/L, con CV% hasta 6,5 %. Se demostró que no existe diferencia significativa entre los valores medios y los valores teóricos.
 - Precisión: En el Rango 1, CV% hasta 9,3 % y en Rango 2 hasta 6,2 %. El método demostró ser preciso en el rango de trabajo.

Tabla 3.17- Resumen de parámetros de Validación de Método de Determinación de Plaguicidas Organoclorados en vinaza, por Cromatografía Gaseosa

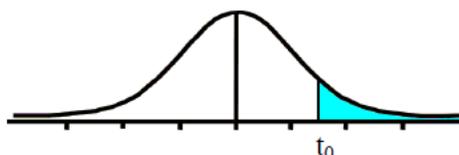
Plaguicida Organoclorado	Matriz	LD (µg/L)	LQ (µg/L)	Rango Lineal (µg/L)	Exactitud y Precisión	Criterio Recup %
Lindano	Ext	3	9	9-250	CV% < 10% Sesgo Acept	69% – 95%
	Vin	0,04	0,14	0,14-3,75		
Heptacl	Ext	1	3	3-50	CV% < 10% Sesgo Acept	60%-96%
	Vin	0,01	0,04	0,04-0,75		
Aldrin	Ext	1	3	3-50	CV% < 6% Sesgo Acept	65%-100%
	Vin	0,02	0,06	0,06-0,75		
HeptEpx A	Ext	1	3	3-50	CV% < 9% Sesgo Acept	98% -120%
	Vin	0,01	0,04	0,04-0,75		
HeptEpx B	Ext	0,6	2	2-50	CV% < 8% Sesgo Acept	88%-110%
	Vin	0,01	0,03	0,03-0,75		
DDE	Ext	3	12	12-200	CV% < 10% Sesgo Acept	70%-90%
	Vin	0,05	0,18	0,18-3		
Clordano	Ext	4	15	15-125	CV% < 10% Sesgo Acept	68%-100%
	Vin	0,07	0,23	0,23-1,85		
DDD	Ext	2	6	6-250	CV% < 6% Sesgo Acept	72%-94%
	Vin	0,03	0,09	0,09-3,75		
DDT	Ext	2	8	8-250	CV% < 6% Sesgo Acept	80%-100%
	Vin	0,04	0,12	0,12-3,75		
MTX	Ext	4	15	15-250	CV% < 9% Sesgo Acept	95%-125%
	Vin	0,07	0,23	0,23-3,75		

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; Ext: extracto; Vin: vinaza; LD: Límite de Detección; LQ: Límite de Cuantificación; CV%: Coeficiente de Variación Porcentual (En algunos textos: Desviación Estándar Relativa); Recup%: Recuperación Porcentual.

ANEXO 1- CAPÍTULO 3

Tabla de t-Student, empleadas para las pruebas de significancia en la comprobación del sesgo,

Tabla t-Student



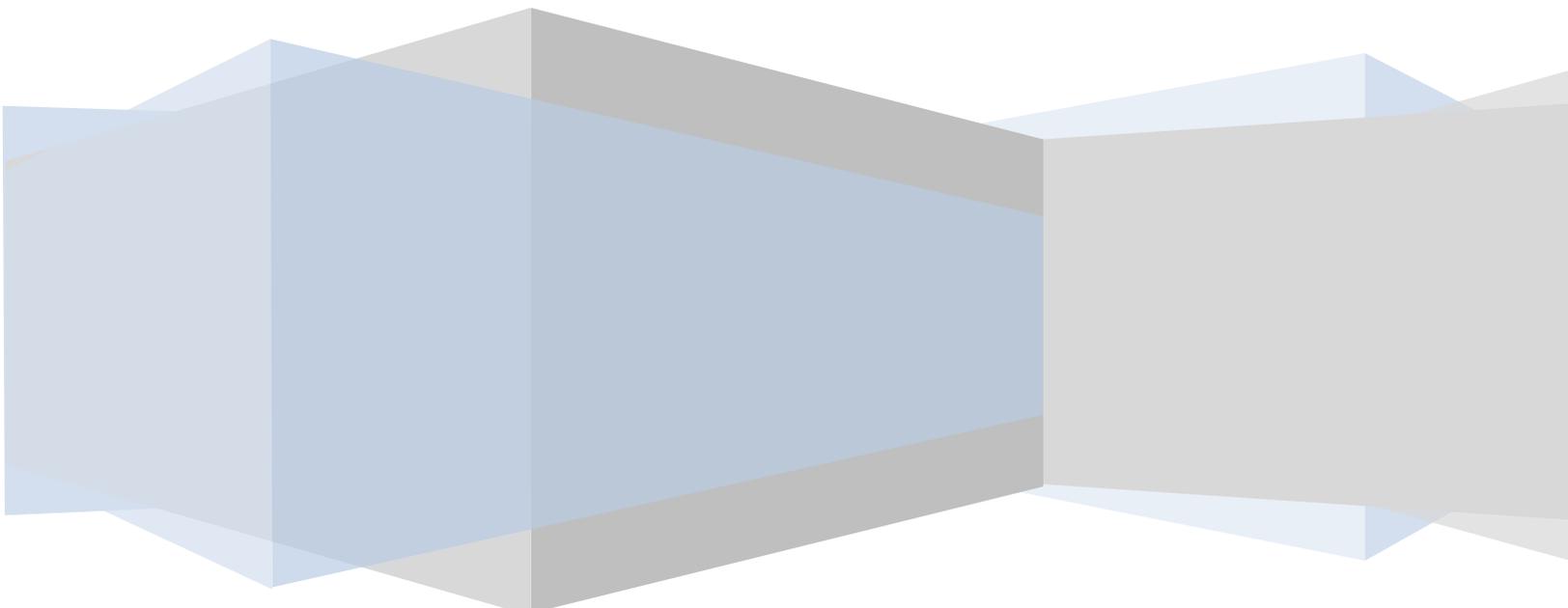
Grados de libertad	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609

Fuente:

http://cms.dm.uba.ar/academico/materias/1ercuat2015/probabilidades_y_estadistica_C/ta_bla_tstudent.pdf



Capítulo 4



CAPITULO 4

DETERMINACIÓN DE PRESENCIA DE PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN VINAZAS DE INGENIOS TUCUMANOS

4.1 Identificación de Muestras y caracterización físico-química de vinazas

Las muestras de vinazas fueron suministradas por el Departamento de Industrias Azucareras de la Universidad Nacional de Tucumán. Se tomaron muestras de vinaza de 4 ingenios con destilerías ubicadas en el centro y sur-este de la provincia de Tucumán. Se usaron frascos de vidrio de boca ancha, color caramelo, de 500 mL. Además, en una de las destilerías (identificada con la letra L) se tomaron muestras de fracciones provenientes del sistema de evaporación. La identificación de las muestras se indica en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1- Descripción de las muestras de vinaza analizadas en el estudio

Muestra	°Bx	Descripción de las muestras analizadas
L1	10,0	Muestra de vinaza de la destilería L, salida de la columna de destilación
L2	30,7	Muestra de vinaza de la destilería L, salida del primer evaporador
L3	36,0	Muestra de vinaza de la destilería L, salida del segundo evaporador
L4	48,0	Muestra de vinaza de la destilería L, salida del tercer evaporador
L5	62,0	Muestra de vinaza de la destilería L, salida del cuarto evaporador
F1	7,4	Muestra de vinaza de la destilería F, salida de la columna de destilación
C1	6,2	Muestra de vinaza de la destilería C
S1	11,0	Muestra de vinaza de la destilería S

°Bx: grados Brix, indica la masa de sólidos disueltos (materia seca) por 100 g de solución.

El contenido de sólidos disueltos se midió mediante la determinación de °Brix, para lo que se utilizó un refractómetro de Abbé en el que se puede leer en una doble escala

°Brix o índice de refracción, a 298 K. Los grados Brix son una medida de materia seca, generalmente azúcares, disueltas en 100 gramos de líquido.

En el laboratorio de Química General del Dpto de Ingeniería de Procesos y Gestión Industrial (FACET-UNT), se determinaron parámetros físico-químicos sobre las muestras identificadas con el subíndice 1 que provienen de la salida de la columna de destilación, según los métodos indicados en el Capítulo 2. Las determinaciones de DBO y de metales se realizaron en los laboratorios de la Sección Química del Área Industrial de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). Los resultados se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2- Caracterización físico-química de las vinazas empleadas en el estudio

Parámetro	Método	Unidades	L ₁	F ₁	C ₁	S ₁
pH	SM4500H-B	u. de pH	5,1	5,5	6,1	5,2
Conductividad	SM2510	mS/cm	42	44	46	28,7
DQO	SM5220-D	mg/L	82.951	76.224	67.414	90.800
DBO ₅	SM5210B	mg/L	37.224	22.424	35.024	40.600
S. T.	SM2540-E	g/100 mL	9,8	7,1	6,0	10,8
S. S. (2 hr)	SM2540-F	mL/L	67	56	45	74
Potasio	SM3500K-D	g/L	10	16	9	8,6
Cobre	SM3500Cu-B	mg/L	3,9	3,2	4,1	4,4
Zinc	SM3500Zn-B	mg/L	2,7	1,8	2,9	3,0
Hierro	SM3500Fe-B	mg/L	80	69	56	78
Índice de Biodegradabilidad			0,45	0,29	0,52	0,45

S.T.: Sólidos Totales; S.S.: Sólidos Sedimentables; DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno; DQO: Demanda Química de Oxígeno; S.M.: Standard Method (APHA, 2005)

Se calculó el Índice de Biodegradabilidad con la ecuación 2.8. De acuerdo al criterio de Biodegradabilidad (Tabla 2.8), se clasificó a 3 de las vinazas analizadas (L₁, S₁ y C₁) como Poco Biodegradables ya que el índice se encontró entre 0,3 y 0,7; mientras que la vinaza F1 se clasificó como No Biodegradable ya que el índice fue menor a 0,3.

Una relación DBO/DQO alrededor de 0,45, significa que contiene aproximadamente un 45 % de materia orgánica biodegradable y es un efluente en el que podría aplicarse un tratamiento biológico, pero el elevado contenido de sales resulta desfavorable ya que podría retardar el inicio del tratamiento biológico. La vinaza generada por F1, presenta un Índice de biodegradabilidad de 0,29, lo que significa que contiene elevada proporción de materia orgánica no biodegradable. Zúñiga y Gandini (2013) determinaron el Índice de Biodegradabilidad de vinazas sintéticas y vinazas de un bioreactor, indicando que la relación DBO5/DQO presentó diferencias dependiendo de la muestra y del proceso de fermentación, pero en términos generales, el método adecuado para el tratamiento de vinazas sería el químico debido al elevado contenido de sustancias no biodegradables..

Según Sánchez y García, (2018) en efluentes con bajo índice de biodegradabilidad, es necesario aplicar un tratamiento químico, para aumentar el índice de Biodegradabilidad, previo al tratamiento biológico.

En general las vinazas presentaron características ácidas, esto se debe a la acidificación del mosto con ácido sulfúrico y la presencia de ácidos orgánicos. Se observaron valores altos de conductividad eléctrica, lo que indica que las vinazas tienen altos contenidos de sales solubles, alta mineralización con valores de conductividad eléctrica hasta 46 mS/cm. La mayor parte de los sólidos totales corresponden a los sólidos totales volátiles que tienen naturaleza orgánica. Los sólidos totales fijos corresponden a compuestos inorgánicos presentes en la biomasa. Estos factores unidos a la acidez y la temperatura a la cual se descargan las vinazas de destilerías, provocan su alto poder corrosivo (Ibarra y col., 2019)

Potasio es el metal en mayor proporción, con valores de hasta 10 g/L, en tanto hierro presenta valores considerables de hasta 80 mg/L. Se observa que estos valores se encuentran dentro del rango de los valores típicos presentados en la revisión bibliográfica (Zúñiga y Gandini, 2013).

En la Tabla 4.3 se comparan los valores promedios de las vinazas analizadas y los valores máximos permitidos según la Resol N° 30 de de Secretaría de Medioambiente de la provincia, para descarga de efluentes en suelo y en cuerpos de agua superficial (naturales o artificiales). La deposición para absorción en suelo comprende pozos absorbentes, lagunas y riego.

Tabla 4.3: Valores promedios de parámetros físico-químicos analizados en vinaza y valores límites permitidos por la legislación provincial (Resol N° 30, SEMA, 2009).

Parámetro (unidad)	Unidad	Promedio en vinazas	Descarga en		Consideraciones
			agua	suelo	
pH		5,5	≥ 6 y ≤ 9	≥ 6 y ≤ 9	En algunas industrias se exigirá control continuo, debiendo indicar tipo de tratamiento
Conductividad	$\mu\text{S/cm}$	40200	≤ 1000	No Establecido	En algunos cuerpos receptores se permitirá valor mayor por tiempo limitado, siempre que no cause daños a terceros. Podrá exigirse control continuo
DQO	mg/L	79347	≤ 250	≤ 500	En algunos desagües y drenajes se permitirá expresamente un valor mayor por tiempo limitado, siempre que no se causen problemas a terceros o cuerpos receptores. Dicho parámetro podrá ser más estricto si pudiera haber influencia en toma de agua potable.
DBO ₅	mg/L	33818	≤ 50	≤ 250	Idem anterior
S. S. (2 días)	mL/L	60,5	≤ 1	≤ 5	
Cobre	mg/L	3,9	$\leq 0,3$	Ausente	
Zinc	mg/L	2,6	≤ 1	≤ 1	
Hierro	mg/L	70,8	≤ 2	$\leq 0,1$	

DQO: Demanda Química de Oxígeno; DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno en 5 días; S.S.: Sólidos Sedimentables a los 2 días.

4.2 Detección de PO en muestras de vinazas crudas

Se preparó la Muestra B (Tabla 3.9) por adición de 150 μL de solución intermedia de PO en 100 mL de vinaza, para usar como muestra de control para calcular la Recuperación %. La muestra de control se procesó en forma conjunta con las muestras,

con extracción líquido-líquido y los extractos se analizaron con el método validado para determinación de PO. En la Tabla 4.4 se muestran los resultados obtenidos.

Se observa presencia de por lo menos un plaguicida organoclorado, en las muestras que corresponden al residuo de la columna de destilación primaria. Lindano, heptacloro, heptacloro epóxido A y metoxicloro se encuentran en cantidades traza, del orden de ppb.

Tabla 4.4- Plaguicidas organoclorados en vinazas crudas provenientes de 4 destilerías ubicadas en la provincia de Tucumán. Método cromatográfico con extracción líquido-líquido.

	MC µg/L	Recup %	L ₁ µg/L	F ₁ µg/L	C ₁ µg/L	S ₁ µg/L
Lindano	0,63	84	0,05	0,08	nd	0,08
Heptacl	0,12	80	0,17	0,11	0,07	0,01
Aldrin	0,11	73	nd	nd	nd	nd
Hept Epx A	0,18	120	0,07	nd	nd	nd
Hept Epx B	0,19	126	nd	nd	nd	nd
DDE	0,49	82	nd	nd	nd	nd
Clordano	0,31	83	nd	nd	nd	nd
DDD	0,60	80	nd	nd	nd	nd
DDT	0,61	80	nd	nd	nd	nd
MTX	0,85	113	nd	nd	nd	0,16
Plaguicidas Organoclorados Totales			0,29	0,19	0,07	0,25

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; nd: no detectado; MC: muestra de control (muestra de vinaza envenenada con PO, para controlar el procesamiento de muestras con ensayos de recuperación); Recup %: Recuperación %

Plaguicidas como DDT y sus isómeros, clordano y aldrín no se detectaron en las vinazas analizadas con el método empleado. Si bien las concentraciones detectadas son muy bajas, esta cantidad se hace importante al considerar el volumen de vinaza que se genera en el proceso de obtención de bioetanol por fermentación.

No se encontraron datos bibliográficos respecto de la presencia de compuestos orgánicos persistentes en vinazas, en la mayoría de los estudios se reporta el carácter contaminante del efluente por el volumen que se genera, el elevado contenido de materia orgánica, por el pH ácido, elevado contenido de sólidos disueltos, de potasio y calcio, etc.

Según la revisión bibliográfica, en vinazas, los compuestos orgánicos identificados en mayor concentración fueron glicerol, el ácido láctico y el sorbitol. También se pueden distinguir compuestos volátiles tales como benzaldehído, ácido benzoico, etil palmitato, 2 acetilpirrol, alcohol 2-feniletílico, alcohol furfurílico, ácido acético, ácido fórmico, 1-3 butanodiol, acetona y etanol, entre otros (Mohana y col., 2009).

El color se debe a la presencia de varios compuestos como melanoidinas, fenoles (ácido tánico y húmico), caramelos y derivados furánicos. Las melanoidinas se forman por las reacciones de oscurecimiento no enzimático del grupo carbonilo de los azúcares y el amino de los aminoácidos y proteínas; y pueden llegar a constituir el 2% de las vinazas, conocida como reacción de Maillard (Salgado y col., 2010). La presencia de fenoles en la vinaza se debe a la degradación parcial de estructuras lignocelulósicas que provienen de la porción residual de las fibras que permanecen en el jugo de caña luego de la extracción del mismo (Syaichurrozi y col., 2013). Fagier y col (2018) analizaron vinazas provenientes de destilerías de Sudán y reportaron como resultado de los análisis con espectroscopía infrarojo (IR) y cromatografía gaseosa con espectrómetro de masas (GCMS), la identificación de estructuras que por comparación con la biblioteca del software coincidieron en un 75% con compuestos fenólicos y ácidos carboxílicos, tales como ácido ciclohexano metanoico, 4-etil 3-metoxifenol, 2-fenil etanol y más de 19 compuestos similares. En ningún caso se buscó la presencia de plaguicidas organoclorados.

Si bien ya están en desuso, los PO son sustancias persistentes y lipofílicas que pueden ser retenidas en la fracción orgánica del suelo. Se sabe que los PO son absorbidos desde el suelo por las raíces de los vegetales y puede llegar a los tejidos parenquimáticos o puede alcanzar los sistemas vasculares, hasta las hojas ya desarrolladas. Así, estudios realizados por Kovacs y col (2015), sugirieron que la presencia de PO en papas se debe a que fueron absorbidos desde el suelo, dado que existió regresión lineal entre las concentraciones de plaguicidas organoclorados detectados en papas y en el suelo donde se cultivaron. También se informaron presencia de DDE, lindano, aldrín y heptacloro en hojas de lechuga y espinaca, en diferentes regiones de México, donde estos plaguicidas ya no se aplican, pero existe un efecto de

residualidad en las zonas de producción probablemente en suelos, donde gran parte de estos fueron aplicados y retenidos (Gutiérrez y col., 2018).

La presencia de lindano, heptacloro y metoxicloro en vinazas significa que resistieron el proceso de fermentación alcohólica. Un estudio en China investigó el comportamiento de los residuos de PO en la leche durante la producción de yogur y queso. Los resultados mostraron que la fermentación redujo la concentración residual de lindano y clordano en el yogur, debido a la actividad del iniciador. En cambio en el proceso de elaboración del queso aumentó la concentración residual de PO en comparación con la leche cruda, hasta cuatro veces (Duan y col., 2018). En otro caso, se investigaron los residuos de plaguicidas en muestras de té en el mercado de Tokio. Se detectaron veintidós tipos de pesticidas, incluidos organofosforados, organoclorados y piretroides. Los residuos de plaguicidas tendían a disminuir mediante el proceso de fermentación, excepto los pesticidas organoclorados, que mostraron ser estables, por lo que aún estuvieron presentes en tés fermentados (Kobayash y col., 2013). Panasyuk y col (2019) comprobaron que las levaduras industriales empleadas en los procesos de fermentación alcohólica de mostos de uva o manzana para producción de vinos consumen pesticidas organoclorados como fuente de carbono si la activación de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*, K-17) se hace mediante el uso de un aditivo orgánico que contiene un derivado de selenocisteína.

Considerando las características físicas y químicas de los PO, que en algunos países en desarrollo aún sólo están restringidos), y que se ha detectado la presencia de éstos compuestos en el ambiente regional, es de esperar que los PO se hayan detectado en las vinazas, en niveles traza.

En la provincia de Tucumán no se encontraron datos o registros de investigaciones de presencia de plaguicidas organoclorados en efluentes industriales, a pesar que existe una normativa vigente (Resol SEMA N° 30) donde se establecen los valores guías de parámetros a los que deben ajustarse los líquidos residuales, y fijando como parámetro especial los plaguicidas organoclorados totales, en cantidades menor o igual a 0,050 mg/L para ser volcados en cuerpos de aguas superficiales, y ausencia, de éstos compuestos en efluentes que se disponen para absorción en suelos, pozos absorbentes, lagunas, riego, etc.

En Brasil se hizo una revisión sobre contaminantes emergentes, entre ellos los Plaguicidas Organoclorados son los que se encontraron con mayor frecuencia en los

sedimentos de las regiones agrícolas. Starling y col (2019) sostienen que esta realidad puede trasladarse a otros países de América Latina debido a las similitudes relacionadas con la infraestructura de saneamiento básico y el contexto económico y social, donde la mayoría de las instalaciones de tratamiento de aguas residuales incluyen hasta la etapa secundaria y no se controlan los niveles de contaminantes persistentes. Por lo que advierten que urge mejorar la infraestructura de saneamiento y la implementación de un tratamiento terciario para evitar la acumulación de éstos compuestos persistentes en el ambiente.

4.3 Análisis de PO en vinazas concentradas provenientes de una destilería con sistema de evaporación múltiple efecto

En la Figura 4.1 se esquematiza el sistema de evaporación en 4 etapas, existente en la destilería L. Se procesaron las muestras de vinaza que se tomaron de cada etapa del sistema de evaporadores, en forma conjunta con la muestra de vinaza cruda y la muestra de control de calidad. Los resultados se muestran en la Tabla 4.5.

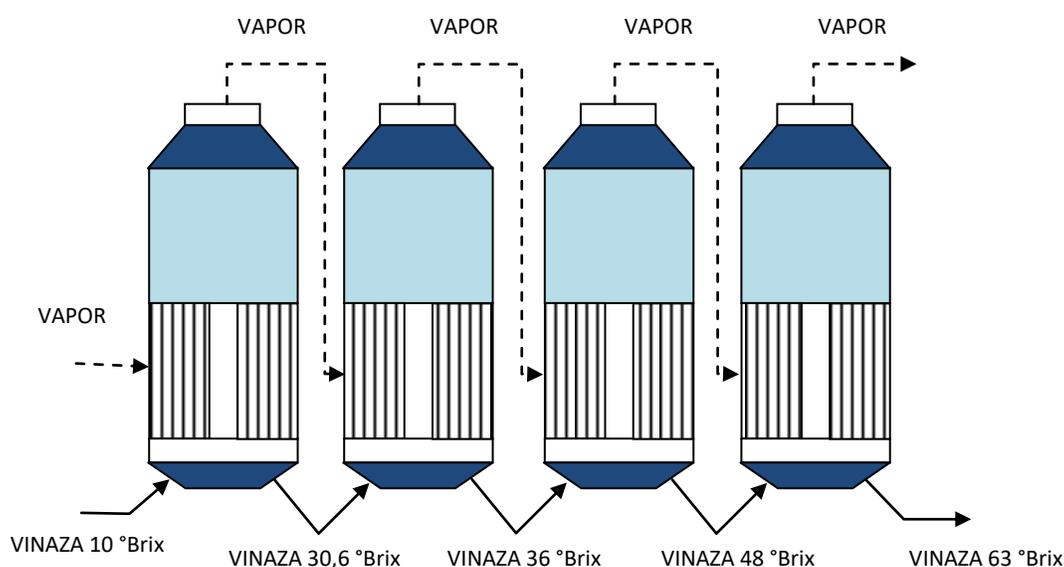


Figura 4.1- Esquema del proceso de evaporación de vinazas, en 4 etapas

Tabla 4.5- Plaguicidas organoclorados en vinaza cruda de la destilería L y en muestras de vinazas provenientes del sistema de evaporación en 4 etapas. Método cromatográfico con extracción líquido-líquido

	L ₁ µg/L	L ₂ µg/L	L ₃ µg/L	L ₄ µg/L	L ₅ µg/L
Lindano	0,05	nd	nd	nd	nd
Heptacl	0,17	0,13	0,14	0,15	0,13
Aldrin	nd	nd	nd	nd	nd
Hept Epx A	0,07	nd	nd	nd	nd
Hept Epx B	nd	nd	nd	nd	nd
DDE	nd	nd	nd	nd	nd
Clordano	nd	nd	nd	nd	nd
DDD	nd	nd	nd	nd	nd
DDT	nd	nd	nd	nd	nd
MTX	nd	nd	nd	nd	nd

HeptEpx A: Heptacloro Epóxido A; HeptEpx B: heptacloro epóxido B; MTX: Metoxicloro; nd: no detectado; L₁: Vinaza cruda; L₂: vinaza del 1° evaporador; L₃: Vinaza salida del 2° evaporador; L₄: vinaza salida del 3° evaporador; L₅: vinaza salida del 4° evaporador.

En las fracciones concentradas provenientes del proceso de evaporación (Figura 4.1) se hallaron valores de heptacloro en promedio 0,15 µg/L, hasta la cuarta etapa; lindano y heptacloro epóxido A, no se detectaron en la salida del primer evaporador, ni en ninguna de las etapas subsiguientes.

A medida que la vinaza se concentra por evaporación de agua, era de esperar que las concentraciones de lindano, heptacloro y su epóxido A (contenidos en la vinaza cruda), presentaran valores en aumento en cada etapa de la evaporación, ya que al disminuir el solvente aumentaría la concentración de las especies disueltas, y por lo tanto también deberían aumentar las concentraciones de plaguicidas organoclorados, si éstos permanecieran en la fase líquida. Esto no se observa en los resultados del análisis de PO en las vinazas concentradas.

Para tratar de explicar los resultados observados de concentración de PO en las vinazas provenientes de los evaporadores se realizó un balance de masas de agua evaporada en función de la concentración de la vinaza inicial en cada etapa de evaporación.

Perera (2009) realizó un estudio con vinazas generadas en la provincia de Tucumán, y propone la concentración de las mismas para posterior combustión y reporta valores de peso específico aparente, en Tn/m^3 , en función de °Brix (Anexo 4.1). Estos datos se usaron para plantear el balance de masa de plaguicidas organoclorados, durante las etapas de evaporación (Tabla 4.6)

Si se parte de 100 g de vinaza con una concentración de 10 Brix, que significa 10 g de sólidos disueltos (materia seca) en 100 g de solución, a medida que el agua se evapora disminuye la masa de mezcla, aumenta el % de sólidos expresados como Brix. También se debería observar un aumento en la concentración otras sustancias disueltas, sin embargo la concentración (en $\mu g/L$) de heptacloro medida presentó poca variación, es decir se mantiene casi constante en las fracciones concentradas. En la Tabla 4.6 se muestra que en la primera etapa de evaporación, la vinaza se concentra de 10 a 30,7 °Brix, por lo que los 10 g iniciales de sólidos, representan ahora un 30,7%. Esto significa que la masa de vinaza se redujo a 32,6 g y se evaporaron 67,4 g de agua.

Tabla 4.6: Balance de masa en evaporadores, agua evaporada y verificación del contenido de heptacloro en la muestra de vinaza L₁ y en las fracciones concentradas.

°Brix	Soluto (g)	Agua (g)	Vinaza (g)	Δ agua evaporada (g)	Agua total evaporada (g)	Densidad (g/mL)	Concentración de Heptacloro medido ($\mu g/L$)	Masa de heptacloro medido (μg)	Concentración de heptacloro esperada ($\mu g/L$)
10,0	10	90	100	-	-	0,994	0,17	$1,71 \times 10^{-2}$	0,17
30,7	10	22,6	32,6	67,4	67,4	1,183	0,13	$3,58 \times 10^{-3}$	0,62
36,0	10	17,8	27,8	4,8	72,2	1,21	0,14	$3,21 \times 10^{-3}$	0,74
48,0	10	10,8	20,8	6,9	79,2	1,258	0,15	$2,48 \times 10^{-3}$	1,03
62,0	10	6,1	16,1	4,7	83,9	1,302	0,13	$1,61 \times 10^{-3}$	1,38

En la vinaza inicial se midieron 0,17 $\mu\text{g/L}$ de heptacloro, tomando en cuenta la densidad, resulta que 100 g de vinaza contienen $1,71 \times 10^{-2}$ μg de heptacloro. En la vinaza de 30,7 °Brix se midieron 0,13 $\mu\text{g/L}$, lo que implicaría que en 32,6 g de vinaza se detectaron $3,58 \times 10^{-3}$ μg de heptacloro, por lo que claramente se observa una disminución en el contenido de este plaguicida ya que si todo el heptacloro hubiese permanecido en la fase líquida la concentración esperada debería ser 0,62 $\mu\text{g/L}$.

Así sucesivamente en las diferentes etapas de evaporación, hasta llegar a vinaza con 62 °Brix, donde se midieron nuevamente 0,13 $\mu\text{g/L}$ de heptacloro, lo que indica $1,61 \times 10^{-3}$ μg de heptacloro en lugar de $1,7 \times 10^{-2}$ μg iniciales que representarían una concentración de 1,38 $\mu\text{g/L}$. Esto significa que a medida que se avanza en el proceso de evaporación la masa de heptacloro contenida en la vinaza inicial presentó una disminución notable. (Figura 4.2).

Se puede afirmar que el vapor podría haber arrastrado heptacloro, puesto que no se obtuvieron incrementos en el contenido de heptacloro como se hubiera esperado al evaporar el solvente. Prácticamente el 87 % del heptacloro de la vinaza inicial se pierde durante la evaporación.

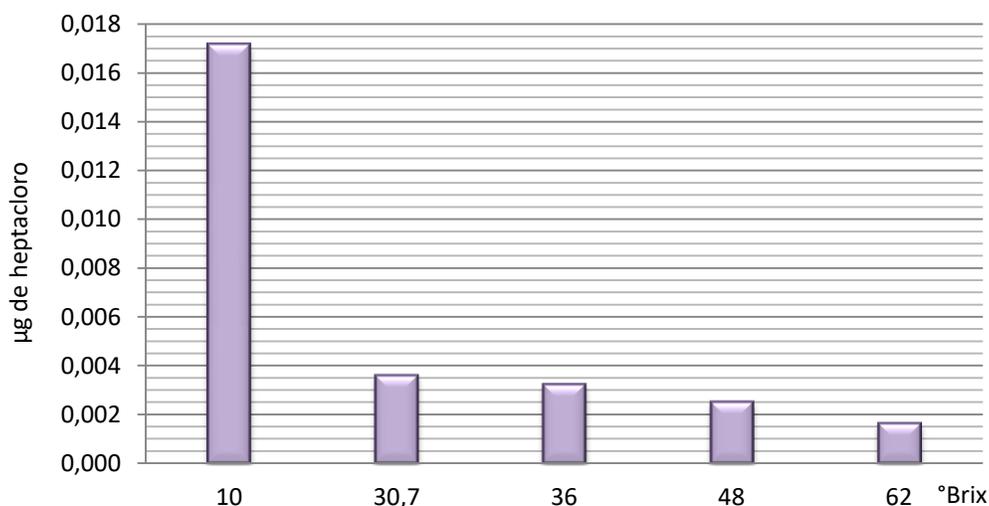


Figura 4.2- Disminución de la masa de heptacloro en vinaza L_1 durante la evaporación

Por otro lado la ausencia de epóxido de heptacloro en las vinazas concentradas favorece la afirmación del arrastre a la fase vapor, ya que los epóxidos de heptacloro no se usaron como plaguicidas, sólo se forman como producto de la primera degradación de

heptacloro, aproximadamente un 20% del heptacloro es transformado a epóxido de heptacloro en el ambiente y en el cuerpo en unas horas (ATSDR, 2007). Esto no ocurrió con el heptacloro detectado en la vinaza cruda.

4.4 Ensayos de evaporación de vinaza en laboratorio y detección de PO en fracciones concentradas

Se procedió a simular las etapas de evaporación, en escala laboratorio, a partir de la vinaza F1, con 7,4 °Brix. Se eligió realizar el ensayo con la vinaza en la que se detectó lindano y heptacloro (Tabla 4.4), éste último en cantidad similar a la vinaza L₁ para verificar si se reproducen los resultados que se observaron en las vinazas evaporadas en la industria.

Se armó el aparato de la Figura 4.3, iniciando el proceso con 500 mL de vinaza, usando un baño termostatzado, con agua a ebullición.

Según el cálculo previo, para concentrar hasta 30 °Brix se debía separar alrededor de 355 mL de vapor condensado. Debido a la lentitud del proceso, se concentró hasta separar 300 mL de condensado. Se enfrió y se midió el contenido de sólido usando el refractómetro de Abbé, expresado como °Brix. En un segundo ensayo, se concentró hasta separación de 400 mL de condensado, posteriormente se midió el contenido de sólidos.

Así se obtuvieron 2 fracciones de vinazas concentradas hasta 20,3 y 50,0 °Brix. Se procedió a la extracción líquido-líquido para detección de plaguicidas organoclorados por análisis cromatográfico.



Figura 4.3 - Concentración de vinazas, equipo de evaporación en escala laboratorio.

Tabla 4.7- Concentración de Plaguicidas Organoclorados en vinaza sometida al proceso de evaporación, en escala laboratorio.

	MC _T µg/L	MC _M µg/L	Recup %	F1 7,4 °Bx µg/L	F2 20,3 °Bx µg/L	F3 50,0 °Bx µg/L
Lindano	0,75	0,68	91	0,08	0,10	0,12
Heptacl	0,15	0,18	120	0,11	0,14	0,15
Aldrin	0,15	0,17	113	nd	nd	nd
Hept Epx A	0,15	0,12	80	nd	nd	nd
Hept Epx B	0,15	0,18	120	nd	nd	nd
DDE	0,60	0,53	88	nd	nd	nd
Clordano	0,38	0,40	107	nd	nd	nd
DDD	0,75	0,83	111	nd	nd	nd
DDT	0,75	0,60	80	nd	nd	nd
MTX	0,75	0,62	83	nd	nd	nd

MC_T: Concentración Teórica de la muestra de control (vinaza envenenada); MC_M: Concentración Medida de la muestra de control; Recup %: Recuperación %; F₁: Muestra de vinaza cruda de la destilería F; F₂: Muestra de vinaza concentrada a 20,3 °Bx; F₃: vinaza concentrada a 50°Bx; Hept Epx: heptacloro epóxido; MTX: metoxicloro

Los resultados se muestran en la Tabla 4.7, donde además se informan los resultados de la muestra de control procesada en forma conjunta con las muestras de vinazas para verificar el procedimiento de pretratamiento de muestras y control de calidad de los resultados. Los valores de Recuperación % de la muestra de control estuvieron entre 80 y 120 %, por lo que se consideraron aceptables.

En la muestra F1 se detectaron 2 plaguicidas, lindano y heptacloro; en las fracciones concentradas las concentraciones de ambos plaguicidas son ligeramente mayores. En la Tabla 4.8 se muestra el balance de masa de agua evaporada durante la concentración de vinaza, partiendo de 100 g de la misma.

Tabla 4.8- Contenido de lindano y heptacloro en la muestra de vinaza F1 durante la concentración por evaporación, en laboratorio.

°Brix	soluto (g)	agua (g)	Densidad(g/mL)	vinaza (g)	agua evaporada (g)	Conc. Lindano medida (µg/L)	Conc. Lindano esperada (µg/L)	Conc. Heptacloro medida (µg/L)	Conc. Heptacloro esperada (µg/L)
7,4	7,4	92,6	0,990	100	-	0,08	-	0,11	-
20,3	7,4	29,1	1,113	36,5	63,5	0,10	0,25	0,14	0,34
50,0	7,4	7,4	1,265	14,8	21,7	0,12	0,69	0,15	0,95

Si lindano y heptacloro hubieran permanecido en la fase líquida, como el resto de los solutos, las concentraciones medidas serían cercanas a las esperadas cuando las concentraciones se refieren a la vinaza inicial. Como se muestra en la Tabla 4.8, en la vinaza de 50 °Brix, las concentraciones de lindano y heptacloro serían 0,69 µg/L y 0,95 µg/L, respectivamente. En la gráfica de la Figura 4.4 se puede observar la disminución de la masa de lindano y heptacloro en la vinaza F1 a medida que se concentró por evaporación. Considerando el contenido de lindano y heptacloro en la vinaza inicial, durante la evaporación se produce una disminución del 82 % y 84 %, respectivamente, cantidades que habrían sido arrastradas a la fase vapor.

La concentración de vinazas es una alternativa que se emplea para aprovechar el efluente y disminuir su carga contaminante. Con un sistema de evaporación en múltiple efecto se concentra vinaza de 7 °Brix a 60 °Brix y luego se envía a una caldera donde se incinera, con recuperación de sales, generación de vapor y electricidad (Fukushima y col., 2019).

El vapor generado en el primer evaporador se usa para calentar el segundo y así sucesivamente hasta que se obtiene un condensado al final del múltiple efecto o bien se ventea a la atmósfera, arrastrando cantidades de compuestos plaguicidas organoclorados que migrarían a otra matriz ambiental.

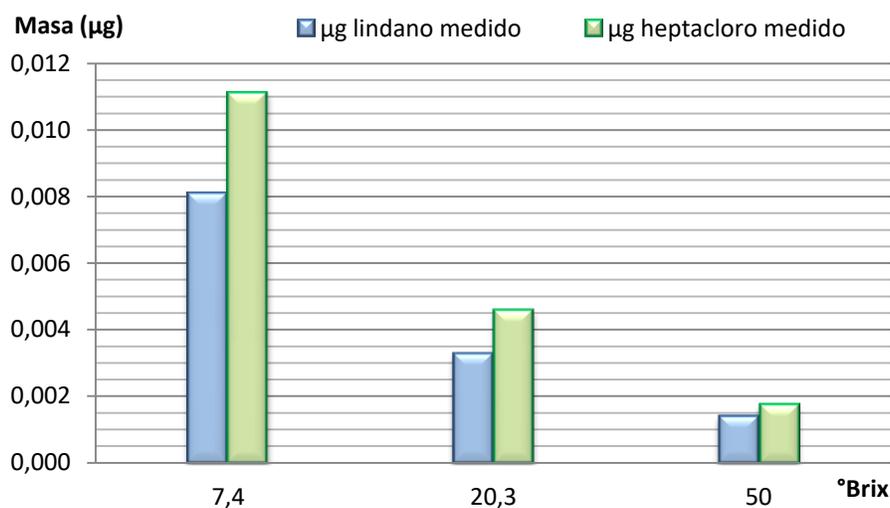


Figura 4.4- Variación de la masa de lindano y heptacloro en la vinaza F1 en la concentración por evaporación.

En la provincia de Tucumán (Tabla 1), durante 2016 la producción de etanol fue de 245.861 m³, es decir 2.458.610 m³ de vinaza (10 L vinaza/L etanol). Lo que significa, considerando la vinaza L1, con 0,17 µg/L de heptacloro, que alrededor de 400 g de heptacloro por año podrían ser reciclados al ambiente.

$$\text{Masa de PO} = 2.458.610 \text{ m}^3 \text{ vinaza} \times 0,17 \frac{\mu\text{g}}{\text{L}} \times 1000 \frac{\text{L}}{\text{m}^3} \times \frac{\text{g}}{10^6 \mu\text{g}}$$

$$\text{Masa de PO} = 418 \text{ g heptacloro/año}$$

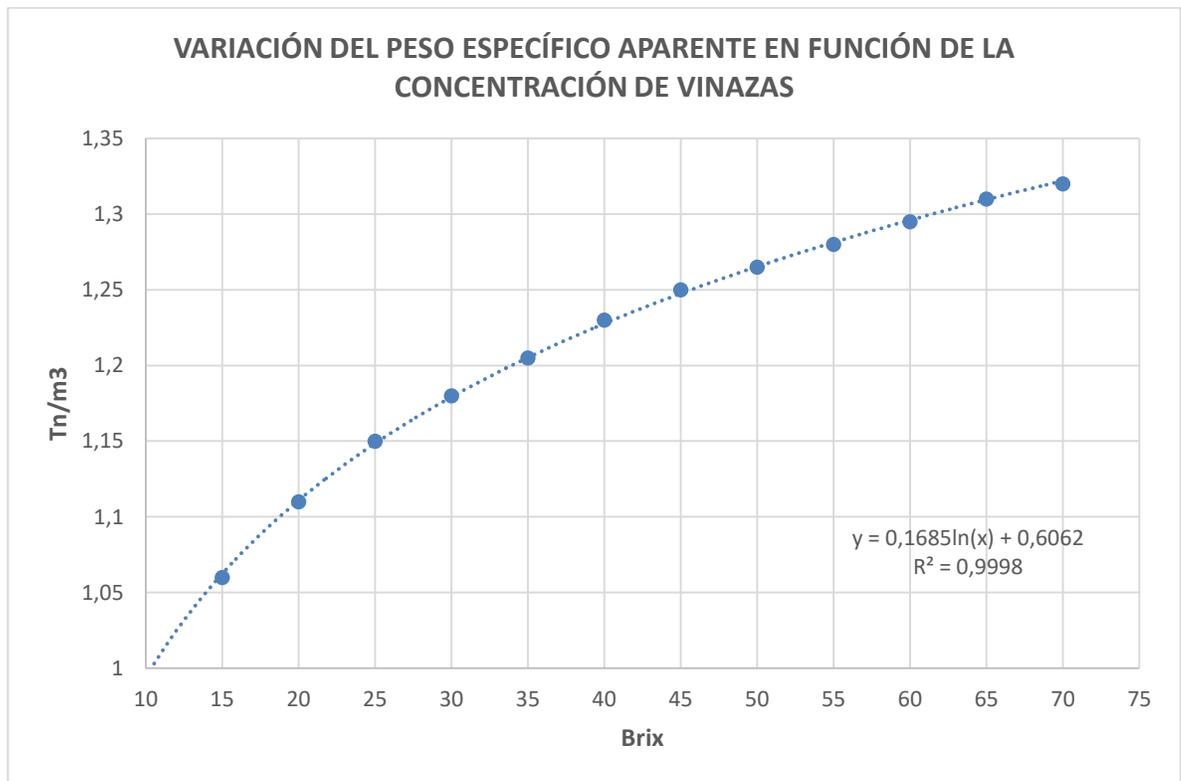
4.5 Conclusiones Parciales

- Los parámetros físico-químicos analizados en las muestras de vinaza excedieron los valores máximos permitidos por la legislación ambiental provincial vigente, según se observa en la Tabla 4.3. Esto demuestra que su disposición final en suelo o en cauces de agua ocasiona serios problemas de contaminación ambiental.
- En las muestras de vinaza analizadas, se relaciona con los datos reportados en la bibliografía respecto del elevado contenido de potasio.

- El Índice de Biodegradabilidad calculado para las vinazas analizadas indica que se trata de efluentes poco biodegradables, con elevados contenido de sales, que retardaría el tratamiento biológico, por lo tanto sería aconsejable aplicar un tratamiento químico previo al tratamiento biológico.
- En todas las muestras de analizadas se encontró presencia de por lo menos un plaguicida organoclorado. Lindano, heptacloro y metoxicloro se detectaron en cantidades trazas, tal que el contenido de plaguicidas totales resultó menor que el Límite Máximo Permitido por la normativa vigente (Resol 30 de la SEMA) de 50 µg/L.
- Se comprobó que los PO, cuya persistencia es conocida, resistieron la etapa de fermentación y se puede afirmar que durante la evaporación son arrastrados a la fase vapor alrededor de un 80% del contenido de lindano y heptacloro de la vinaza inicial.
- Resulta importante prestar expresa atención al destino final de estos compuestos, ya sea que retornen al suelo por el uso de vinaza como abono para fertirrigación, o sean arrastrados por el vapor y venteados a la atmósfera.

Anexo 1 Capítulo 4

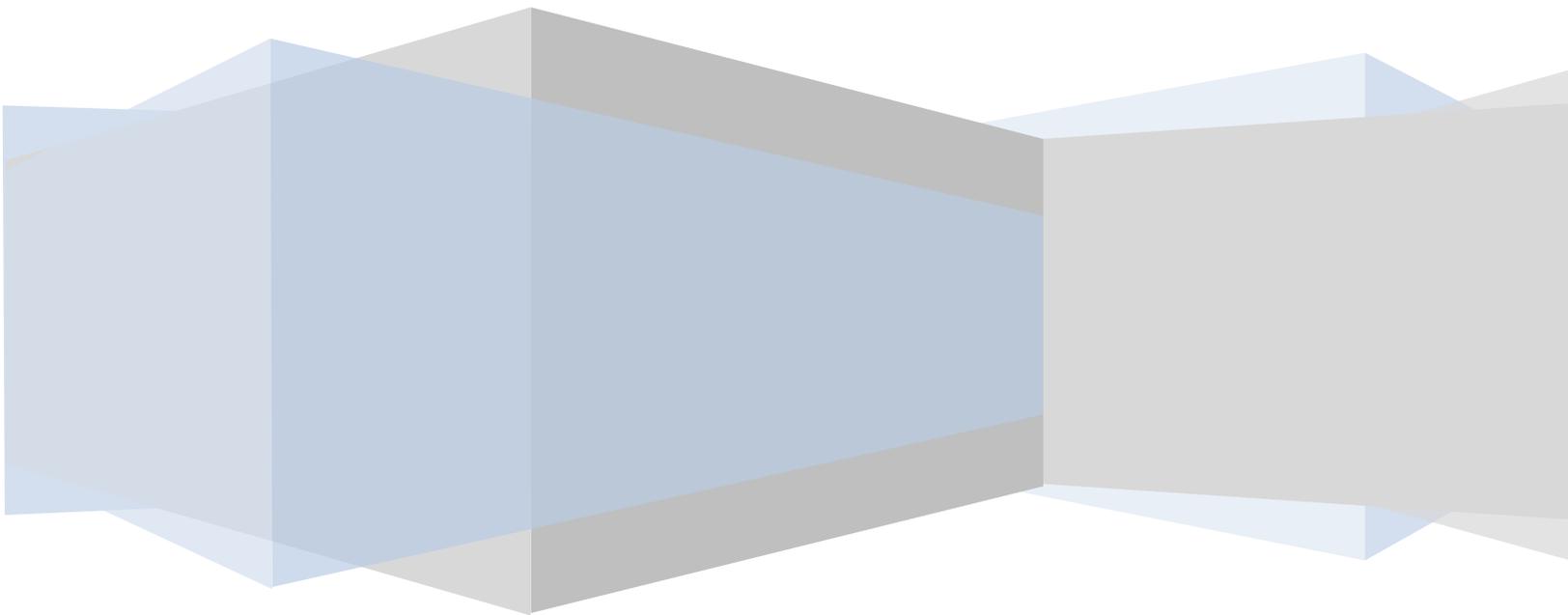
El peso específico de la vinaza aumenta conforme aumenta la concentración de sólidos disueltos, expresados como grados Brix.



Fuente: <https://es.slideshare.net/padillaluiscristian/concentracion-y-combustiondevinazas>



Capítulo 5



CAPITULO 5

ENSAYOS DE OXIDACIÓN DE VINAZAS CON PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

En esta etapa se realizaron ensayos de ataques oxidativos a vinazas para disminuir la alta carga orgánica y mejorar la calidad del residuo, usando diferentes cantidades de peróxido de hidrógeno como oxidante, a temperatura ambiente, para encontrar las cantidades óptimas. Además, se realizó un estudio cinético siguiendo la reacción de oxidación por medidas del oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica remanente, a diferentes tiempos de reacción, lo que se expresa como DQO, Demanda Química de Oxígeno.

5.1 Ensayos experimentales

Se trabajó vinaza con 11% de sólidos disueltos, proveniente de la primera torre de destilación de un ingenio azucarero del centro-este de la provincia de Tucumán, con una DQO de 90800 mg/L, corresponde a la vinaza S1 de la Tabla 4.1, cuya caracterización físico-química se muestra en la Tabla 4.2.

Como oxidante se usó una solución de peróxido de hidrógeno al 30% m/v. Se siguió la reacción mediante la determinación de DQO por el método colorimétrico de reflujo cerrado, cuya validación de se indicó en el ítem 3.2.

DQO (demanda química de oxígeno), indica la cantidad de O_2 necesario, en mg/L, para oxidación total, es un parámetro proporcional a la carga orgánica e inorgánica que puede ser oxidable, en cada tiempo de reacción analizado. Se usó un reactor semi batch a escala laboratorio, y se usaron distintas relaciones volumétricas de reactantes.

Los ensayos se llevaron a cabo a 30 °C, para lo que se usó un baño termostatzado. Se trabajó a pH ácido, dado que las vinazas estudiadas presentaron valores de pH alrededor de 5, debido a las condiciones del proceso de fermentación. Este es uno de los factores importantes que controlan la eficiencia de las técnicas de Oxidación Avanzada, por lo que el pH ácido de la vinaza representaría una ventaja, además de contribuir a la simplicidad y economía del proceso. Por lo tanto, los ensayos experimentales estuvieron orientados a analizar la factibilidad de obtener resultados favorables sin necesidad de ajustar el pH inicial.

Se realizaron 5 experiencias con 20 mL de vinaza y diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno (20 mL, 13 mL, 10 mL, 5 mL y 2,5 mL respectivamente).

Se dejó reaccionar y se tomaron muestras a 1 día, 2 días y 5 días. Estos ensayos se llevaron a cabo por duplicado.

Se calculó la Relación de Oxígeno (RO) como la masa entre los reactantes, al momento de iniciar la reacción. Es decir, la relación entre la cantidad de oxígeno necesario para oxidar la vinaza inicial (DQO del efluente) y la cantidad de oxígeno que provee el peróxido de hidrógeno agregado en el ensayo:

$$RO = \frac{mg\ O_2\ necesario}{mg\ O_2\ disponible} = \frac{DQO_{vinaza} \cdot V_{vinaza}(L)}{\% \frac{m}{V} \text{ de } H_2O_2 \cdot V_{H_2O_2}(mL) \cdot 4,706} \quad \text{Ecuación 5.1}$$

Los ensayos de oxidación se llevaron a cabo en el equipo de la Figura 5.1. Se usó un baño termostatzado a 30 °C, con entrada y salida de agua; el reactor fue un kitasato con tapón de goma donde se adosa un termómetro para registrar temperatura.

Los gases generados durante la oxidación se recogieron sobre agua con probeta invertida, como una indicación de que ocurre la reacción. Se trataría de una mezcla de gases: CO₂ producido por reacción química de materia orgánica; O₂ que puede producirse por descomposición de peróxido de hidrógeno; Vapor de H₂O, dado que las burbujas de gases, al atravesar una columna de agua, arrastran moléculas de agua a la fase gaseosa en forma de vapor.



Figura 5.1- Equipo de trabajo usado para la reacción de oxidación

La vinaza es un efluente con muchos componentes, por lo que es imposible seguir cada reacción de oxidación. Es por ello que se consideró de manera global la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar todo lo susceptible de ser oxidable en cada momento del ensayo, con la medición de la demanda química de oxígeno, DQO, de la mezcla reactiva. Este parámetro se usó para determinar la eficiencia de la degradación.

5.2 Resultados

5.2.1 Evolución de DQO durante el tratamiento oxidativo

En la Tabla 5.1 se muestran los resultados obtenidos en los 5 ensayos realizados con diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno; es decir, con diferente relación de oxígeno necesario y disponible, calculado con la ecuación 5.1. Los valores de DQO corresponden al valor promedio de los ensayos duplicados y se muestra la lectura del pH final.

Tabla 5.1- DQO en función del tiempo para diferentes cantidades de solución de peróxido de hidrógeno (30 % m/V). El volumen de vinaza oxidada en los ensayos fue de 20 mL, con DQO inicial de 90800 ppm y 11^o Brix.

Ensayo	Volumen de H ₂ O ₂ 30% m/V	RO	DQO (mgO ₂ /L)				pH final
			Inicial	1 día	2 días	5 días	
1	2,5	5,5	89878	82951	76224	64410	5,2
2	5,0	2,7	89140	77625	65000	40000	5,2
3	10,0	1,4	88033	70794	50000	22000	5,0
4	13,0	1,0	87530	63096	40000	14000	5,0
5	20,0	0,7	86650	60132	48000	35500	5,1

.RO: relación de oxígeno, mg de oxígeno que necesita el efluente/mg de oxígeno aportado por peróxido de hidrógeno; DQO: Demanda Química de Oxígeno.

Nótese que el valor informado de DQO inicial, en el tiempo cero, corresponde a la DQO de la mezcla reaccionante inicial medida en el tiempo cero. Se midió también la DQO de la solución de peróxido usada y corresponde a 83.000 mg/L.

En la Figura 5.2 se muestra el aspecto de la masa reaccionante transcurrido 1, 2 y 5 días de reacción, en el ensayo con 20 mL de vinaza y 20 mL de peróxido de hidrógeno.

Puede observarse el color marrón oscuro de la vinaza inicial. Luego de 1 día de reacción se puede notar que se produjo un aclaramiento de la solución. Este efecto se acentúa al transcurrir el tiempo, tal que a los 5 días, no sólo se distingue una coloración amarillo claro, sino que también se observa cierta turbidez, por la presencia de un precipitado blanco. Se decidió finalizar la reacción a los 5 días puesto que, en pruebas preliminares, se observó que entre 5 y 10 días, el valor de DQO se modificaba sólo un 10 %.

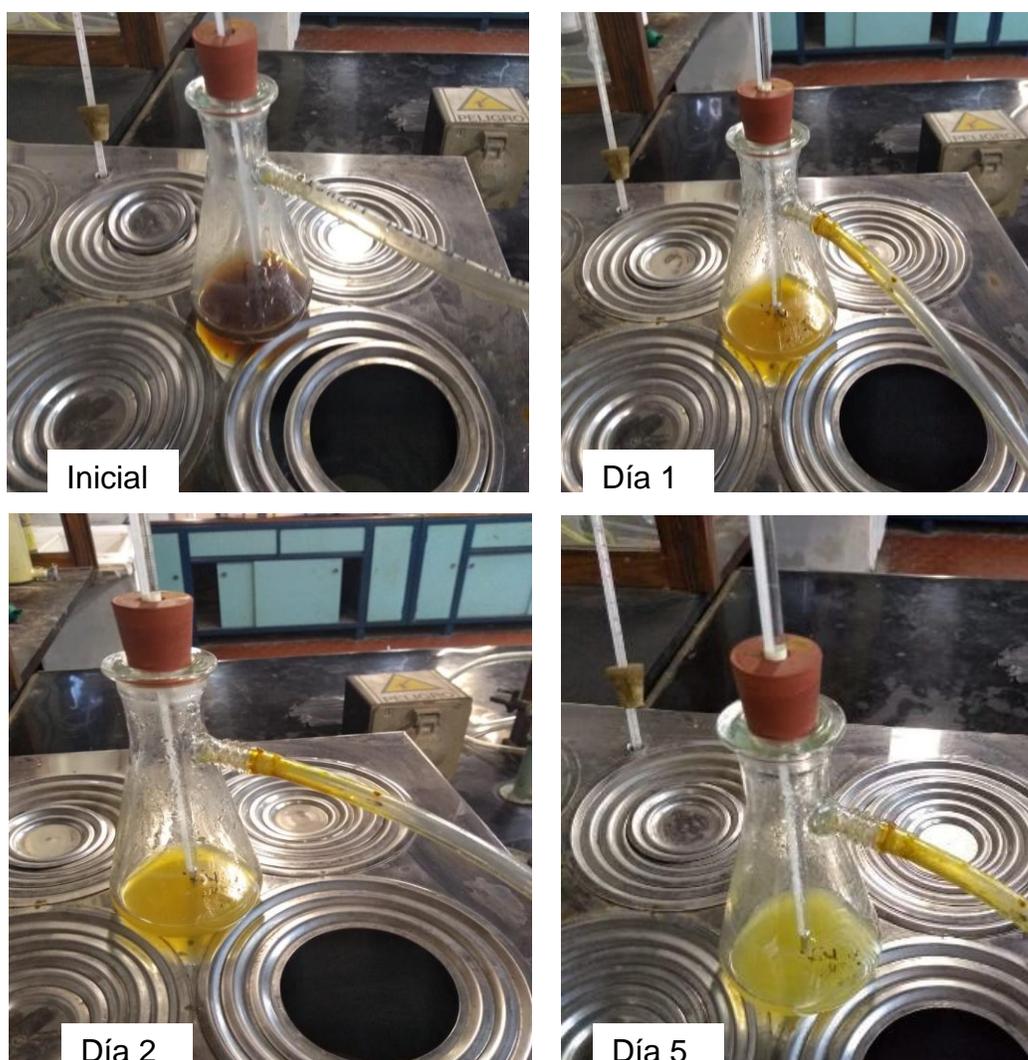


Figura 5.2- Evolución de la masa reaccionante durante 1,2 y 5 días de reacción (Las fotos corresponde al ensayo N° 5: 20 mL de vinaza y 20 mL de peróxido de hidrógeno)

En los ensayos de oxidación se observa abatimiento de los valores de DQO, en todos los casos. En los experimentos 1, 2 y 3, para una relación entre oxígeno necesario y oxígeno disponible mayor que 1 se obtuvieron valores de DQO final (5 días) que resultaron ser mayores. Esto significa que la cantidad de peróxido de hidrógeno (que provee el oxígeno disponible) se encontraba en defecto y la oxidación de materia orgánica se produjo hasta que éste se consume, llegando a un valor de DQO remanente mayor, cuanto menor es el volumen de peróxido de hidrógeno usado en el ensayo (Figura 5.3), comparando siempre a los 5 días de reacción.

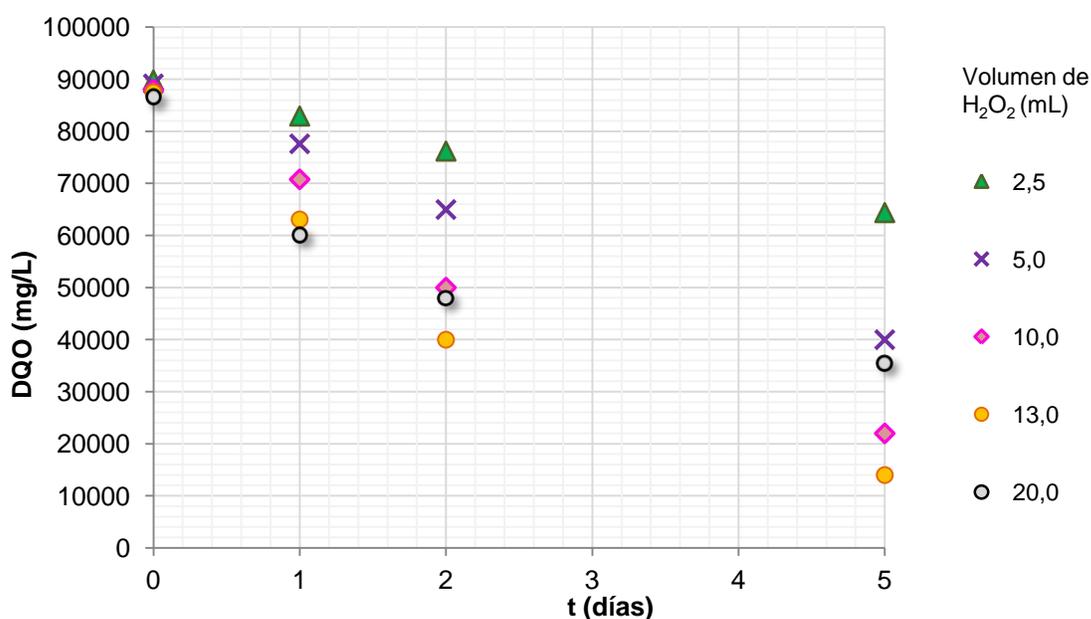


Figura 5.3- DQO de la mezcla reaccionante en función del tiempo, para reacción de oxidación de 20 mL de vinaza con diferentes volúmenes de oxidante.

El abatimiento de DQO se expresó como % de Remoción, como la disminución de DQO de la mezcla respecto de la vinaza inicial, para el tiempo de 5 días, que se calculó como de DQO usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Remoción DQO} = \frac{(DQO_i - DQO_f) \times 100}{DQO_i} \quad \text{Ecuación 5.2}$$

En la Figura 5.4 se grafica la disminución porcentual de DQO lograda a los 5 días de reacción, en función de diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno, respecto del valor de DQO de vinaza inicial.

Obsérvese que la mayor Remoción de DQO (85%) se logró cuando se empleó 13 mL de peróxido de hidrógeno, que corresponde al volumen del mismo que provee oxígeno necesario para la oxidación de 20 mL de vinaza con una demanda de oxígeno de 90800 mg/L, es decir, cuando la relación entre oxígeno necesario y oxígeno disponible, fue de 1.

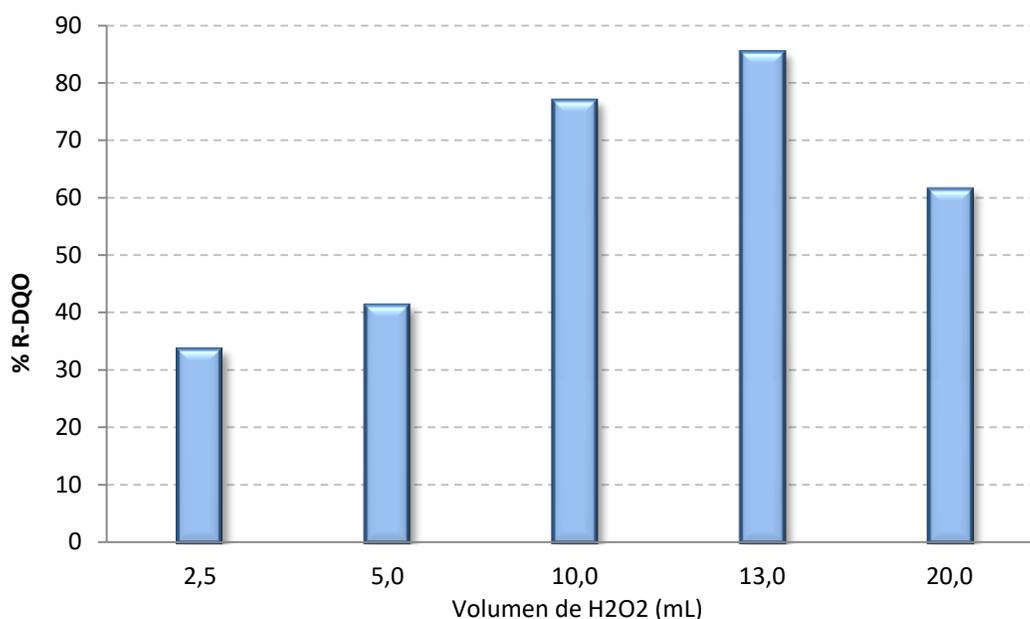


Figura 5.4- Remoción porcentual de DQO de vinaza tratada con diferentes volúmenes de oxidante, a los 5 días de reacción

El ensayo 5, que se llevó a cabo con 20 mL de peróxido de hidrógeno, la cantidad de oxígeno disponible para la oxidación fue mayor que la cantidad de oxígeno necesario (relación menor que 1) es decir que se suministró oxidante en exceso; en este caso se obtuvo una disminución de DQO del 60%. Lo que lleva a pensar que el exceso de oxidante es contraproducente, en las condiciones en las que se realiza el ensayo.

La destrucción de la carga contaminante se podría afirmar que se llevó a cabo por reacciones de oxidación del tipo Fenton, con generación de radicales hidroxilos, catalizada por el elevado contenido de iones metálicos, Fe^{2+} y Cu^{2+} como componentes naturales de las vinazas.

La reacción de Fenton es uno de los métodos de proceso de oxidación avanzada que se ha aplicado ampliamente para el tratamiento de aguas residuales que contienen contaminantes orgánicos. Se publicaron trabajos científicos a nivel experimental donde se usó el proceso Fenton para tratamiento de vinazas de caña de azúcar, trabajando a pH 3,8 y exceso de peróxido de hidrógeno, logrando reducción de DQO del 48 % y un aumento en la biodegradabilidad, en un tiempo de 60 minutos (Hakika y col., 2019). En la mayoría de los casos se aplicó Fenton en forma conjunta con otro tratamiento para lograr resultados más eficientes en la destrucción de la materia orgánica; Guerreiro y col (2016) combinaron el proceso Fenton con coagulación y floculación, con reducción de DQO de hasta un 69,2%. Campos y col (2017), trabajaron con el tratamiento de la vinaza sin diluir mediante un proceso biológico y un Proceso de Oxidación Avanzada, acoplados secuencialmente, tal que en el tratamiento biológico se realizó en un bioreactor de lecho fluidizado inverso con un consorcio microbiano utilizando polipropileno como material de soporte; luego, la vinaza se alimentó de forma continua a un fotoreactor donde se llevó a cabo la reacción Fenton fotoasistida con UV; los resultados mostraron eliminación total de DQO (99%), en un tiempo de 90 días. La Oxidación Electroquímica (OE) también es una excelente alternativa de tratamiento posterior para eliminar productos orgánicos que resisten la degradación biológica. Los métodos de OE dependen principalmente de la generación de radicales hidroxilo en la superficie del ánodo pudiendo mineralizar compuestos orgánicos o convertirlos en compuestos orgánicos más biodegradables. Se investigó el uso de un hongo (*Pleurotus sajor-caju*) seguido de Oxidación Electroquímica para la degradación de la vinaza de caña de azúcar, alcanzando una remoción de color final del 100% y DQO de 66%. (Vilar y col., 2018).

En el ensayo 5, la menor disminución de DQO con exceso de oxidante, coincide con los resultados obtenidos en otros estudios (Alnaizy y Akgerman, 2000; Ahmadi y col, 2015), donde informan que el exceso en la aplicación de peróxido de hidrógeno y altas concentraciones de radicales $\text{OH}\cdot$ originan reacciones competitivas que producen efectos inhibitorios en la degradación de materia orgánica, ya que el peróxido de hidrógeno actúa capturando radicales hidroxilos.

El pH muy ácido requerido por el proceso Fenton es una de las principales desventajas, ya que en la mayoría de los efluentes se requiere la adición de ácido, seguido de una neutralización al final del tratamiento. A $\text{pH} > 4$ la generación de radicales

hidroxilos es inhibida por la formación de un precipitado de hidróxido férrico (Hakika y col., 2019).

En el presente estudio, sin embargo, durante los ensayos de oxidación de vinazas el pH se mantuvo cercano a 5 y no se observó la presencia del precipitado de hidróxido férrico. Chiva y col (2017) realizaron una revisión de investigaciones en las que se usaron modificaciones del reactivo de Fenton para permitir su aplicación a condiciones de pH menos rigurosas. Ellos afirman que la presencia de otros metales que pueden actuar como catalizadores, como por ejemplo cobre y manganeso, participan en la generación de radicales hidroxilos, a pH 5. También las sustancias húmicas permiten la aplicación del proceso Fenton a pH entre 5 y 8. Estas sustancias contienen grupos funcionales que son capaces de formar complejos solubles con el hierro, evitando su precipitación (Mikutta y Kretzschmar, 2011).

Los resultados del presente trabajo demostraron que las vinazas tratadas con peróxido de hidrógeno aún superan los valores máximos permitidos indicados por la normativa vigente (Resolución N°30/09 - SEMA) para efluentes industriales descargados en agua superficial (250 mg/L) y para absorción en suelo (500 mg/L). A pesar de esto es evidente que la DQO de la mezcla final es mucho menor que la inicial de la vinaza, y la disminución porcentual es importante.

5.2.2 Modificación del índice de Biodegradabilidad

Al finalizar el ensayo de tratamiento de vinaza con 13 mL de oxidante se realizó la determinación de DBO y el valor informado fue de 8560 mg/L, con lo que se calculó el Índice de Biodegradabilidad

$$I.B. = \frac{DBO}{DQO} = \frac{8560 \text{ mg/L}}{14000 \text{ mg/L}} = 0,61$$

En la vinaza inicial de 90800 mg/L de DQO se calculó un índice de biodegradabilidad de 0,45 (Tabla 4.2), por lo que se observa que mejoró en forma apreciable la relación entre DBO y DQO. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Hakika y col (2019). Por lo tanto el proceso oxidativo tipo Fenton mejora las características biodegradables del efluente por lo que podría usarse como tratamiento previo al tratamiento biológico.

5.3 Determinación de la cantidad óptima de oxidante

Los mejores resultados se obtuvieron cuando la relación entre oxígeno necesario para la oxidación y el oxígeno aportado por el oxidante es igual a 1. Esto significa que la demanda química de oxígeno del efluente debería ser igual a la cantidad de oxígeno suministrado por el peróxido de hidrógeno.

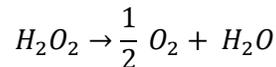
Sabiendo que en el ensayo se usaron 20 mL de vinaza (V_{vin}) con DQO inicial de 90800 mg/L. Se puede escribir que:

$$mg O_2necesario = DQO_{inicial} \cdot V_{vin} (L) \quad \text{Ecuación 5.3}$$

Reemplazando por los valores del ensayo, para oxidar 20 mL de vinaza se requiere 1816 mg de oxígeno:

$$mg O_2necesario = 90800 \frac{mg}{L} \cdot 0,020 (L) = 1816 mg O_2$$

Es posible suponer que el oxígeno es suministrado por el oxidante, peróxido de hidrógeno, por descomposición catalítica:



Se puede calcular la masa de oxígeno que aportan 13 mL de peróxido de hidrógeno cuya concentración es de 30 g/100 mL, sabiendo por estequiometría que cada 34 g de H_2O_2 producen 16 g de O_2 . Entonces se puede escribir que:

$$mg O_2disponible = V (mL) \cdot A \left(\% \frac{m}{V} \right) \cdot \frac{16 g}{34 g} \cdot 1000 \frac{mg}{g} \quad \text{Ecuación 5.4}$$

Donde V (mL) es el volumen de solución de H_2O_2 y A es el % m/vol de la solución de peróxido de hidrógeno comercial usada en el ensayo.

La relación estequiométrica de oxígeno corresponde a:

$$mg O_2necesario = mg O_2 disponible$$

Por lo que se igualaron las Ecuaciones 5.3 y 5.4:

$$DQO_{inicial} \cdot V_{vin} (L) = V (mL) \cdot \% \frac{m}{V} \left(\frac{g}{100 mL} \right) \cdot \frac{16 g}{34 g} \cdot 1000 \frac{mg}{g}$$

Despejando V (mL):

$$V (mL) = \frac{DQO_{inicial} \cdot V_{vinaza} (L)}{A \left(\% \frac{m}{V} \right) \cdot 4,7 \frac{mg}{g}} \quad \text{Ecuación 5.5}$$

Donde: DQO_i es la DQO inicial del efluente expresada en mg/L

V_{vin} es el volumen de efluente a oxidar expresado en litros.

A: % m/v de la solución de peróxido de hidrógeno, por ejemplo 30%.

Esta expresión permitió calcular el volumen de peróxido de hidrógeno requerido para la oxidación de vinazas, en función del valor de DQO inicial. Esto es importante ya que se sabe que las vinazas que se producen como residuo en la obtención de etanol por fermentación, puede presentar valores variados de DQO que dependen de las características del mosto fermentado, de la eficiencia de la destilación, de la región de dónde proviene la materia prima, etc. En general todas las vinazas presentan elevados contenidos de hierro, cobre, manganeso y ácidos húmicos, que, como se mencionó anteriormente, favorecen la reacción tipo Fenton.

De esta manera, si se calcula el volumen necesario de solución de peróxido de hidrógeno al 30 % necesario para oxidar 20 mL de vinaza en el presente estudio, conociendo que el valor de DQO inicial, se determinó que el mismo es 12,9 mL.

5.4 Determinación experimental de la cinética

Es común en Química Ambiental seguir reacciones de degradación de materia orgánica usando DQO como parámetro indicador de la eficiencia de un tratamiento de efluentes. Es por ello que se consideró la vinaza como un efluente mono componente complejo, y el avance de la oxidación se siguió con la medición de la demanda química de

oxígeno, que indica la cantidad de oxígeno necesario para oxidar materia orgánica e inorgánica presentes a medida que transcurre el tiempo de reacción.

Así, se producen diversas reacciones oxidativas con peróxido de hidrógeno. La velocidad de la reacción global se podría escribir:

$$v = k * [\text{componente 1}]^a [\text{componente 2}]^b \dots [\text{componente n}]^n [\text{H}_2\text{O}_2]^x$$

Las concentraciones de las sustancias oxidables en cada tiempo son proporcionales a la DQO, mg de O₂ necesario para oxidar los componentes oxidables, por lo que podría expresarse como la velocidad de la reacción global como:

$$v = k' * [\text{DQO}]^y$$

$$v = -\frac{\partial(\text{DQO})}{\partial t} = k' [\text{DQO}]^y \quad \text{Ecuación 5.6}$$

y: orden de la reacción

k': constante aparente de proporcionalidad que contiene a la constante de velocidad específica a 30 °C

v: representa la velocidad de consumo de oxígeno por las sustancias oxidables.

DQO: demanda química de oxígeno en mg/L

t: tiempo en días.

Los datos obtenidos durante la oxidación de 20 mL de vinaza con 13 mL de peróxido de hidrógeno, que correspondería al caso donde se obtuvo mayor remoción de DQO, se usaron para comprobar el modelo cinético. Suponiendo que se trate de una reacción de 1° orden, se resolvió la ecuación 5.6 para el valor de y = 1.

$$\int_{\text{DQO}_i}^{\text{DQO}_f} -\frac{d(\text{DQO})}{\text{DQO}} = \int_{t_0}^t k. dt$$

$$\ln(\text{DQO})_f = \ln(\text{DQO})_i - k. t$$

Esta ecuación representa la ecuación de una recta con ordenada al origen ($\ln DQO_i$) y pendiente negativa ($-k$).

En la Figura 5.5 se muestra la gráfica de $\ln DQO$ en función del tiempo, los valores ajustan a una recta cuya ecuación está incorporada en dicha gráfica. El coeficiente de determinación (R^2) es 0,998 por lo que se puede afirmar que los datos experimentales ajustan muy bien al modelo lineal propuesto.

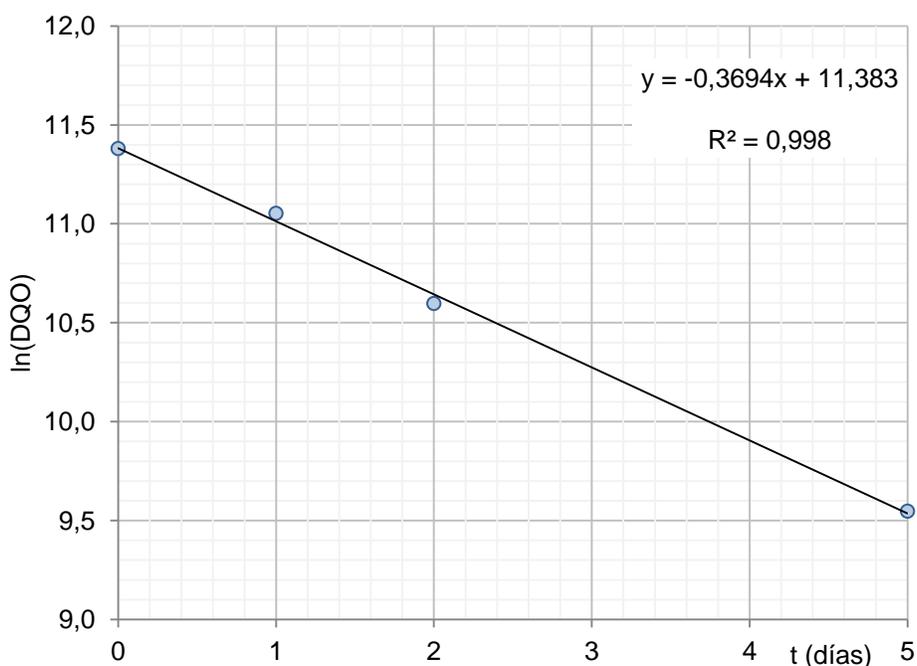


Figura 5.5- Determinación de la cinética de la reacción de oxidación de 20 mL de vinaza y 13 mL peróxido de hidrógeno.

Suponiendo que se tratara de una reacción de 2° orden ($y=2$), integrando la ecuación 5.6, se obtuvo la siguiente expresión:

$$\frac{1}{DQO_f} = \frac{1}{DQO_0} + k.t$$

Se graficaron los valores experimentales ($1/DQO_i$) en función del tiempo, al ajustar a la ecuación de la recta presentó un valor de R^2 de 0,906, es decir, que existe menor correlación de los datos experimentales con el modelo de 2° orden. En consecuencia, se puede concluir que la degradación de vinaza por proceso oxidativo, con peróxido de hidrógeno, responde a una cinética de primer orden respecto de DQO.

De las graficas de $\ln(DQO)$ en función del tiempo (Figura 5.5) resultó el valor de k aparente de 0,3694 (L/mg.día)

De la cinética para la reacción global de primer orden respecto de DQO se puede escribir:

$$\ln(DQO) = \ln DQO_i - 0,3694 \cdot t$$

$$DQO = DQO_i \cdot e^{-0,3694 \cdot t} \quad \text{Ecuación 5.7}$$

La cinética de la reacción es relativamente lenta, pero en 5 días se logra una disminución importante de DQO, con un proceso económico, donde el único reactivo que se emplea es el peróxido de hidrógeno.

Se publicaron numerosos trabajos de investigación donde se estudia la destrucción de contaminantes con procesos Fenton comprobando una cinética de primer orden o pseudoprimer orden, como ser la degradación del ftalato de dietilo (DEP) por oxidación Fenton homogénea y heterogénea, con diferentes fuentes de hierro (Bensalah y col., 2019); la degradación de ácido oxálico en efluentes líquidos de una planta nuclear, por reacción foto-Fenton (Kim y col, 2019); la destrucción de hidrocarburos policíclicos aromáticos en agua por foto-Fenton (Abd y col., 2019).

En los estudios mencionados, los procesos que incluyen reacciones Fenton suelen ser más rápidos, es decir en menor tiempo, y con valores de constantes de velocidad más elevados, pero las condiciones fueron diferentes a las del presente estudio, ya que se llevaron a cabo a pH entre 2 y 3, con cantidades óptimas de catalizador ferroso ($\text{mol Fe}^{2+} = 1/16 \text{ mol H}_2\text{O}_2$). De todas maneras los resultados logrados son prometedores y se logran en menores tiempos que los tratamiento que actualmente se aplican, ya que en general son tratamientos biológicos, con tiempos de residencia de hasta 35 días.

5.5 Sales generadas durante el tratamiento de oxidación

Luego de la reacción de oxidación se manifestaron cambios evidentes en las características del efluente, claramente se destaca una importante disminución del color y aumento de la transparencia de la masa reaccionante, como se explicó en la Figura 5.2

Al finalizar las reacciones de oxidación no se observa la generación de barros, típico del proceso Fenton tradicional, formado por precipitación de hierro como hidróxido férrico, sino que la solución mostró cierta transparencia.

Las vinazas tratadas durante 5 días, se dejaron enfriar a 10 °C, en heladera, y se observó precipitación de sales insolubles, por lo que se procedió a determinar la masa de sales recuperadas (Figura 5.6).

En balanza analítica se procedió a pesar la solución final, luego se realizó una filtración al vacío con papel de filtro previamente pesado. Se dejó secar en estufa a 110 °C, y se pesó nuevamente una vez alcanzada la temperatura ambiente, repitiendo los ciclos de calentamiento, enfriamiento y pesada, hasta peso constante.



Figura 5.6- Recuperación de sales inorgánicas insolubles generadas por oxidación de vinazas con peróxido de hidrógeno

Los resultados se muestran en la Tabla 5.2., donde se calculó el % m/m de sólido recuperado y el % m/volumen de vinaza mediante las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Sólidos} = \frac{\text{Masa de sólidos}}{\text{Masa de mezcla}} \times 100 \quad \text{Ecuación 5.8}$$

$$\% \frac{\text{Masa sólidos}}{V_{\text{vinaza}}} = \frac{\text{masa de sólidos}}{\text{Volumen de Vinaza Inicial}} \times 100 \quad \text{Ecuación 5.9}$$

Tabla 5.2 Masa de sales separadas por enfriamiento (a 10 °C) de la vinaza tratada 5 días con diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno

V_{VINAZA} (mL)	$V_{\text{H}_2\text{O}_2}$ (mL)	Vaso Vacío	Vaso + Muestra	Masa Muestra (g)	Papel	Papel + Sólidos	Masa Sólidos	%m/m Sólidos	% m/Vvin
20	2,5	12,5615	34,0105	21,4490	0,2001	0,2211	0,0210	0,10	0,105
20	5,0	12,8826	38,0903	25,2077	0,2010	0,2346	0,0336	0,13	0,168
20	10,0	12,9413	42,9410	29,9900	0,2010	0,2574	0,0564	0,19	0,382
20	13,0	12,5823	53,8677	41,2854	0,2056	0,4164	0,2108	0,51	1,054
20	20,0	12,4835	62,0258	49,5423	0,2013	0,2806	0,0793	0,16	0,4465

Los resultados concuerdan con los obtenidos respecto de la disminución de DQO, ya que se separa mayor cantidad de sales con cantidades estequiométricas de peróxido de hidrógeno, o sea con 13,0 mL. Se expresa también el % de sólidos separados respecto de 100 mL de vinaza original (Figura 5.7).

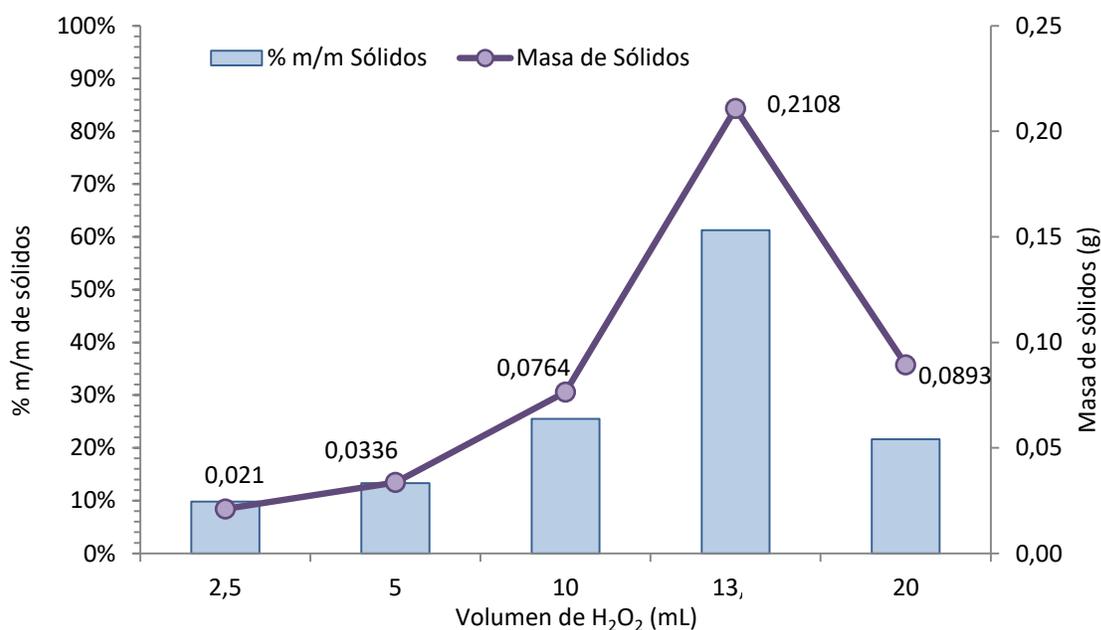


Figura 5.7- Masa de sales recuperadas por reacción de oxidación de vinaza con diferentes volúmenes de peróxido de hidrógeno, a los 5 días.

Las sales formadas provienen de la vinaza S₁ (Tabla 4.2) con 10,8 g/100 mL de Sólidos Totales y 8,6 g/L de potasio, sumado al elevado contenido de sulfatos, se podría pensar que gran proporción de potasio precipitó en forma de sal insoluble, conjuntamente con algunas sales de calcio. Sulfato de potasio es una de las sales de potasio de menor solubilidad, a 10 °C (90 mg/L), es un sólido blanco, fino, de características similares al obtenido. Durante este estudio no se realizó la caracterización exacta de la composición del sólido, pero de acuerdo a la bibliografía se supone que se trata de sales de potasio (Camacho y col., 2016), quedando la confirmación para estudios posteriores.

Se separaron 1,054 g de sales por 100 mL de vinaza, luego de 5 días de reacción, en el ensayo con cantidades estequiométricas de reactivos.

Teniendo en cuenta el volumen de vinaza generada en la producción de bioetanol, resulta una alternativa interesante para recuperación y comercialización de sales de potasio, aumentando el valor del proceso.

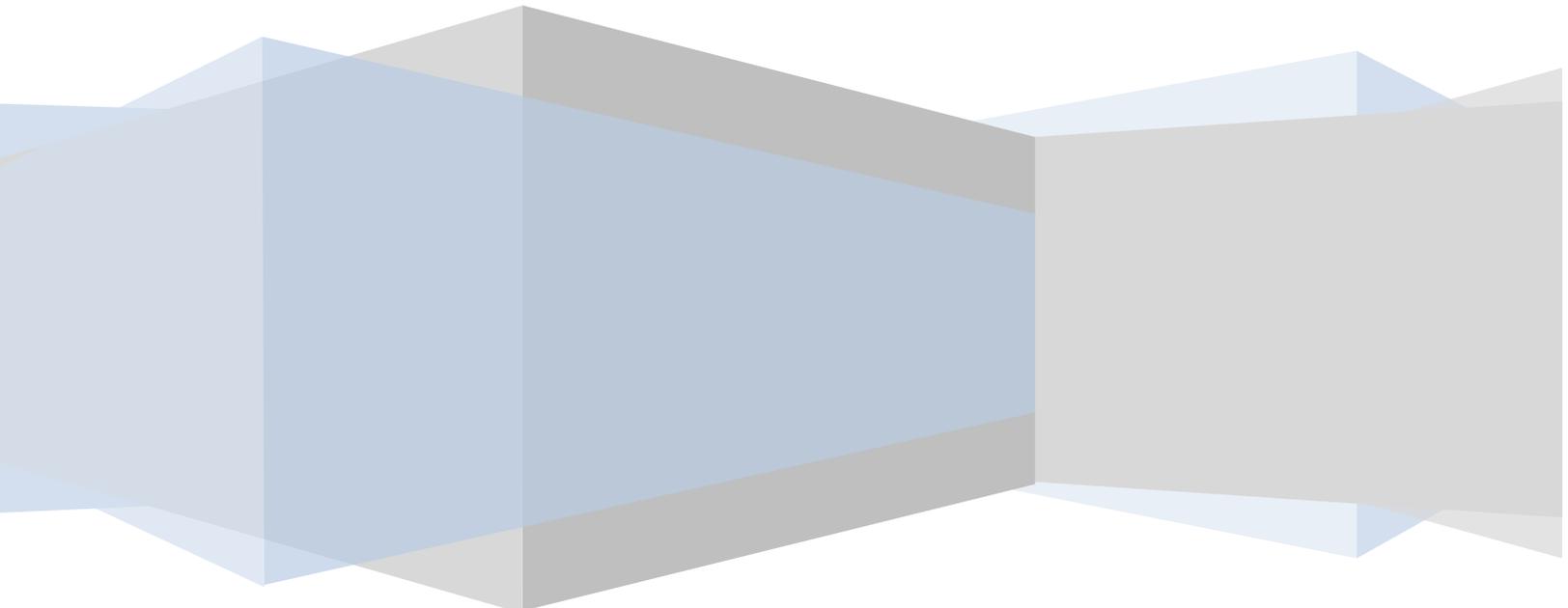
5.6 Conclusiones parciales

- El tratamiento de vinazas usando un proceso oxidativo con peróxido de hidrógeno, produce disminución de DQO de las vinazas. Se cree que se trata de una reacción de oxidación tipo Fenton, catalizada por iones Fe²⁺ y Cu²⁺ contenidos en el efluente, cuya naturaleza ácida permite la remoción de DQO a pH 5, favorecido por la presencia de ácidos húmicos.
- Este proceso es aplicable y económico, ya que sólo se usa peróxido de hidrógeno como reactivo adicional y se lleva a cabo en condiciones ambientales.
- Los ensayos experimentales permiten afirmar que las condiciones más favorable para la degradación química oxidativa de vinaza con solución de peróxido de hidrógeno, a temperatura ambiente (30 °C - 303 K) y presión atmosférica (697 mmHg) son aquellas en que la relación es estequiométrica respecto al oxígeno aportado por el peróxido de hidrógeno y la DQO inicial del efluente, con un tiempo de residencia de 5 días, lográndose una disminución de DQO del 85 %.
- Con el tratamiento propuesto se logra un aumento del Índice de Biodegradabilidad, lo que mejoraría la eficiencia de un tratamiento biológico posterior al tratamiento químico.

- Se produce una mejora sustancial en las características físicas del efluente por una gran disminución del color y aumento de la transparencia.
- Se logró una separación de sales equivalente a 10,54 g por litro de vinaza, lo que podría convertir al efluente en materia prima potencial para generación de productos de química fina.



Capítulo 6



CAPITULO 6

EFECTOS DE LA OXIDACIÓN SOBRE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS

En general, en el tratamiento de aguas, las tecnologías de oxidación avanzada se utilizan cuando los efluentes contaminados tienen una alta estabilidad química y/o una baja biodegradabilidad.

Así resulta de gran interés la utilización de la oxidación como un pretratamiento a un sistema biológico. Muchas de las nuevas líneas de investigación están cada día más enfocadas en el desarrollo de procesos de tratamiento de oxidación avanzada que además resulten económicos y ambientalmente sostenible.

Por esta razón, se propone el tratamiento de vinazas sólo con peróxido de hidrógeno como oxidante, aprovechando el contenido de iones metálicos en el efluente.

6.1 Oxidación de soluciones acuosas de plaguicidas organoclorados

De los 10 plaguicidas organoclorados investigados en vinaza, se ha detectado con mayor frecuencia, presencia de lindano, heptacloro y metoxicloro, en ése orden.

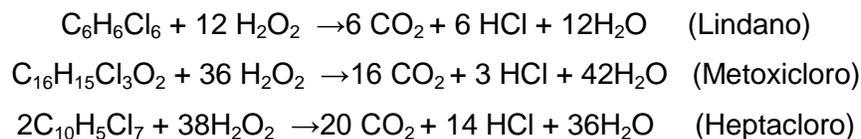
Como ya se mencionó, estos compuestos también fueron detectados en el ambiente regional. En agua superficial y en sedimentos se encontraron restos de lindano, metoxicloro, heptacloro y, en algunas muestras, DDT y sus isómeros (Tracanna y col, 2006; Chaile y col, 2016); estos mismos compuestos fueron detectados en leche materna (Romero y col, 2012). Se realizaron ensayos del proceso de oxidación con peróxido de hidrógeno sobre solución acuosa de estos tres plaguicidas con el objetivo de comparar el efecto de la matriz vinaza sobre el mismo.

6.1.1 Ensayos Experimentales

Se prepararon 4 porciones de 100 mL de soluciones acuosas de lindano, heptacloro y metoxicloro por adición de 0,5 mL de cada patrón de 1000 µg/mL, tal que la

concentración individual teórica resulte de 5 mg/L. El ataque oxidativo se llevó a cabo por triplicado y una de las porciones se usó para el ensayo de recuperación.

Se procedió al ataque oxidativo, con 1 mL de solución de H₂O₂ al 30 % y agitación, teniendo en cuenta las siguientes reacciones:



Los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente y con agitación baja, usando un agitador magnético. Se analizaron porciones de 10 mL de mezcla reaccionante a 1, 2, 3, 4 y 5 días.

Las muestras se procesaron para la separación de los compuestos de interés con extracción en fase sólida (SPE, en inglés), con cartuchos de C18, como se indicó en el Capítulo 2 (ítem 2.1.4.2).

En la Figura 6.1 se muestra la disposición de los cartuchos para la extracción SPE.



Figura 6.1- Pretratamiento de las soluciones acuosas de plaguicidas organoclorados por extracción en fase sólida (SPE).

Luego de eluir los compuestos de interés con 2 mL de hexano, se procedió al secado, concentración y redisolución, con 2 mL del mismo solvente. Se separó 1 mL del extracto en viales herméticos, compatibles con el inyector automático del GC, y se procedió al análisis cromatográfico usando el método validado previamente.

6.1.2 Resultados y Discusión

Los informes emitidos por el cromatógrafo indicaron la concentración del compuesto en 2 mL de hexano que se empleó para eluir, pero éstos representan el contenido en 10 mL de muestra, por lo que se realiza el cálculo de la concentración de los analitos de interés en la muestra original. En la Figura 6.2 se muestra la gráfica de la variación de las concentraciones promedio de las tres mediciones, de lindano, heptacloro y metoxicloro, en función del tiempo.

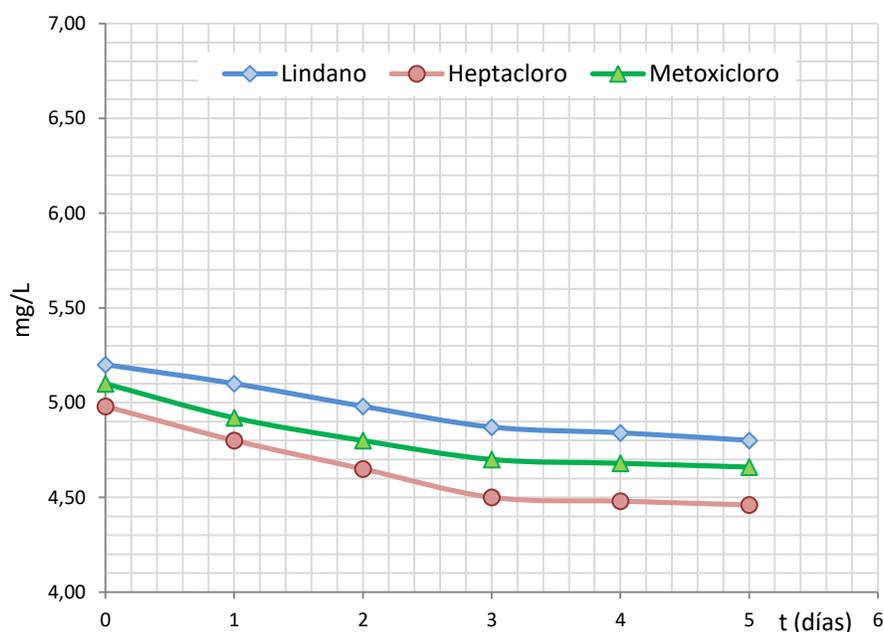


Figura 6.2- Variación de la concentración de lindano, heptacloro y metoxicloro en solución acuosa por oxidación con H_2O_2

Los resultados obtenidos muestran una disminución de 8% en el contenido de lindano a lo largo de los 5 días de ensayo, mientras que para heptacloro y metoxicloro, alrededor de 11 y 8 %, respectivamente.

La variación de la concentración de los plaguicidas luego del tratamiento oxidativo con peróxido de hidrógeno es muy baja y prácticamente despreciable: la concentración de lindano se midió inicialmente en 5,2 mg/L y luego de 5 días, fue de 4,8 mg/L. Se podría pensar que las diferencias en los valores medidos se encuentran dentro del error del método, ya que en la validación se consideró aceptable un coeficiente de variación porcentual (CV%) del 10 %, en las pruebas de exactitud y precisión (ítem 3.1.3/4).

Para analizar si las 5 mediciones realizadas corresponden a la misma muestra o si las variaciones pueden adjudicarse a consumo o degradación del plaguicida, se aplicó la prueba estadística de t de Student. La prueba de significancia busca demostrar si los datos experimentales son mediciones independientes, significativamente diferentes o si se puede considerar como mediciones de una misma muestra.

Se trabajó con un patrón de 5 ppm, marca AccuStandard, con una incertidumbre expandida del 1% y factor de cobertura $k=2$.

El test plantea dos hipótesis:

Hipótesis nula $H_0: m_1 - m_2 = 0$, es decir que $m_1 = m_2$

Hipótesis alternativa $H_a: m_1 - m_2 \neq 0$, es decir que $m_1 \neq m_2$,

Si el resultado del test verifica la hipótesis nula, se puede concluir que no hay diferencias entre las 5 mediciones, es decir corresponden a mediciones realizadas sobre una misma muestra. Mientras que si el resultado confirma la hipótesis alternativa, se puede concluir que se trata de mediciones diferentes. El test plantea el cálculo del estadígrafo t, con la ecuación 2.11.

El valor crítico de t, para dos colas, es de 2,35. Esto significa que la región crítica está comprendida entre - 2,35 y 2,35. Cualquier valor del estadígrafo que se sitúe en esta región, validará la hipótesis nula.

En la tabla 6.1 se observan los valores calculados de % de Remoción, el valor medio y la desviación estándar, como si se tratara de medidas de una misma muestra y los valores de t_{cal} , de la prueba de significancia.

Los valores de t calculados, se encuentran fuera de la región crítica, por lo que se verifica como cierta, la hipótesis alternativa que dice que las mediciones presentan diferencias significativas como para afirmar, con un grado de confianza del 95%, que corresponden a mediciones independientes. Es decir, el nivel de significancia es de 0,05, lo que se traduce en que la probabilidad de cometer un error al realizar estas afirmaciones es de 5%.

Tabla 6.1- Prueba de significancia, test de Student, para 6 mediciones de concentración de lindano, heptacloro y metoxicloro, por cromatografía gaseosa.

Tiempo (días)	Lindano (mg/L)	Heptacloro (mg/L)	Metoxicloro (mg/L)
0	5,20	4,98	5,10
1	5,10	4,80	4,92
2	4,98	4,65	4,80
3	4,87	4,50	4,70
4	4,84	4,48	4,68
5	4,80	4,43	4,62
% Remoción	7,7	11,0	9,4
valor medio	4,92	4,57	4,74
Desv.Estándar	0,16	0,21	0,18
t_{calculado}	3,46	3,79	3,90

Se concluye que las disminuciones de concentración de plaguicidas observadas en los ensayos, aunque son bajas, puede atribuirse al ataque oxidativo con peróxido de hidrógeno.

Se sabe que los PO son altamente persistentes y recalcitrantes, por lo que la aplicación de tecnologías que utilizan solo agentes oxidantes como el ozono o el peróxido de hidrógeno no es lo suficientemente eficiente para la eliminación de sus residuos. El potencial de oxidación de éstos es menor que el de su combinación con radiación UV o con un catalizador, por lo que, en general, no son capaces de llevar a cabo las mineralizaciones completas de estos contaminantes, que se podría lograr con la generación de radicales hidroxilos (Malato, 2001).

6.2 Oxidación de vinaza diluida adicionada con Plaguicidas Organoclorados

6.2.1 Ensayos experimentales

Se utilizó vinaza S₁ proveniente de una destilería ubicada en el sur de la provincia, con DQO de 90800 mgO₂/L, 11% de sólidos disueltos (grados Brix); densidad de 1,0300 g/mL a 298K y solución de peróxido de hidrógeno al 30% m/V.

Se realizó el ensayo en vinaza diluida 1:100, es decir con una DQO de 908 mg/L, como un ensayo de prueba para disminuir la carga orgánica de la matriz y verificar si hubiera reacciones de competencia entre las especies oxidables, o si la dilución favorece la degradación oxidativa.

Se prepararon 4 porciones de 100 mL de vinaza envenenada con 6 plaguicidas clorados: DDT, heptacloro, lindano, metoxicloro, clordano y aldrín, tal que la concentración final sea de 1 mg/L de cada compuesto, para lo cual se mide 50 µL del patrón de 2000 µg/mL de DDT y 100 µL de los otros 5 patrones cuya concentración en de 1000 µg/L.

Se calculó el volumen de peróxido de hidrógeno necesario para oxidación en relación estequiométrica, usando la ecuación 5.5:

$$V (mL) = \frac{908 \left(\frac{mg}{L}\right) \cdot 0,1 (L)}{30 \left(\frac{g}{mL}\right) \cdot 4,7 \frac{mg}{g}} = 0,7 mL$$

Se realizó el tratamiento oxidativo de las vinazas envenenadas con el volumen de solución de peróxido de hidrógeno calculado. Se separaron 10 mL de muestra a los 3, 20, 32 y 54 días. El pretratamiento de las muestras se llevó a cabo con extracción en fase sólida (SPE) con cartuchos de C18, eluyendo con hexano.

La cuantificación de plaguicidas clorados se realizó con el método validado (ítem 3.1); se preparó una curva de calibración en tres niveles de concentración (0,1; 1 y 10 mg/L) de cada plaguicida, usando patrones certificados AccuStandard.

6.2.2 Resultados y Discusión

En la Tabla 6.2 se muestran los resultados obtenidos del análisis cromatográfico de plaguicidas organoclorados en vinazas diluidas, a distintos tiempos de reacción de oxidación.

Tabla 6.2- Concentración de PO en la vinaza diluida 1:100, adicionada con PO , durante la oxidación con peróxido de hidrógeno.

Tiempo	Lindano (mg/L)	Heptacl (mg/L)	Aldrin (mg/L)	Clordano (mg/L)	DDT (mg/L)	MTX (mg/L)	DQO
inicial	1,080	1,260	0,940	1,1	1,040	0,960	1175
3 días	0,115	nd	nd	nd	nd	0,065	510
20 días	0,071	nd	nd	nd	nd	nd	320
32 días	0,002	nd	nd	nd	nd	nd	300
54 días	nd	nd	nd	nd	nd	nd	290
% Recup	108	126	94	110	104	96	

MTX: Metoxicloro; DQO: Demanda Química de Oxígeno; % Recup: % de Recuperación

A los 3 días, no se detectaron valores medibles de heptacloro, aldrín, clordano y DDT; para metoxicloro, se registró un valor de 0,0654 mg/L, y a los 20 días no se detectó presencia de este compuesto. Lindano, presentó degradación más lenta, ya que a los 3 días de tratamiento se midió una concentración de 0,115 mg/L y a los 20 días de 0,071 mg/L, y a los 32 días quedaron trazas, con valor cercano al LQ.

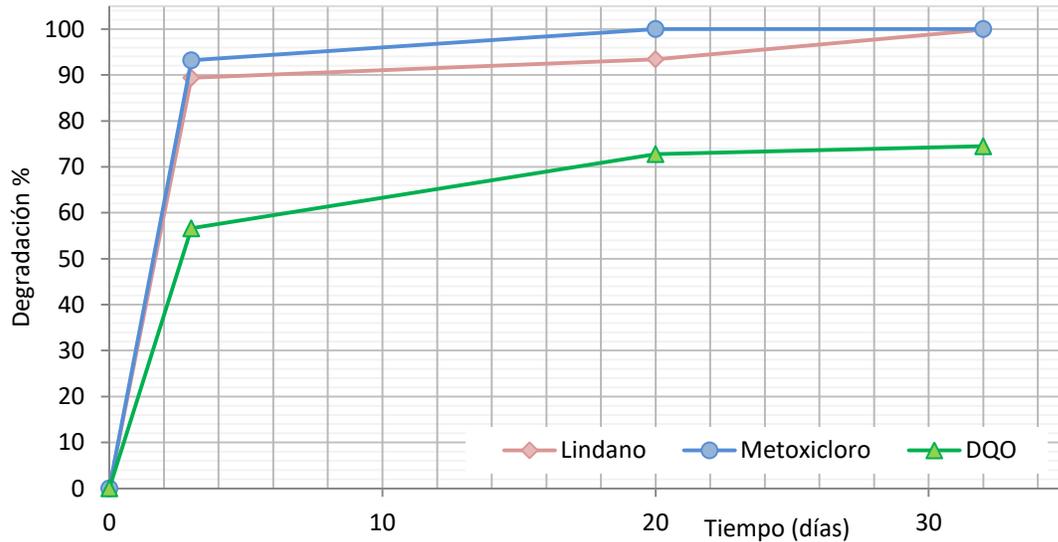


Figura 6.3- Degradación % de metoxicloro, lindano y DQO, por ataque oxidativo con peróxido de hidrógeno, en función del tiempo.

En resumen, a los 3 días se logra una disminución de entre 89% de lindano y 93 % de metoxicloro, mientras que para aldrín, DDT, clordano y heptacloro, fue del 100% (Figura 6.3).

Los valores de DQO de la mezcla presentaron la disminución del 75 %. Se observó que la mayor remoción se alcanza en la primera etapa del proceso, luego, a medida que transcurre el tiempo, la reacción se hace más lenta.

Los resultados indican que el tratamiento de vinazas contaminadas, aplicando un proceso oxidativo, con peróxido de hidrógeno, es efectivo para la degradación de plaguicidas clorados, verificándose que el contenido de iones metálicos presentes en la vinaza, favorece las reacciones de oxidación, actuando como catalizador dando reacciones tipo Fenton.

6.3 Oxidación de vinaza cruda adicionada con plaguicidas organoclorados

6.3.1 Ensayos Experimentales

Se repitió el ensayo de oxidación usando vinaza cruda, sin diluir, adicionada con plaguicida organoclorado. Se prepararon 3 soluciones de vinaza envenenada con 6 plaguicidas clorados: DDT, heptacloro, lindano, metoxicloro, clordano y aldrín, de concentración igual a 1 mg/L de cada compuesto. Los ensayos se planificaron con 100 mL de vinaza S_1 , con DQO de 90.800 mgO₂/L, 11% de sólidos disueltos y densidad de 1,0300 g/mL (a 298K). Con la ecuación 5.5 se calculó el volumen de peróxido de hidrógeno (30% m/V), el cual resultó ser de 64 mL.

Se inició el tratamiento oxidativo y se separaron 10 mL de muestra a las 3 horas de iniciado el ensayo, 3 días, 20 y 30 días. Las muestras se procesaron con extracción en fase sólida (Figura 6.4), ya que el contenido de sólidos de la vinaza cruda aún permitió usar esta técnica sin riesgo de que se ocluyan los poros de los cartuchos; si se trabajara con vinazas concentradas, sólo se podría usar extracción líquido-líquido.

Se analizaron los contenidos de plaguicidas organoclorados con el método cromatográfico ya validado anteriormente.



Figura 6.4- Extracción en fase sólida de vinaza inicial y vinaza tratada, a diferentes tiempos de reacción.

6.3.2 Resultados y Discusión

En la Tabla 6.3, se muestran los resultados obtenidos de concentración de cada plaguicida organoclorado, en la vinaza inicial y en las porciones correspondientes a diferentes tiempos de reacción. Los valores de recuperación, en la muestra de control, estuvieron entre 86% y 96%, por lo que se consideraron aceptables de acuerdo a los criterios de la validación del método.

En la muestra extraída a las 3 horas de iniciado el ensayo de oxidación, ya se manifestó una disminución en la concentración de los plaguicidas estudiados.

Tabla 6.3: Concentración de PO en vinaza cruda durante el tratamiento oxidativo con peróxido de hidrógeno. Medidas por cromatografía gaseosa con extracción en fase sólida.

Tiempo (días)	Lindano (mg/L)	Heptacloro (mg/L)	Aldrin (mg/L)	Clordano (mg/L)	DDT (mg/L)	MTX (mg/L)
Inicial	0,951	0,957	0,965	0,896	0,925	0,949
0,125 (3 hr)	0,672	0,494	0,750	0,718	0,718	0,769
3	0,122	0,089	0,050	0,060	0,260	0,189
20	0,041	< 0,001	<0,001	<0,001	0,015	<0,001
30	0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
% Recup	95%	96%	86%	89%	92%	95%

MTX: metoxicloro; % Recup: % de Recuperación.

A los 20 días, los valores de la mayoría de los plaguicidas, se encuentran por debajo del mínimo detectable por el método. Se confirman los resultados de la destrucción de estos compuestos por procesos oxidativos.

En la Figura 6.5 se muestran, los valores de Degradación % en función del tiempo. A los 3 días de reacción (72 hs) se observa que la degradación de DDT es la menor lograda (70%), mientras que el descenso de concentración de metoxicloro fue del 80 % y lindano se degradó un 87 %, clordano, aldrín y heptacloro lo hicieron por arriba de un 90 %. Luego de los 3 días se observa una disminución en la velocidad de degradación, tal que a los 20 días sólo quedan restos de DDT y lindano.

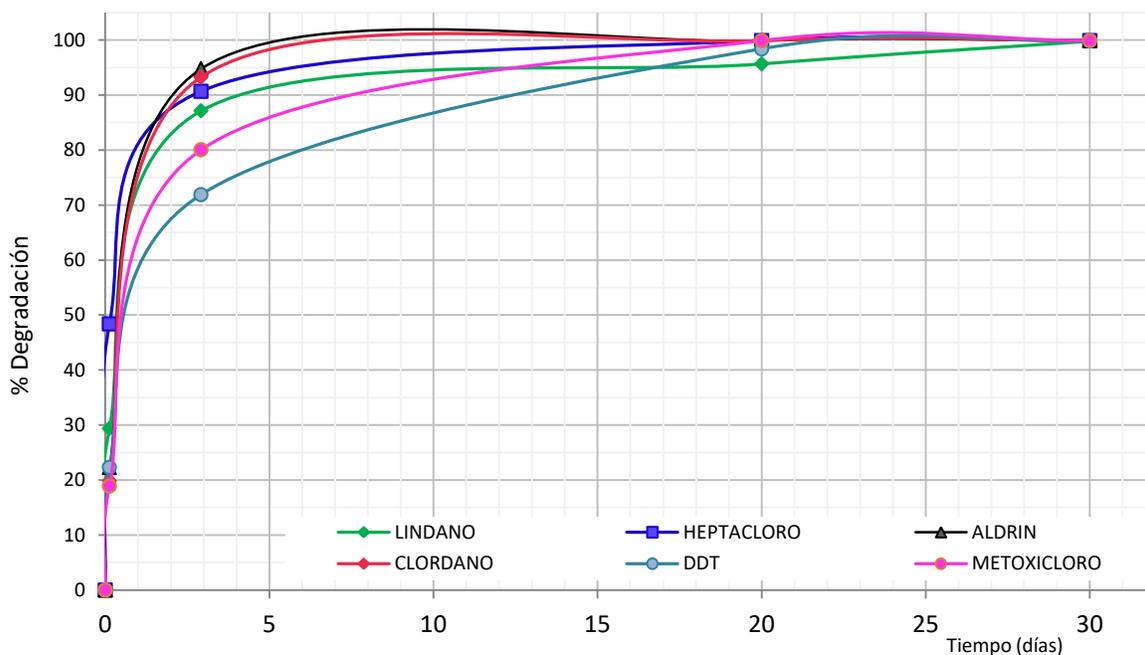


Figura 6.5- Curva de degradación de plaguicidas organoclorados en vinaza cruda, por proceso oxidativo con peróxido de hidrógeno.

En la última década se manifestó un gran interés por la búsqueda de nuevos métodos para la degradación de plaguicidas con el fin de tratar líquidos residuales o descontaminar aguas o suelos que los contienen. Esto se refleja en el gran número de publicaciones en el campo de la oxidación avanzada, con diferentes precursores de radicales hidroxilos, siendo los más usados el ozono, el peróxido de hidrógeno y las reacciones fotocatalíticas.

Waclawek y col. (2019) realizaron una extensa revisión sobre lindano (γ -hexaclorociclohexano), específicamente. El enfoque principal del artículo apunta a los métodos de tratamiento oxidativo y señalan que las vías oxidativas para la degradación del lindano siguen siendo poco conocidas. Se sabe que el radical hidroxilo favorece las reacciones de adición de hidrógeno y la deshidrogenación. Posiblemente el principal mecanismo de eliminación, mediada por radicales hidroxilos, es la deshidrogenación de hexaclorociclohexano a hexacloroclorobenceno, posteriormente, la adición del radical hidroxilo al anillo puede provocar la eliminación de los cloruros hasta alcanzar los triclorobencenos más estables. Estos clorobencenos pueden hidroxilarse aún más para formar triclorofenoles, productos estables. Debido a las altas constantes de velocidad de reacción entre los dobles enlaces aromáticos ubicados en los clorofenoles pueden eventualmente reaccionar con radicales hidroxilos, produciendo hidrocarburos alifáticos simples y finalmente dióxido de carbono y agua.

Cruz y col (2017), incluyen en sus estudios una amplia gama de pesticidas de varios tipos, entre ellos organoclorados, y afirman que son degradables por varios de los métodos de oxidación avanzada. La mayoría de los estudios incluyen combinaciones de procesos (foto-Fenton, foto- O_3 , electro-Fenton, foto-electro-Fenton, etc), su intensificación con agentes oxidantes (H_2O_2 , CCl_4 , $S_2O_8^{2-}$) y con catalizadores (TiO_2 , Au/TiO_2 , CeO_2 , SiO_2 , ZnS , ZnO), ya que aumenta la degradación de los pesticidas, permite alcanzar una mayor mineralización y disminuye los tiempos de reacción.

En muestras reales de agua, en un estudio realizado en el 2016, se comparó la efectividad de varios procesos combinando con O_3/H_2O_2 , con O_3/TiO_2 y $O_3/H_2O_2/TiO_2$ para el tratamiento de muestras obtenidas del río Ebro (España), las cuales contenían una mezcla de plaguicidas organoclorados como alaclor, aldrin, atrazine, clorpirifós, DDT, dicofol, dieldrin, diuron, endrina, lindano (γ -HCH), δ -HCH, heptacloro, isotroturon, simazina, terbutryn y trifluralin. Se determinó que la combinación $O_3/H_2O_2/TiO_2$ fue superior al proceso de ozonación directa (Raut y col., 2016).

Se investigó la aplicación de un sistema similar a Fenton, con hierro de valencia cero, EDTA y aire, para degradar DDT, DDE y DDD, en muestras reales de suelo contaminado. Este sistema resultó ser muy efectivo a temperatura ambiente, presión atmosférica y pH casi neutro, mientras que las dosis de EDTA y de catalizador fueron los factores dominantes que influyeron en la eliminación de contaminantes (Cao y col., 2013).

También se probó la eficiencia de las tecnologías oxidantes con peróxido de hidrógeno u ondas ultrasónicas, así como un proceso combinado de H_2O_2 /sonicación, en la limpieza de soluciones acuosas de pesticidas organoclorados, considerando los impactos del tiempo, pH, concentración de plaguicidas y concentración de peróxido de hidrógeno, en el carbono orgánico total y en la remoción de plaguicidas. Los resultados confirmaron la mayor efectividad de la descomposición de carbono orgánico total, cuando las ondas ultrasónicas fueron asistidas con peróxido de hidrógeno, es decir con el proceso combinado. El análisis cromatográfico reflejó que la mayoría de los plaguicidas se habían degradado por completo y no sugieren la formación de subproductos de la oxidación. (Kida y col., 2018).

Con el proceso Fenton con hierro cerivalente se logró una degradación de DDT elevada en un lapso de 3 horas (Cao y col., 2013); la degradación del lindano, mediante fotocatalisis de TiO_2 , con agregado de peróxido de hidrógeno fue del 89%, en 6 h de ensayo (Khan y col., 2019). Así, en general, en la mayoría de los estudios donde se emplea Fenton combinado con otro proceso químico, la reacción se lleva a cabo en tiempos relativamente cortos. En el presente estudio la disminución DQO, y de contaminantes orgánicos persistentes se logra en tiempos entre 3 y 5 días, pero las condiciones son diferentes, ya que no se ajusta el valor de pH, no se adiciona la cantidad de catalizador ferroso necesario (según Fenton tradicional) y además se trata de una muestra de residuo industrial con la más elevada carga orgánica e inorgánica.

La matriz juega un papel importante en la eficacia del tratamiento. Grannas y col (2012) estudiaron la influencia de la matriz en la fotodegradación de lindano y hexaclorobenceno (HCB) en aguas superficiales reales y muestras sintéticas preparadas en laboratorio. La presencia de materia orgánica estimuló la fotodegradación de hexaclorociclobenceno (HCB), pero no favoreció la degradación de lindano. Demostraron, por primera vez, la influencia de la matriz como sensibilizador para la fotodegradación de algunos compuestos organoclorados en condiciones de campo.

Las vinazas son efluentes multicomponentes, ricos en materia orgánica, en ácidos húmicos y fúlvicos y en compuestos inorgánicos, como cationes y aniones, por lo que es evidente que la matriz ejerce una influencia importante en el proceso de degradación. Por otro lado, la presencia de otros iones metálicos, como cobre, puede ser importante para explicar la eficiencia del tratamiento ensayado. Se han aplicado procesos Fenton basados en cobre para el tratamiento de aguas residuales industriales que contienen colorantes,

productos farmacéuticos y otros compuestos orgánicos recalcitrantes. Cobre se puede encontrar formando complejos (con ligandos orgánicos o inorgánicos) y en forma de compuestos inorgánicos. La coordinación de Cu con ligandos orgánicos exhibió una mayor eficiencia catalítica (99%) en un rango de pH más amplio, esto se debe principalmente al hecho que la presencia de los ligandos podría mantener Cu (II)/Cu (I) en sus formas activas disueltas para ejercer su función catalítica (Li y col., 2020).

En el Anexo de este capítulo se pueden observar los cromatogramas obtenidos en los diferentes ensayos; también en las cromatografías de muestras de vinazas tratadas no se detectan picos no identificados pudieran sugerir la formación de residuos clorado como producto de la descomposición de los PO, que pueda ser detectado por este método.

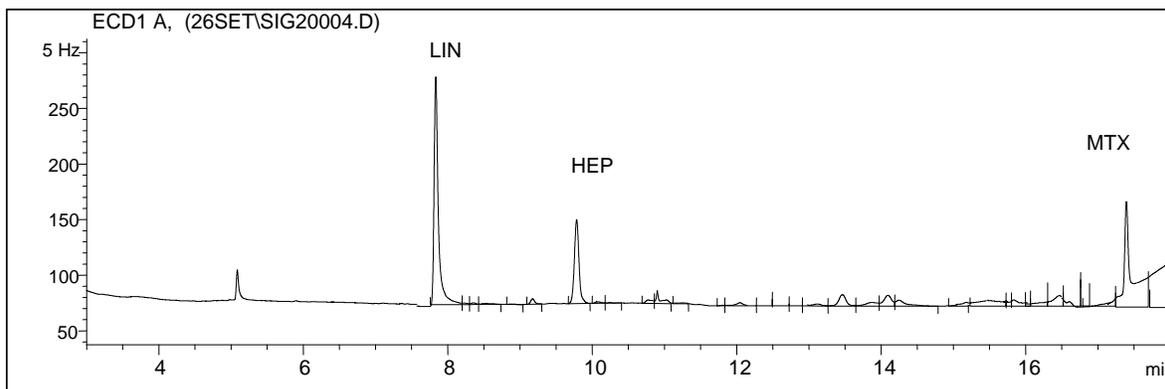
6.4 Conclusiones Parciales

- El tratamiento de vinazas con peróxido de hidrógeno, es efectivo para la degradación de plaguicidas organoclorados, y se ve favorecido por los iones metálicos presentes en la vinaza, los cuales actúan como catalizadores en reacciones tipo Fenton. Dentro de los primeros 3 días de tratamiento se destruye alrededor del 80 % de la concentración inicial de los compuestos organoclorados ensayados.
- La dilución de la muestra aparentemente no influye en alguna mejora del proceso, ya que los resultados obtenidos fueron comparables cuando se ensayó con vinaza diluida 100 veces y con vinaza cruda.
- El tratamiento de vinazas, usando peróxido de hidrógeno, ofrece una alternativa ambientalmente segura, frente a los procesos que actualmente se están aplicando y que incluyen evaporación. Con este proceso no sólo se consigue una disminución importante en la carga orgánica e inorgánica de la vinaza sino que se logra destruir contaminantes peligrosos altamente persistentes.

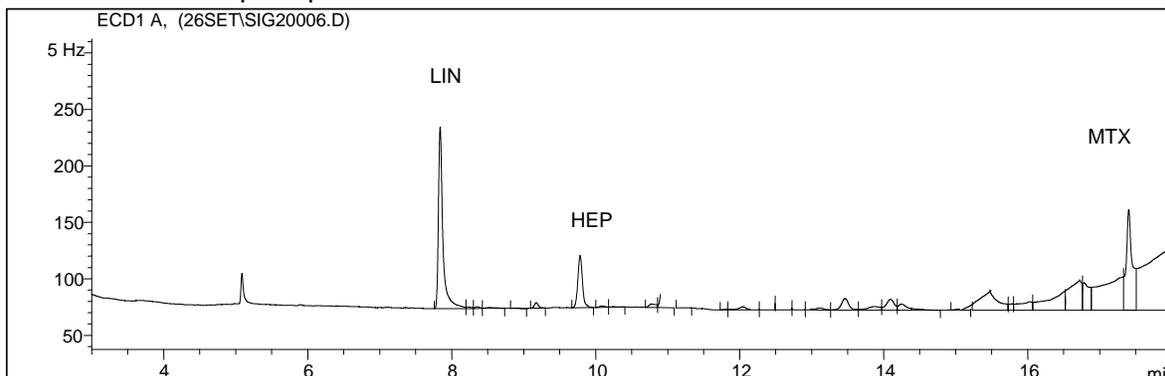
ANEXO 1- CAPÍTULO 6: CROMATOGRAMAS

Ensayos de oxidación de una solución acuosa de PO

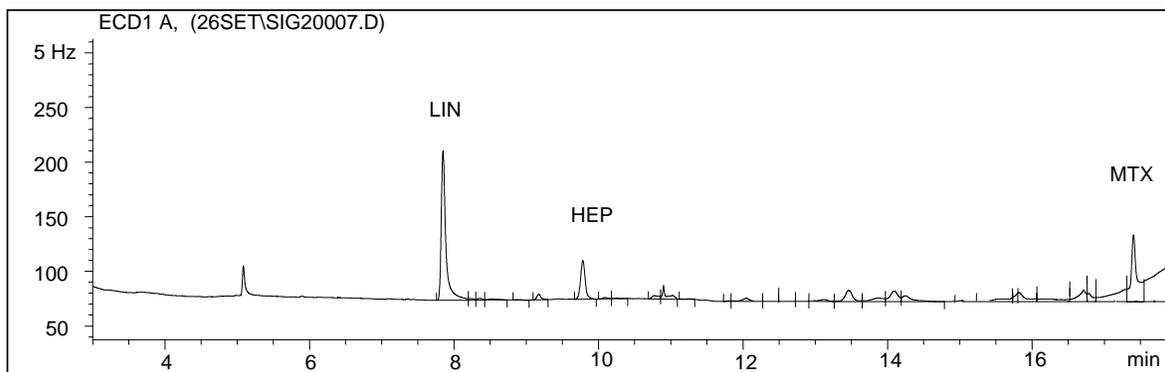
Inicial: Cromatograma 1: Concentración de PO en solución acuosa inicial, con extracción SPE.



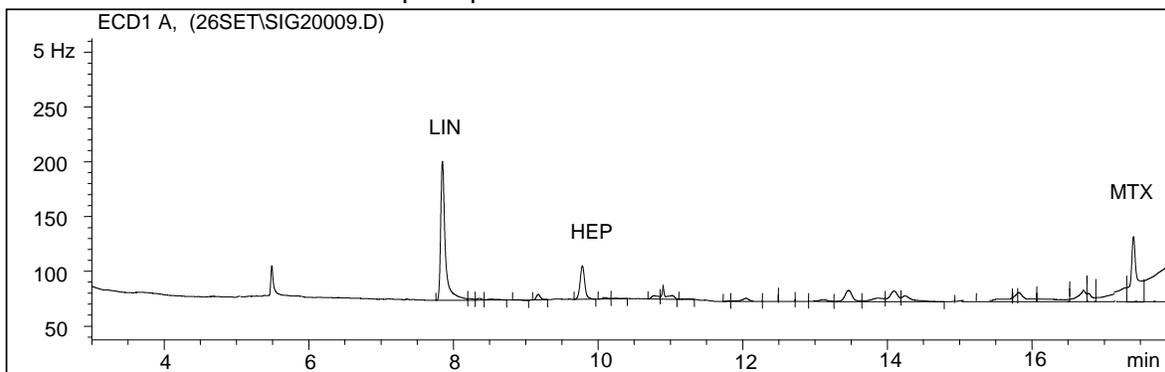
1 día de reacción: Cromatograma 2, Concentración de PO en la muestra de la solución reaccionante, transcurrido 1 día de oxidación con peróxido de hidrógeno, en condiciones ambientales. Se aplicó pretratamiento de la muestra con SPE.



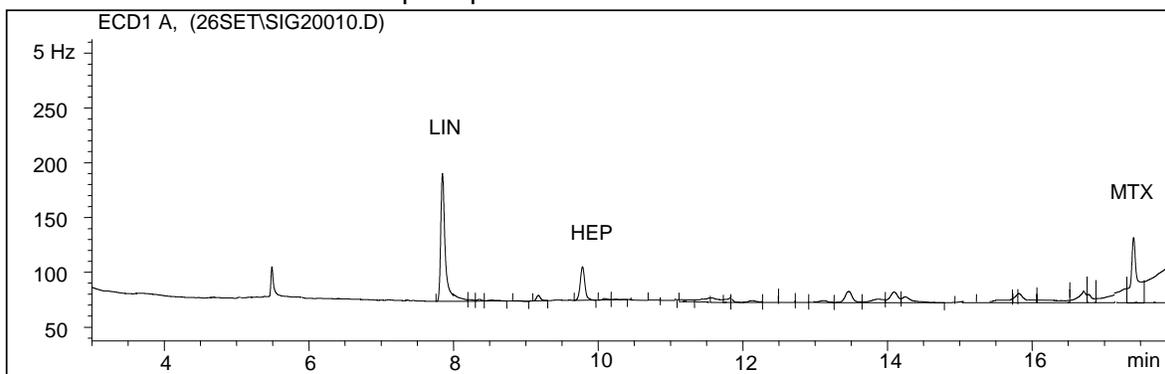
2 días de reacción: Cromatograma 3, Concentración de PO en la muestra de la solución reaccionante, transcurridos 2 días de oxidación con peróxido de hidrógeno, en condiciones ambientales. Se aplicó pretratamiento de la muestra con SPE.



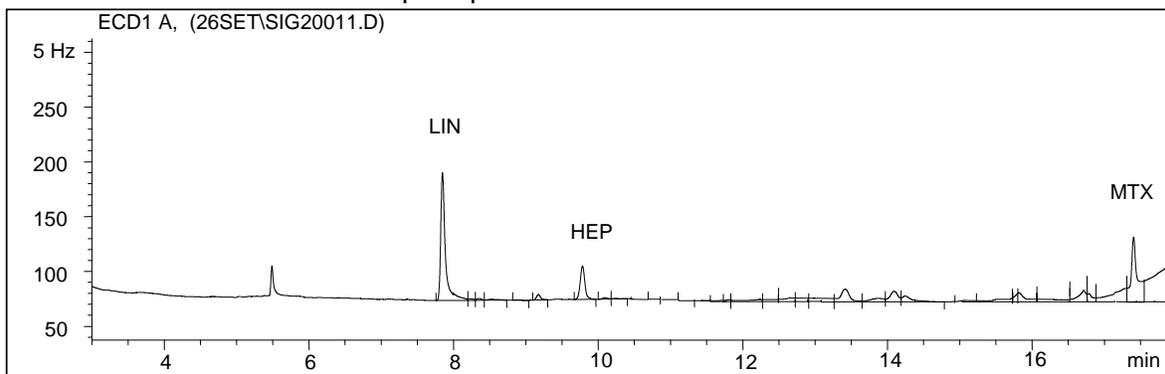
3 días de reacción: Cromatogramas 4, Concentración de PO en la muestra de la solución reaccionante, transcurridos 3 días de oxidación con peróxido de hidrógeno, en condiciones ambientales. Se aplicó pretratamiento de la muestra con SPE.



4 días de reacción: Cromatogramas 5, Concentración de PO en la muestra de la solución reaccionante, transcurridos 4 días de oxidación con peróxido de hidrógeno, en condiciones ambientales. Se aplicó pretratamiento de la muestra con SPE.



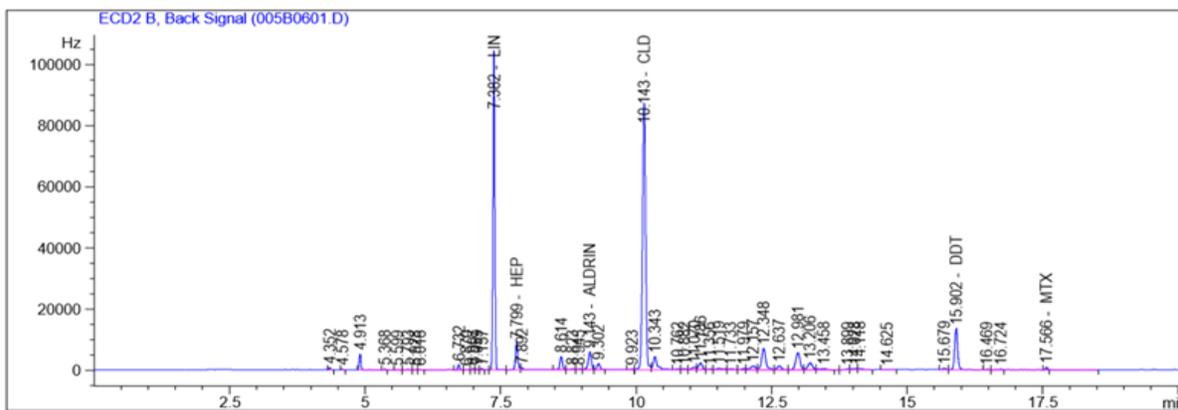
5 días de reacción: Cromatogramas 6, Concentración de PO en la muestra de la solución reaccionante, transcurridos 5 días de oxidación con peróxido de hidrógeno, en condiciones ambientales. Se aplicó pretratamiento de la muestra con SPE.



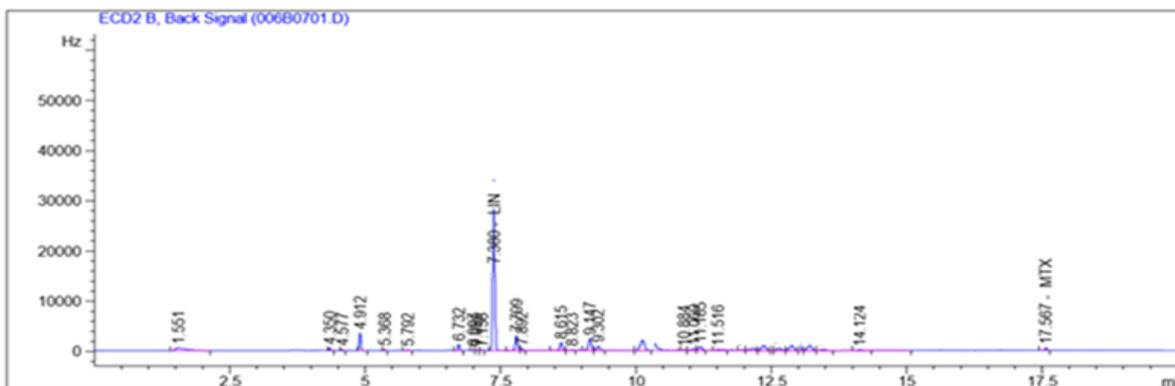
ANEXO 2- CAPÍTULO 6: CROMATOGRAMAS

Ensayos de oxidación de vinaza diluida (1:100), adicionada con PO

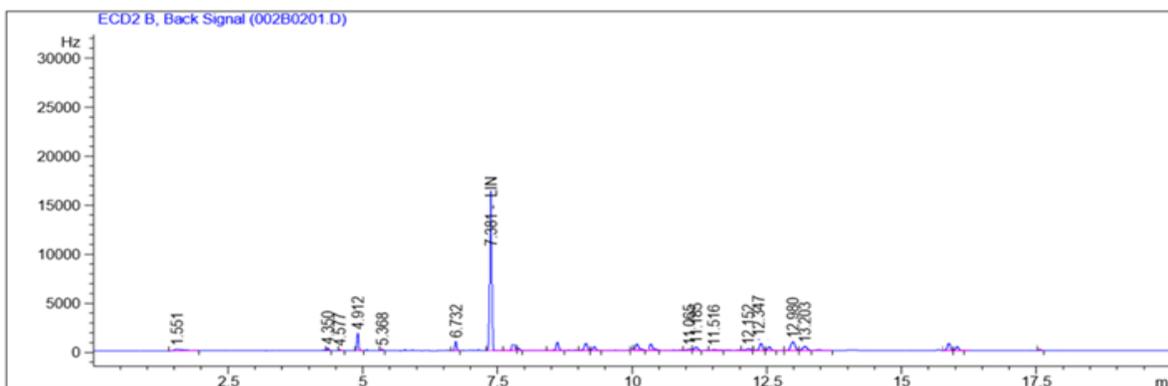
Inicial: Cromatograma de PO en vinazas diluida (1:100), envenenada con 1 mg/L de PO, se usó extracción SPE para el procesamiento de las muestras.



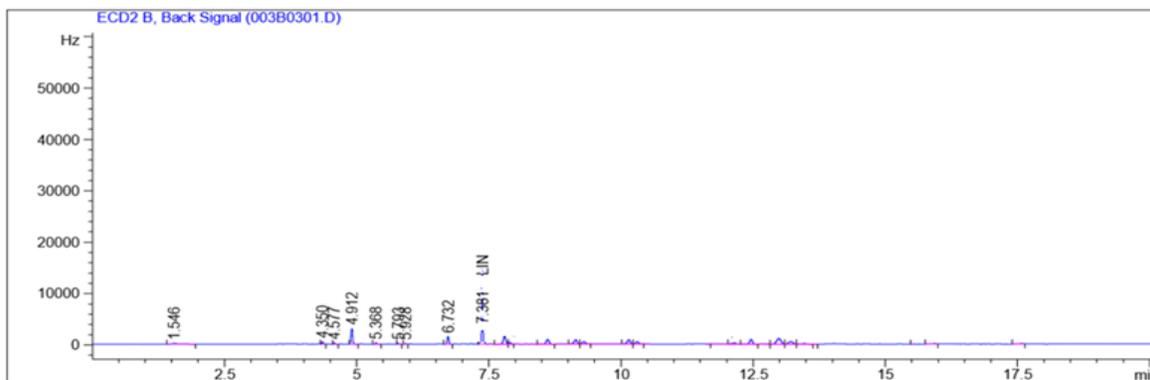
3 días de reacción: Cromatograma de PO en muestra procedente de la reacción de vinaza con peróxido de hidrógeno transcurridos 3 días de reacción. Pretratamiento de muestra con SPE.



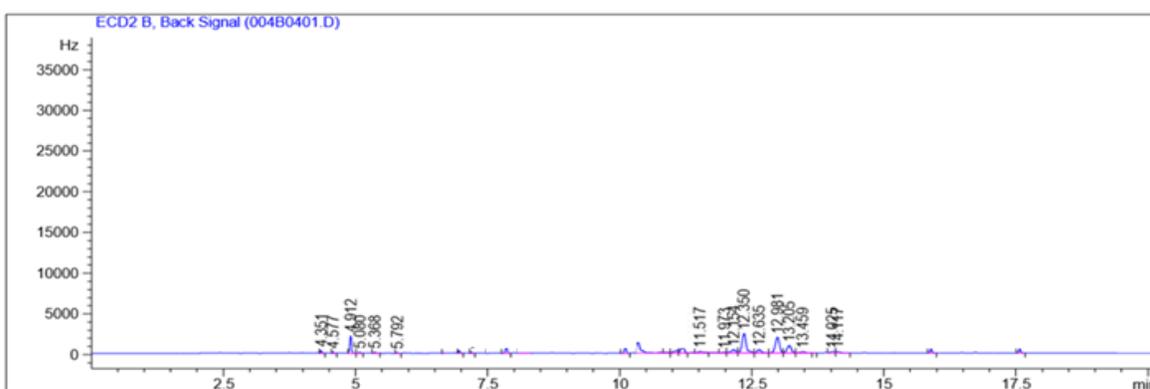
20 días de reacción: Cromatograma de PO en muestra de la reacción de vinaza con peróxido de hidrógeno, luego de 20 días de reacción. Pretratamiento con SPE.



32 días de reacción: Cromatograma de PO en muestra procedente de la reacción de vinaza con peróxido de hidrógeno transcurridos 32 días de reacción. Pretratamiento de muestra con SPE



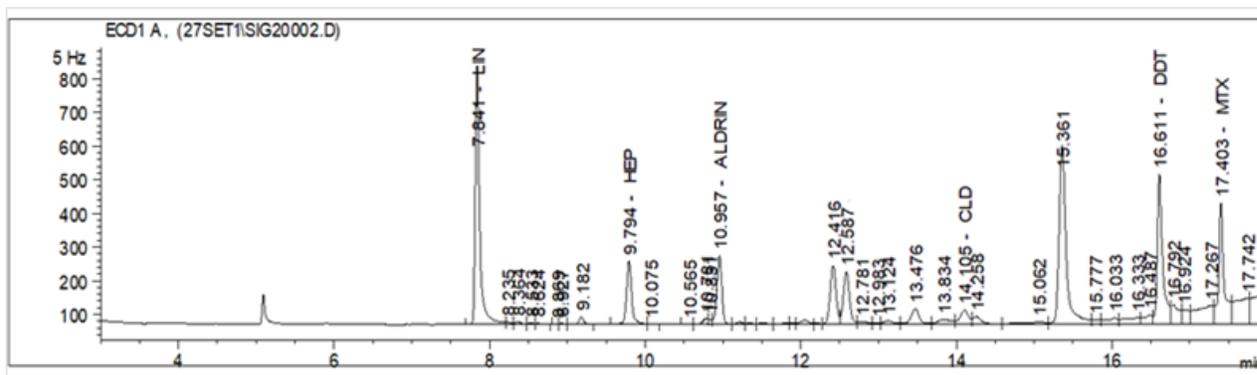
54 días de reacción: Cromatograma de PO en muestra procedente de la reacción de vinaza con peróxido de hidrógeno transcurridos 54 días de reacción. Pretratamiento de muestra con SPE



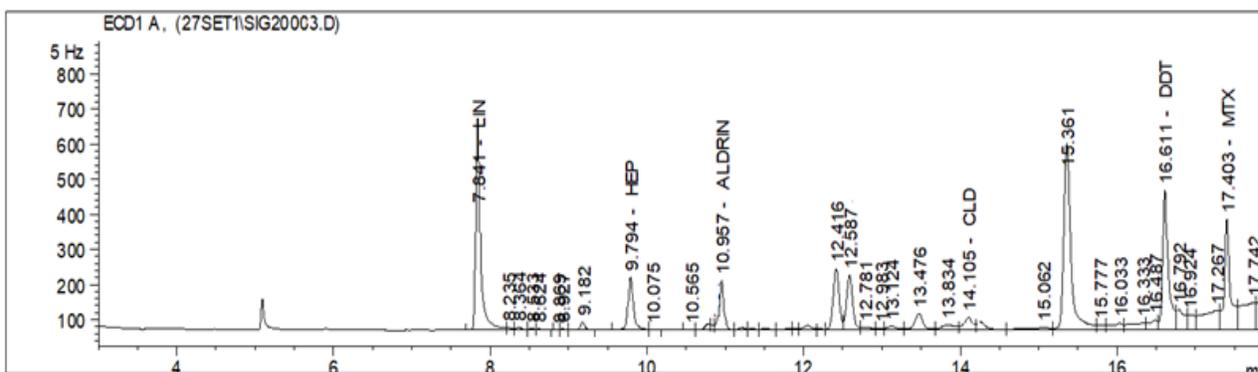
ANEXO 3- CAPÍTULO 6: CROMATOGRAMAS

Ensayo de oxidación con peróxido de hidrógeno, de vinaza adicionada con PO.

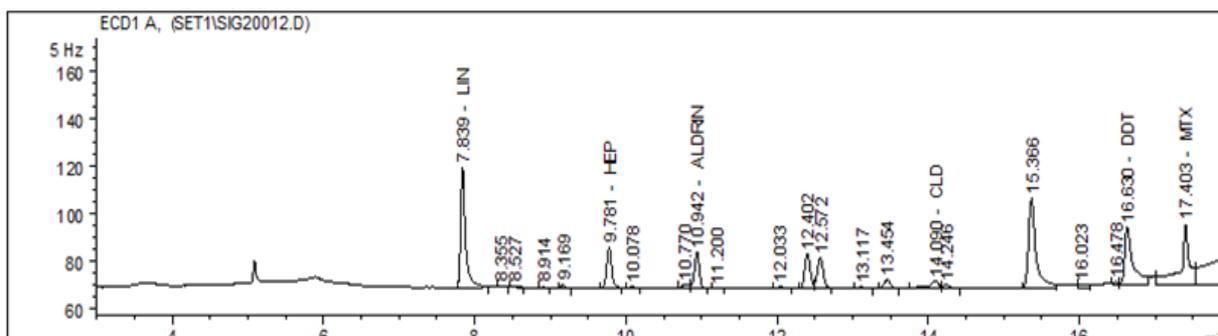
Inicial: Cromatograma de vinaza inicial, envenenada con PO, la muestra se procesó con extracción SPE



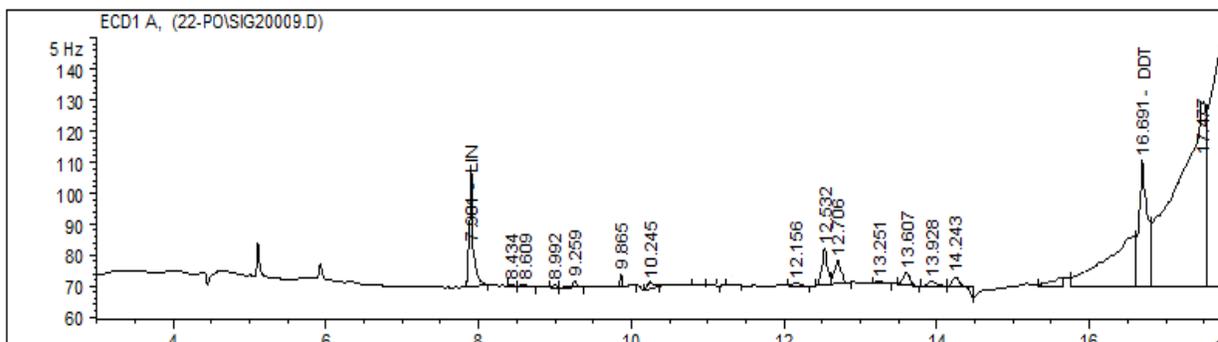
3 horas: cromatograma de una muestra extraída del seno de la reacción de oxidación de vinaza envenenada con PO, y peróxido de hidrógeno, luego de 3 horas de reacción. Se aplicó pretratamiento de extracción SPE.



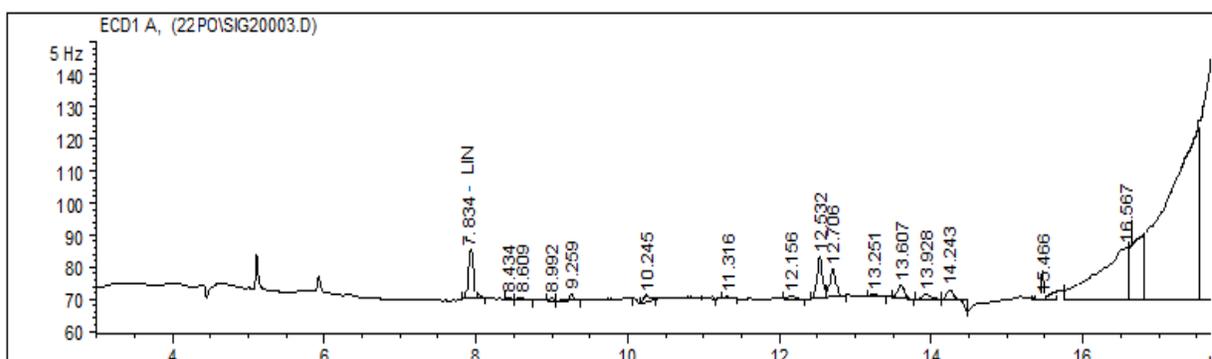
3 días: cromatograma de una muestra extraída del seno de la reacción de oxidación de vinaza envenenada con PO, y peróxido de hidrógeno, a los 3 días de reacción. Se aplicó pretratamiento de extracción SPE.



20 días: cromatograma de una muestra extraída del seno de la reacción de oxidación de vinaza envenenada con PO, y peróxido de hidrógeno, a los 20 días de reacción. Se aplicó pretratamiento de extracción SPE.

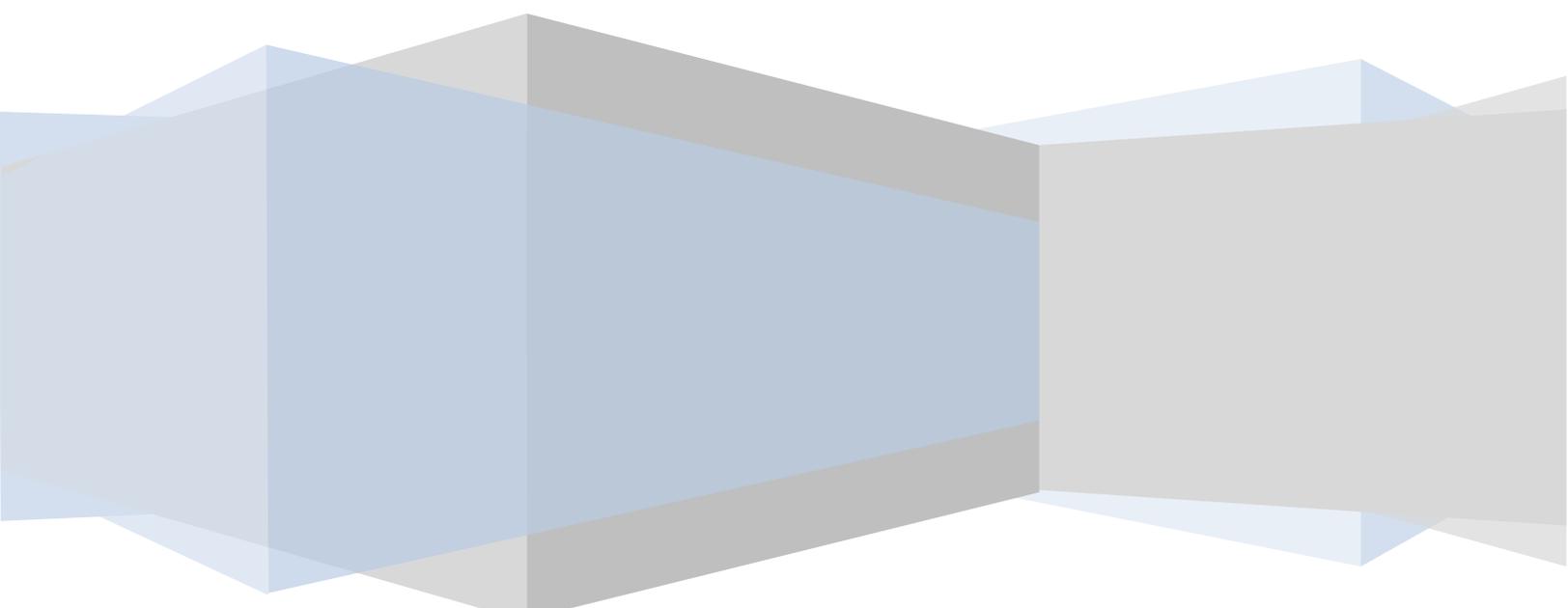


30 días: cromatograma de una muestra extraída del seno de la reacción de oxidación de vinaza envenenada con PO, y peróxido de hidrógeno, a los 30 días de reacción. Se aplicó pretratamiento de extracción SPE.





Capítulo 7



CAPITULO 7

PROPUESTA PARA DISEÑO DE PLANTA DE TRATAMIENTO DE VINAZAS

7.1 Antecedentes

En la Figura 7.1 se muestra el esquema de la producción de bioetanol de la destilería del Ingenio Leales, en la provincia de Tucumán, según la Tabla 1, durante la zafra 2017-2018, tuvo una producción de etanol de 12.754,26 m³. Por lo que, en el mismo período, la generación de vinaza de de 165.805,38 m³ (13 L de vinaza por 1 L etanol).

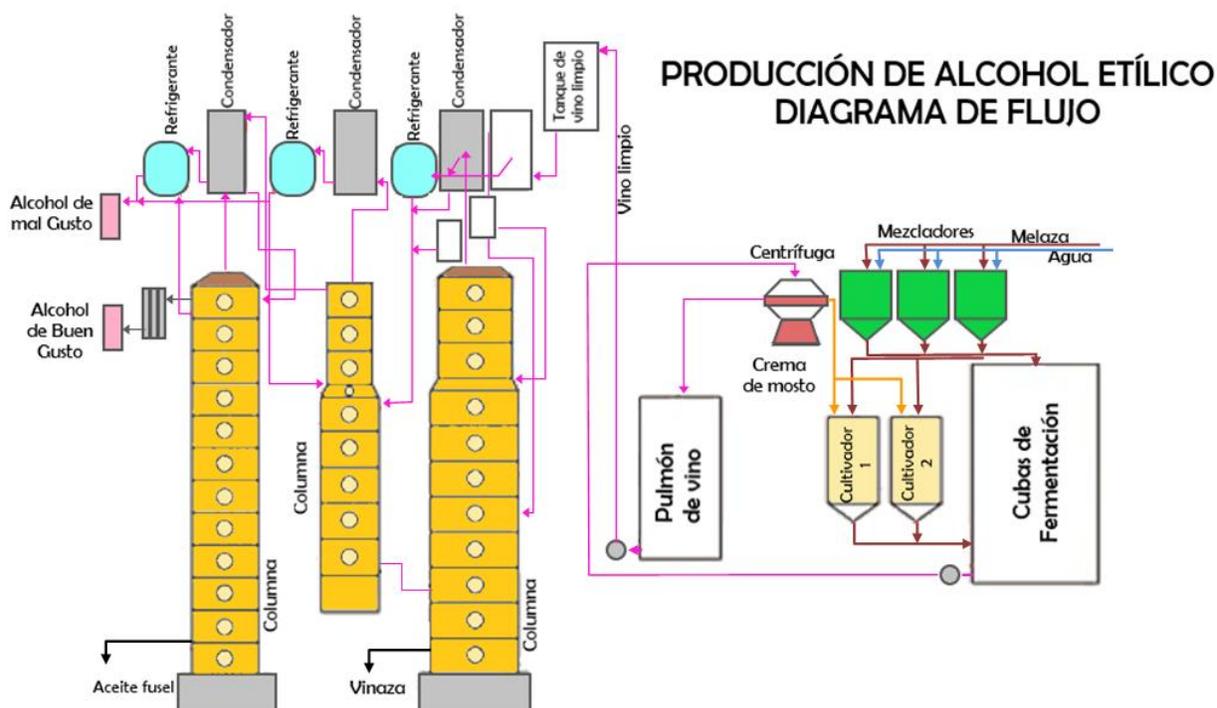


Figura 7.1- Esquema de la producción de etanol. Fuente: destilería Ing. Leales.

<http://www.ingenioleales.com/nota.php?id=10>

Los procesos de oxidación han resultado efectivos para el tratamiento de aguas residuales conteniendo distintos compuestos orgánicos de difícil degradación por tratamientos biológicos convencionales. En la Tabla 7.1 se muestran algunos ejemplos de instalaciones donde se han aplicado tratamientos basados en el proceso Fenton o algunas de sus combinaciones, para la reducción de la carga contaminante de sus efluentes.

Tabla 7.1: Ejemplos de aplicación de procesos Fenton para tratamiento de aguas residuales de diferentes industrias y tipos de reactores usados.

Industria	Tipo de agua residual
Textil	Efluentes del procesamiento textil., conteniendo principalmente colorantes y agentes de lixiviación (Bae y col., 2015)
Farmacéutica	Aguas residuales con alto contenido de antibióticos, tratamiento foto-Fenton solar en reactores de estanques de canalización, a pH neutro (Fiorentino y col., 2019).
Papelera	Aguas residuales provenientes del blanqueo de una planta de celulosa kraft (DQO= 32mm mg/L), tratamiento con proceso foto-Fenton para la eliminación de halógenos orgánicos adsorbibles (AOX), en un fotoreactor de cuarzo tipo tanque discontinuo, logrando una eliminación del 90% de AOX, eliminación de color y una mayor biodegradabilidad. (Peres y col., 2020).
Petroquímica	De la refinería de petróleo, compuestos fenólicos. (USP technologies TM, 2015)
Química	Contenido en compuestos fenólicos (US Peroxide, LLC 2009). Efluentes de industria química con DQO de 7000 mg/L, usando un reactor de burbujeo para proceso foto-Fenton (Lima y col., 2020)
Maderera	De las instalaciones de tratamiento de madera, fenoles, naftoles y cresoles. (US Peroxide, LLC, 2009).
Aeronáutica	De la pintura, trazado de líneas y mantenimiento de aeronaves, cloruro de metileno, pentaclorofenol y nitrofenoles. (US Peroxide LLC, 2009).
Producción de aceite de oliva	De almazaras, compuestos fenólicos y alto pH debido al uso de soda cáustica para la limpieza de la maquinaria. (Amaral Silva y col., 2016).
Producción de detergentes	Del proceso, con gran cantidad de sólidos suspendidos totales y surfactantes (Martins y col., 2011).

Como ya se expresó, las vinazas representan una problemática regional que urge soluciones amigables con el ambiente. Las tecnologías de tratamiento biológico son los métodos más extendidos para el tratamiento de contaminantes orgánicos, pero la mayoría

de los procesos requieren mucho tiempo, grandes áreas de terreno y son ineficaces para la degradación de contaminantes tóxicos y no biodegradables. Si bien los procesos tipo Fenton, como uno de los procesos de oxidación avanzados típicos, es un método eficaz para oxidar completamente los contaminantes orgánicos persistentes en aguas residuales, presentan la desventaja de ser costosos y consumir mucha energía (Wang y col., 2016).

La tendencia actual es considerar que la vinaza no es un residuo, sino un subproducto de la industria sucroalcoholera, con lo que se busca darle una utilidad que le confiera valor, para el aprovechamiento de sus constituyentes.

Desde hace muchos años se buscan alternativas para el aprovechamiento de la vinaza, ya sea para el uso agrícola como riego y compostaje, biodigestión anaeróbica para la obtención de biogás y la concentración para su posterior quema en calderas o bien su uso como fertilizante (Figura 7.2). La transformación de la vinaza puede realizarse de distintas maneras, mediante procesos que podemos llamar primarios y que, en sí mismos, no llegan a resolver todo el problema. Por este motivo se hace necesario la combinación de dos o más de ellos para lograr convertir a la vinaza en subproductos (Morandini y Quaia, 2013).

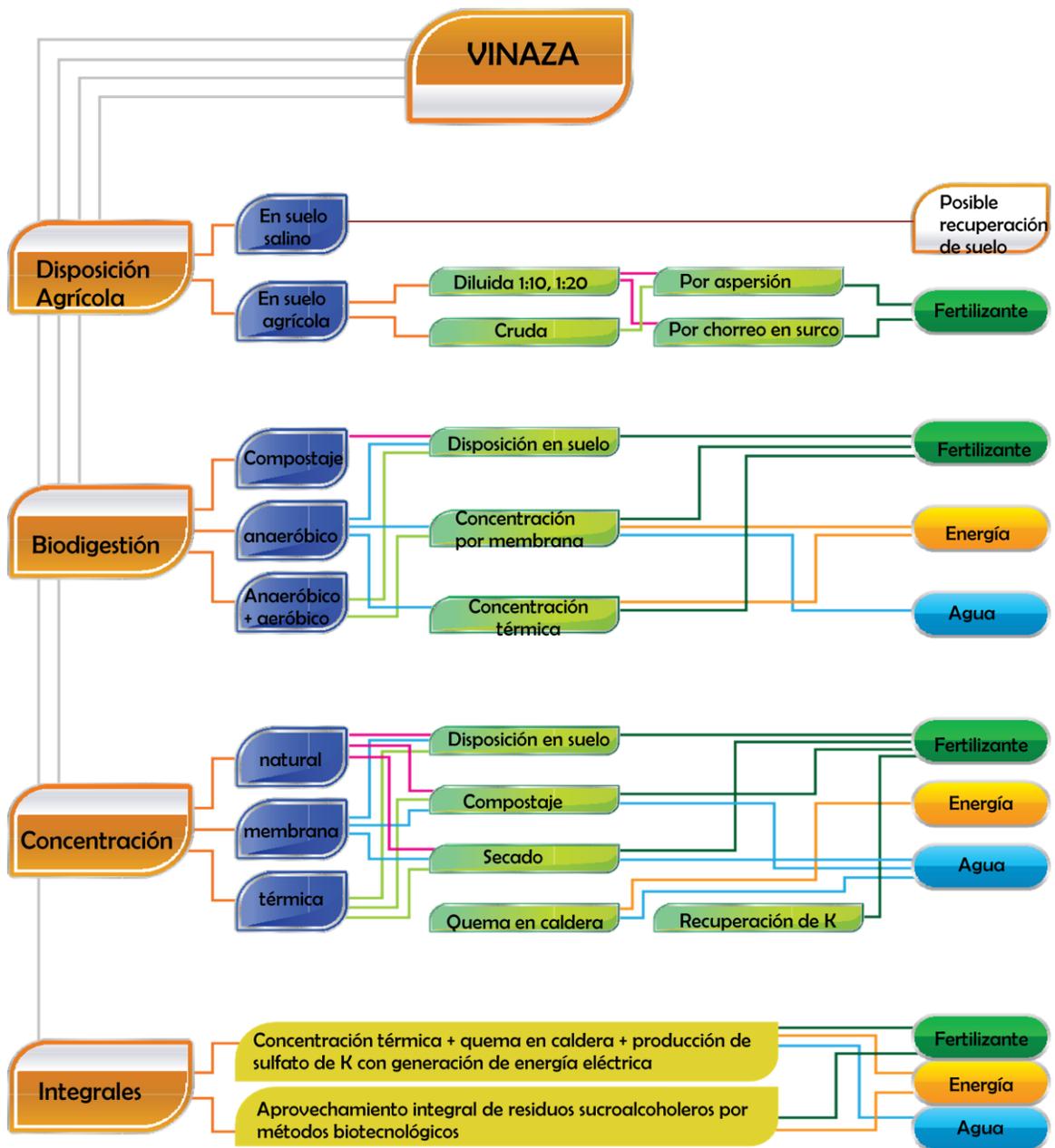


Figura 7.2- Resumen de las alternativas de tratamiento para la vinaza y combinaciones de tecnologías existentes en aplicación o bien en proyectos (Morandini y Quaia, 2013).

7.2 Cálculos de diseño para el tratamiento de vinazas por oxidación

En el diseño conceptual del proceso de tratamiento de vinaza mediante oxidación química se realizaron algunos cálculos preliminares partiendo de los resultados experimentales obtenidos. En la Figura 7.3 se muestra un diagrama de bloques con las corrientes de entrada y salida del proceso.

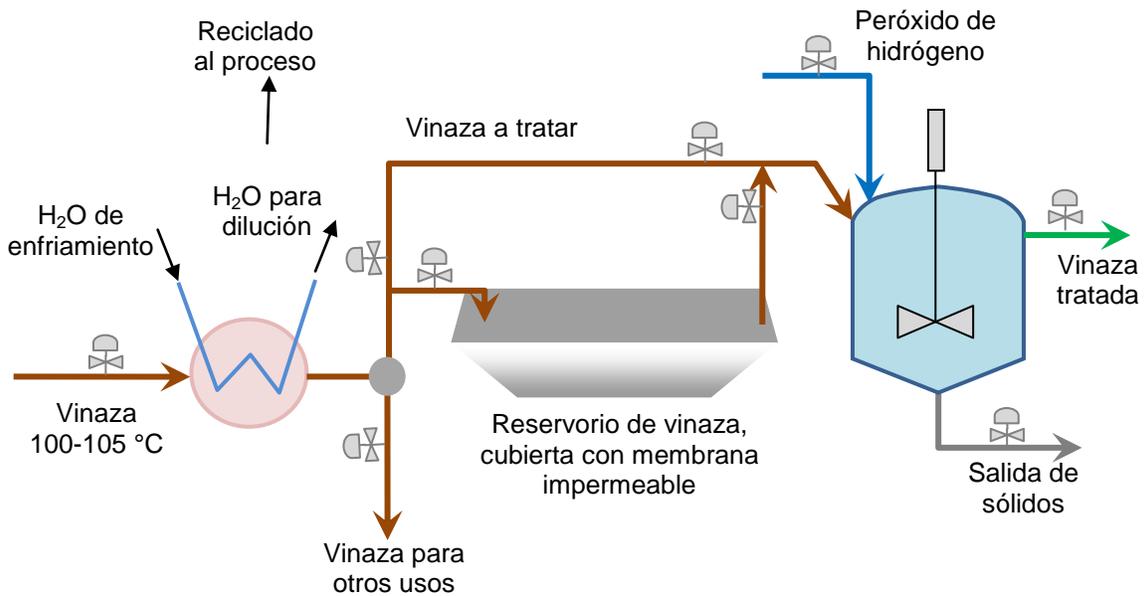


Figura 7.3- Esquema del diseño de proceso de tratamiento de vinaza por oxidación.

De acuerdo a lo descrito en el ítem 1.2.2, la vinaza abandona la columna de destilación a una temperatura mínima de 100°C y máxima de 105 °C. Sin embargo, a temperaturas superiores a 60°C el peróxido de hidrógeno se descompone, ocasionando la pérdida de una importante fracción de reactivo, por lo tanto, la vinaza no puede ser alimentada al reactor directamente a la temperatura de salida de la columna de destilación, considerando conveniente disminuir su temperatura con equipos de intercambio de calor, aún si parte de la vinaza se deriva a otras técnicas de tratamiento. En algunas instalaciones se almacena en depósitos tipo pileta sobre el suelo natural, pero se necesita destinar amplias áreas de terreno para éste fin y el enfriamiento es muy lento, con el riesgo de ocasionar infiltraciones en el terreno.

Se propone un sistema de enfriamiento de vinazas con un intercambiador de calor que use agua como refrigerante, tal que la corriente de salida de agua caliente podría emplearse para alimentar el depósito de melaza y lograr la dilución necesaria antes del ingreso a los fermentadores.

Si fuera necesario, dependiendo de la producción, la vinaza enfriada se dispone en un reservorio cubierto por una geomembrana. Estas se fabrican de combinaciones de polímeros termoestables o termoplásticos; su principal función es servir como una barrera impermeable y resistente para evitar filtraciones no deseadas. Las más usadas son de Polietileno de Alta Densidad (HDPE) de 1,5 mm de espesor. Es importante la preparación del suelo a ser cubierto con la membrana ya que la superficie debe estar lisa, sin protuberancias, cubierto por material drenante de 10 a 15 mm, con alta permeabilidad, sobre suelo compactado (Gil, 2014). (Figura 7.4).



Figura 7.4- Construcción de lagunas de oxidación con geomembranas. Fuente: Grupo TDM. <http://www.tdm.com.pe/soluciones-impermeabilizacion-lagunas-de-oxidacion.php>

7.3 Elección del tipo de reactor

La selección del tipo de reactor tiene por objeto maximizar el rendimiento material y energético de la planta, para ello se debe considerar (Fogler, 2001):

- El modo de tratamiento de la carga: continuo, discontinuo, semicontinuo
- La evolución en el tiempo del contenido del reactor: régimen estacionario o transitorio
- El modelo de flujo: mezclado perfecto, flujo pistón, real.
- Contacto entre las fases: homogéneo, heterogéneo.
- Selección del material de construcción

En el caso del reactor para tratamiento de vinazas con peróxido de hidrógeno se trata de una reacción homogénea, ya que la reacción se lleva a cabo en fase líquida. Se propone un reactor del tipo Tanque Agitado Continuo (TAC), en régimen estacionario, donde se cumple la hipótesis de mezclado perfecto, debido al elevado volumen de efluente a tratar, teniendo en cuenta que los reactores discontinuos (TAD) se aconsejan para cargas relativamente pequeñas.

7.4 Ecuaciones de diseño del reactor TAC

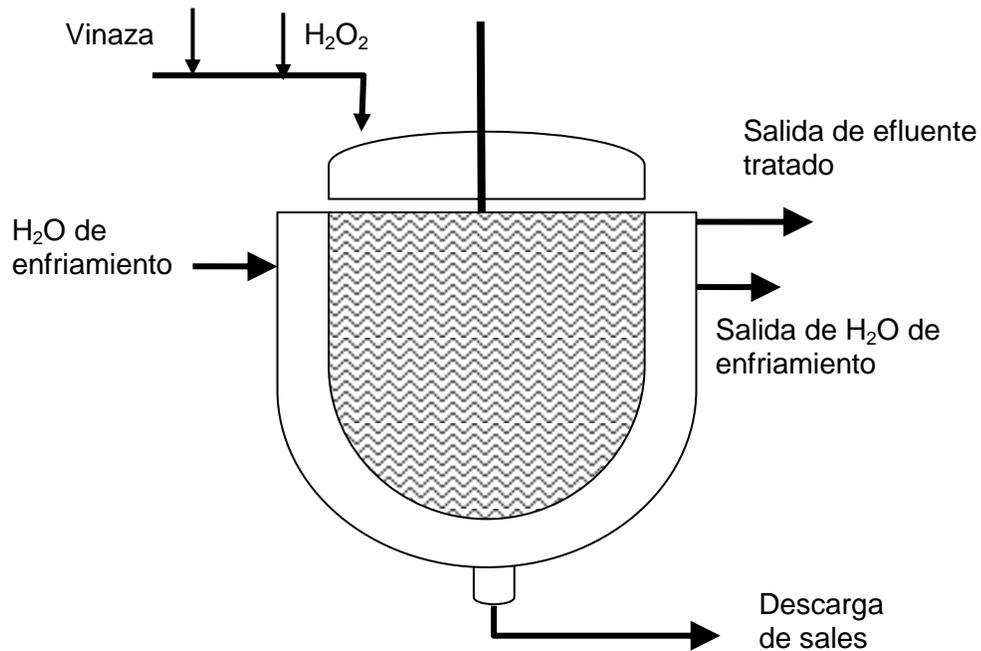


Figura 7.5- Esquema de un reactor Tanque Agitado Continuo (TAC), para tratamiento de vinaza por oxidación con peróxido de hidrógeno.

La reacción, en las condiciones de trabajo, es levemente exotérmica y un aumento de la temperatura provocaría la descomposición del peróxido de hidrógeno, por lo tanto, el

reactor estará provisto de una camisa refrigerante tal que opere en forma isotérmica entre 25 y 30 °C (Figura 7.5).

Se cumple la hipótesis de mezclado perfecto, todas las variables son iguales en todos los puntos del interior del reactor, y son las mismas en la corriente de salida. (Fogler, 2001).

Ecuación de cinética:

$$r = k \cdot C^n \quad \text{Ecuación 7.1}$$

Ecuación de Diseño:

$$M_{\text{ingresa}} - M_{\text{salida}} + M_{\text{generada}} = M_{\text{acumulada}}$$

$$Q \cdot C_0 - Q \cdot C - r \cdot V = 0 \quad \text{Ecuación 7.2}$$

Donde:

Q: caudal total

C₀: Concentración inicial (DQO inicial)

C: Concentración de salida (DQO final)

r: velocidad de la reacción

V: volumen del reactor

Expresión de conversión, en función de DQO:

$$x = \frac{C_0 - C}{C_0} \quad x = \frac{DQO_0 - DQO}{DQO_0}$$

Despejando DQO:

$$DQO = DQO_0(1 - x)$$

Reemplazando en la ecuación 7.2 :

$$Q \cdot DQO_0 - Q \cdot DQO_0(1 - x) - k DQO_0(1 - x) \cdot V = 0$$

Despejando Volumen del reactor:

$$V = \frac{Q \cdot x}{k(1-x)} \quad \text{Ecuación 7.3}$$

Esta ecuación permitió el cálculo del volumen del reactor TAC para el dimensionado, en función del caudal de vinaza a tratar y de la conversión deseada.

Para la definición del caudal de efluente, se consideró la destilería de la Figura 7.1, que en el año 2018 produjo un volumen de vinaza de alrededor de 112.000 m³, lo que significa 300 m³/día. Se consideró una tercera parte del caudal para ser tratado por oxidación, es decir que el caudal a tratar será de 100 m³/día de vinaza. Se considera conveniente prever que parte de la vinaza pueda ser derivada a otras técnicas de tratamiento como ser compost o concentración y quema en caldera, con generación de energía eléctrica, presentan la ventaja de devolver nutrientes al suelo, y aportar flexibilidad en caso de mayor generación de vinaza que lo esperado.

7.5 Cálculo del volumen del reactor para diseño en paralelo

Para el diseño de la planta, se consideró que el caudal total de 100 m³/día de vinaza cruda se divide en 4 ramas en paralelo, de manera tal que la planta tenga la posibilidad de tratar en cada reactor un caudal aproximado de 25 m³/día. Esto traería como ventaja 4 reactores en paralelo de menor volumen y la instalación tendrá la posibilidad de tratar diferentes caudales según la producción de vinaza, es decir 50 m³/día, 75 m³/día o 100 m³/día. Considerando una conversión de 60%, según la ecuación 7.3, se calculó el volumen de cada reactor (Figura 7.6).

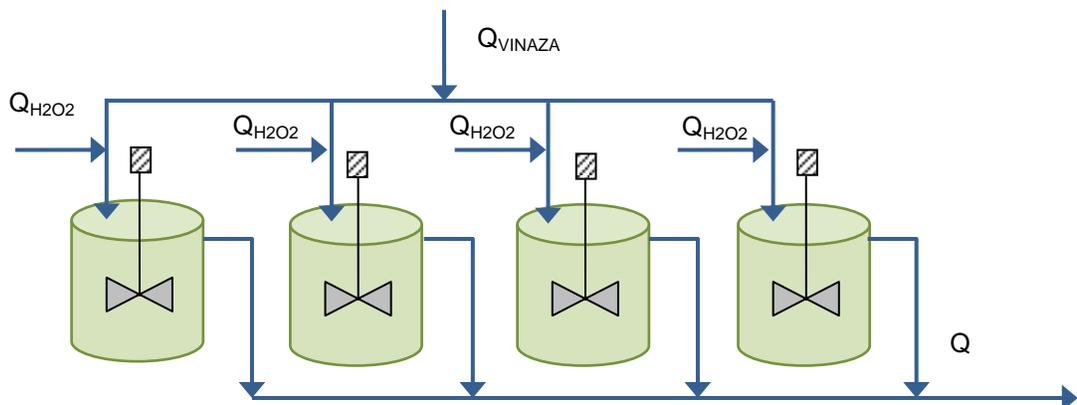


Figura 7.6- Reactores TAC conectados en paralelo

Caudal de vinaza en cada reactor: 25 m³/día.

Caudal de peróxido de hidrógeno: En el capítulo 5, ítem 5.3 se definió el cálculo de la cantidad óptima de oxidante, en función del valor de DQO inicial y del volumen de vinaza a tratar (ecuación 5.5). La solución de peróxido de hidrógeno para uso industrial se distribuye a una concentración del 50 %.

$$V(mL) = \frac{DQO_i \left(\frac{mg}{L}\right) \cdot V_v(L)}{\% \frac{m}{V} \left(\frac{g}{mL}\right) \cdot 4,7 \left(\frac{mg}{g}\right)}$$

$$Q_{H_2O_2} \left(\frac{L}{día}\right) = \frac{90800 \left(\frac{mg}{L}\right)}{50 \left(\frac{g}{mL}\right) \cdot 4,7 \left(\frac{mg}{g}\right)} \cdot 25000 \left(\frac{L}{día}\right) \cdot \frac{L}{1000 mL} = 9659 \left(\frac{L}{día}\right)$$

$$Q_{H_2O_2} \left(\frac{m^3}{día}\right) = 9,7$$

Considerando una conversión del 60 %, el volumen del reactor

$$V = \frac{Q \cdot X}{k(1-X)} = \frac{(25 + 9,7) \frac{m^3}{día} \times 0,60}{0,3694 \frac{1}{día} \times (1 - 0,60)} = 140 m^3$$

El tiempo de residencia se calculó como el cociente entre el volumen del reactor y el caudal:

$$\theta = \frac{V}{Q} = \frac{140 m^3}{35 \frac{m^3}{día}} = 4 \text{ días}$$

Este diseño implica 4 reactores de 140 m³, dispuestos en paralelo, que representan un volumen total de 560 m³, con un tiempo de residencia de 4 días, para tratar un caudal de vinaza de 100 m³/día.

7.6 Cálculo del volumen del reactor para diseño en serie

Se plantea la operación de cuatro reactores de igual tamaño operando en serie a la misma temperatura (Figura 7.7).

Caudal de vinaza en cada reactor: $100 \text{ m}^3/\text{día}$

Caudal de peróxido de hidrógeno: $38,63 \text{ m}^3/\text{día}$ (Ecuación 5.5).

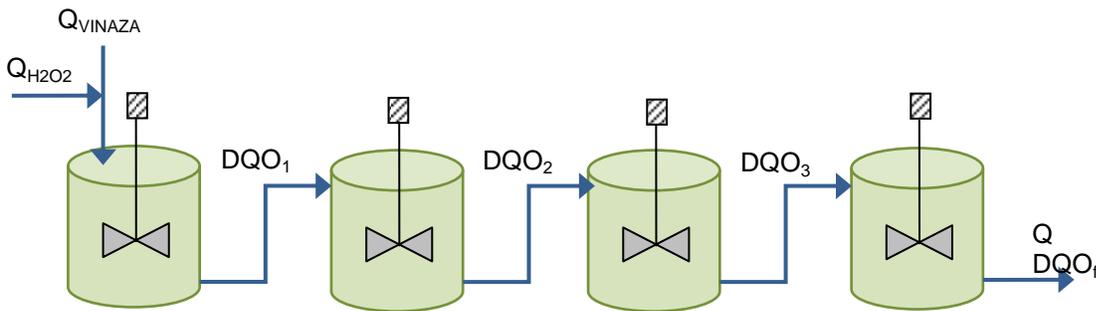


Figura 7.7- Reactores TAC en serie

Balance en el reactor 1:

$$Q \cdot DQO_i - Q \cdot DQO_i(1 - X_1) - r_1 \cdot V_1 = 0$$

$$Q \cdot DQO_i(X_1) = r_1 \cdot V_1$$

El Tiempo de residencia se calculó con la siguiente ecuación:

$$\frac{V}{Q} = \theta = \frac{X_1}{k \cdot (1 - X_1)}$$

Despejando X_1 y expresando DQO_1 en términos de X_1

$$DQO_1 = DQO_i(1 - X_1) = DQO_i \frac{1}{1 + \theta_1 k_1}$$

De la misma forma, planteando el balance para el reactor 2:

$$DQO_2 = DQO_1 \frac{1}{1 + \theta_2 k_2} = DQO_1 \frac{1}{1 + \theta_2 k_2} \cdot \frac{1}{1 + \theta_1 k_1}$$

Como operan a temperatura constante y los caudales son los mismos (Ramírez y Hernández, 2015):

$$DQO_2 = DQO_1 \frac{1}{(1 + \theta \cdot k)^2}$$

De igual forma para los reactores 3 y 4

$$DQO_3 = DQO_1 \frac{1}{(1 + \theta \cdot k)^3}$$

$$DQO_4 = DQO_1 \frac{1}{(1 + \theta \cdot k)^4}$$

Conocido DQO_4 , DQO_i y k , se puede calcular el tiempo de residencia, sabiendo que se quiere lograr una reducción del 60% de la DQO inicial

$$\theta = \frac{\sqrt[4]{\frac{DQO_i}{DQO_4}} - 1}{k}$$

$$\theta = 0,7 \text{ días}$$

$$V = \theta \cdot Q = 0,7 \text{ días} \cdot 138,63 \frac{m^3}{\text{día}} = 97 m^3$$

Estos resultados indicaron que para lograr una remoción del 60 % de DQO, es necesario disponer de 4 reactores de 97 m³, conectados en serie, con un tiempo de residencia de 0,7 días, lo que constituye un volumen total de 388 m³.

Para verificar si el número de reactores es óptimo para lograr la conversión deseada, en la Figura 7.8 se graficó el volumen total de reactores en función del número de reactores del diseño, cuando éstos se conectan en serie. Se pudo observar que a partir de 4 reactores la curva comienza a achatarse de manera que la disminución en el volumen total no es significativa al incrementarse el número de reactores.

Si se trabaja con 3 reactores en serie, el volumen de cada uno será de 133 m³, tal que el volumen total efectivo sería de 400 m³, lo que implica poca diferencia entre 4 reactores de 97 m³, el tiempo de residencia en cada reactor aumenta a 1 día.

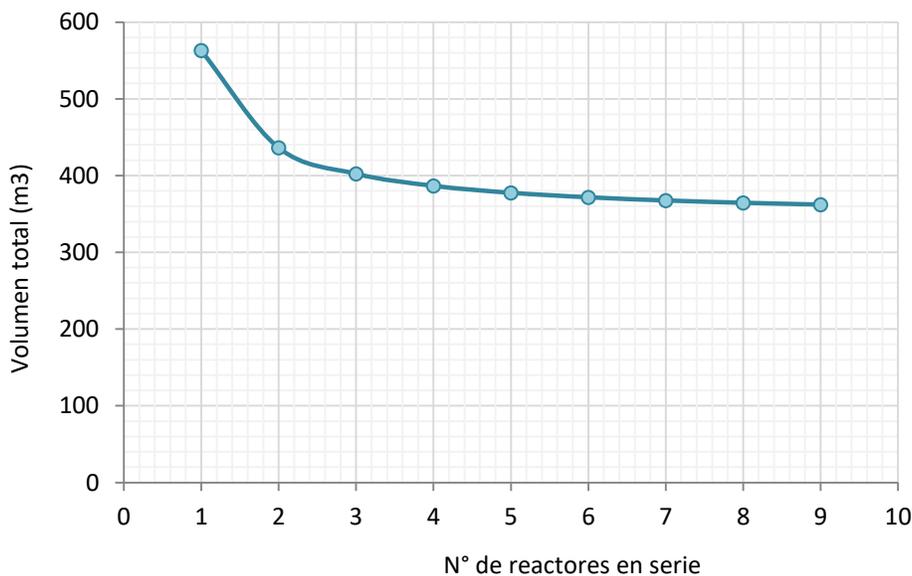


Figura 7.8- Gráfica de reactores en serie en función del volumen total de los mismos, para oxidación de vinazas con peróxido de hidrógeno.

En síntesis, puede observarse que resulta más conveniente la disposición en serie, ya que el volumen de cada reactor es menor, igual que el tiempo de residencia (Tabla 7.2).

Tabla 7.2- Variables de diseño para operación de reactores TAC en serie y en paralelo

DISEÑO	Q vinaza (m ³ /día)	Q H ₂ O ₂ (m ³ /día)	Volumen de reactor	Volumen total	Tiempo de residencia
4 reactores en paralelo	25 x 4	9,7 x 4	140 m ³	560 m ³	4 días
4 reactores en serie	100	38,6	97 m ³	388 m ³	0,7 días x 4= 2,8 días
3 reactores en serie	100	38,6	133 m ³	399 m ³	1 día x 4= 4 días

El diseño propuesto puede adicionarse a la planta existente, como un anexo, y evitar el traslado de grandes volúmenes de vinaza a disposición final. Este cálculo es estimativo, pero refleja la viabilidad del proyecto, quedan algunos aspectos a tener en cuenta antes de pasar a la escala industrial.

Es necesario realizar un análisis económico del proyecto, para definir la opción conveniente, pero se vislumbra que puede resultar económicamente factible, ya que sólo se consume un reactivo adicional (peróxido de hidrógeno) y se aprovecha el contenido de iones metálicos en las vinazas capaces de catalizar reacciones de oxidación a pH mayores que 5.

7.7 Consideraciones finales

Los cálculos realizados son preliminares y permiten tener una idea de las dimensiones de las instalaciones para el tratamiento de vinazas. Aún es necesario realizar ensayos en escala piloto y analizar los resultados, para lograr un escalado factible de aplicar en la industria.

Si bien, en el presente estudio se muestran los resultados alcanzados en los ensayos de oxidación con peróxido de hidrógeno sobre un tipo de vinaza, en el marco del proyecto en el cual se encuadra esta tesis, se llevaron a cabo pruebas de oxidación sobre vinazas diferentes, logrando reproducir los valores de remoción de DQO, con variaciones leves, pero la eficacia del proceso depende de la matriz, es decir que la presencia de componentes de la matriz favorecen la reacción de oxidación, por lo tanto se deben realizar pruebas de laboratorio con cada efluente para determinar las condiciones óptimas.

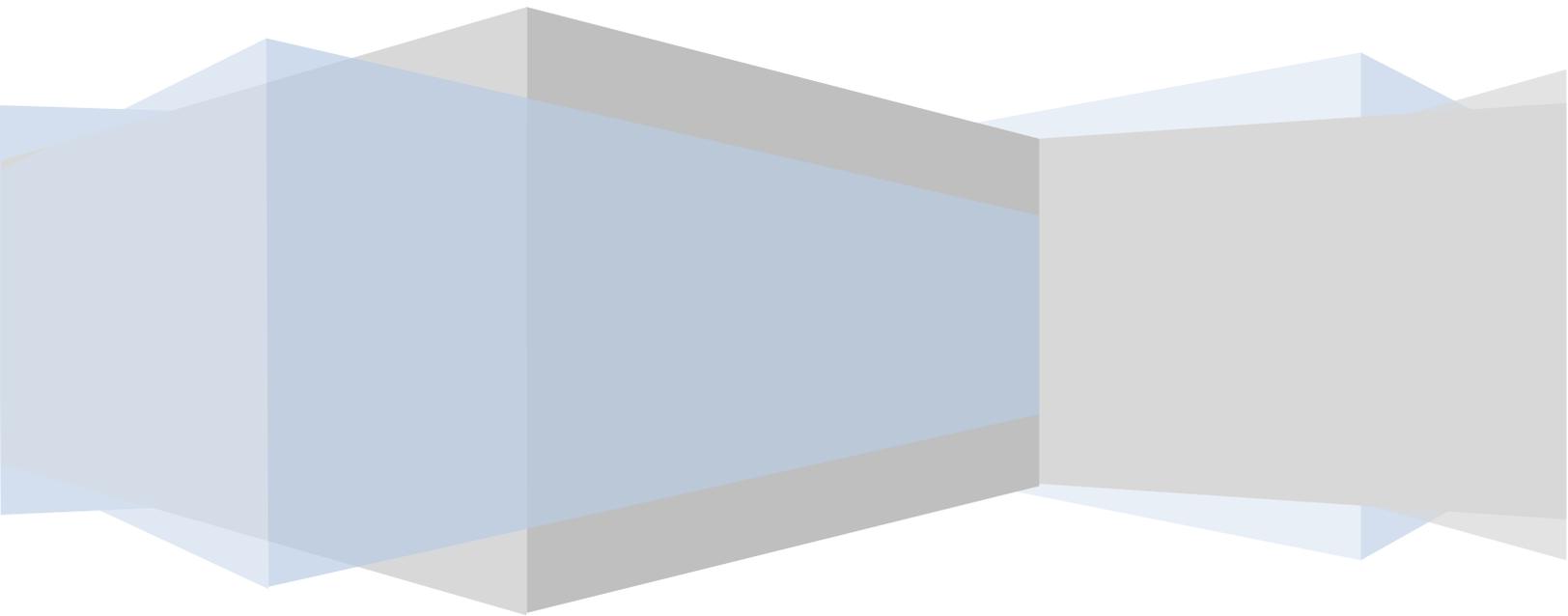
7.8 Conclusiones parciales

- Se plantea un principio de diseño para instalaciones de planta de tratamiento de vinazas que contempla el enfriamiento de la vinaza en un intercambiador de calor, un depósito de vinaza adecuado para tal fin con geomembrana impermeable de manera que se pueda almacenar efluente, cuando sea necesario y una batería de reactores tipo tanque agitado continuo (TAC).

- Para el dimensionamiento se consideró un caudal de vinaza de $100 \text{ m}^3/\text{día}$ y se usaron los datos de la cinética determinada en forma experimental. Se fijó una remoción de DQO del 60 % y la destrucción de contaminantes persistentes presentes en la vinaza.
- El caudal de peróxido de hidrógeno se determinó estequiométricamente en función de la cantidad de oxígeno que se requiere para la oxidación de los componentes biodegradables y no biodegradables contenidos en el efluente (DQO), considerando la presencia de iones metálicos como componentes naturales de las vinazas, que sean capaces de catalizar la reacción, y están comprendidos en el valor de DQO. De todas maneras, siempre se aconseja realizar pruebas experimentales a nivel laboratorio con cada efluente específicamente, para verificar la eficiencia del tratamiento.
- Se planteó el diseño de la planta de tratamiento con 4 reactores de 140 m^3 , conectados en paralelo, que ofrece la ventaja que se pueden tratar diferentes volúmenes de vinaza según sea necesario, de acuerdo a la producción de bioetanol.
- También se propone una opción de 3 reactores de 133 m^3 de capacidad, conectados en serie. Esta disposición es más ventajosa que la anterior puesto que se necesitan 3 reactores de menor volumen, para lograr la misma conversión en el mismo tiempo de residencia. Esto se traduce en menores costos.



Capítulo 8



CAPITULO 8

CONCLUSIONES FINALES

- Se validó un método cromatográfico para la determinación de plaguicidas organoclorados pertenecientes a la Docena Sucia, en muestras de vinazas, evaluando los parámetros: a- Límite de Detección, Límite de Cuantificación, los cuales son suficientes para la aplicación del método; b- Linealidad: se demostró que el método es lineal en todo el rango de trabajo; c- Exactitud y Precisión: se comprobó que el método es exacto desde la inyección de los extractos, acorde al método de referencia, y preciso, con un coeficiente de variación menor al 10 %. Se pueden extrapolar estos resultados, incorporando los pasos del procesamiento de las muestras, siempre que se acompañe con una muestra de control y se determine la Recuperación Porcentual, estableciendo como criterio de aceptación entre 80 y 120 %. Así se puede usar el método para el caso de vinazas concentradas, donde se aplicó un pretratamiento diferente (Líquido-Líquido), y para vinazas crudas donde se trabajó con extracción en fase sólida. Esto implicó un ahorro importante, en tiempo y en recursos, ya que se necesitó calibraciones diferentes para cada matriz. Además, permitió obtener resultados confiables y controlados, en menores tiempos de análisis.
- Se validó con resultados satisfactorios, el método de determinación colorimétrica de DQO por reflujo cerrado, demostrando que se domina la técnica y que es aplicable para el seguimiento de los procesos oxidativos.
- Del análisis cromatográfico de vinazas que provienen de 4 destilerías de la provincia de Tucumán, se ha detectado la presencia de lindano, metoxicloro y heptacloro. Estos compuestos son plaguicidas organoclorados cuyo uso fue restringido y luego prohibido, desde la década del 70. Es sabido que son compuestos persistentes, que tienen la capacidad de migrar en las diferentes matrices ambientales, cuyo mayor peligro para la salud son características de disruptores enzimáticos, ya que se compromete la salud de generaciones futuras. No se encontraron datos bibliográficos que informen la búsqueda de estos

compuestos en vinazas, y mucho menos la existencia de un registro en los organismos de control, a pesar que en la normativa vigente se encuentra detallado como un parámetro a controlar en los efluentes industriales. Es recomendable tener en cuenta la presencia de estos compuestos, cualquiera sea el uso que se proponga para la vinaza, puesto que si bien se detectaron en cantidades traza, toma relevancia si se considera el volumen del efluente que los contiene.

- La mayoría de las destilerías de la provincia poseen un sistema de evaporación para concentración de vinazas, generalmente hasta 60 °Brix, se verificó que los plaguicidas organoclorados presentes en las vinazas son arrastrados a la fase vapor, por lo que cualquiera sea el uso que se haga de los condensados, o si sólo se ventean a la atmósfera, involucra una vía potencial de contaminación.
- Los ensayos experimentales de tratamiento de vinazas con peróxido de hidrógeno mostraron resultados prometedores ya que en todos los casos se observó remoción de DQO, disminución del color típico del efluente, aumento de la transparencia y separación de sales por enfriamiento de la solución al final de la reacción.
- Las condiciones más favorables para la degradación química oxidativa de vinaza con solución de peróxido de hidrógeno, a temperatura ambiente de 298K y a presión atmosférica de 101,3 kPa, son aquellas en que la relación es estequiométrica respecto al oxígeno aportado por el peróxido de hidrógeno y la DQO inicial del efluente; con un tiempo de residencia de 5 días se logra una disminución de DQO del 85 %. Los ensayos se llevaron a cabo al pH propio de las vinazas ensayadas, entre 5 y 5,5, por lo que no fue necesario realizar ajustes de este parámetro. No se observó la formación de barros.
- Durante este proceso de tratamiento se utiliza como oxidante peróxido de hidrógeno, de manera que se cree que se produce una reacción del tipo Fenton, catalizada por la presencia de iones metálicos contenidos en el efluente, que favorecen la formación de radicales hidroxilos. Además, es probable que la presencia de ácidos húmicos y tánicos, hace posible la reacción a pH diferente al

de los procesos Fenton (entre 2 y 3), por la formación de complejos solubles con los iones metálicos.

- Con el tratamiento propuesto se logró un aumento del Índice de Biodegradabilidad, lo que favorecería la eficiencia de un tratamiento biológico posterior al tratamiento químico.
- Se determinó la cinética de la reacción de oxidación de vinazas, siendo de primer orden respecto de la DQO inicial del efluente.
- El tratamiento de vinazas con peróxido de hidrógeno, es efectivo para la degradación de los plaguicidas organoclorados ensayados, ya que transcurridos 3 días de reacción se destruye alrededor del 80 % de estos compuestos persistentes.
- Durante el proceso no se generan lodos férricos, como en el caso de tratamientos Fenton tradicional. Se logran recuperar sales inorgánicas a razón de 10,54 g por litro de vinaza, lo que significa que con 100 m³/día se podría recuperar 1264 kg/día de sales. Por lo que es necesario determinar la composición de las mismas y su valor comercial, con lo que las vinazas serían consideradas materia prima para la obtención de productos de química fina.
- Se propone un diseño conceptual de una planta de tratamiento de vinazas que consiste en un sistema de enfriamiento antes del almacenamiento en un depósito tipo pileta, con cubierta de geomembrana impermeable, desde donde se transporta a un sistema de 3 reactores en serie, de 133 m³ de capacidad, fijando una conversión del 60 %.
- Es necesario continuar con las investigaciones, ya que se propone un método experimental que, si bien se sabe que los procesos de oxidación y sus combinaciones, se ensayaron con éxito en otros efluentes industriales, no se probó en vinazas provenientes del proceso de fermentación para obtención de

etanol a partir de caña de azúcar. Por otro lado, es importante investigar los productos formados durante el proceso de oxidación y su inocuidad, además del valor comercial de las sales formadas.

- El paso siguiente, sería probar la eficacia del proceso propuesto en escala piloto, y obtener variables de diseño para aplicar a nivel industrial.

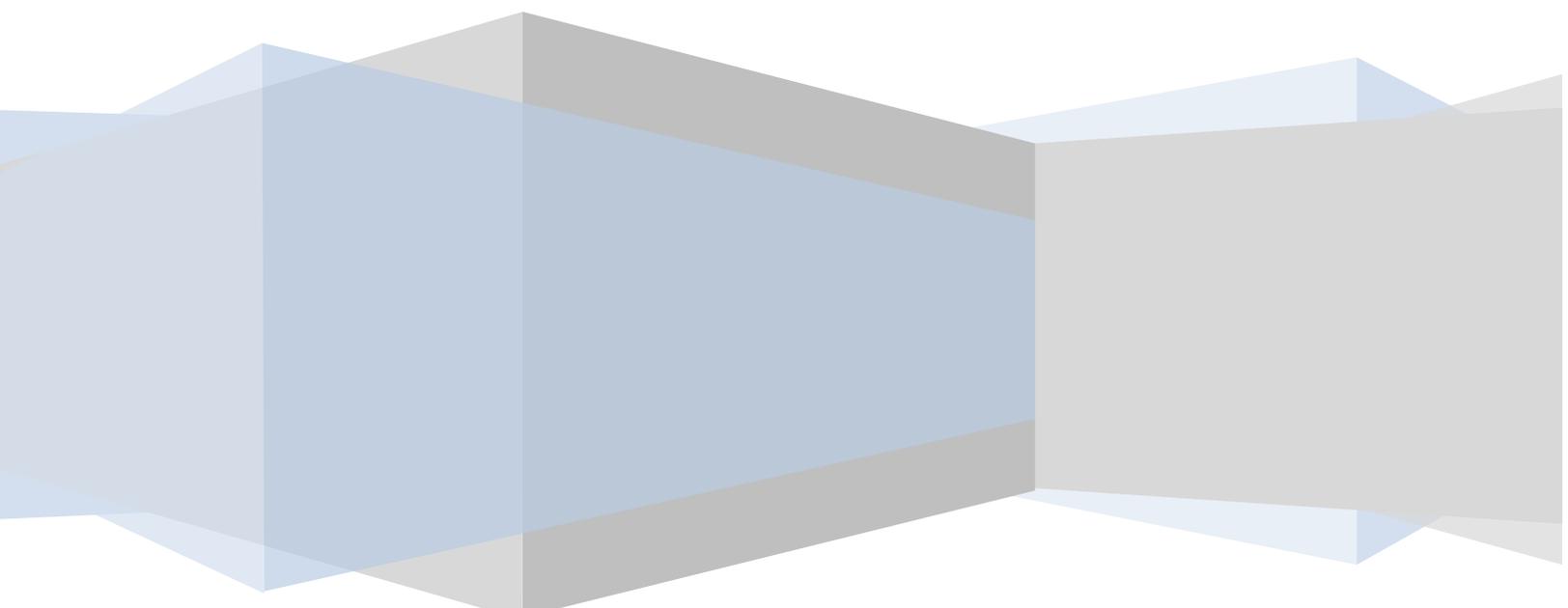
Proyecciones

Si bien la DQO de la vinaza tratada en este estudio continúa siendo elevada, se ha logrado destruir contaminantes recalcitrantes y persistentes, y aumentar la biodegradabilidad del agua residual. La materia orgánica se encuentra ahora en forma de moléculas simples, de cadena corta, facilitando la degradación y asimilación. Esto puede resultar importante para aprovechar la sinergia del tratamiento químico, acoplando un tratamiento biológico posterior, que sea más eficiente y en menor tiempo.

Existe intención del grupo de investigación en continuar con los estudios para mejorar la remoción de DQO:

- Según algunas investigaciones, se logra disminuir los tiempos de reacción si el agregado de peróxido de hidrógeno se lleva a cabo en forma continua, siguiendo la oxidación con la concentración de peróxido de hidrógeno residual. Sería interesante probar esta opción y determinar nuevamente la cinética de la reacción y la eficiencia del proceso.
- Ensayar la reacción de oxidación con peróxido de hidrógeno, agregando burbujeo de aire, para favorecer el mezclado y aumentar la disponibilidad de oxígeno.
- El paso siguiente sería consensuar con destilerías de la región para probar el tratamiento en escala piloto y la factibilidad de realizarlo in situ.
- También, como se dijo, es importante la recuperación de sales luego del proceso oxidativo, por lo que se buscaría aumentar la separación de sales, la separación y purificación, para mejorar su valor comercial.
- Estudiar la factibilidad de construir los depósitos de vinazas tipo lagunas de oxidación, tal que la reacción se lleve a cabo in situ, sin necesidad de instalaciones extras de reactores.

BIBLIOGRAFÍA



Bibliografía

- Abd Manan, T.; Khan, T.; Sivapalan, S.; Jusoh, H.; Sapari, N.; Sarwono, A.; Mahirah Ramli, R.; Harimurti, S.; Beddu, S.; Nabihah Sadon, S.; Mohd Kamal, L. y Malakahmad, A. (2019). Application of response surface methodology for the optimization of polycyclic aromatic hydrocarbons degradation from potable water using photo-Fenton oxidation process. *Science of The Total Environment*. Vol 665 : 196-212. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.060>.
- Ahmadi, M.; Ramavandi, B.; Sahebi, S. (2015). Efficient degradation of a biorecalcitrant pollutant from wastewater using a fluidized catalyst-bed reactor. *Chemical Engineering Communications*. Vol 202 : 1118–1129. <http://dx.doi.org/10.1080/00986445.2014.907567>.
- Ahmed, O.; Sulieman, A.M.E. y Elhardallou, S.B. (2013). Physicochemical, chemical and microbiological characteristics of vinasse, a by-product from ethanol industry. *American Journal of Biochemistry*. 3 (3) : 80–83. <http://article.sapub.org/10.5923.j.ajb.20130303.03.html>
- Ahumada, D; Rodríguez, D; Zamudio, A. y Mojica, A. (2012). Comparación de Diferentes Aproximaciones para Estimar Límites de Detección en Análisis de Residuos de Plaguicidas en Alimentos. *Revista Colombiana de Química*. 41 (2) : 227-242.
- Aituto, M. (2006). Pueblos fumigados. Informe sobre la problemática del uso de plaguicidas en las principales provincias sojeras. Informe Grupo de Reflexión Rural. www.grr.org.ar
- Aksoy A, Dervisoglu M, Guvenec D, Gul O, Yazici F, Atmaca E (2013). Levels of organochlorine pesticide residues in butter samples collected from the Black Sea Region of Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol 90 : 110-115. DOI 10.1007/s00128-012-0872-8
- Alnaizy, R; Akgerman, A. (2000). Advanced Oxidation of Phenolic Compounds. *Advances in Environmental Research*. Vol. 4 : 233–244.
- Alvarez, C.; Carbajal, R.; Cortés, H.; Garza, A.; Guevara, R.; Hernández, M.; Montante, L.; Muraira, A.; Pérez, M.; Pérez, E.; Rosas, N.; Soto, A.; Tapia, J. y Ustarán, J. (2008).

Guía Técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de cromatografía de gases (CG) y cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Centro Nacional de Metrología, Entidad Mexicana de Acreditación. D. F., México.

Amaral Silva, N.; Martins, R.; Castro Silva, S.; Quinta Ferreira, R. (2016). Integration of traditional systems and advanced oxidation process technologies for the industrial treatment of olive mill wastewaters. *Environmental Technology*. Vol. 37 : 2524-2535.

Apella, M.; Chaile, A.; Fernández, D.; Galindo, M.; Ganín, A.; García, M.; Hidalgo, M.; Monserrat Aráoz, M.; Navarro, M.; Perondi, M.; Romero, N.; Vece, M. (2009). Base de Datos Hidroquímicos de la Provincia de Tucumán, Diciembre 1990-Noviembre 2004. Libro Digital. Fac. de Ciencias Naturales e IML-UNT. Facultad de Filosofía y Letras Ediciones. Argentina. ISBN 978-950-554-653-4.

APHA, AWWA WEF (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters*. 21 th edition. USA.

Ardila, A.; Reyes Calle, J; Arriola Villaseñor, E. y Hernández, J. (2012). Remoción fotocatalítica de DQO, DBO5 y COT de efluentes de la industria farmacéutica. *Revista Politécnica*. 8 (15) : 9-17.

Argueta Hidalgo, J.; Beltetón Martínez, W. (2018). Implementación de cromatografía de gases para cuantificación de plaguicidas organoclorados en agua potable. *Revista ALERTA*. 1 (2). DOI: <https://doi.org/10.5377/alerta.v1i2.7141>

Arias, A.; Pereyra, M. y Marcovecchio, J. (2011). Multi-year monitoring of estuarine sediments as ultimate sink for DDT, HCH, and other organochlorinated pesticides in Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*. 172 : 17-32.

Arteaga Palomo, G.; Marrugo Negrete, J.; Sanchez Castellón, J. (2018). Plaguicidas en canales de riego del distrito de La Doctrina (Córdoba-Colombia). *Temas Agrarios*. 23 (1) : 20 – 36.

ATSDR- 2 Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2002). Resumen de Salud Pública: DDT, DDD, DDE. ATSDR Atlanta, Georgia https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs35.pdf

- ATSDR Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2007). Resumen de Salud Pública: Heptacloro y epóxidos de heptacloro. ATSDR Atlanta, Georgia https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs12.pdf
- ATSDR Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2005). Resumen de Salud Pública: Hexaclorociclohexano. ATSDR Atlanta, Georgia https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs43.pdf
- ATSDR. Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (1994). Resumen de Salud Pública: Clordano. ATSDR Atlanta, Georgia https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs31.pdf
- ATSDR-1 Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2002). Resumen de Salud Pública: Aldrín y Dieldrín. ATSDR Atlanta, Georgia. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs1.pdf
- ATSDR-3 Public Health Statement. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2002). Resumen de Salud Pública: Metoxicloro. ATSDR Atlanta, Georgia. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs47.pdf
- Badii, M. y Varela, S. (2015). Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente. *Cultura Científica y Tecnológica*. 0 (28). <http://148.210.132.19/ojs/index.php/culcyt/article/view/375>
- Bae, W.; Won, H.; Hwang, B.; Toledo, R.; Chung, J.; Kwon, K.; Shim, H. (2015). Characterization of refractory matters in dyeing wastewater during a full-scale Fenton process following pure-oxygen activated sludge treatment. *Journal of Hazardous Materials*. Vol 287 : 421 - 428.
- Ballesteros M.; Sánchez Pérez, J.; Casas López, J.; Oller, I. y Malato Rodríguez, S. (2009). Degradation of a four-pesticide mixture by combined photo-Fenton and biological oxidation. *Water Research*. 43 (3) : 653 – 660.
- Ballesteros, M.; Miglioranza, K.; Gonzalez, M.; Fillmann, G.; Wunderlin, D.; Bistoni, M. (2014). Multimatrix measurement of persistent organic pollutants in Mar Chiquita, a continental saline shallow lake. *Science of The Total Environment*. Vol 490 : 73 - 80.
- Beckman, Ruth. (2007). DDT: el problema persistente. PAN UK. Pesticide Action Network. Reino Unido. <https://es.scribd.com/document/332398085/PAN-Espanol-2007>

- Bejarano González, F. (2004). Guía ciudadana para aplicación del Convenio de Estocolmo. México. RAPAM.
https://www.academia.edu/34893937/Gu%C3%ADa_ciudadana_para_la_aplicaci%C3%B3n_del_Convenio_de_Estocolmo
- Benítez Leite, S. (2012). Plaguicidas y Efectos sobre la Salud Humana: Un Estado del Arte. <http://www.serpajpy.org.py/wp-content/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobre-la-salud-humana1.pdf>
- Bensalah, N.; Dbira, S. y Bedoui, A. (2019). Mechanistic and kinetic studies of the degradation of diethyl phthalate (DEP) by homogeneous and heterogeneous Fenton oxidation. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. Vol 11. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2019.100224>.
- Bermúdez, R., Hoyos, J y Rodríguez, S. (2000). Evaluación de la disminución de la carga contaminante de la vinaza de destilería por ensayo anaeróbico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. Vol. 16: 103 – 107.
- Betancur Corredor, B.; Pino, N.; Peñuela, G. y Cardona Gallo, S. (2013). *Revista Gestión y Ambiente*. 16 (3) : 119 - 135. <http://www.bdigital.unal.edu.co/33349/1/33173-186773-1-PB.pdf>
- Cabrera, A. (2013). Tratamiento de vinazas en un filtro anaerobio empacado de flujo ascendente. Tesis en opción al grado de Máster en Ingeniería Ambiental, ISPJAE, La Habana, Cuba.
- Camacho López, L.; Díaz de los Ríos, M.; Pérez Bermúdez, I.; Sánchez García, N.; Ribas y García, M. (2016). Recuperación del potasio en vinazas de destilerías mediante su precipitación con sulfato de amonio. *ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. 50 (2) : 24 - 28. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=2231/223150958004>
- Cámara, C.; Fernández, P.; Martín-Esteban, A.; Pérez-Conde, C.; Vidal, M.; (2002). Toma y tratamiento de muestras. Ed. Síntesis, Madrid.
- Campos Díaz, K.; Álvarez Cruz, J.; Lira Rodríguez, M. y Bandala, E. (2017). Coupled Inverse Fluidized Bed Bioreactor with Advanced Oxidation Processes for Treatment of Vinasse. *AIMS Geosciences*. 3 (4) : 538 - 551. doi: 10.3934/geosci.2017.4.538.

- Cañizares, P.; Paz, R.; Sáez, C. y Rodrigo, M. (2009). Costs of the electrochemical oxidation of wastewaters: A comparison with ozonation and Fenton oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 90 (1) : 410 - 420.
- Cao, M.; Wang, L.; Wang, L.; Chen, J. y Lu, X. (2013). Remediation of DDTs contaminated soil in a novel Fenton-like system with zero-valent iron. *Chemosphere*. 90 (8) : 2303-2308. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.098>.
- Cardona Alzate, C. y Sánchez, O. (2017). Producción biotecnológica de alcohol carburante I. Obtención a partir de diferentes materias primas. *Interciencia: Revista de Ciencia y Tecnología de América*. 30 (11) : 671 - 678.
- Centro Azucarero Argentino. Proceso Productivo Disponible en: <http://centroazucarero.com.ar/azucar/>
- Chaile, A. P; Romero, N.; Ferreyra de Ruiz Holgado, M.M.E. (2012). Organochlorine Pesticides In Vinasses. *BIOCELL*. 36 (2). www.cricyt.edu.ar/biocell/vol/pdf/36_2/07-SBTucuman.pdf
- Chaile, A.; Romero, N. y Ferreyra, M. (2016). Dinámica del Comportamiento de Plaguicidas Organoclorados en agua de embalse. *EAE Editorial Academia Española*. Riga, Letonia. 145 p.
- Chaile, A.; Romero, N.; Amoroso, M.; Hidalgo, M. y Apella, C. (1999). Plaguicidas Clorados en el Río Salí, Tucumán, Argentina. *Revista Boliviana de Ecología y Conservación Ambiental*. Vol. 6 : 203 – 209. ISSN 1997-1192.
- Chanfón Curbelo, J. y Lorenzo Acosta, Y. (2014). Alternativas de Tratamiento de las Vinazas de Destilería. *Experiencias Nacionales e Internacionales*. Centro Azúcar. 41 (2) : 56 - 67. <http://centroazucar.uclv.edu.cu/media/articulos/PDF/2014/2/6.pdf>
- Chiva Vicent, S.; Berlanga Clavijo, J.; Martinez Cuenca, R. y Climent, A. (2017). Procesos de oxidación avanzada en el ciclo integral del agua. Chiva Vicent, S. (Ed). *Castello de la Plana: Publicacions de la Universitat Jaume I*, D.L. DOI: <http://dx.doi.org/10.6035/UJI.FACSA.2017.1>
- Christofolletti, C.; Escher, J.; Correia, J.; Urbano Marinho, J. y Fontanetti, C. (2013). Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. *Waste Management*. Vol. 33 : 2752 – 2761. DOI: 10.1016/j.wasman.2013.09.005

- Cid, F.; Antón, R. y Caviedes Vidal, E.(2007). Organochlorine pesticide contamination in three bird species of the Embalse La Florida water reservoir in the semiarid midwest of Argentina. *Science of the Total Environment*. Vol. 385 : 86 - 96.
- Collins, J.; Bolton, J. (2016) *Advanced Oxidation Handbook*. American Water Works Association, Denver.
- Colombo, M., Únzaga, T., Mele F., Hernández, M. y Gatica J. (2015). Evaluación del impacto ambiental del proceso de obtención de alcohol carburante utilizando el algoritmo de reducción de residuos. *Asociación Argentina de Ingenieros Químicos - VII CAIQ 2013 y 2das JASP*
- CONAB (2016). *Compañía Nacional de Abastecimiento. Caña de Azúcar – Brasil. Séries Históricas*; archivo Excel. Disponibles en http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos
- Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs). (2001). Ginebra/Nairobi. www.pops.int/
- Covinich, L; Bengoechea, D; Fenoglio, R. y Area, M. (2014). *Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment in the Pulp and Paper Industry: A Review*. *American Journal of Environmental Engineering*. 4 (3): 56 - 70. doi: 10.5923/j.ajee.20140403.03.
- Cruz González, G.; Carine Julcour, C. y Jáuregui Ha, C. (2017). El Estado actual y perspectivas de la degradación de pesticidas por procesos avanzados de oxidación. *Revista Cubana de Química*. 29 (3) : 492 – 516.
- da Silveira, E. (2015). Vinhaça para gerar energia: Além de fertilizante, resíduo do etanol poderá ser utilizado para produzir eletricidade. *Revista Pesquisa FAPESP*. 238; São Paulo. Brasil.
- de la Cruz, S. (2002). *Aplicaciones del análisis complejo de procesos en el estudio de alternativas de integración de un complejo agroindustrial azucarero con una planta de alcohol*. Tesis presentada para la opción del Grado Científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Universidad Central de Las Villas, Santa Clara, Cuba.
- Domenech X.; Jardim Wilson F. y Litter I. (2001). *Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes*. Argentina. <https://www.academia.edu>

/14116027/PROCESOS_AVANZADOS_DE_OXIDACION PARA LA ELIMINACION DE CONTAMINANTES.

- Domínguez, C.; Oturán, N.; Romero, A.; Santos, A. y Oturán, M. (2018). Lindane degradation by electrooxidation process: Effect of electrode materials on oxidation and mineralization kinetics. *Water Research*. Vol. 135 : 220 - 230.
- Duan, J.; Cheng, Z.; Bi, J.; y Xu, Y. (2018). Residue behavior of organochlorine pesticides during the production process of yogurt and cheese. *Food Chemistry* 245 : 119 - 124. doi:10.1016/j.foodchem.2017.10.017
- Duffau, B.; Rojas, F.; Guerrero, I.; Roa, L.; Rodríguez, L.; Soto, M.; Aguilera, M. y Sandoval S. (Eds). (2010). Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos. Guía Técnica N° 1. Instituto de Salud Pública de Chile.
- España Gamboa, E.; Mijangos Cortes, J.; Barahona Perez, L.; Dominguez Maldonado, J.; Hernández Zarate, G. y Alzate Gaviria, L. (2011). Vinasses: characterization and treatments. *Waste Management & Research*. 29 (12) : 1235 – 1250.
- Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores (2016). Guía Eurachem: La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos—Una Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados. 1° Edición. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
- Fagier, M.; Elmugdad, A.; Aziz, M. y Gabra, N. (2018). Characterization of Sugarcane Vinass. *Journal of Faculty of Sciences, Faculty of Pure and Applied Sciences. International University of Africa*. Vol. 5 : 61 - 84.
- FAO (2013). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/Annotated_Guidelines_SP.pdf
- Farrera, R. (2004). Acerca de los Plaguicidas y su uso en la Agricultura. *Ceniap Hoy. Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela*. N°6.Aragua. ww.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/farrera_r/arti/farrera_r.htm.

- Fenton, H. (1894). *Journal of the Chemical Society*. 65: 899–910.
- Fiorentino, A.; Esteban, B.; Garrido Cardenas, J.; Kowalska, K.; Rizzo, L.; Aguera, A. y Sánchez Pérez, J. (2019). Effect of solar photo-Fenton process in raceway pond reactors at neutral pH on antibiotic resistance determinants in secondary treated urban wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 378. Art. N° 120737. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.06.014>.
- Fogler, S. (2001). *Elementos de Ingeniería de las Reacciones Químicas*. 3° Edición. Pearson Educación. México.
- Fukushima, N.; Palacios Bereche, M.; Palacios Bereche, R. y Nebra, S. (2019). Energy analysis of the ethanol industry considering vinasse concentration and incineration. *Renewable Energy*. Vol. 140 : 1 - 49.
- García Gámez, C., P. Gortáres-Moroyoqui y P. Drogui (2011). Tratamientos Biológicos y de oxidación avanzada combinados para una solución a la biotecnología Ambiental. *Ide@s CONCYTEG*, 6 (71) : 585 - 605. ISSN 2007-2716.
- García Sánchez, A.; Ramos Martos, N; y Ballesteros, E. (2006). Multiresidue analysis of pesticides in olive oil by gel permeation chromatography followed by gas chromatography–tandem massspectrometric determination, *Analytica Chimica Acta* Vol 558: 53 - 61.
- Gil. L.(2014). Uso de Geomembranas en impermeabilización. Artículo Técnico. *Aimplas. Canales Sectoriales interempresas*. <https://www.interempresas.net/Agua/Articulos/127948-Uso-de-geomembranas-en-impermeabilizacion.html>.
- Girish, K.; Mohammad Kunhi, A. (2013). Microbial degradation of gamma-hexachlorocyclohexane (lindane). *African Journal of Microbiology Research*. 7 (17) : 1635 - 1643.
- Gogate, P. (2011). Industrial wastewater treatment using a combination of cavitation reactors and Fenton processes: current status. *Advance Chemical Research*. Vol. 9 : 139 – 163.
- Goyes, A. y Bolaños G. (2005) . Un estudio preliminar sobre el tratamiento de vinazas en agua supercrítica. *XXIII Congreso Colombiano de Ingeniería Química Manizales*.

https://www.researchgate.net/publication/266499709_Un_estudio_preliminar_sobre_el_tratamiento_de_vinazas_en_agua_supercritica

- Grannas, A.; Cory, R.; Miller, P.; Chin, Y. y McKnight, D. (2012). The role of dissolved organic matter in arctic surface waters in the photolysis of hexachlorobenzene and lindane. *Journal of Geophysical Research. Biogeosciences*. Vol. 117. <https://doi.org/10.1029/2010JG001518>.
- Guerreiro, L.; Rodrigues, C.; Duda, R.; de Oliveira, R.; Boaventura, R. y Madeira, L. (2016). Treatment of sugarcane vinasse by combination of coagulation/flocculation and Fenton's oxidation. *Journal of Environmental Management*. Vol. 181 : 237 - 248.
- Gutiérrez Tolentino, R.; Vega y León, S.; Urban Carrillo, G.; Damián Gil, M.; Guajardo Briseño, G.; Ortiz Salinas, R.; Schettino Bermudez, B.; Sierra Cortes, J. (2018). Presencia de compuestos clorados en espinaca y lechuga comercializadas en la Ciudad de México. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*. Vol 1. México. <http://www.e-gnosis.udg.mx/index.php/trabajosinocuidad/article/view/341>
- Hakika, D.; Sarto, S.; Mindaryani, A.; Hidayat, M. (2019). Decreasing COD in Sugarcane Vinasse Using the Fenton Reaction: The Effect of Processing Parameters. *Catalysts* 9 (11) : 881. DOI: 10.3390/catal9110881
- Hernández Soto, J.; Arvizu Bernal, D. y Neri Rincón, N. (Eds). (2017). Guía de validación de métodos para el análisis de residuos de plaguicidas en productos vegetales por espectrometría de masas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio Nacional De Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. México.
- Huerga, M. y San Juan, S. (2005). El Control de las Plagas en la Agricultura Argentina. Estudio Sectorial Agrícola Rural. Banco Mundial. Centro de Inversiones FAO. Buenos Aires. Argentina.
- Ibarra Camacho, R.; León Duharte, L. y Osoria Leyva, A. (2019). Caracterización físico-química de vinazas de destilerías. *Revista Cubana de Química*. 31 (2) : 246 - 257. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000200246&lng=es&tlng=es.

- INECC-1. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Características Físico-Químicas de los Plaguicidas y su Transporte en el Ambiente. México. http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/descargas/caracteristicas_fyq_plaguicidas.pdf
- INECC-2. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Peligrosidad de las Sustancias Químicas. México. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/26570/peligrosidad.pdf>
- Infocampo. Nota 22/04/2019. Comenzó la zafra en Tucumán, con inversiones y reclamos para la producción de bioetanol. <https://www.infocampo.com.ar/comenzo-la-zafra-en-tucuman-con-inversiones-y-reclamos-para-la-produccion-de-bioetanol/>
- Ingenio Leales- Síntesis del Proceso de Fabricación de alcohol Etílico. <http://www.ingenioleales.com/nota.php?id=9>. Acceso 01/11/2018.
- INSTITUTO NACIONAL DE VITIVINICULTURA (2018). Estadísticas de Alcohol Etílico y Metanol. 2018. Informe elaborado por Departamento de Estadística y Estudios de Mercado Subgerencia de Estadística y Asuntos Técnicos Internacionales. www.inv.gov.ar
- ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of calibrating and testing laboratories. International Standardization Organization. Génova
- Iurascu, B.; Siminiceanu, I.; Vione, D.; Vicente, M. y Gil, A.(2009). Phenol degradation in water through a heterogeneous photo-Fenton process catalyzed by Fe-treated laponite. *Water Research* 43 (5):1313 – 1322. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.12.032>
- Izquierdo, P.; Allara, M.; García, A. y Piñero, M. (2004). Residuos de plaguicidas organoclorados en fórmulas infantiles. *Revista Científica, FCV-LUZ*. Vol. XIV (2) 147-152.
- JCGM (2012). International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM). Joint Committee for Guides in Metrology 3rd edition. Geneva, 88.

- Jiang, Z.; Li, Y.; Wei, G.; Liao, Q.; Su, T.; Meng, Y.; Zhang, H. y Lu, C. 2012. Effect of long-term vinasse application on physico-chemical properties of sugarcane field soils. *Sugar Technology*. Vol 14. 412 – 417.
- Kallel M.; Belaid C.; Mechichi T.; Ksibi M. y Elleuch B. (2009). Removal of organic load and phenolic compounds from olive mill wastewater by Fenton oxidation with zero-valent iron. *Chemical Engineering Journal*. Vol. 150 : 391 – 395.
- Kang, Y., Cho, M., y Hwang, K. (1998) Correction of Hydrogen Peroxide Interference on Standard Chemical Oxygen Demand Test. *Elservier Science Ltd*. 33(5) : 1247 – 1251.
- Khan, S.; Han, C.; Sayed, M.; Sohail, M.; Jan, S.; Sultanas; S.; Khan, H. y Dionysiou, D. (2019). Exhaustive Photocatalytic Lindane Degradation by Combined Simulated Solar Light-Activated Nanocrystalline TiO₂ and Inorganic Oxidants. *Catalysts*. Vol. 9, 425.
- Kida, M.; Ziembowicz, S.; Koszelnik, P. (2018). Removal of organochlorine pesticides (OCPs) from aqueous solutions using hydrogen peroxide, ultrasonic waves, and a hybrid process. *Separation and Purification Technology*. Vol 192 : 457 - 464. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.10.046>.
- Kim, J.; Lee, H.; Park, Y.; Lee, S.; Choi, S.; Oh, W.; Kim, H.; Kim, C.; Kim, K. y Seo, B. (2019). Studies on decomposition behavior of oxalic acid waste by UVC photo-Fenton advanced oxidation process. *Nuclear Engineering and Technology*. 51 (8) : 1957 - 1963. <https://doi.org/10.1016/j.net.2019.06.011>.
- Kobayash, M.; Ohtsuka, K.; Tamura, Y.; Tomizawa, S.; Kinoshita, T.; Kamijo, K.; Takano, I. (2013). Survey of Pesticide Residues in Imported Tea (1992.4–2010.3). *Food Hygiene and Safety Science*. 54 (3) : 224 - 231 <https://doi.org/10.3358/shokueishi.54.224>
- Kotzias, D. y Sparta, C. (1993). VOC's and water pollutions, in Bloemen H. J. y Burn J. (Eds). *Volatile organic compounds in the environment* (1st ed.). Chapman and Hall, Glasgow, United Kingdom.

- Kovacs, M.; Miclean, M.; Kovacs, D.; Cadar, O.; Roman, M.; Senila, L.; Simedru, D. y Naghiu, A. (2015) Organochlorine Pesticides Impact on Vegetables. *Agriculture Science and Practice*. 1 (2): 93 - 94.
- Kritzer, P. y Dinjus, E. (2001). An assessment of supercritical water oxidation (SCWO) existing. *Chemical Engineering Journal*. Vol. 83 : 207 – 214.
- Laiame, E.; Fernandes, P.; Oliveira, D. y Freire, E. (2011). Possibilidades tecnológicas para a destinação da vinhaça: uma revisão. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*. Vol 5 : 16–29.
- Leal G., Iván; Chirinos, Elisabeth; Leal, Mayra; Morán, Héctor; Barrera, Wilmer. (2003). Caracterización fisicoquímica de la vinaza del Agave cocui y su posible uso agroindustrial. *Multiciencias*. 3 (2). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90430202>.
- Lenardón, A.; Maitre, M.; Lorenzatti, E. y Enrique, S. (2000). Plaguicidas Organoclorados en leche Materna en Santa Fe, Argentina. *Acta Toxicología Argentina*. 8 (1) : 2 - 4.
- Ley 26.093 Régimen de Regulación y Promoción para la Producción y Uso Sustentables de Biocombustibles. [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/543DE964A4D8659005257CC300776133/\\$FILE/Ley_26093.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/543DE964A4D8659005257CC300776133/$FILE/Ley_26093.pdf).
- Li, C.; Gao, N. y Li, W. (2011). Photochemical degradation of typical herbicides simazine by UV/H₂O₂ in aqueous Solution. *Desalination and Water Treatment*, 36 (1-3): 197-202. DOI: 10.5004/dwt.2011.2410.
- Li, J.; Pham, A.; Dai, R.; Wang, Z. y Waite, D. (2020). Recent advances in Cu-Fenton systems for the treatment of industrial wastewaters: Role of Cu complexes and Cu composites. *Journal of Hazardous Materials*. Vol 392. Art. 122261. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122261>.
- Lim, S.; Lee, L. y Wu, T. (2016). Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: Recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. *Journal of Cleaner Production*. Vol 111: 262–278.
- Lima, V.; Rodrigues, C.; Sampaio, E. y Madeira, L. (2020). Insights into real industrial wastewater treatment by Fenton's oxidation in gas bubbling reactors. *Journal of*

Environmental Management. Vol 265. Art. 110501.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110501>.

- Linares Mazariegos, R. (2007). Evaluación Ambiental de Pesticidas Organoclorados en Sedimentos de la Laguna de Chantuto (Chiapas, México) y de la Bahía de Santander (Cantabria, España). Memoria de Tesis Doctoral. Universidad de Cantabria. España.
- Litter, M. y Slodowicz, M. (2017). An overview on heterogeneous Fenton and photo Fenton reactions using zerovalent iron materials. *Journal of Advanced Oxidation Technologies*. Vol 20 (1). DOI:10.1515/jaots-2016-0164.
- Liu, X.; Zhang, T.; Zhou, Y.; Fang, L. y Shao, Y. (2013). Degradation of atenolol by UV/peroxymonosulfate: kinetics, effect of operational parameters and mechanism. *Chemosphere*. 93 (11) : 2717 – 2724.
- Ma, H.; Wang, M.; Yang, R.; Wang, W.; Zhao, J.; Shen, Z. y Yao, S. (2007). Radiation degradation of Congo Red in aqueous solution. *Chemosphere* 68 (6) : 1098 – 1104. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.067>
- Magnusson, B. y Örnemark, U. (Eds.)(2014). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, (2º Edición). <http://www.eurachem.org>
- Malato Rodríguez, S.; Blanco, J.; Estrada, C. y Bandala, E. (2001). 2 Degradación de Plaguicidas. En: Blesa, M. (Ed). *Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea*. Red CYTED VIII-G: 269-284.
- Mansouri, A.; Cregut, M.; Abbes, C.; Durand, M.; Landoulsi, A.y Thouand, G. (2017). The Environmental Issues of DDT Pollution and Bioremediation: a Multidisciplinary Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181 (1) : 309 – 339. <https://doi.org/10.1007/s12010-016- 2214-5>.
- Marrero, S.; González, S.; Guevara, H. y Eblen, A. (2017). Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamatos en trabajadores de una comunidad agraria. *Comunidad y Salud*. 15 (1): 30 - 41.

- Martins, R.; Silva, A.; Castro Silva, S.; Garção Nunes, P. y Quinta Ferreira, R. (2011). Advanced oxidation processes for treatment of effluents from a detergent industry. *Environmental Technology*. Vol 32 : 1031-1041.
- McNair, H. y Miller, J. (2009). *Basic Gas Chromatography*. 2° Ed. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. EEUU.
- Michaelis, L. (1951). Theory of oxidation-reduction. En: Sumner, J. y Myrback, K. (eds.). *The enzymes*. v. 2, Part 1, Cap. 44. New York. Academic Press.
- Miglioranza, K.; González, M.; Ondarza, P.; Shimabukuro, V.; Isla, F.; Fillmann, G.; Aizpún, J. y Moreno, V. (2013). Assessment of Argentinean Patagonia pollution: PBDEs, OCPs and PCBs in different matrices from the Río Negro basin. *Science of the Total Environment*. 452 (453) : 275-285.
- Mikutta, C. y Kretzschmar, R. (2011). Spectroscopic evidence for ternary complex formation between arsenate and ferric iron complexes of humic substances. *Environmental Science and Technology*. Vol. 45: 9550-9557.
- Ministerio de Salud. (2016). *Químicos Prohibidos y Restringidos en Argentina*. Departamento de Salud Ambiental. Dirección Nacional de Determinantes de la Salud. Buenos Aires.
- Mohana, S.; Acharya, B. y Madamwar, D. (2009). Distillery spent wash: Treatment technologies and potential applications. *Journal of Hazardous Materials*. 163 (1) : 12 – 25
- Molina Morales, Y.; Flores García, M.; Balza Quintero, A.; Benítez Díaz, P. y Miranda Contreras, L. (2012). Niveles de plaguicidas en aguas superficiales de una región agrícola del estado Mérida, Venezuela, entre 2008 y 2010. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 28 (4) : 289 - 301.
- Morandini, M. y Quiaia, N. (2013). Alternativas para el aprovechamiento de la vinaza como subproducto de la actividad sucroalcoholera. Dossier EEAOC. *Revista Avance Agroindustrial*. 34 (2).
- Morandini, M.; Sotomayor, C.; Quiaia, E. ;Machado, D.; Hernández, C; Sanzano, A. y Ruiz, M. (2016). Manejo de efluentes industriales en la provincia de Tucumán. Aportes de la EEAOC al dictado de las Resoluciones de la Secretaría de Estado de Medio

Ambiente de la Provincia de Tucumán. Avance Agroindustrial EEAOC. 36 (1):40 – 43.

OAA-1 (2019). Guía para Validación de Métodos de Ensayo. Organismo Argentino de Acreditación. GUI-LE-03. Versión 2.

OAA-2 (2019). Criterios para Informar Resultados de Ensayos Químicos a Bajas Concentraciones. Organismo Argentino de Acreditación. CE-LE-04. Versión 3

OMS (2009). Organización Mundial de la Salud. Clasificación de plaguicidas según su peligrosidad. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44271/9789241547963_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

OMS (2019). Organización Mundial de la Salud. WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2019 edition. Geneva. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332193/9789240005662-eng.pdf?ua=1>

Ondarza, P.; González, M.; Fillmann, G. y Miglioranza, K. (2011). Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine compound levels in brown trout (*Salmo trutta*) from Andean Patagonia, Argentina. *Chemosphere*. Vol. 83 : 1597 - 1602.

Ovhal, S.; Sheetal, D. y Thakur, P. (2010). Kinetics of photocatalytic degradation of methylene blue in a TiO₂ slurry reactor, *Research Journal of Chemistry and Environment*. 14 (4) : 9 –13.

PAN (2009). La Lista de Listas. 3ª edición. Documento Informativo. Red de Acción sobre Plaguicidas y sus Alternativas en América Latina (RAP-AL) www.rapam.org

Panasyuk, A.; Kuzmina, E.; Kharlamova, L.; Babaeva, M. y Romanova, I. (2019). Influence of Bioorganic Additives on the Ability of Yeast to Provide Biotransformation of Pesticides in Apple Must. *Serie Ciencia e Ingeniería de Materiales*. Vol 582. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/582/1/012011>

Papale, S. (2003). Plaguicidas ¿Venenos útiles?. Fundación Nueva Tierra. Eco Portal: El Directorio Ecológico y Natural. www.ecoport.net/

- Pera Titus, M.; García Molina, V.; Baños, M.; Giménez, J. y Esplugas, S. (2004). Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Applied Catalysis B*. 47 (4) : 219 – 256.
- Perera, J. (2009). Concentración y Combustión de Vinazas. Ministerio de Gobierno y Justicia de la Provincia de Tucumán.
- Peres Ribeiro, J.; Costa Marques, C.; Portugal, I.; Nunes, M. (2020). Fenton processes for AOX removal from a kraft pulp bleaching industrial wastewater: Optimisation of operating conditions and cost assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. Vol 8 (4). Art. N° 104032.
- Pérez Bermúdez, I. y Garrido Carraler, N. (2006). Aprovechamiento integral de vinazas de destilerías. Una revisión actual. *Revista Ingeniería Química*. 129- 133.
- Pérez González, A.; Urtiaga, A.M.; Ibáñez, R.; Ortiz, I. 2012. State of the art and review on the treatment technologies of water reverse osmosis concentrates. *Water Research*. Vol 46 : 267 - 283.
- Perez, D.; Paredes, V.; Rodríguez, G. (2011). Biocombustibles en la Argentina y Tucumán, cifras de la industria en el período 2009- 2011. Reporte Agroindustrial. Estadísticas y márgenes de cultivos tucumanos. EEAOC N° 52. ISSN 1851-5789.
- Perez, G.; Fernández Alba, A.; Urtiaga, A. y Ortiz, I. (2010). Electro-oxidation of reverse osmosis concentrates generated in tertiary water treatment. *Water Research*, 44 (9), p.p 2763-2772.
- Phillip, C. (2008). Ingeniería de procesos de separación. Extracción inmisible, lavado, lixiviación y extracción supercrítica. Ed. Pearson Prentice Hall, México. P. 428-429.
- Pire Sierra, M.; Rodríguez Sargent, K.; Fuenmayor Reyes, M.; Fuenmayor, Y.; Acevedo, H.; Carrasquero Ferrer, S. y Díaz Montiel, A. (2011). Biodegradabilidad de las diferentes dracciones de agua residual producidas en una tenería. *Ciencia E Ingeniería Neogranadina*. 21 (2) : 5 - 19. <https://doi.org/10.18359/rcin.257>.
- PLAGBOL. (2008). Manual de diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas por plaguicidas. Identificador 174491- CD/0050/V29/040874. CEPIS. La Paz, Bolivia.

- Poole, C. (Ed). (2012). Gas Chromatography (1°Edition).eBook ISBN: 9780123855411. Elsevier. 688 p.
- Pouran, S.; Aziz, A. y Daud, W. (2015) Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. Vol. 21 : 53 – 69. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.05.005>
- Poyatos J.; Muñio M.; Almecija, M.; Torres, J.; Hontoria, E. y Osorio F. (2010). Advanced oxidation processes for wastewater treatment: state of the art. Water, Air, Soil Pollution. Vol. 205 : 187 – 204.
- Prado, G.; Diaz, G.; Vega y León S.; Gonzalez, M.; Perez, N.; Urban, G.; Gutierrez, R.; Ramirez, A. y Pinto, M. (1998). Residuos de plaguicidas organoclorados en leche pasteurizada comercializada en Ciudad de México. Archivos de medicina veterinaria. 30 (1) : 55 - 66. <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1998000100006>
- Quici, N.; Morgada, M.; Piperata, G.; Babay, P.; Gettar, R. y Litter M. (2005). Oxalic acid destruction at high concentrations by combined heterogeneous photocatalysis and photo-Fenton processes. Catalysis Today 101 (3–4) : 253 – 260.
- Ramírez López, R. y Hernández Pérez, I. (2015). Diseño de Reactores Homogéneos. Cengage Learning Editores. México.
- Ramírez, J. y Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Archivo de Previsión de Riesgo Laboral. 4 (2) : 67-75.
- Raposo, F.; Ibelli Bianco, C. (2020). Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. TrAC Trends in Analytical Chemistry. Vol. 129. Art. 115913.
- Rauf, M. y Ashraf, S. (2009). Radiation induced degradation of dyes—an overview. Journal of Hazardous Materials 166 (1) : 6 – 16.
- Raut Jadhav, S.; Badve, M.; Pinjari, D.; Saini, D.; Sonawane, S. y Pandit, A. (2016). Treatment of the pesticide industry effluent using hydrodynamic cavitation and its combination with process intensifying additives (H₂O₂ and ozone). Chemical Engineering Journal. Vol 295 : 326-335.

- Repetto, G.; Del Peso, A.; Zurita, J. (2006). Evaluación de la toxicidad sobre la reproducción y la disrupción endocrina. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Sevilla. Disponible en: <http://ritsq.org/wp-content/uploads/cd-toxamb/Documentos/08%20Repetto%20FINAL.pdf>
- Resolución N° 30. Secretaría de Estado de Medio Ambiente (SEMA) de la provincia de Tucumán. <http://www.sematucuman.gob.ar/web/index.php/31-normativa/idga/idga-pngclosrechidricos/153-iga-pgrh-resolucion030-sema>
- Resol 37/2016. Ministerio de Energía y Minería. Boletín Oficial de la República Argentina. <https://www.boletinoficial.gob.ar/pdf/linkQR/cVUvOEdIcEZTdGMrdTVReEh2ZkU0dz09>
- Robles Gonzalez, V.; Galindez Mayer, J.; Rinderknecht Seijas, N. y Poggi Varaldo, H. (2012). Treatment of mezcal vinasses: A review. *Journal of Biotechnology*. 157 (4): 524 – 546.
- Rodríguez Eugenio, N., McLaughlin, M. y Pennock, D. (2019). La contaminación del suelo: una realidad oculta. Roma, FAO. <http://www.fao.org/3/I9183ES/i9183es.pdf>.
- Romero N.; Chaile A.; du Plessis, M. (2012). Plaguicidas Organoclorados en Leche Materna. Niveles de Contaminantes Persistentes en Humanos. Tucumán. EAE Editorial Academia Española. Riga, Letonia.
- Rouessac, F. y Rouessac, A. (2007). *Chemical Analysis Modern Instrumentation Methods and Techniques*. 2° Edition. University of Le Mans, France. John Wiley & Sons Ltd.
- Rovedatti M.; Castañé P.; Topalián M. y Salibián A. (2001). Monitoring of organochlorine and organophosphorus pesticides in the water of the Reconquista River (Buenos Aires, Argentina) *Water Research*. Vol 35 : 3457 - 3461.
- Ruiz Toledo, J.; Vandame, R.; Castro Chan, R.; Penilla Navarro, R.; Gómez, J. y Sánchez, D. (2018). Organochlorine Pesticides in Honey and Pollen Samples from Managed Colonies of the Honey Bee *Apis mellifera* Linnaeus and the Stingless Bee *Scaptotrigona mexicana* Guérin from Southern, México. *Insects*. 9 (2) : 54.
- Saatci, Y. (2010). Decolorization and Mineralization of Remazol Red F3B by Fenton and Photo-Fenton Processes. *Journal of Environmental Engineering*. 136 (9) :1000–1005.

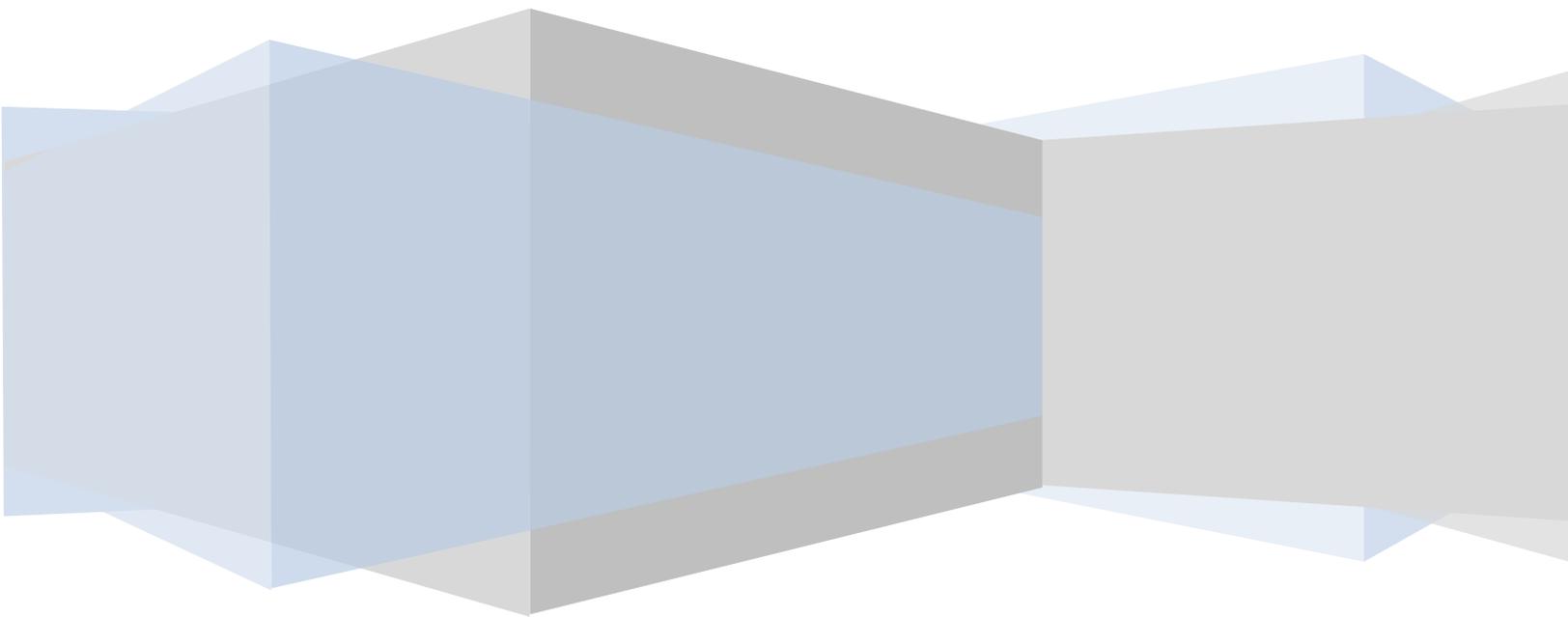
- Sadjadi, S. (2014). Nanocatalytic wastewater treatment system for the removal of toxic organic compounds. En: Kharisov, B.; Kharissova, O.; Dias, H. (eds). *Nanomaterials for environmental protection*. Wiley, Hoboken. 403–427. <https://doi.org/10.1002/9781118845530.ch24>
- Salas Colotta, G. (2010). Tratamiento por oxidación avanzada (reacción Fenton) de aguas residuales de la industria textil. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*. 13 (1) : 30-38.
- Salgado, J.; Martínez Carballo, E.; Max, B. y Domínguez, J. (2010). Characterization of vinasses from five certified brands of origin (CBO) and use as economic nutrient for the xylitol production by *Debaryomyces hansenii*. *Bioresource technology*. 101 (7): 2379 – 2388.
- Sánchez Gelabert, J.; Núñez Navarro, E.; Navalón Madrigal, P.y Valor Herencia, I. (2008). *Compuestos Orgánicos Persistentes en la Región de Murcia (I): Pesticidas Organoclorados-PCBs-Dioxinas y Furanos*. Contraste Publicaciones, S.L.España. [http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=4644&IDTIPO=100&RASTRO=c511\\$m4633](http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=4644&IDTIPO=100&RASTRO=c511$m4633).
- Sánchez Palencia, Y.; Ortiz, J.; Torres, T.; Llamas, J. (2017). Organochlorine pesticides in protected areas: El Hito Lake (Cuenca, Central Spain). *Journal of Iberian Geology*. 43 (4) : 539 - 557.
- Sánchez Proaño, R.; García Gualoto, K. (2018). Tratamiento de aguas residuales de cargas industriales con oxidación avanzada en sistemas convencionales. *LA GRANJA: Revista de Ciencias de la Vida*. 27 (1) : 103 - 111.
- Sangave, P.; Gogate, P. y Pandit, A. (2007). Combination of ozonation with conventional aerobic oxidation for distillery wastewater treatment. *Chemosphere*. 68 (1) : 32 – 41.
- Sanz, J.; Lombraña, J.; de Luis, A. (2013). Estado del Arte en la Oxidación Avanzada a Efluentes Industriales: Nuevos Desarrollos y Futuras Tendencias. *Afinidad LXX*, 561. <https://www.raco.cat/index.php/afinidad/article/download/268536/356125>
- Satyawali, Y.; Balakrishnan M. (2008). Wastewater treatment in molasses-based alcohol distilleries for COD and color removal: A review. *Environmental Management*. Vol. 86 : 481 - 497.

- Shao, W.; Gu, A. (2016). Effects of organochlorine pesticides on dyslipidemias. *Chinese Journal of Preventive Medicine*. 50 (11) : 1011.
- Sichel, C.; Garcia, C. y Andre, K. (2011). Feasibility studies: UV/chlorine advanced oxidation treatment for the removal of emerging contaminants. *Water Research*. 45 (19) : 6371 – 6380. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.025>
- Sim, E. y Wu, T. (2010). The potential reuse of biodegradable municipal solid wastes (MSW) as feedstocks in vermicomposting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90 (13) : 2153 – 2162.
- Sosa A.; Di Marco, L.; Ferrari R. y Mattassini, L. (1994). Plaguicidas y Trabajo Rural en la Provincia De Tucumán ¿Un Problema Ambiental?. Laboratorio de Evaluación y Control de Contaminantes Ambientales (LECCA). Fac. de Ciencias Exactas y Tecnología (UNT).
- Starling, M.; Amorim, C. y Leão, M. (2019). Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. *Journal of Hazardous Materials*. Vol 372 : 17-36.
- Stefan, M. (ed). (2017) *Advanced Oxidation Processes for Water Treatment: Fundamentals and Applications*. EWA Publishing. London.
- Syaichurrozi, I.; Budiyo y Sumardiono, S. (2013). Predicting kinetic model of biogas production and biodegradability organic materials: Biogas production from vinasse at variation of COD/N ratio. *Bioresource Technology*. 149 : 390 – 397.
- Tejeda Mansir, A; Montesino Cisneros, R. y Guzmán Zamudio, R. (2011). *Bioseparaciones, 2º Edición*. Pearson Educación, México.
- Tellez, D. (2004). Caracterización de las melazas empleadas en el proceso fermentativo de la destilería San Martín- Industria de Licores del Valle. Universidad del Valle. Santiago de Cali. Cali, Colombia.
- Terán Mogro, Guido. (2007). Plaguicidas. En: *Equidad en la mira: la salud pública en Ecuador durante las últimas décadas*. Quito. OPS. CONASA. https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=vigilancia-sanitaria-y-atencion-de-las-enfermedades&alias=58-la-equidad-en-la-mira-la-salud-publica-del-ecuador-durante-las-ultimas-decadas&Itemid=599.

- Thompson, M; Ellison, S y Wood, R. (2002). Harmonized Guidelines For Single Laboratory Validation Of Methods Of Analysis (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry. 74 (5) : 835 – 855.
- Tijani, J.; Fatoba, O.; Madzivire, G. y Petrik L. (2014) A review of combined advanced oxidation technologies for the removal of organic pollutants from water. Water Air Soil Pollut. Vol. 225. Art. 2102. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2102-y>
- Tracanna, B.; Martínez De Marco, S.; Amoroso, M.; Romero, N.; Chaile, P. y Mangeaud, A. (2006). Physico-chemical and biological variability in the Dr. C. Gelsi reservoir (NW Argentine): A Temporal and spatial approach. Limnética. 25 (3): 787-808.
- Tuerk, J.; Reinders, M.; Dreyer, D.; Kiffmeyer, T.; Schmidt, K. and Kuss, H. (2006). Analysis of antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring—Comparison of HPLC with UV, single MS- and tandem MS-detection. Journal of Chromatography. B. Vol. 831 : 72 - 80.
- US Peroxide, LLC. (2009). Fenton's Reagent Treatment Process References, MKG-FEN, US Peroxide, LLC. Atlanta, GA.
- USP technologies TM (2015). Turn-key advanced oxidation program helps refinery process stored high strength caustic wastewater outage. En: Case study: oil, gas and refinery USP technologies, Atlanta, GA. https://www.h2o2.com/files/Case%20Study_Refinery-TurnkeyOxidation-15-HR.pdf
- Valeiro, A. y Portocarrero, R. (2017). Gestión de las vinazas sucro-alcoholeras en Brasil. Serie: Gestión de residuos de la industria sucro-energética argentina. INTA Ediciones.
- Vilar, D.; Carvalho, G.; Pupo, M.; Aguiar, M.; Torres, N.; Américo, J.; Cavalcanti, E.; Eguiluz, K.; Salazar Banda, G.; Leite, M. y Ferreira, L. (2018). Vinasse degradation using *Pleurotus sajor-caju* in a combined biological – Electrochemical oxidation treatment. Separation and Purification Technology. Vol 192 : 287-296. DOI: 10.1016/j.seppur.2017.10.017.
- Villaamil Lepori, E.; BoviMitre, G. y Nassetta, M. (2013). Revista Internacional de Contaminación Ambiental. México. Vol 29 : 25 - 43.

- Vivas, B.; Sanz, F.; Ordóñez, S. (2005). Tratamiento de efluentes acuosos contaminados con compuestos organoclorados. *Ingeniería del agua*. Vol. 12 (4). <http://hdl.handle.net/2099/2510>
- Vogel, F., Smith, K.; Tester, J.; Peters, W. (2002). Engineering kinetics for hydrothermal oxidation of hazardous organic substances. *AICHE Journal*. Vol. 48 : 1827–1839.
- Waclawek, S.; Silvestri, D.; Hrabák, P.; Padil, V.; Torres Mendieta, R.; Waclawek, M.; Černík, M.; Dionysiou, D. (2019). Chemical oxidation and reduction of hexachlorocyclohexanes: A review. *Water Research*. Vol 162 : 302 – 319. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.072>.
- Waliszewski, S., Infanzón, R. (2011). Diferencias en Concentración de Plaguicidas Organoclorados Persistentes en Suelo, Paja y Granos de Trigo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 19 (1) : 5 - 11.
- Wang, N.; Zheng, T.; Zhang, G.; Wang, P. (2016). A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. Vol 4 : 762-787.
- Zaragoza Bastida, A.; Valladares Carranza, B.; Ortega Santana, C.; Zamora Espinosa, J.; Velázquez Ordoñez, V. y Aparicio Burgos, J. (2016). Repercusiones del Uso de los Organoclorados Sobre el Ambiente y Salud Pública. *Abanico veterinario*. 6 (1) : 43-55.
- Zhou, H.; Young, C.; Loch Caruso, R. y Shikanov, A. (2018). Detection of lindane and 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene toxicity at low concentrations in a three-dimensional ovarian follicle culture system. *Reproductive Toxicology*. Vol. 78 : 141-149.
- Zúñiga Cerón, V.; Gandini Ayerbe, M. (2013). Caracterización Ambiental de las Vinazas de Residuos de Caña de Azúcar Resultantes de la Producción de Etanol. *DYNA*. 80 (177) : 124 – 131. <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v80n177/v80n177a15.pdf>

PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES EN REUNIONES CIENTÍFICAS



Publicaciones

- Chaile, Adriana P, & Ferreyra de Ruiz Holgado, Mercedes M. E. (2019). **Validación parcial de un método de detección de pesticidas Organoclorados en vinaza, por cromatografía de gases.** Revista Boliviana de Química, 36(5): 210-222. DOI: 10.34098/2078-3949.36.5.3
- Chaire, A.; Sánchez, N. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M. (2017). **Efectos de Peróxido de Hidrógeno en ensayos de oxidación de vinazas.** Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental (SACyTA). Editorial Buenos Aires. 978-987-46096-2-5.
- Chaile, A.; Barnes, N. Sánchez, N. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M. (2017). **Comparación de la cinética de reacción oxidativa de efluentes agroindustriales envenenados con plaguicidas y peróxido de hidrogeno.** XX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. Córdoba. Editora UniRio. ISBN 978-987-688-210-1.
- Chaile, A. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M. (2016). **Ensayos de Degradacion de Plaguicidas Clorados en Vinaza con Procesos Oxidativos.** The Journal of The Argentine Chemical Society Vol. 103 (1-2) ISSN: 1852-1207
- Chaile, A.; Viera, H. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M. (2015). **Oxidación y recuperación de sales inorgánicas de un efluente de la industria alcoholera.** Libro edUTecNe, Editorial de la U.T.N. ISBN 978-987-1896-50-9. http://www.edutecne.utn.edu.ar/coini_2015/trabajos/A043_COINI2015.pdf
- Chaile, A.; Medina, S.; Ferreyra de Ruiz Holgado, M. (2014). **Ensayos Cinéticos De Degradación Oxidativa De un Efluente Industrial Con Peróxido De Hidrógeno.** The Journal of the Argentine Chemical Society. Vol 101 (1-2). 2014. ISSN 1852-1207. <http://aqa.org.ar/pdf101/cd/Qca.Ambiental/10-145.pdf>

Chaile, A. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M. (2014). **Detection Of Pesticides In Multicomponent Mixtures, Alcohol Bioindustry Residues**. BIOCELL 38 (2). ISSN 0327-9545 (printed version). ISSN 1667-5746 (online version)

Chaile, A. P; Medina, S.; Ferreyra de Ruiz Holgado, M.M.E. (2013). **Acción del Peróxido de Hidrogeno sobre Mezcla de Multicomponentes**. Acta de la Asociación Argentina de Físicoquímica y Química Inorgánica (Editorial). ISSN: 2314-3363. <http://aaifq.org.ar/libroCafqi2013/index.php?controller=render&action=home>.

Chaile, A. P; Romero, N.; Ferreyra de Ruiz Holgado, M.M.E. (2012). **Organochlorine Pesticides in Vinasses**. BIOCELL 36 (2). http://www.cricyt.edu.ar/biocell/vol/pdf/36_2/07-SBTucuman.pdf

Presentaciones en reuniones científicas

XX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. 14 al 17 de abril de 2019. Tucumán. Proceso Fenton en Oxidación de Vinasas. Viera, Hector; Coronel, Mónica; Sánchez, Nancy; Chaile, Adriana; Ferreyra de Ruiz Holgado, Elsa.

III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. 31 de julio al 3 de agosto de 2017. Santa Fe. Efectos de la Dilución en ensayos de de Oxidacion de Vinazas con Peróxido de Hidrógeno. Chaile, A.; Sanchez, N. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M.

XX Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. 16 al 19 de mayo de 2017, Carlos Paz, Córdoba. Comparación de la Cinética de Reacción Oxidativa de Efluentes Agroindustriales Envenenados con Plaguicidas y Peróxido de Hidrogeno. Chaile, Adriana; Barnes, Norma; Ferreyra de Ruiz Holgado, M.

XXXI Congreso Argentino de Química. 25 al 28 de Octubre de 2016. Buenos Aires. Ensayos de Degradacion de Plaguicidas Clorados en Vinaza con Procesos Oxidativos. Chaile, A. y Ferreyra de Ruiz Holgado, M.

II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental y II Congreso Nacional de la Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental. 1 al 4 de diciembre de 2015. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Oxidación de Plaguicidas con Peróxido de Hidrógeno.. Chaile, A. Viera, A. y. Ferreyra de Ruiz Holgado, M.M.E.

VIII Congreso Argentino de Ingeniería Industrial. 12 y 13 de noviembre de 2015. Córdoba. Oxidación y recuperación de sales inorgánicas de un efluente de la industria alcoholera. Chaile, A. P; Viera, H. A.; Ferreyra de Ruiz Holgado, M. M.E

30° Congreso Argentino de Química. 22 a 24 de octubre de 2014. Buenos Aires. Ensayos cinéticos de degradación oxidativa de un efluente industrial con peróxido de hidrógeno. Chaile, A.; Medina, N. Ferreyra de Ruiz Holgado, M. M. Elsa.

VII Congreso Iberoamericano de Física y Química Ambiental. XII Encuentro de Química Analítica y Ambiental. 6 al 10 de octubre de 2014. Viña del Mar. Chile. Validación de Método para Detección de Plaguicidas Organoclorados en Mezcla Multicomponentes, Residuo de la Industria Alcoholera. Chaile, Adriana; Barnes, Norma; Ferreyra de Ruiz Holgado, M. M. Elsa.

XV Jornadas de la Sociedad Argentina de Biología. 4 al 6 de diciembre de 2013. Chascomús. Buenos Aires. Detección de Plaguicidas en Mezclas de Multicomponentes. Residuos de la Industria Alcoholera.

XVIII Congreso Argentino de Físicoquímica y Química Inorgánica. 9 al 12 de Abril de 2013. Rosario – Argentina. Acción del Peróxido de Hidrogeno sobre Mezcla de Multicomponentes. Medina, N.; Chaile, A.; Ferreyra de Ruiz Holgado, M. E.