

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Química

Comparación de dos métodos matemáticos de interpolación en la construcción de curvas de calibración para la cuantificación de 25 pesticidas por cromatografía de gases-masas

Trabajo de graduación presentado por Francis Patricia Solis Rouzant para optar al grado de Licenciada en Química

Guatemala

2010

Comparación de dos métodos matemáticos de interpolación en la construcción de curvas de calibración para la cuantificación de 25 pesticidas por cromatografía de gases-masas

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Química

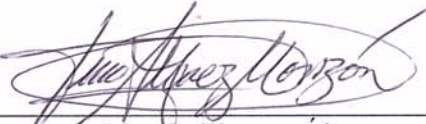
Comparación de dos métodos matemáticos de interpolación en la construcción de curvas de calibración para la cuantificación de 25 pesticidas por cromatografía de gases-masas

Trabajo de graduación presentado por Francis Patricia Solis Rouzant para optar al grado de Licenciada en Química

Guatemala

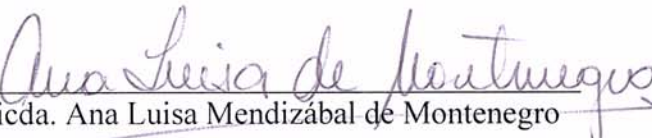
2010

Vo.Bo.:



Lic. Guillermo Álvarez

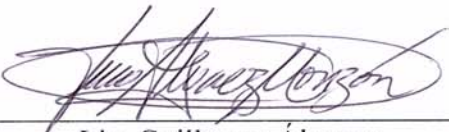
Tribunal Examinador:



Licda. Ana Luisa Mendizábal de Montenegro



Lic. Angel Ramírez Sandoval



Lic. Guillermo Álvarez

Fecha de aprobación:

Guatemala, 10 de Junio de 2010

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	iv
LISTA DE GRÁFICOS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii

Capítulos

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
A. Plaguicidas.....	2
1. Toxicidad y uso inadecuado de plaguicidas.....	3
B. Análisis químico instrumental de plaguicidas.....	5
1. Cromatografía de gases con detector de masas.....	6
2. Técnicas de escaneo:.....	7
3. Rango lineal y dinámico:.....	8
4. Gráficas de calibrado en análisis instrumental.....	8
5. Relación entre señal y concentración.....	9
6. Pruebas de recuperación.....	10
C. Proceso de medición.....	11
D. Métodos de interpolación.....	12
1. Polinomios de Lagrange:.....	13
2. Polinomios interpolantes de Hermite:.....	13
3. Método de mínimos cuadrados:.....	13
4. Método de trazadores cúbicos:.....	15
E. Control estadístico.....	16
1. Distribución de las variables aleatorias.....	17
F. Comparación de resultados:.....	18
1. Prueba T para muestras apareadas:.....	18

III. JUSTIFICACIÓN	20
IV. OBJETIVOS	22
A. General.....	22
B. Específicos	22
V. HIPÓTESIS	23
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
A. Sondeo de datos	24
B. Análisis completo.....	29
1. Comparación entre métodos.....	31
2. Exactitud de los Métodos	34
VII. METODOLOGÍA	42
A. Investigación experimental	42
B. Investigación matemática.....	42
C. Presupuesto	43
VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
IX. LITERATURA CITADA	45
X. APÉNDICE 1	48
XI. APÉNDICE 2	54
XII. APÉNDICE 3	56
XIII. APÉNDICE 4	81
XIV. APÉNDICE 5	87
XV. APÉNDICE 6	90
XVI. APÉNDICE 7	93
XVII. APÉNDICE 8	95

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Evaluación de centro, variación y distribución normal de interpolaciones realizadas por el método de Trazadores Cúbicos.....	27
2. Evaluación de centro, variación y distribución normal de interpolaciones realizadas por el método de Mínimos Cuadrados	27
3. Comparación de igualdad de medias del los bloques del grupo 1	28
4. Medidas de tendencia central y variación de los residuos obtenidos por cada categoría de interpolación.	29
5. Resultados de Prueba t aplicada a todos los datos.	32
6. Comparación de medias entre los valores del grupo 2.	32
7. Resultados de prueba t aplicadas a cada bloque del grupo 2 correspondiente a la interpolación por Trazadores Cúbicos y para Mínimos Cuadrados.....	33
8. Estadísticos descriptivos de los residuos obtenidos por ambos métodos.	35
9. Histogramas correspondientes al grupo 1 de datos correspondiente a 7 plaguicidas en las dos categorías de interpolación..	48
10. Gráficas de Probabilidad normal correspondientes al grupo 1 de datos correspondiente a 7 plaguicidas en las dos categorías de interpolación..	51

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfica	Página
1. Ejemplo de elementos utilizados para evaluar la interpolación por método de Trazadores Cúbicos (TC) y por Mínimos Cuadrados (MC).....	30
2. Gráfica de Cajas de residuales entre el método de Trazadores Cúbicos (TC) y Mínimos Cuadrados (MC).....	31
3. Dispersión de los residuos obtenidos con método de Trazadores Cúbicos (TC) y Mínimos Cuadrados (MC).....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Cromatograma modo SIM de 25 pesticidas en el rango de 4 ppb a 2 ppm.	7
2. Rango Lineal y Rango Dinámico.....	8
3. Representación tridimensional de las relaciones entre variables.....	9
4. Principales problemas en las pruebas de recuperación.....	10

RESUMEN

En este estudio el objetivo principal fue la comparación del Método de Trazadores Cúbicos y el método de Mínimos Cuadrados en la interpolación de curvas de calibración de los siguientes plaguicidas: Metamidofós, Profós, Forato, Dimetoato, Terbufós, Diazinon, Clorotalonil, Propanil, Metil Paratión, Metalaxíl, Metil Pirimifós, Malatión, Clorpirofós, Captan, Alfa y Beta Endosulfan, Profenofós, p,p-DDE, p,p-DDT y Permetrina cis- y trans-. Se evaluaron 216 curvas de calibración obtenidas del proyecto Fodecyt 108-2004 las cuales fueron interpoladas por los dos métodos, las diferencias entre el valor obtenido por la interpolación con cada método y el valor teórico de un punto en la calibración se comparó por medio de una prueba t pareada con un nivel de significancia de 0.05. Se concluyó que sí existen diferencias significativas entre los residuos obtenidos utilizando el método de Trazadores Cúbicos y el método de Mínimos Cuadrados. Además se constató que el menor residuo se obtiene al interpola con el Método de Trazadores Cúbicos.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los equipos de análisis químico cuentan con software para el análisis de datos el cual es útil para la mayoría de los requerimientos estándar del equipo, pero estas aplicaciones no son suficientes cuando se lleva al equipo a sus límites de detección. En esta frontera los datos obtenidos empiezan a presentar variaciones notables que afectan la reproducibilidad de la medición y los errores en la cuantificación afectan la exactitud de los resultados. Una solución sería el cambio del equipo y método a uno más sensible, lo cual implica una inversión casi imposible para la mayoría de laboratorios químicos en Guatemala.

La creciente demanda de análisis de residuos de plaguicidas, lleva a buscar una solución viable al problema que presentan los equipos al analizar concentraciones muy bajas. En esta tesis se presenta una opción para optimizar los resultados del análisis cuantitativo de los siguientes plaguicidas: Metamidofos, Profos, Forato, Dimetoato, Terbufós, Diazinon, Clorotalonil, Propanil, Metil Paratión, Metalaxíl, Metil Pirimifós, Malatión, Clorpirofos, Captan, Alfa y Beta Endosufan, Profenofos, p,p-DDE, p,p-DDT y Permetrina cis- y tran-, analizados por cromatografía de gases con detector de masas, en el rango de concentraciones de 4 ppb a 2 ppm.

La detección en estos valores de concentración en niveles traza fue posible de detectar después de una larga labor experimental para optimizar los parámetros cromatográficos y alcanzar límites de detección más bajos posibles. A partir de resultados obtenidos y utilizando el método de interpolación del software Chemstation® no se obtuvieron buenos resultados, por lo que se planteó la utilización de otros métodos de interpolación que se adecuaron de mejor forma a los datos obtenidos.

El objetivo principal de este estudio fue la comparación del Método de Trazadores Cúbicos y el método de Mínimos Cuadrados como métodos de interpolación para la construcción de curvas de calibración de los 25 plaguicidas anteriormente descritos, para lo cual se evaluó la distribución de los datos y la relación entre los datos obtenidos por un mismo método de interpolación. Una vez conocidas las características de los datos se aplicó la prueba t pareada para conocer si existe o no diferencia entre los residuos obtenidos por métodos evaluados.

II. ANTECEDENTES

A. Plaguicidas

Los plaguicidas son compuestos químicos diseñados para combatir el ataque de varios organismos considerados plagas de la agricultura y la horticultura. Se pueden clasificar según su función general en: Insecticidas, fungicidas y herbicidas, los cuales pueden ser de dos tipos: sistémicos y no sistémicos.

Los plaguicidas pueden clasificarse además por su origen: Botánicos como la nicotina producida por la planta de tabaco, rotenoides extraídos de la raíz de *Derris elliptica* y los piretroides obtenidos de las flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Cremin, 1978). Sintéticos, los cuales se clasifican según el grupo químico en: Bipiridilos, carbamatos, órgano-estánicos, organoclorados, organofosforados, organomercuriales, triazinas, derivados del ácido fenoxiacético, derivados del cloronitrofenol, piretrinas y piretroides, tiocarbamatos, derivados cumarínicos, otros.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado una clasificación dependiendo del grado de peligrosidad, la cual significa la capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto. (Henao, 1990). Según su toxicidad aguda la OPS recomienda una clasificación según el Valor de Dosis Letal 50 (por mg de tóxico por kg peso del animal de experimentación) en cuatro grupos: Extremadamente tóxico, Altamente tóxico, Moderadamente peligroso y Ligeramente peligroso (Molina, 1987)

La Agencia de Protección del Medio Ambiente de EUA (USA EPA, Donald P. Morgan, 1982) recomienda una clasificación mixta que distingue 13 grupos: Plaguicidas organofosforados inhibidores de la colinesterasa (CE), plaguicidas carbáminicos inhibidores de la CE, plaguicidas organoclorados sólidos, pentaclorofenol, herbicidas nitrofenólicos/cresólicos, herbicidas clorofenoxiacéticos, herbicidas tipo Paraquat y Diquat, ditiocarbamatos y tiocarbamatos, Piretroides, plaguicidas arsenicales, rodenticidas, fumigantes, plaguicidas misceláneos de diferente toxicidad (Molina, 1987)

1. **Toxicidad y uso inadecuado de plaguicidas.** La necesidad creciente de producción de alimentos, la erradicación de malaria, enfermedad de Chagas y Leishmaniasis en los países en desarrollo implican el uso de pesticidas, los problemas se derivan de su uso inadecuado ya sea por se usen excesivamente, no se asocien con un control integrado de plagas o no se desechen los residuos correctamente. En América Central por lo menos cuatro millones de personas en contacto con actividades agrícolas están potencialmente expuestos a plaguicidas. Aun cuando los agricultores pueden evitar la exposición directa a los plaguicidas si se siguen métodos de aplicación adecuados y protección, los encargados de la explotación agrícola frecuentemente no los proveen o las condiciones tanto climáticas como técnicas hacen su uso muy difícil.

Los efectos de este uso inadecuado de los plaguicidas se manifiestan sobre el medio ambiente, la fauna, la flora, alimentos y las poblaciones humanas. En el caso del medio ambiente se han registrado efectos adversos debido al efecto acumulativo residual de los pesticidas organoclorados específicamente. La contaminación de fuentes acuíferas se produce principalmente por la descarga de pesticidas productos del lavado de envases y equipos de aplicación y el lavado del suelo debido a la erosión. (Molina, 1987)

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para el 2004 se registra 7,000 episodios de envenenamiento por plaguicidas por año en Centro América, de esos el 40% está relacionado con el trabajo y el resto es la consecuencia de accidentes o intentos de suicidio. Sin embargo el número de casos es mucho más elevado debido al subregistro resultado de las dificultades de acceso de las comunidades a los servicios de salud, en el diagnóstico de las intoxicaciones producidas por los plaguicidas. Además de las intoxicaciones agudas, la exposición a plaguicidas durante largos periodos de tiempo a bajo nivel de exposición pueden producir efectos crónicos severos tales como malformaciones congénitas, daños al sistema nervioso central, efectos mutagénicos, distintos tipos de cáncer, daños al sistema inmunitario, lesiones en la piel, los ojos y pulmones entre otros (Chelala, 2004)

En informe presentado en el 2004 para el Proyecto PLAGSALUD de la OPS se muestra que en Guatemala casi la mitad de la población es indígena, el 65% de la misma vive en las áreas rurales y el número de agricultores es alrededor de 1.7 millones de personas, lo

cual representa el 50% de la población económicamente activa. Los plaguicidas se usan en grandes cantidades en hortalizas, flores y productos de exportación tradicionales como el café y el banano; estos plaguicidas se venden al público sin restricciones en más de 900 agroservicios distribuidos en todo el país. En Guatemala sólo el 50% de la población tiene acceso a servicios regulares de atención médica por lo que no se tiene un registro certero de los casos de intoxicación causados por plaguicidas. El subregistro de intoxicaciones hace que se minimice su importancia sobre la salud de las poblaciones y su consiguiente impacto económico.

En Guatemala y Centro América la Malaria ha sido una enfermedad de siglos y se ha encontrado diferentes procesos de erradicación, prevención y control. El DDT se introdujo en la década de los años 50 para combatir las plagas en la agricultura en grandes extensiones de plantación de algodón en la costa sur del país. En 1959 se introduce en Salud Pública para combatir al zancudo transmisor de la Malaria, lo que dio muy buen resultado por ser eficaz y económico. Por el uso excesivo del mismo se origina en 1963 una incipiente resistencia que se generalizó en 1965. En la década de los años 70 se decidió disminuir el uso de DDT por la acción residual y los efectos secundarios en la salud humana y el medio ambiente, al mismo tiempo que se evaluó Folitión y Malatión pensando en que fosfato pudiera remplazarlo. En 1971 aparece el Propoxur un carbamato con poder residual y fumigante, se inició la aplicación en marzo de ese año hasta 1974 cuando apareció alta resistencia, se probaron otros pesticidas como el Cloroxim, Sumitión y Deltametrina entre otros los cuales no ofrecieron buenos resultados. En 1979 el DDT alcanzó una resistencia de 90% y finalmente la prohibición total dentro del marco legal fue hasta 1980 (Obispo, 2001)

En 2001 el Ministerio de salud pública presentó un informe de la primera fase de del proyecto de eliminación gradual del DDT en donde muestran los resultados de los monitoreos de este plaguicida en agua superficial realizados en Tiquisate Escuintla durante los meses de julio a agosto del 2001 en 8 puntos de agua superficial divididos en tres ríos grandes, 2 ríos menores, 2 provenientes de canales de irrigación y 1 proveniente del estero. Los valores encontrados no exceden los límites permisibles según la norma COGUANOR 29001 norma para agua potable con un máximo de 1.0 ppm de DDT.

B. Análisis Químico Instrumental de Plaguicidas

Las técnicas de análisis clásicas o denominadas química húmeda, como la volumetría y gravimetría continúan utilizándose, dichas técnicas son ideales cuando están involucradas un pequeño número de muestras. Sin embargo las técnicas que utilizan espectroscopia de absorción o emisión a varias longitudes de onda, diferentes métodos electroquímicos, espectroscopia de masas, cromatografía gaseosa o líquida, métodos radioquímicos y térmicos, probablemente suponen al menos el 90% de todo el trabajo analítico actual. Todo ello conlleva procedimientos estadísticos que deben proporcionar siempre información de la precisión y exactitud de las medidas, además reflejar las ventajas técnicas de los métodos utilizados, especialmente la posibilidad de cubrir un gran intervalo de concentraciones y manejar con rapidez muchas muestras (Miller, 1998)

En los últimos años la química analítica ha tendido hacia la detección y determinación de elementos traza, este nombre genérico de “elemento traza” se refiere específicamente a aquellos elementos que se encuentran presentes en concentraciones muy pequeñas en un material o sustancia (Litenu,1980). Por ejemplo menos que 0.01 mg de ingrediente activo por litro de agua no solamente identificado sino además determinado con reproducibilidad (Brandt, *et. al.*. 1995)

Los métodos instrumentales pueden realizar análisis que son difíciles o imposibles por los métodos clásicos, dado que raramente detectan especies químicas a niveles de sub-microgramo, mientras que los métodos instrumentales son sorprendentemente sensibles. Otra ventaja de los métodos instrumentales es cuando se requiere analizar una gran cantidad de muestra, el análisis suele ser más rápido y a menudo más barato que los laboriosos métodos manuales. Entre las áreas donde el uso de equipamiento automático es decisivo se encuentran el análisis clínico, control medioambiental y principalmente en los procesos industriales. En todas estas aplicaciones del análisis automático, surgen evidentemente problemas especialmente con la estimación de errores sistemáticos (Miller, 1998)

Dado la alta sensibilidad que algunos equipos proporcionan en el análisis químico surge el dilema de los límites permitidos de exposición, ¿Qué tan sensible deben ser los monitoreos ambientales? Se han establecido muchos límites de exposición de pesticidas basados en qué tan bajo se puede medir con los instrumentos de análisis actuales, a medida

que se desarrollan mejores instrumentos se presionan los límites inferiores, en consecuencia disminuyen los límites de exposición (Dunnivant, 2004)

1. **Cromatografía de gases con detector de masas.** La cromatografía de gases con detector de masas (CG-MS) es una técnica analítica la cual comprende un cromatógrafo de gases y un espectrómetro de masas, es usado para separar mezclas químicas complejas en sus componentes individuales, una vez separados son identificados y cuantificados por el espectrómetro de masas (Skoog, *et. al.* 1998)

En la mayoría de los casos, la cromatografía de gases es la primera opción de técnica de separación debido a tres principales ventajas: alta eficiencia de separación, alta velocidad de análisis y amplio rango de detección. Algunos de los detectores usados pueden ser muy específicos como los termoiónicos, nitrógeno-fósforo (NPD), detector fotométrico de llama (FPD) y el detector de captura de electrones (ECD). Por el contrario los detectores de masa (MS) proveen una excelente detección e identificación para cantidades de analito de hasta 1 ng o menos (Brandt, *et. al.* 1995)

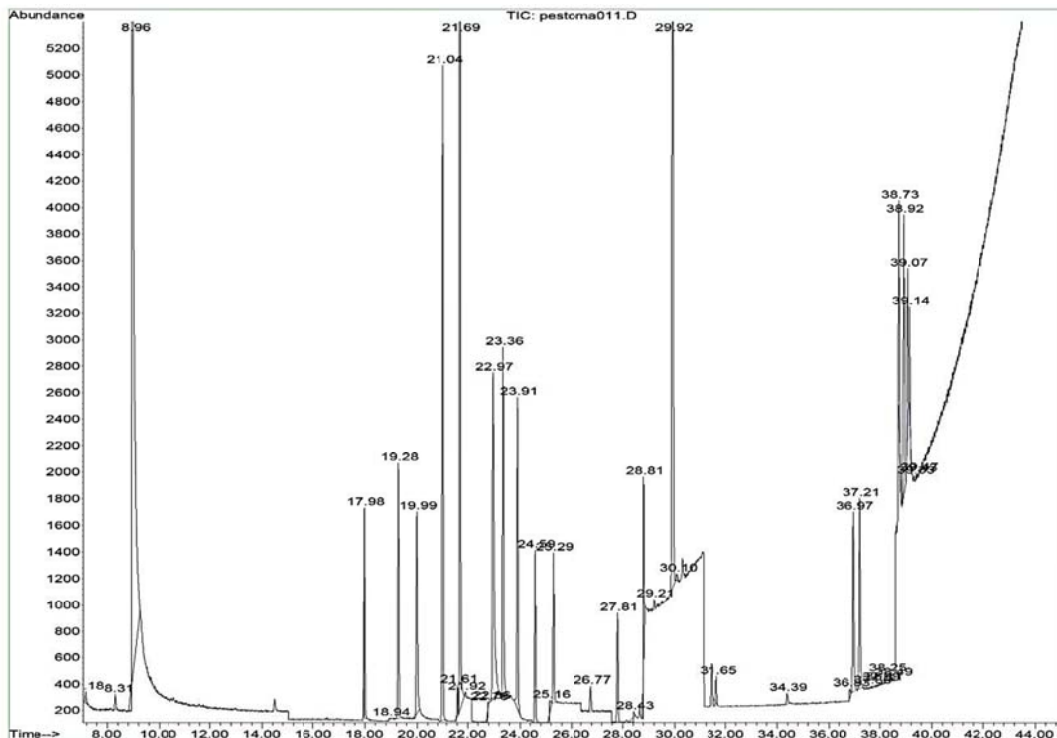
Debido a que las columnas cromatográficas en donde la mezcla es separada son sumamente sensibles a otros componentes para los cuales no están diseñadas, antes de ser introducidas al CG las muestras deben ser preparadas, usualmente es necesario la extracción de los analitos por métodos químicos convencionales ya sea por extracción líquido-líquido o bien a través de fases sólidas. Los analitos extraídos son inyectados al cromatógrafo de gases en donde el gas acarreador usualmente Hidrógeno o Helio los lleva a través de la columna en donde a su paso interactúan con la fase estacionaria, estas interacciones permiten la separación de los componentes de la mezcla. Cada uno de los componentes individuales que salen de la columna del cromatógrafo de gases entran al área de ionización de espectrómetro de masas, en donde es bombardeada con electrones los cuales fragmentan las moléculas de los analitos produciendo fragmentos ionizados, estos fragmentos son acelerados en el cuadrupolo y separados de acuerdo a su proporción carga masa. La separación es complementada aplicando radio frecuencias y corriente directa lo cual permite que solo fragmentos específicos pasen al detector de masas, como resultado se muestra en un software el espectro de masas el cual indica la abundancia relativa versus la relación masa/carga (Skoog, *et. al.* 1998)

Los Métodos cromatográficos tienen el inconveniente de la rapidez con la cual las columnas cromatográficas son contaminadas y pierden resolución, el analista no puede confiar por completo el dato de área y altura que proporcionan los integradores automáticos (Pichard, 1997)

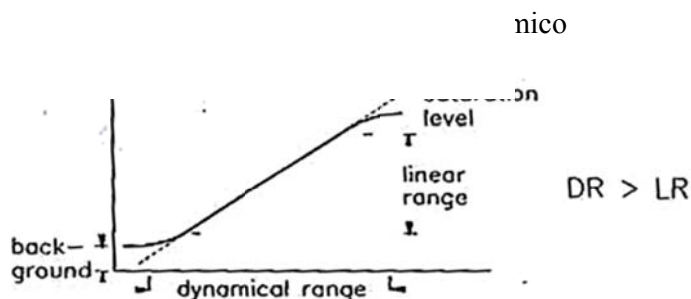
2. **Técnicas de escaneo.** El método más conveniente de escaneo de masas es el de escaneo completo conocido como “scan mode” el cual el espectrómetro escanea sobre un rango de masas que cubre todo el rango de moléculas y fragmentos predichos para una mezcla compleja de analitos, entre 50 y 600 u. (Grob, 1995)

En el análisis de compuestos al nivel de trazas el CG-MS puede ser utilizado en modo operación denominado monitoreo selectivo de iones o SIM por sus siglas en inglés. Este modo operación permite la detección de analitos con mayor sensibilidad que el modo de escaneo completo, en este sistema cuatro iones (m/z) son monitoreados por cada compuesto de interés lo cual permite aumentar la sensibilidad del equipo por un factor de 100, este método permite eliminar los interferentes causados por la matriz.

Figura 1: Cromatograma modo SIM de 25 pesticidas en el rango de 4 ppb a 2 ppm.



3. **Rango lineal y dinámico.** El rango lineal de un detector es el conjunto de niveles de una compuesto de la cuales se produce una respuesta del detector constante con una específica variación, usualmente $\pm 5\%$. El límite inferior de linealidad es conocido como MDL por sus siglas en inglés. (Grob, 1995). El rango dinámico de un detector es mayor que el rango lineal, está definido como los niveles de un compuesto que al incrementar el nivel producen un incremento en la respuesta o señal del detector. Es usualmente dada como una proporción 1:75 la cual indica la concentración más baja y más alta que pueden ser identificadas bajo las mismas condiciones diferentes en un factor de 75.



(Meier & Zünd, 1993)

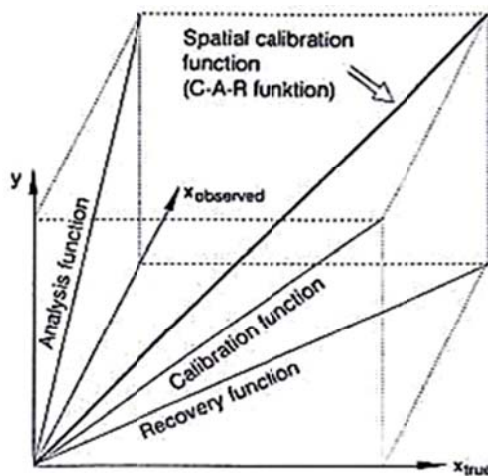
4. **Gráficas de calibrado en análisis instrumental.** El procedimiento general consiste en la toma de una serie de materiales, al menos tres, de los que se conoce la concentración del analito. Estos patrones se miden en el instrumento analítico bajo las mismas condiciones que las utilizadas posteriormente para los materiales de ensayo. Una vez establecida la gráfica o ecuación del calibrado, puede obtenerse la concentración del analito por interpolación.

Consiste en la exacta determinación de la relación entre el parámetro y el valor analítico x , expresado por una función de calibración: $y = f(x)$

Asegurarse de la exactitud es uno de los principales problemas de la calibración, para ello se puede abordar el problema en sus tres dimensiones: describiendo la relación entre los valores medidos y el verdadero valor analítico de las muestras de calibración x_{real} , la curva de calibración por sí misma, como entre valores de determinados análisis de muestras reales $x_{estimado}$. Las consideraciones de las tres dimensiones del problema incluyen la función de recuperación o fortificación $x_{estimado} = f(x_{real})$ como una relación entre el valor real y

determinado valor analítico. Idealmente esta función debería representarse como $x_{estimado} = x_{real}$ y representa la línea a 45° del origen. En la práctica analítica esta relación ideal puede presentar modificaciones de manera aditiva, multiplicativa y exponencial. Únicamente en el caso que $x_{estimado} = x_{real}$, el problema de la calibración puede ser tratado de manera bidimensional, como usualmente se asume (Günzler, 1994).

Figura 3: Representación tridimensional de las relaciones entre variables.



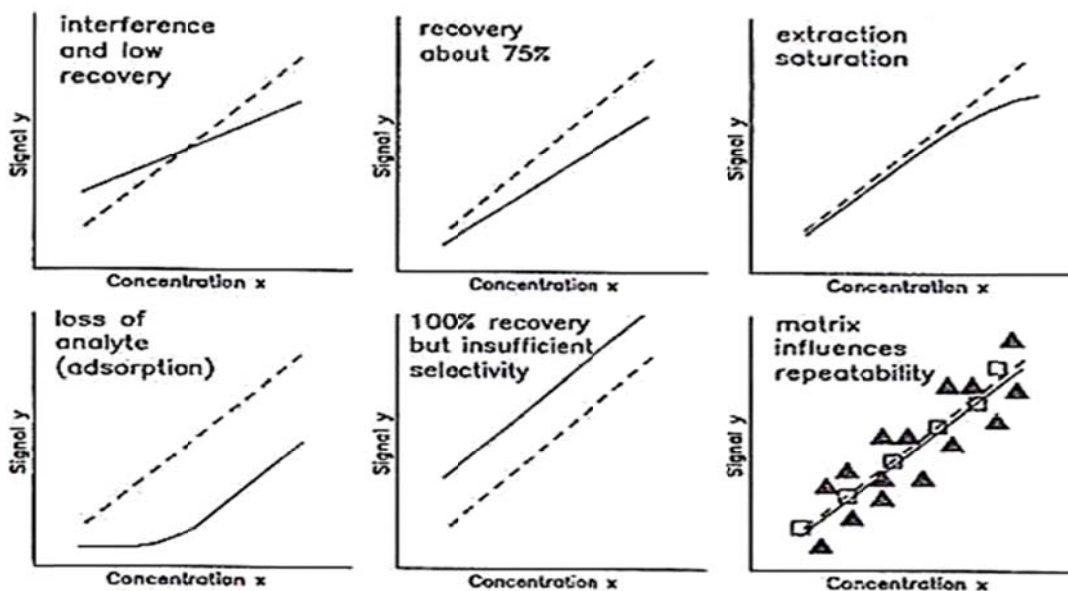
(Günzler, 1994).

5. Relación entre señal y concentración. Las muestras contienen varios componentes (A, B, ..., M) y las cantidades de estos son c_A, c_B, \dots, c_M pueden variar aleatoriamente (dentro de ciertos límites) de una muestra a otra. Está claro que un sistema analítico real siempre está sujeto a varias perturbaciones, consecuentemente siempre hay un grado de incertidumbre en los resultados. En condiciones reales cuando hay perturbaciones presentes, la función de respuesta al sistema $y = g(c_A, c_B, \dots, c_M)$ tiene coeficientes aleatorios. Cuando se realiza un proceso riguroso se limitan las perturbaciones lo que a su vez limita el rango de fluctuaciones en los coeficientes, por lo que se puede expresar de un valor esperado de respuesta denotado por $y = g_0(c_A, c_B, \dots, c_M)$, este valor es el valor más probable de la función de respuesta del sistema. Consecuentemente la respuesta al sistema analítico puede ser dado como $y = \hat{y} + \Delta y$ donde el primer término es el valor esperado y el segundo su derivada, en la práctica analítica se dan las condiciones para que la dependencia sea principalmente de la concentración c , por lo que $y = g_0(c) + \Delta y$ (Liteanu, 1980)

Existen dos modelos matemáticos principales para la función de respuesta, la primera es el modelo lineal y la exponencial. El modelo lineal es preferido y cuando la respuesta es no lineal se procede a su linealización.

6. **Pruebas de recuperación.** Provee una medida de la eficiencia de un método analítico, cuando la naturaleza y composición de un analito está claramente definido se puede realizar una prueba de fortificación la cual consiste en agregar a la muestra una cantidad conocida del compuesto de interés, la cual llamaremos muestra fortificada y posteriormente realizar el análisis de los componentes (Prichard, 1997). Cuando la naturaleza de la muestra no permite la posibilidad de contar con una muestra que no contenga en absoluto el o los componentes que deseamos medir es necesario realizar la medición antes y después de agregar la cantidad conocida del compuesto de interés. Se debe tener en cuenta la forma en que se construye la curva de calibración para evitar los problemas más frecuentes en las pruebas de recuperación.

Figura 4: Principales problemas en las pruebas de recuperación



(Meier & Zünd, 1993)

Los porcentajes de recuperación pueden no ser un reflejo real de ocurre en la práctica ya que algunos analitos cuando son incorporados naturalmente a las matrices de estudio se unen químicamente con los constituyentes de la matriz, de manera que al realizar el proceso de fortificación esto no ocurre, de manera que en la muestra estamos midiendo el analito libre y en la otra el analito total. (Pichard, 1997)

C. Proceso de Medición

De manera general medir es asignar un número a objetos o eventos acorde a reglas específicas, en el contexto de la ciencia y la tecnología estos objetos corresponden a propiedades de la materia y las reglas obedecen a principios científicos.

De acuerdo a S.S. Stevens (1964) se puede distinguir tres tipos de escalas: nominal, ordinal, de intervalos y de relación. La escala nominal solo requiere asignar un número a cada objeto y la única operación numérica involucrada es la que determina la igualdad. La escala ordinal permite disponer los objetos o los eventos en un orden lo cual requiere determinara magnitud respecto a otros. La escala de intervalos requiere la determinación de la equidad de intervalos o diferencias, las medidas en esta escala no están relacionadas a un cero real. La escala de relación o proporción requiere operaciones numéricas para determinar las relaciones de igualdad, orden, equivalencia de intervalos y equivalencia de proporciones.

Dado que no existe un método directo para medir la concentración de un plaguicida en una muestra de agua, se ha utilizado un método indirecto que está basado en leyes fundamentales y empíricas que involucran relaciones entre masa y radiación. Estos métodos de medición indirectos relacionan la medida de una variable V con una propiedad P, la idea fundamental de este método está en que la variación de V con respecto a P se puede graficar como una curva monótonica (Mandel, 1964), dicho postulado se cumple si se mantienen absolutamente todas las constantes ambientales controladas, situación que no es posible en la práctica de laboratorio.

El proceso de medición consiste en algunos o todas las siguientes unidades de operación: (Wermimont, 1977),

- Toma de muestra y submuestra en laboratorio de algún material
- Tratamiento de la submuestra físico, químico o biológico para remover los efectos de interferentes.
- Medición de alguna propiedad de la muestra pretratada
- Estimación de la propiedad tratada usando una curva de calibración

El atributo más importante en el proceso de medición es si este puede ser llevado a cabo bajo “control estadístico” (Wermimont, 1977), para alcanzar dicho control estadístico se debe asegurar que todas las causas de variabilidad han sido eliminadas del proceso de medición. Los otros atributos más importantes en la medición son la precisión y la exactitud de los resultados. Precisión es universalmente considerada como la concordancia mutua entre mediciones individuales alrededor de un valor medio, mientras exactitud se refiere al grado de concordancia de mediciones individuales respecto a un valor referencia de la propiedad que se está midiendo.

Otras características del desempeño son:

- Robustez: La resistencia del proceso a pequeños cambios incontrolables en las condiciones de operación.
- Especificidad: El proceso no responde a ninguna otra propiedad que no sea la que se está determinando.
- Límites de medición segura: El proceso discrimina, con un alto grado de certeza, entre niveles de una propiedad alrededor de un valor crítico cercano a cero.

Los errores en las mediciones pueden ser de tres tipos. Errores sistemáticos son siempre del mismo signo y magnitud y producen sesgo. Se mantienen constantes no importa cuántas mediciones se realice. Errores aleatorios varían de signo y magnitud y son impredecibles, el promedio se aproxima a cero al realizar suficientes mediciones. Errores crasos son aquellos causados por simples errores y pueden ser minimizados con un adecuado control de calidad (Taylor, 1990)

D. Métodos de Interpolación

Dado un conjunto de datos, una de las clases de funciones más útiles en el conjunto de números reales son los polinomios algebraicos de la forma

$$P_n(x) = a_n x^n + a_{n-1} x^{n-1} + \dots + a_1 x + a_0$$

donde n es un entero no negativo y a_0, \dots, a_n son constantes reales. Su importancia se debe a que aproximan de manera uniforme a las funciones continuas, eso se expresa a través del teorema de Weierstrass: Suponga que f está definida y es continua en $[a, b]$. Para cada $\epsilon > 0$, existe un polinomio $P(x)$, con la propiedad de que $|f(x) - P(x)| < \epsilon$ para todo x entre $[a, b]$.

(Burden, 2003). Otra importancia de los polinomios es que la derivada y la integral definida de un polinomio son fáciles de calcular y son polinomios también.

1. Polinomios de Lagrange. El problema de encontrar un polinomio de primer grado que pase por los puntos distintos (x_0, y_0) y (x_1, y_1) es el mismo que el de aproximar una función f para la cual $f(x_0) = y_0$ y $f(x_1) = y_1$ por medio de un polinomio de primer grado que interpole los valores de f en los puntos dado. Podemos definir el n -ésimo polinomio interpolante de Lagrange por el siguiente teorema:

Si x_0, x_1, \dots, x_n son $n+1$ números distintos y si f es una función cuyos valores están dados en esos números, entonces existe un único polinomio $P(x)$ de grado a lo más n , con la propiedad de que $f(x_k) = P(x_k)$ para cada $k = 0, 1, \dots, n$

Este polinomio está dado por:

$$P(x) = \sum_{k=0}^n f(x_k) \prod_{\substack{i=0 \\ i \neq k}}^n \frac{(x - x_i)}{(x_k - x_i)}$$

Los polinomios de Lagrange no necesitan resolver sistemas de ecuaciones para evaluar el polinomio, pero si requiere una considerable operación computacional, especialmente en polinomios de orden mayor.

2. Polinomios Interpolante de Hermite. Los polinomios Oscilantes son una generalización de los polinomios de Taylor y Lagrange, dados $n+1$ números distintos x_0, x_1, \dots, x_n en $[a, b]$ y los enteros no negativos m_0, m_1, \dots, m_n , y $m = \max\{m_0, m_1, \dots, m_n\}$. El polinomio oscilante a lo más de grado M , donde $M = \sum_{i=0}^n m_i + n$, este polinomio $P(x)$ de

menor grado que aproxima la función f tal que: $\frac{d^k P(x_i)}{dx^k} = \frac{d^k f(x_i)}{dx^k}$ para cada $i = 0, 1, \dots, n$

y $k = 0, 1, \dots, m_i$ cuando $m_i = 1$ para cada $i = 0, 1, \dots, n$ se produce una los polinomios de Hermite, los cuales concuerdan con los x_0, x_1, \dots, x_n . Además como las primeras derivadas concuerdan con las de f , tendrán las misma líneas tangentes el polinomio y la función (Burden, 2003).

3. Método de mínimos cuadrados. Considere una serie de puntos discretos y el polinomio aproximante $y(x)$ escogido para representar el grupo de datos, los puntos discretos no se encuentran en el polinomio por lo que la diferencia o desviación de los puntos debe ser minimizada de alguna manera. Se puede abordar el problema de muchas maneras pero el

criterio de mínimos cuadrados, en la cual la suma de las diferencias es minimizada produce la mejor aproximación.

El polinomio más simple es el lineal, la aproximación de regresión lineal es extremadamente útil y comúnmente usada. Dados N puntos (x_i, Y_i) la mejor aproximación es la función $y = a + bx$ para cada valor de $y_i = a + bx_i$ para $i = 1, \dots, N$, la desviación para cada valor de x_i es $e_i = Y_i - y_i$ para cada $i = 1, \dots, N$. La suma de los cuadrados de la desviación

define la función $S(a, b) = \sum_{i=1}^N e_i^2 = \sum_{i=1}^N (Y_i - a - bx_i)^2$ esta función alcanza el mínimo cuando la derivada es cero:

$$\frac{\partial S}{\partial a} = \sum_{i=1}^N 2(Y_i - a - bx_i)(-1) = 0$$

$$\frac{\partial S}{\partial b} = \sum_{i=1}^N 2(Y_i - a - bx_i)(-x_i) = 0$$

Haciendo un rearrreglo obtenemos las llamadas ecuaciones normales de la regresión por mínimos cuadrados, las cuales pueden ser resueltas por eliminación Gaussiana.

$$aN = b \sum_{i=0}^N x_i = \sum_{i=0}^N Y_i$$

$$a \sum_{i=0}^N x_i + b \sum_{i=0}^N x_i^2 = \sum_{i=0}^N x_i Y_i$$

En este método se asume que una línea recta es el mejor modelo para la relación entre el área del pico (y) la concentración (x), lo cual se modela con la ecuación $y = mx + b$, donde m es la pendiente de la recta y b es el intercepto de esta con el eje Y . Este modelo asume que cualquier desviación de algún punto se debe a errores en la medición del área del pico y que no existe error en los valores de concentración (x) de las cuales se conoce la concentración exacta. (Skoog, *et. al.* 1998)

Evaluación de adecuación del modelo de regresión: La estimación de los parámetros del modelo requiere el supuesto de que los errores son variables aleatorias no correlacionadas con media cero y varianza constante. Las pruebas de hipótesis y la estimación de intervalos requieren que los errores tengan una distribución normal y la suposición de que el orden del modelo es correcto.

Los residuales de un modelo de regresión son $e_i = y_i - \hat{y}_i, i = 1, 2, \dots, n$ donde y_i es una observación real y \hat{y}_i es el valor ajustado correspondiente con el modelo de regresión. El análisis de residuales se utiliza para verificar el supuesto de que los errores siguen una distribución normal aproximada con varianza constante, así como para determinar si sería conveniente incluir términos adicionales en el modelo (Montgomery, 2005)

Prueba de falta de ajuste: para verificar el supuesto de que el orden tentativo es el correcto, la hipótesis de que el modelo se ajusta adecuadamente a los datos se rechazaría si $f_0 > f_{\alpha, m-2, n-m}$

4. Método de trazadores cúbicos. Los problemas al utilizar los métodos de interpolación anteriores radican en la necesidad de un polinomio de orden mayor el cual concuerde con un gran número de puntos. Los polinomios de orden alto pueden pasar entre todos los puntos pero estos pueden oscilar ampliamente entre los puntos provocando errores de aproximación (Hoffman, 2001)

Un procedimiento alternativo consiste en dividir el intervalo que se desea interpolar en una serie de subintervalos y en cada uno construir un polinomio, a esta forma de aproximar por medio de funciones se le conoce como aproximación polinómica fragmentaria. La más común utiliza polinomios entre cada par consecutivo de nodos o puntos y recibe el nombre de interpolación de trazadores (Burden & Faires, 1998)

Los trazadores pueden ser de cualquier grado, los trazadores lineales o de primer orden son líneas rectas que conectan pares de datos de un grupo. Los trazadores lineales son independientes cada uno de un intervalo a otro, las derivadas y la curvatura son discontinuas en cada punto. Los trazadores cuadráticos proporcionan polinomios de segundo orden, las pendientes pueden ser forzadas para ser continuas, pero la curvatura se mantiene discontinua. (Hoffman, 2001)

Los trazadores cúbicos son polinomios de tercer grado que conectan cada par de datos, las pendientes y la curvatura pueden ser forzadas para ser continuas en cada punto. En general contiene cuatro constantes, de manera que ofrece suficiente flexibilidad para

garantizar que el interpolante no sólo sea continuamente diferenciable en el intervalo, sino que además tenga una segunda derivada continua en dicho intervalo. (Burden & Faires, 2003)

Trazadores de orden mayor pueden ser definidas de manera similar, de todas maneras los trazadores cúbicos han demostrado ser eficientes tanto por su buena aproximación como por su complejidad.

Dada una función f definida en $[a, b]$ y un conjunto de nodos $a = x_0 < x_1 \dots < x_n = b$ un interpolante de trazador cúbico S para f es una función que cumple con las siguientes condiciones:

$S(x)$ es un polinomio cúbico, denotado por $S_j(x)$ en un subintervalo $[x_j, x_{j+1}]$ para cada $j = 0, 1, \dots, n-1$

- $S(x) = f(x_j)$ para cada $j = 0, 1, \dots, n-1$
- $S_{j+1}(x_{j+1}) = S_j(x_{j+1})$ para cada $j = 0, 1, \dots, n-2$
- $S'_{j+1}(x_{j+1}) = S'_j(x_{j+1})$ para cada $j = 0, 1, \dots, n-2$
- $S''_{j+1}(x_{j+1}) = S''_j(x_{j+1})$ para cada $j = 0, 1, \dots, n-2$
- Una de las siguientes condiciones de frontera se satisface

$$S''(x_0) = S''(x_n) = 0 \quad \text{Frontera libre}$$

$$S'(x_0) = f'(x_0) \quad \text{y} \quad S'(x_n) = f'(x_n) \quad \text{frontera sujeta}$$

En general las condiciones de frontera sujeta logran aproximaciones más exactas, ya que abarcan más información acerca de la función, pero para que se cumpla esta condición se debe de tener los valores de las derivadas en los extremos o bien una aproximación precisa de ellas. . (Burden & Faires, 2003)

E. Control estadístico

El control estadístico es necesario para evaluar la precisión del proceso pero no dice nada acerca del sesgo, de todas maneras es pre requisito para la evaluación del sesgo.

Tampoco indica que el proceso de medición ha sido optimizado, solamente que ha sido estabilizado (Taylor, 1990)

Los requerimientos básicos para la aplicación de estadísticas a mediciones son:

- El sistema de medición es estable
- Las mediciones individuales son independientes unas de otras
- Las mediciones individuales son representaciones aleatorias de la población de la cual forman parte.

1. **Distribución de las variables aleatorias** Al repetir una determinación analítica varias veces se obtiene múltiples resultados, estos pueden ser descritos por una función de distribución $F(x)$, la cual expresa la probabilidad de encontrar la variable aleatoria. Los valores de la función de distribución se encuentran en el intervalo de $[0,1]$. La derivación de la función $F(x)$ corresponde a la función de densidad de probabilidad $f(x)$ (Liteanu, 1980)

Al estudiar la distribución de variables aleatorias Gauss concluyo que la función de distribución normal $N(m, \sigma/\sqrt{n})$ puede ser tomada como modelo para las investigaciones probabilísticas en los procesos de medición. La función de probabilidad se define como:

$$f(x; m, \sigma) = \left(\frac{1}{\sigma 2\pi} \right) e^{-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}}$$

Donde m es el valor de la media de la distribución, σ la desviación estándar (Liteanu, 1980)

Las propiedades más importantes de esta distribución son las siguientes:

- El máximo de $x=m$
- Es simétrica respecto a $x=m$
- Cualquier cambio del valor de m conlleva una translación de la curva normal a través del eje x pero la forma de la curva no se ve afectada.
- Existen dos puntos de inflexión a $\pm \sigma$

Teoremas:

- El valor de la media de n valores pertenecientes a una distribución normal $N(m, \sigma/\sqrt{n})$ es por sí misma una variable aleatoria descrita por la función de distribución normal.
- La función de densidad de probabilidad del valor medio de n valores pertenecientes a una distribución no normal, para valores de n grandes se aproxima a una distribución normal (Liteanu, 1980)

En Análisis químico también se pueden encontrar otras distribuciones como la χ^2 , la distribución t de Student, distribución F y la distribución Binomial.

F. Comparación de resultados:

Es común compara dos poblaciones normalmente distribuidas respecto a una característica numérica. Para esto tomamos una muestra de la población, medimos la característica de cada elemento en la muestra, calculas la media de cada muestra y comparamos estas medias. Las medias de las muestras son casi siempre distintas lo cual puede ser por el azar o diferencias entre las poblaciones (Molina, 2009)

Los estadísticos T se calcula con base al número de elementos de las muestras, sus medias y sus varianzas. Cuando la media de las muestras tiene asociada una distribución de probabilidad normal, la estadística T tiene asociada una distribución de probabilidad de Student. Es suficiente que la población tenga una distribución normal para las muestras estén distribuidas normalmente.

1. **Prueba T para muestras apareadas.** Dos muestras están apareadas cuando sus elementos están relacionados en parejas. Las muestras apareadas son evidencia de que las variables aleatorias que representan a la característica de las poblaciones en el estudio X_1 y X_2 son dependientes. Dos variables aleatorias son dependientes cuando los valores que toma una determinan los valores que toma la otra. Es común emplear el coeficiente de correlación entre dos variables para determinar si son dependientes (Molina, 2009)

Un coeficiente de correlación significativamente diferente de 0 nos indica que las variables son dependientes en forma directa si el coeficiente es positivo y en forma inversa si

es negativo. Sin embargo esta prueba solo nos indica cuando la dependencia provoca cambios proporcionales entre las variables.

III. JUSTIFICACIÓN

Los plaguicidas al igual que otros compuestos contaminantes son necesarios cuantificarlos en muestras ambientales en cantidades traza ya que esas pequeñas cantidades son suficientes para afectar la salud. El uso de plaguicidas se ha incrementado exponencialmente en los últimos años y este aumento ha sido relacionado con el aumento en la incidencia de enfermedades tanto de los pobladores en el área rural, la exposición prenatal ha sido asociada con problemas en el embarazo como defectos de nacimiento y diversos desórdenes neurológicos (Schetter, *et.al*, 2000). Además los plaguicidas pueden provocar daños no solo a las personas sino a los animales, al medio ambiente y a los alimentos. Se pueden acumular a lo largo de la cadena de alimentos, pueden contaminar el curso de las aguas y a su vez destruyen aquellos agentes naturales que ayudan al control de las plagas. (Chelala, 2004).

El abuso de plaguicidas se manifiesta no solamente en la salud de las personas sino también tiene un impacto económico, ya que Estados Unidos de América ha rechazado de Guatemala productos agrícolas por valor de millones de dólares por no cumplir con la normativa sobre presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos importados.

En Guatemala un país predominantemente agrícola, donde la importación de plaguicidas oscila entre 1500 toneladas al año, la única norma relativa a pesticidas esta aplicada a valores críticos en agua potable, la norma COGUANOR 29001 establece límites máximos permisibles de plaguicidas organoclorados, organofosforados y carbamatos, sin especificar una metodología oficial para Guatemala. Es importante tomar en cuenta que dicha norma se elaboró en base al Standar Methods de 1964, por lo que es claro que no contempla las nuevas tecnologías que cada vez permiten detectar niveles más bajos de contaminantes.

Instituciones públicas como el Laboratorio Nacional de Salud en el área de contaminantes, empresas privas y universidades han montado metodologías internacionales para detección de plaguicidas en diversas matrices. La implementación de mejoras a las metodologías usadas en la determinación de plaguicidas permitirá mayor aprovechamiento de los recursos y mayor exactitud en los resultados.

En Guatemala ya son varias las instituciones que cuentan específicamente con un cromatógrafo de gases con detector de masas, entre ellas recientemente la Universidad del Valle de Guatemala, por lo que contar con opciones de interpolación de datos obtenidos por este equipo permitirá evaluar mejoras en la obtención de resultados ya sea para análisis de plaguicidas o de otros compuestos que sea necesario evaluar en concentraciones traza ya sea en el área de investigación o en área de servicios.

IV. OBJETIVOS

A. General

Comparar el método de trazadores cúbicos contra el método de regresión por mínimos cuadrados para interpolación de los datos de concentración (x) y la señal obtenida (Y) de 25 plaguicidas determinados por cromatografía de gases con detector de masas.

B. Específicos

Tabular los datos de las calibraciones de plaguicidas en base a concentración, altura y área de picos cromatográficos.

Determinar las relaciones entre las calibraciones de los diferentes plaguicidas

Crear un algoritmo para el método de trazadores cúbicos en programa Mathematica®.

Aplicar el programa Microsoft Excel para obtener regresiones lineales de los datos tabulados.

Evaluar los beneficios y dificultades de usar cada método de interpolación.

V. HIPÓTESIS

H_0 : No existe diferencia significativa entre los valores de concentración de 25 plaguicidas obtenidos por CG-MS utilizando método de regresión por mínimos cuadrados o utilizando el método de trazadores cúbicos.

H_t : Si existe diferencia significativa entre los valores de concentración de 25 plaguicidas obtenidos por CG-MS utilizando método de regresión por mínimos cuadrados o utilizando el método de trazadores cúbicos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La química analítica está cada vez más presionando la frontera de aquello que es capaz de detectar, pero no solo es la posibilidad de la detección sino la capacidad de ofrecer un resultado confiable de aquello tan pequeño que se alcanza a medir. En la mayoría de las ocasiones no solamente se requiere de equipo de última generación, es importante potenciar las opciones que nos permite hasta el equipo más sencillo.

En cromatografía de gases con detector de masas, existe la posibilidad de realizar análisis multiresiduo y evaluar en una sola corrida varios analitos, en este caso se evaluó varios pesticidas en cantidades consideradas residuos o trazas. La evaluación de estas cantidades requiere de una calibración del equipo que relacione la señal electrónica obtenida con un valor de concentración dentro del rango que se espera encontrar en una muestra.

En este estudio se contó con los datos obtenidos con fondos del proyecto FODECYT 108-2004 los cuales fueron en total 350 cromatogramas de los cuales se escogieron 175 los cuales cumplían con el requisito de ser obtenidos con los mismos parámetros cromatográficos y de integración, se utilizó el método de integración PESTSIM8HE.M y los parámetros de integración correspondientes a PRECOLSEP2008.E. Los 175 cromatogramas correspondían a análisis individuales de los 5 niveles de calibración de 25 pesticidas, los cuales formaron 35 curvas de calibración completas por cada pesticida, haciendo un total de 875 calibraciones individuales.

A. Sondeo de datos

Dado que no se conocen estudios previos que sugieran información sobre las variables del estudio y para conocer la naturaleza de los datos se realizó un preexperimento en el cual se organizó la información de los 175 cromatogramas en 25 bloques correspondientes a cada pesticida.

Se llevó a cabo un muestreo sistemático de 7 de los 25 bloques de plaguicidas los cuales contienen dos categorías correspondientes a los datos interpolados por cada método de interpolación. La selección de la muestra se realizó ordenando los bloques según el tiempo de retención de cada pesticida y se seleccionó cada cuarto elemento a partir del primero. Los

bloques evaluados corresponden a los siguientes plaguicidas: Metamidofós, Terbufós, Propanil, Malatión, Fenamifós, Endosulfan Sulfato y Cipermetrina.

Este tipo de muestreo puede incurrir en el error si los tiempos de retención de los pesticidas estuvieran separados por un mismo intervalo de tiempo j entonces existiría la probabilidad de que el intervalo de muestreo $k=3$ estuviere asociado con el fenómeno de interés y produjera hallazgos sesgados. Este no es el caso ya que los intervalos del tiempo de retención no siguen ninguna proporción definida y están sujetos únicamente a las relaciones químicas entre los analitos y el sistema cromatográfico.

Se evaluaron las características más importantes de los bloques como lo son: el centro, la variación, la distribución y datos distantes. Se obtuvo la media con su respectivo intervalo de confianza (IC) para $\alpha=0.05$, la varianza con el mismo IC y el coeficiente de variación los cuales se muestran en el **Cuadro 1**. Para evaluar la normalidad de los datos se procedió a la revisión visual de los mismos por medio de la elaboración de histogramas y gráficas de probabilidad normal para cada uno de los bloques correspondientes a los valores interpolados, como se muestra en el **Apéndice 1**.

Los histogramas obtenidos con los datos de interpolación con Trazadores Cúbicos para Metamidofós, Terbufós, Malatión muestran una forma similar a la gráfica de la curva normal, por lo que se podría pensar que los datos son aproximadamente normales. Para los datos de interpolación de los otros 4 pesticidas obtenidos tanto por el método de Trazadores Cúbicos como para el de Mínimos Cuadrados muestran un cierto parecido a la curva normal, aunque no se puede afirmar con seguridad que la muestra proviene de una población normal.

Las gráficas de probabilidad normal en la cual las observaciones del conjunto de datos se ordenaron y luego se graficaron contra los valores esperados estandarizados de las observaciones, dieron como resultado una línea recta los datos para el Metanitos, Terbios, Malatión, Fenamifós, Endosulfan Sulfato obtenidos por interpolación por Trazadores Cúbicos al igual que el Propanil, Malatión y Fenamifós obtenidos por interpolación por Mínimos Cuadrados. Los otros nueve grupos de datos dieron dispersiones con cierta característica lineal, pero alejada de la línea de tendencia característica de una distribución normal.

Dado que los datos no fueron concluyentes para todos los grupos de datos se buscó maneras cuantitativas para la evaluación de normalidad, una de ellas es el cálculo IQR/S Intervalo Intercuartiles, la cual afirma que si los datos son aproximadamente normales $IQR/S \approx 1.3$. Existe una lista de pruebas estadísticas diseñadas para verificar la distribución normal de un conjunto de datos, entre ellas las más conocidas son la Anderson-Darling, Darling-Pearson, Kolmogorov-Smirnov, χ^2 de bondad de ajuste y Shapiro & Wilk.

Se decidió utilizar la prueba de Shapiro & Wilk debido al número de datos disponibles, ya que esta prueba se recomienda para observaciones inferiores a 2000 datos, para mayores cantidades se podría usar la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los valores obtenidos W_{cal} de la prueba Shapiro & Wilk se muestran en **Cuadro 1**, estos datos se comparan con el valor W_{tab} los cuales se muestran en el **Anexo 2**. Si el valor obtenido es menor que W_{tab} se rechaza la hipótesis de normalidad de los datos, si se compara con un valor p teórico de 0.05 se dice que se rechaza la hipótesis de normalidad de los datos si el valor-p calculado es menor que el valor teórico.

Los valores obtenidos de la prueba W_{cal} mostraron ser mayores que sus correspondientes W_{tab} con un nivel de significancia de 0.05 para todos los datos a excepción del conjunto de datos correspondiente a la Cipermetrina interpolada por método de Mínimos Cuadrados., para todo los demás datos no se rechaza la hipótesis de normalidad.

Los valores-p obtenidos para los 14 conjuntos de datos fueron comparados con un valor p teórico de 0.05, dando como resultado valores $p > 0.05$ lo cual nos indica que siguen una distribución normal. La excepción sigue siendo los valores de Cipermetrina esta vez interpolados tanto por el método de Mínimos Cuadrados como para el Método de Trazadores Cúbicos. El valor-p obtenido para el Endosulfan Sulfato tampoco paso la prueba en el caso de la interpolación por Mínimos Cuadrados, por lo que se rechaza la hipótesis de normalidad.

Cuadro 1: Evaluación de centro, variación y distribución normal de interpolaciones realizadas por el método de Trazadores Cúbicos

Pesticida	n	Media IC 95%	Varianza IC 95%	Coficiente de Variación	Shapiro-Wilk W	P
Metamidofós	19	0.9 (0.7, 1.0)	0.04 (0.16, 0.33)	24.2%	0.97	0.865
Terbufós	25	0.16 (0.15, 0.16)	1.42×10^{-4} (9.2×10^{-3} , 0.016)	7.6%	0.94	0.159
Propanil	28	0.2 (0.19, 0.21)	5.6×10^{-4} (0.018, 0.032)	11.7%	0.94	0.089
Malatión	26	0.05 (0.05, 0.06)	4.5×10^{-5} (4.5×10^{-3} , 8×10^{-3})	10.8%	0.94	0.103
Fenamifós	22	0.2 (0.18, 0.21)	1.3×10^{-3} (0.02, 0.05)	18.1%	0.94	0.237
Endosulfan sulfato	22	0.04 (0.03, 0.04)	1.1×10^{-5} (2.6×10^{-3} , 4.8×10^{-3})	8.8%	0.98	0.880
Cipermetrina	20	1.21 (1.01, 1.41)	0.17 (0.32, 0.61)	34%	0.90	0.039

Cuadro 2: Evaluación de centro, variación y distribución normal de interpolaciones realizadas por el método de Mínimos Cuadrados

Pesticida	n	Media IC 95%	Varianza IC 95%	Coficiente de Variación	Shapiro-Wilk W	P
Metamidofós	19	0.8 (0.7, 0.9)	0.01 (0.1, 0.2)	15.3%	0.95	0.366
Terbufós	25	0.14 (0.13, 0.15)	2×10^{-3} (0.01, 0.02)	9.5%	0.92	0.054
Propanil	28	0.18 (0.17, 0.19)	3.9×10^{-4} (0.015, 0.02)	11.0%	0.96	0.443
Malatión	26	0.06 (0.05, 0.06)	4.5×10^{-5} (5.3×10^{-3} , 9.2×10^{-3})	11.3%	0.98	0.941

continuación **Cuadro 2:**

Pesticida	N	Media IC 95%	Varianza IC 95%	Coefficiente de Variación	Shapiro-Wilk W	P
Fenamifós	22	0.17 (0.16, 0.18)	3.1×10^{-5} (0.013, 0.025)	10.1%	0.95	0.348
Endosulfan sulfato	22	0.04 (0.036, 0.038)	6×10^{-6} (1.9×10^{-3} , 3.5×10^{-3})	6.7%	0.90	0.032
Cipermetrina	20	0.90 (0.69, 1.11)	0.19 (0.33, 0.64)	49%	0.75	0.00

Es interesante notar que el grupo de datos que no cumplió los requisitos de normalidad en la prueba W sea la Cipermetrina, ya que este es el único juego de datos que se obtiene con una integración “sumada” a esos se refiere que cada uno de los cuatro isómeros de la Cipermetrina son integrados como un conjunto no como picos individuales utilizando una función especial del Software ChemStation® esto muestra una significativa diferencia con respecto a los demás conjuntos de datos, lo cual lo excluye de este estudio.

Para conocer si los bloques están relacionados entre sí, se realizó una prueba de hipótesis sobre la igualdad de las medias entre los bloques correspondientes a diferentes plaguicidas pero obtenidas por el mismo método de interpolación. Se definió como grupo 1 al conjunto de los bloques formados por los pesticidas Metamidofós, Terbufós, Propanil, Malatión, Fenamifós, Endosulfan Sulfato y Cipermetrina.

Cuadro 3: Comparación de igualdad de medias del los bloques del grupo 1

Grupo 1	F-estadístico	F crítico	Valor-p
Trazadores Cúbicos	0,19	2.4472	0,9410
Mínimos Cuadrados	10,89	2.4472	<0.0001

Se puede observar en el **Cuadro 3** que para el grupo correspondiente a las diferencias obtenidas por trazadores cúbicos el valor de P mayor a 0.05 y valor de F menor que F crítico, no rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias. Por otra parte para el conjunto de

mínimos cuadrados el valor P pequeño menor de 0.05 conduce al rechazo de la hipótesis nula de igualdad de medias, por ello hay evidencia de que las medias poblacionales no son iguales, aunque no se pueda conocer cuál o cuáles medias difieren.

B. Análisis completo

Una vez conocida la distribución de los resultados de la interpolación con los dos métodos de estudio, se procedió al estudio de las diferencias entre el valor teórico y el valor obtenido con cada uno de los métodos. No fue necesario repetir las pruebas de normalidad para este conjunto de datos ya que fueron obtenidos al restar una constante a todos los valores de una distribución normal conocida, por lo que únicamente se trasladó el valor central de la distribución normal.

Las medidas de tendencia central y de variación de las diferencias entre el valor teórico y el obtenido por cada una de las categorías de los 7 bloques que se muestra en el Cuadro 4 fueron de utilidad para la estimación del tamaño de muestra para los 18 bloques faltantes. Para ello asumió que los 18 bloques faltantes corresponden a una misma población basados en los resultados de las pruebas realizadas como al grupo 1.

Cuadro 4: Medidas de tendencia central y variación de los residuos obtenidos por cada categoría de interpolación.

Pesticida	Media TC	IC 95%		Media MC	IC 95%	
Metamidofós	-0,097895	-0,203316	to 0,007526	-0,192768	-0,252415	to -0,133121
Terbufós	-0,002085	-0,007009	to 0,002838	-0,017661	-0,023217	to -0,012105
Propanil	0,001870	-0,007294	to 0,011034	-0,019944	-0,027640	to -0,012249
Malatión	-0,000579	-0,003294	to 0,002136	-0,005875	-0,008236	to -0,003513
Fenamifós	0,001693	-0,014495	to 0,017882	-0,024660	-0,032510	to -0,016810
Endosulfan sulfato	-0,001298	0,002606	to 0,004841	-0,002737	-0,003837	to -0,001637

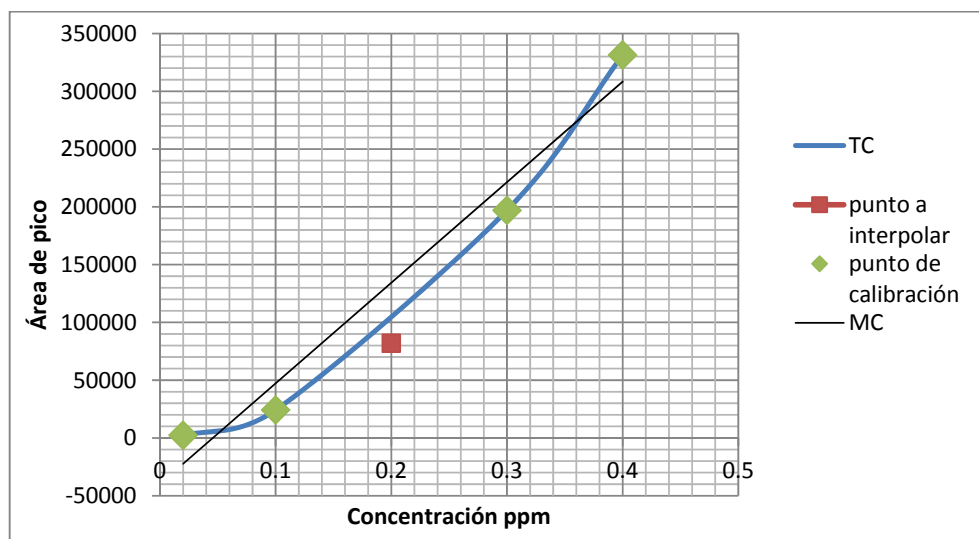
Para determinar el tamaño mínimo de muestra se especifico el intervalo de confianza de 95% con una cota de error de muestreo de 0.016188 y una estimación de la varianza s^2

de 0.00133 correspondiente a los valores obtenidos previamente para el Fenamifós interpolado por Trazadores Cúbicos, se utilizó los datos de este pesticida ya que los mostro tener el coeficiente de variación más alto, lo cual significa una variación considerablemente mayor lo cual permitiría un asegurarse que el intervalo de confianza final aproximado al 95% tendrá un ancho menor al máximo obtenido en el sondeo. Como no se puede asegurar que no se encontrara varianzas mayores en los datos por analizar y dado que era viable la utilización de más datos, se muestrearon 54 datos siendo el mínimo requerido únicamente de 20 muestras.

Para realizar un muestreo aleatorio simple se desarrollo un marco o lista de todos los elementos disponibles por plaguicida, **Apéndice 3**, en este cuadro se asigno un número a cada curva de calibración disponible que se desea evaluar. Utilizando la aplicación de generación de números aleatorios incluido en el Analysis Tool Pack® del programa Microsoft Excel® se procedió a la seleccionar los elementos a ser muestreados con el fin de asegurar que cada elemento de la población muestreada tenga la misma probabilidad de ser seleccionada.

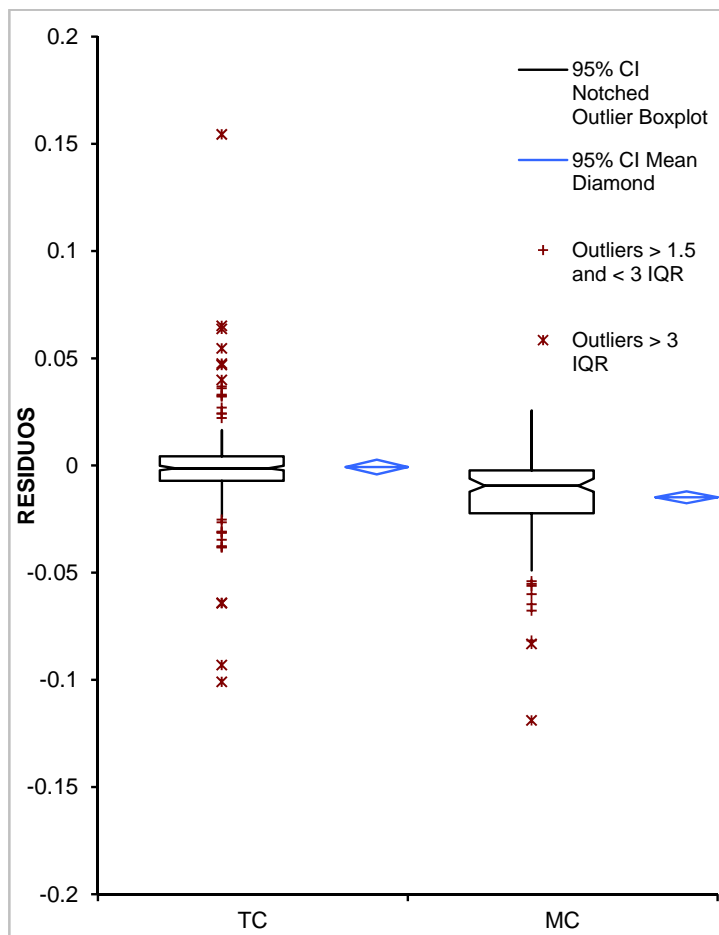
Los elementos seleccionados de cada población corresponden a un juego de 4 puntos de calibración y 1 punto teórico para interpolar como se muestra en la . Los cuatro puntos de calibración fueron tratados con los dos métodos de interpolación. El punto teórico permite comparar los resultados de los dos métodos para un mismo punto de manera que se puedan realizar inferencias sobre las medias obtenidas por cada método.

Gráfica 1: Ejemplo de elementos utilizados para evaluar la interpolación por método de Trazadores Cúbicos (TC) y por Mínimos Cuadrados (MC)



1. **Comparación entre métodos.** Se comparó los resultados de resultados de interpolación con Mínimos Cuadrados con los de Trazadores Cúbicos de manera visual utilizando gráficas de cuadro o caja. De acuerdo con el conjunto de datos, parece existir diferencia entre las medias de ambos grupos y diferencia entre la variación de estos.

Gráfica 2: Gráfica de cajas de residuales entre el método de Trazadores Cúbicos (TC) y Mínimos Cuadrados (MC)



Para realizar la inferencia acerca de las medias de datos apareados, se aceptó el supuesto de la aleatoriedad de las muestras y la consistencia de datos apareados, ambos supuestos se cumplen ya que los valores se tomaron de una población con distribución normal. Utilizando un nivel de significancia de 0.05 para probar la aseveración de que existe una diferencia entre los datos obtenidos por interpolación por Trazadores Cúbicos y los datos obtenidos por el método de Mínimos Cuadrados se utilizó la prueba T para muestras pareadas utilizando el programa Analyse-it®. Los datos obtenidos se muestran en el **Cuadro 5**.

Cuadro 5: Resultados de Prueba t aplicada a todos los datos.

	t	t-critico	p
Diferencia (TC – MC)	3,15	2.01	0,0027

La aseveración de que existe una diferencia significativa en el valor obtenido por los dos métodos de interpolación se expresa como $\mu_d=0$ por lo que expresamos la hipótesis nula $H_0: \mu_d = 0$ y la hipótesis alternativa si la aseveración original no es verdadera como $H_1: \mu_d \neq 0$. De los resultados rechazamos la hipótesis nula y podemos interpretar que existe suficiente evidencia para sustentar la aseveración de que existe diferencia entre la interpolación realizada por Trazadores Cúbicos y por Mínimos Cuadrados.

Para sustentar las suposiciones con las que construimos nuestras hipótesis, se procedió a verificar la normalidad de los datos por las pruebas de normalidad antes mencionadas y a verificar si efectivamente las muestras tomadas de cada pesticida interpolado por un método particular corresponden a la misma población. Para ello se realizó nuevamente una prueba de análisis de varianza la cual se resumen en el siguiente cuadro.

Cuadro 6: Comparación de medias entre los valores del grupo 2.

Grupo 2	F-estadístico	F crítico	Valor-p
Trazadores Cúbicos	0.79	1.819	0,6897
Mínimos Cuadrados	2.84	1.819	0,0042

Los resultados muestran el mismo patrón que al evaluar el grupo 1, mostrando para trazadores cúbicos un valor de P mayor a 0.05 y valor de F menor que F crítico, por lo que no rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias. Por otra parte para el grupo de mínimos cuadrados tiene un valor de F en el área de rechazo de la hipótesis nula y el valor P menor de 0.05 conduce al rechazo de la hipótesis nula de igualdad de medias, por ello hay evidencia de que las medias poblacionales no son todas iguales.

Dados los resultados de la prueba para probar que las muestras tomadas por cada bloque corresponden a una misma población muestran ser dudosas para el caso de la interpolación por Mínimos Cuadrados, se realizó prueba t individual entre cada bloque. Para ello se busco nuevamente un número de muestra suponiendo ahora que la población

corresponde a 35 elementos, utilizando nuevamente los datos obtenidos en el sondeo para el grupo 1, se obtuvo que el número de muestra mínimo necesario para tener un nivel de significancia de 0.05 fue de 3 elementos. Los resultados se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7: Resultados de prueba t aplicadas a cada bloque del grupo 2 correspondiente a la interpolación por Trazadores Cúbicos y para Mínimos Cuadrados.

Pesticida	Media TC	Media MC	Estadístico t	p
Metamidofós	0,902	0,807	1,70	0,1060
Profós	0,071	0,068	2,89	0,1018
Forato	0,057	0,056	1,68	0,2348
Dimetato	0,387	0,380	2,72	0,1126
Terbufós	0,158	0,142	6,96	<0.0001
Diazinon	0,061	0,050	1,32	0,3175
Disulfotón	0,131	0,099	3,15	0,0877
Clorotalonil	0,067	0,053	3,21	0,0849
Propanil	0,202	0,180	4,36	0,0002
Metil Paration	0,057	0,053	2,17	0,1618
Metalaxil	0,146	0,122	1,55	0,2623
Metil Pirimifos	0,017	0,018	-4,65	0,0432
Malatión	0,059	0,054	6,56	<0.0001
Clorpirifos	0,062	0,052	0,62	0,5997
Captan	0,251	0,193	1,66	0,2392
Alfa Endosulfan	0,063	0,060	6,01	0,0266
Fenamifós	0,202	0,175	4,58	0,0002
Profenofós	1,036	0,931	2,40	0,1384
p,p-DDE	0,039	0,035	2,01	0,1827

continuación Cuadro 7:

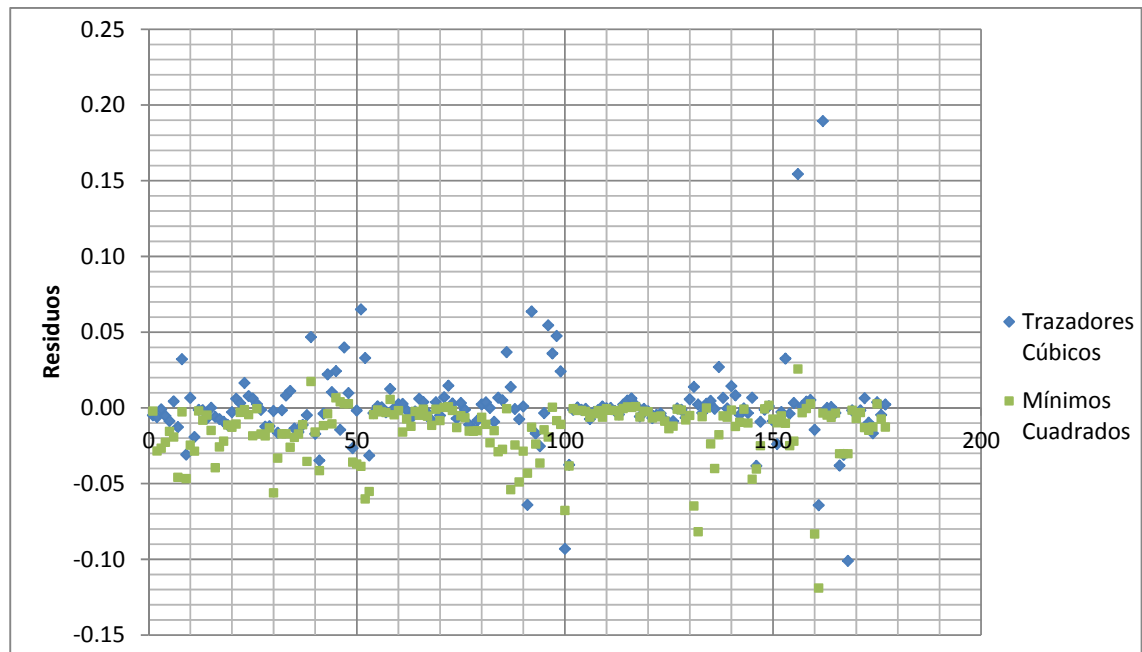
Pesticida	Media TC	Media MC	Estadístico t	p
Beta Endosulfan	0,743	0,719	1,02	0,4142
Endosulfan sulfato	0,038	0,037	3,36	0,0030
p,p-DDT	0,037	0,036	1,60	0,2498
Permetrina cis	0,073	0,066	0,98	0,4285
Permetrina trans	0,080	0,074	1,42	0,2911

Los resultados muestran que se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias solamente para el Terbufós, Propanil, Metil Pirimifos, Malatión, Alfa Endosulfan, Fenamifós y Endosulfan Sulfato, estos pesticidas corresponden al grupo 1 de los cuales se tiene más de 19 muestras evaluadas, para todos los demás solamente se evaluar 3 elementos. Los resultados muestran que existe un error de muestreo y no se puede concluir nada respecto a los datos evaluados individualmente como poblaciones independientes.

2. **Exactitud de los métodos.** En términos de la exactitud de los métodos de interpolación, se define más exacto el método que presenta un valor más pequeño de residuo ϵ el cual se calcula como la diferencia entre el valor teórico y el valor obtenido por cada método. La Gráfica 3 muestra la dispersión de los residuos para los dos métodos de interpolación, los datos para el método de trazadores cúbicos graficado en azul muestran que los residuos se encuentran distribuidos estrechamente cercanos al cero y sin mostrar alguna tendencia hacia valores mayores o menores del valor real, lo que sí es importante notar es que existen valores anormal muy lejanos de la media. En verde se muestran los datos obtenidos por el método de mínimos cuadrados el cual muestra una ligera distribución hacia los valores negativos, lo que indica que con este método se obtienen valores menores al valor real y de igual manera se observan valores alejados de la media.

Cuantitativamente se puede demostrar que los residuos del método de Trazadores Cúbicos tienen una media más cercana a cero que los residuos del método de Mínimos Cuadrados, pero se debe tomar en cuenta que este último método muestra menor desviación estándar y error típico, por lo que podemos decir que el Método de Mínimos Cuadrados es menos exacto pero más preciso que el método de Trazadores Cúbicos.

Gráfica 3: Dispersión de los residuos obtenidos con método de Trazadores Cúbicos (TC) y Mínimos Cuadrados (MC)



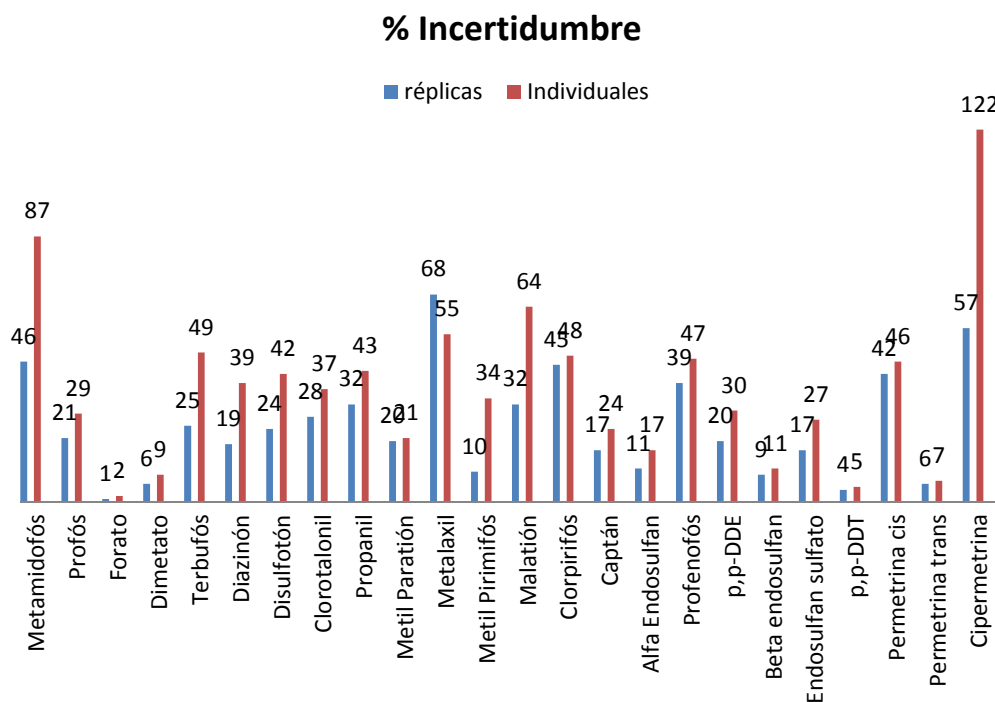
Cuadro 8: Estadísticos descriptivos de los residuos obtenidos por ambos métodos.

	<i>TC</i>	<i>MC</i>
Media	0.0004	-0.0149
Error típico	0.0020	0.0014
Mediana	-0.0013	-0.0095
Desviación estándar	0.0272	0.0188
Varianza de la muestra	0.0007	0.0004
Curtosis	19.8	6.3
Coficiente de asimetría	2.5	-2.0
Rango	0.2904	0.1446
Mínimo	-0.101	-0.119
Máximo	0.189	0.026
Nivel de confianza(95.0%)	0.0040	0.0028

Para conocer si la mayor exactitud que muestra el método de Trazadores Cúbicos representa una ventaja real y practica al uso del método de Mínimos Cuadrados, se realizó la estimación de incertidumbre de las curvas de calibración, según el método presentado por Shaun Burke; los valores de Intervalos de Confianza (IC) se muestran en **Anexo 7**.

Los límites de confianza fueron obtenidos de dos maneras, la primera se realizó como el promedio de los límites de confianza obtenidos individualmente para cada recta de regresión por pesticida, de lo cual se obtuvo amplios intervalos de confianza como se muestra en la **Gráfica 4** esto situación se debe a que la ecuación utilizada para obtener los intervalos está constituida por tres términos, el primero corresponde a recíproco del número de repeticiones o réplicas, el segundo término corresponde al recíproco de los total de puntos de la calibración, al tercer término se vuelve insignificante ya que contribuye cerca del 0.2% del valor total de la ecuación en comparación con el 83.2% y el 16.6% del primer y segundo término, cuando no hay réplicas. Por lo que una manera de optimizar los resultados es reducir la contribución de los primeros términos aumentando el número de réplicas, es por ello que se re calculó el valor de los intervalos de confianza ahora tomando en conjunto todas las calibraciones obtenidas para un mismo pesticida.

Gráfica 4: Porcentaje de incertidumbre por pesticida obtenido del promedio de individuales y del conjunto de réplicas.



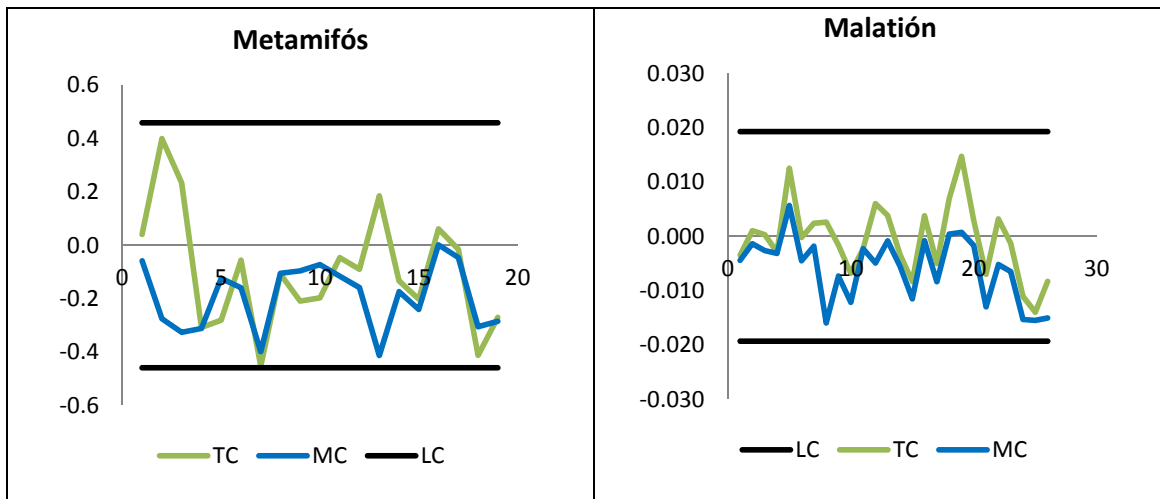
Este cálculo de intervalo de confianza es válido ya que las muestras fueron tomadas de las mismas soluciones de calibración preparadas en balones aforados clase A, a partir de soluciones stock las cuales se almacenaron a 4° C dentro de desecadora y siguiendo un

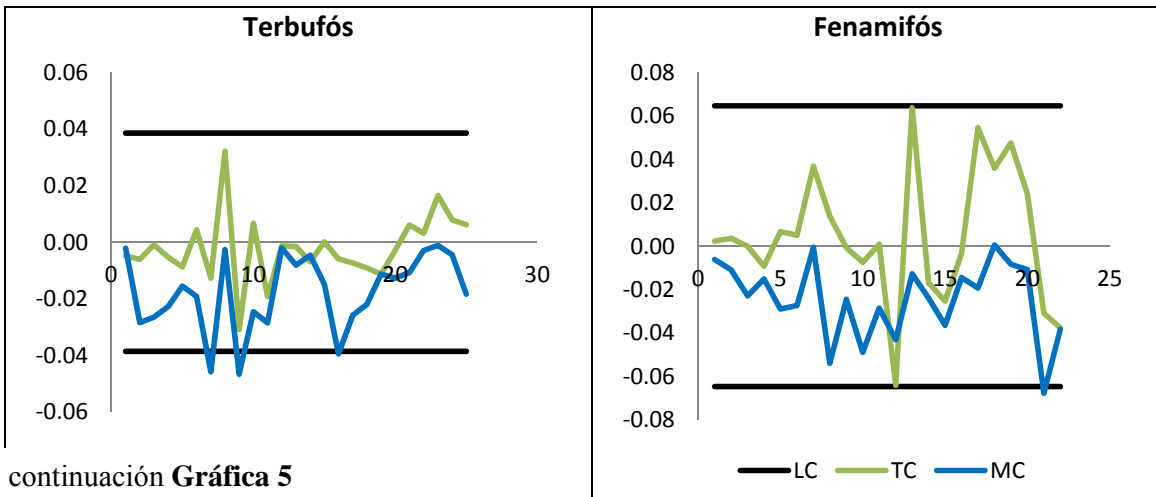
control de peso para evaluar la pérdida de solución por evaporación durante el almacenamiento. Aunque las repeticiones no fueron corridas consecutivamente si se realizaron bajo los mismos parámetros cromatográficos.

El porcentaje de incertidumbre obtenido por pesticida en la gran mayoría de casos es mucho mayor que el 5% que se desearía obtener, en muchos de esos casos se tiene valores de incertidumbre inaceptables. Para conocer cómo los valores de residuos obtenidos por cada método se encuentran distribuidos en comparación con los límites de confianza, se graficaron los residuos obtenidos por cada método y los límites de confianza obtenidos para la regresión de mínimos cuadrados, como se muestra en la

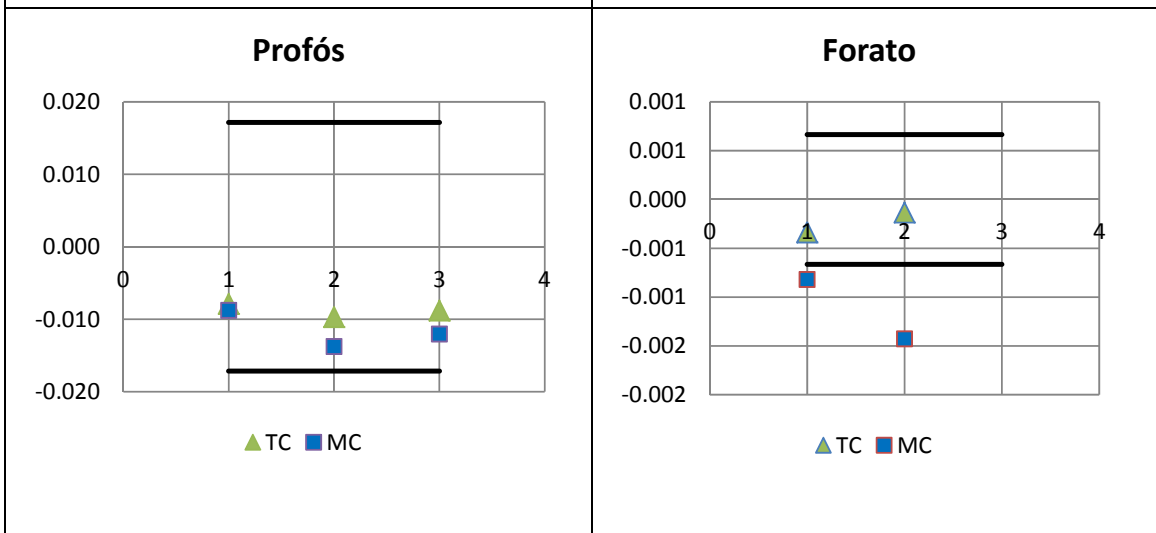
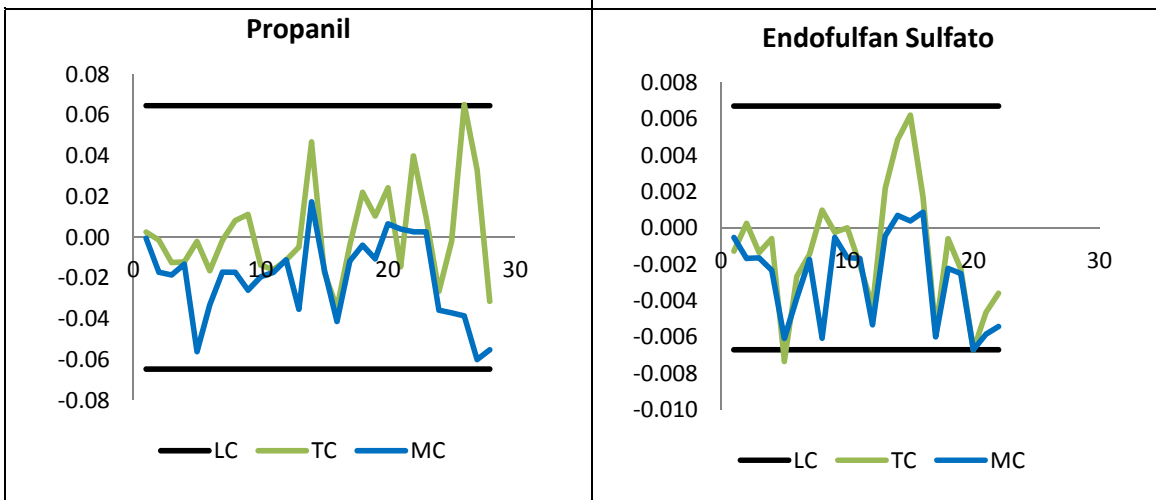
Gráfica 5. Se esperaba que los residuos se encontraran dentro de los límites de confianza y fueran mucho menores dado los amplios límites de confianza obtenidos.

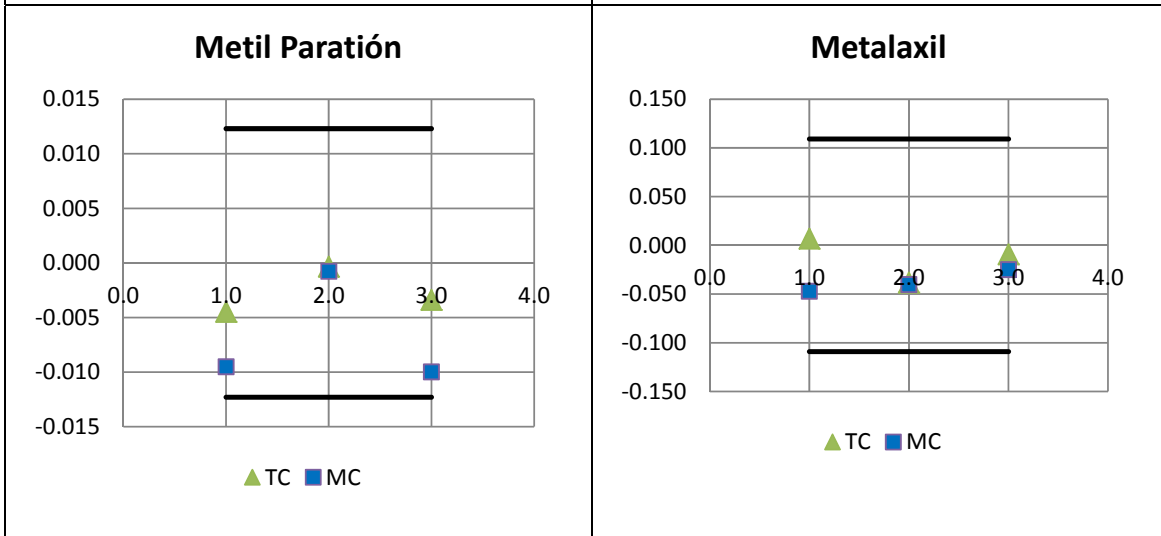
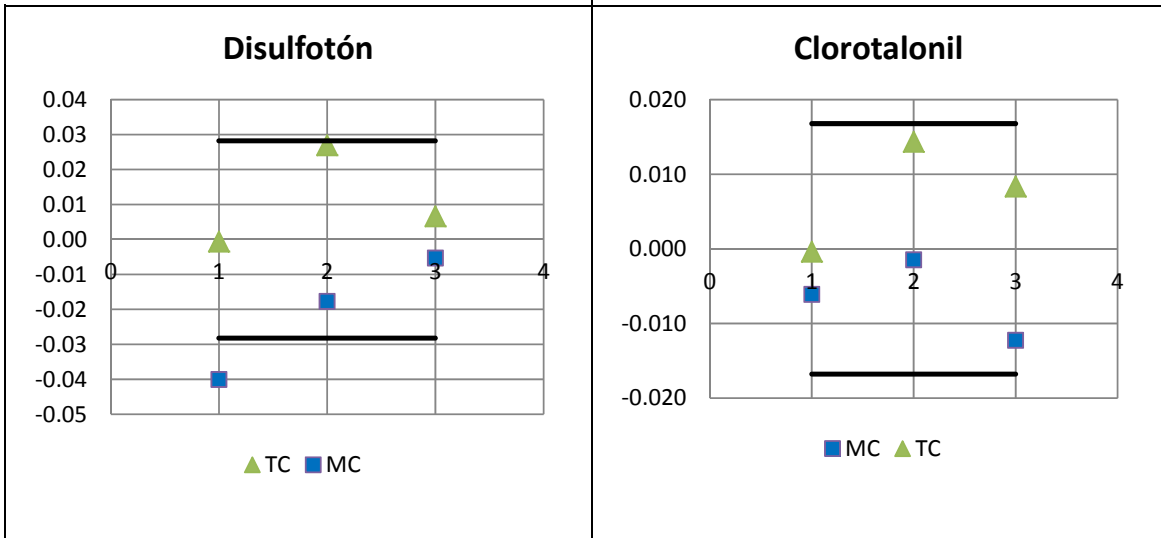
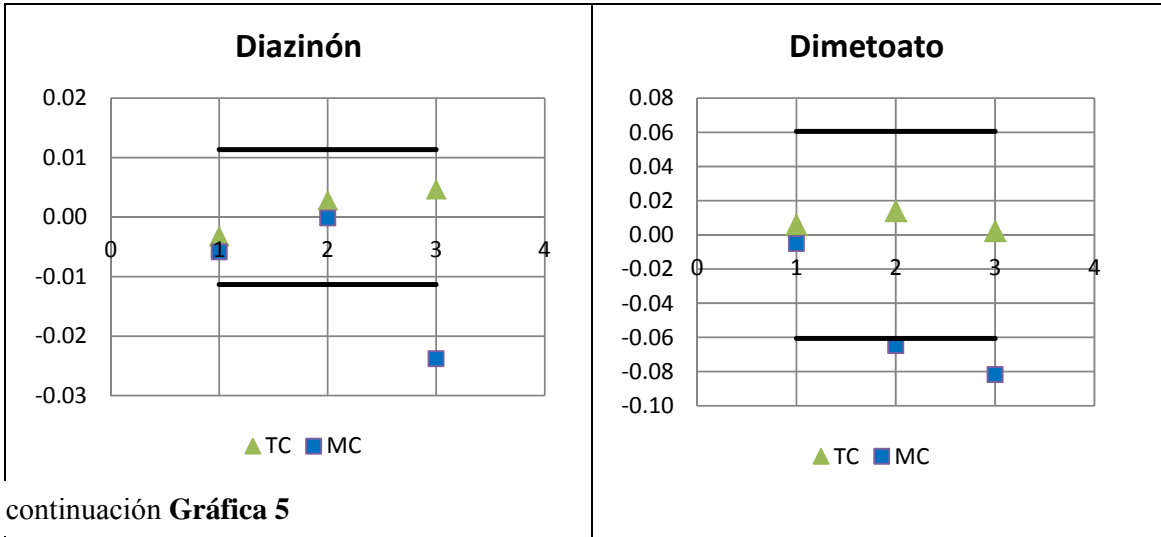
Gráfica 5: Límites de confianza obtenidos con m repeticiones y residuos obtenidos por cada método.

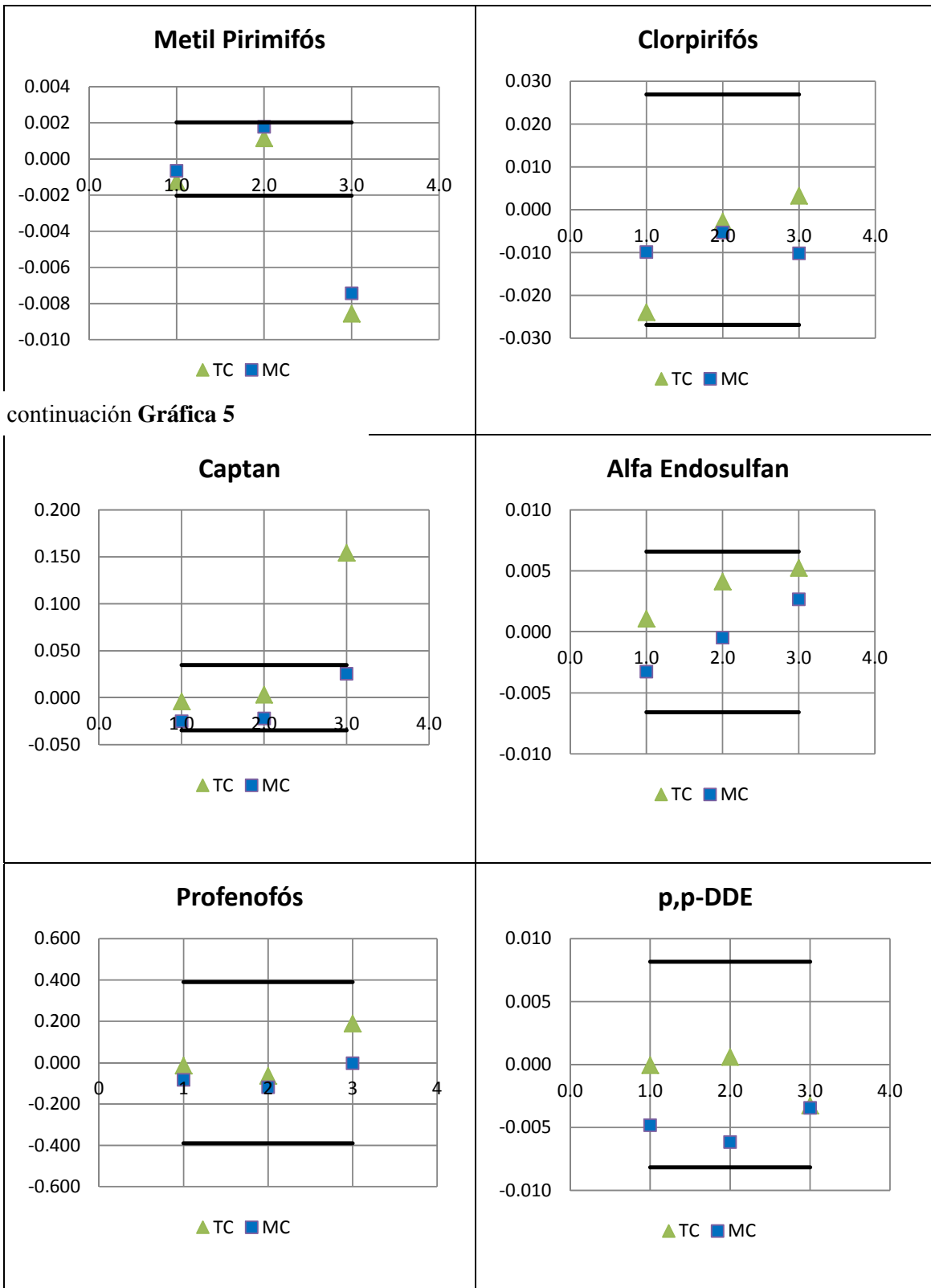


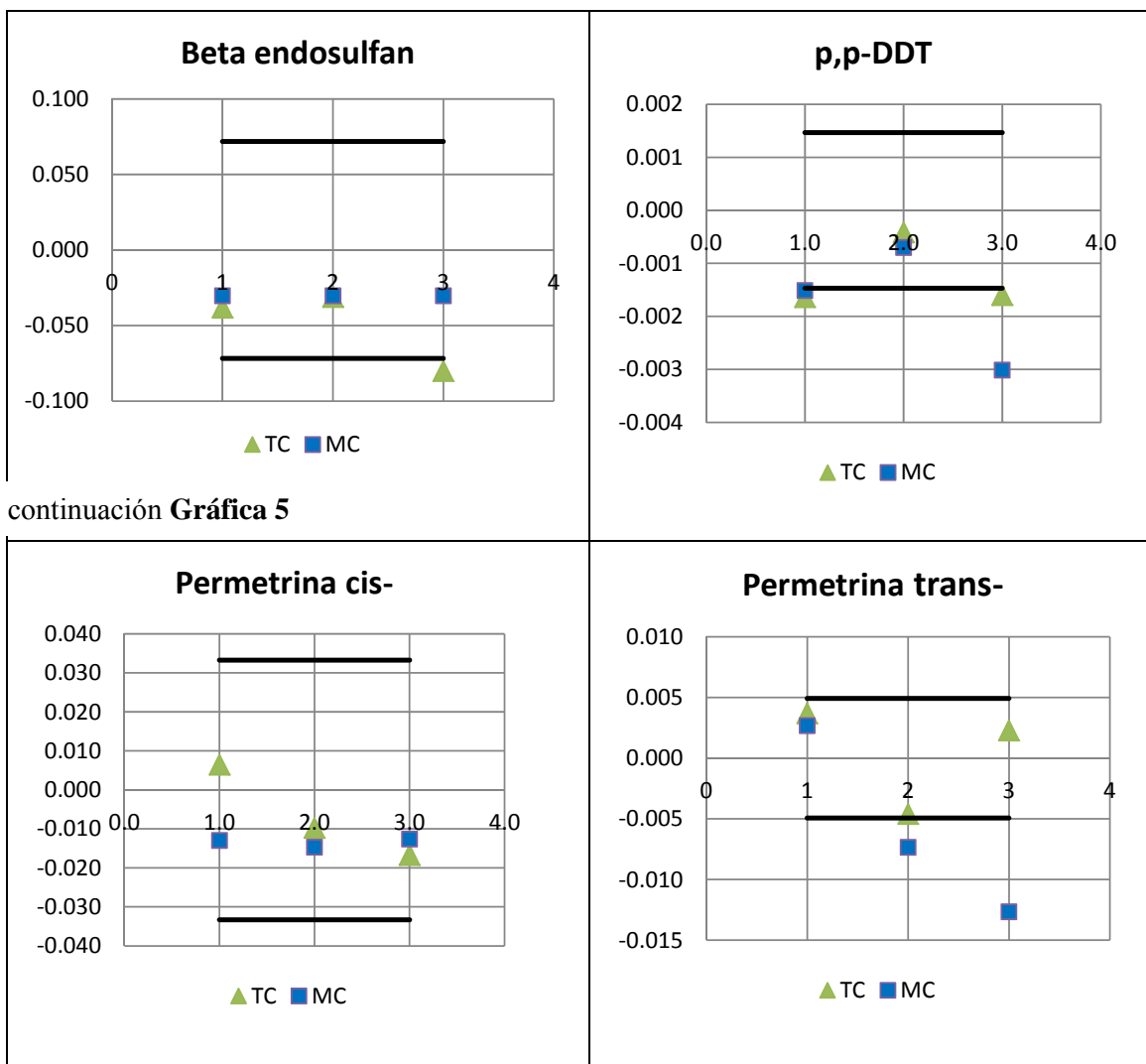


continuación **Gráfica 5**









Las gráficas muestran que en la mayoría de casos los residuos obtenidos por el método de mínimos cuadrados sí se encuentran dentro de los límites de confianza, pero dado que estos límites son demasiado amplios se demuestra que el método de Mínimos Cuadrados no es el más adecuado para la interpolación de las curvas de calibración de los pesticidas estudiados para las concentraciones y en las condiciones de las cuales se obtuvieron.

VII. METODOLOGÍA

A. Investigación experimental

Los valores experimentales fueron obtenidos del estudio realizado por Lic. Ricardo Montoya y Willy Knedel a través del Fondo para el Desarrollo Científico y Tecnológico FODECYT con el proyecto número 108-2006, titulado *Estudio del impacto de la actividad agrícola, en cuanto a los niveles de residuos de plaguicidas se refiere, sobre el agua superficial proveniente de la subcuenca Xayá-Pixcayá* realizado de Marzo del 2007 a Febrero del 2009.

B. Investigación matemática

Como parte de los objetivos de este estudio fue la elaboración de un algoritmo para la obtención de la matriz de interpolación de los Trazadores Cúbicos. Este algoritmo se desarrolló para el programa Matematica® y es una adaptación del algoritmo presentado por Joseph M. Herrman, de la Universidad de Texas A&M, dichas modificaciones se muestran en el **APÉNDICE 8**.

Debido a que este programa no es de licencia abierta y cada vez más se reduce su el acceso a versiones de prueba, era conveniente utilizar un alternativa a este software. Se probaron distintas opciones de licencia abierta y la más adecuada por la simplicidad para la obtención de un valor interpolado fue DATA Fit, creado por Advanced Systems Design and Development© en el 2005, el cual se ha difundido ampliamente por medios electrónicos y consiste en un complemento para Microsoft Excel para Windows 95/97/2000/XP. Para comprobar que el software proporcionara un valor equivalente al que se obtendría producto del algoritmo creado para Matematica® se introdujeron los mismos en ambos programas valores dando exactamente los mismos resultados de interpolación. La diferencia significativa entre ambos y la razón por la cual es importante el algoritmo, es que muestra no solo el punto interpolante sino además se puede obtener la matriz que representa la función de interpolación.

El cálculo de intercepto y pendiente por medio del método de Mínimos Cuadrados se realizó completamente en Microsoft Excel XP. Los parámetros estadísticos y las pruebas estadísticas realizadas se realizaron el programa Analyse-it® en su versión de prueba.

El estudio realizado fue de carácter no experimental u observacional transeccional. Definiremos nuestra población como la colección completa de todas las interpolaciones a partir de una curva de calibración obtenidas por el mismo método de interpolación

C. Presupuesto

Dado que los datos utilizados para el estudio son propiedad del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONCYT el cual otorgó el financiamiento para el estudio descrito en la sección A, su utilización no tendrá costo monetario.

El software utilizado para la aplicación de los algoritmos de interpolación son de uso gratuito o disponible en versiones de prueba los cuales no representan costo significativo.

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Sí existe diferencia significativa con un nivel de significancia de 0.05 entre la interpolación realizada con el método de Mínimos Cuadrados y la interpolación obtenida por el método de Trazadores Cúbicos.

La interpolación por Trazadores Cúbicos es más exacta, pero menos precisa que la interpolación por Mínimos Cuadrados.

Se recomienda evaluar la incertidumbre producida por el método de Trazadores Cúbicos con el fin de evaluar implicaciones prácticas en el uso de este método de interpolación y poder comprar con los intervalos de confianza obtenidos para el método de Mínimos Cuadrados.

IX. LITERATURA CITADA

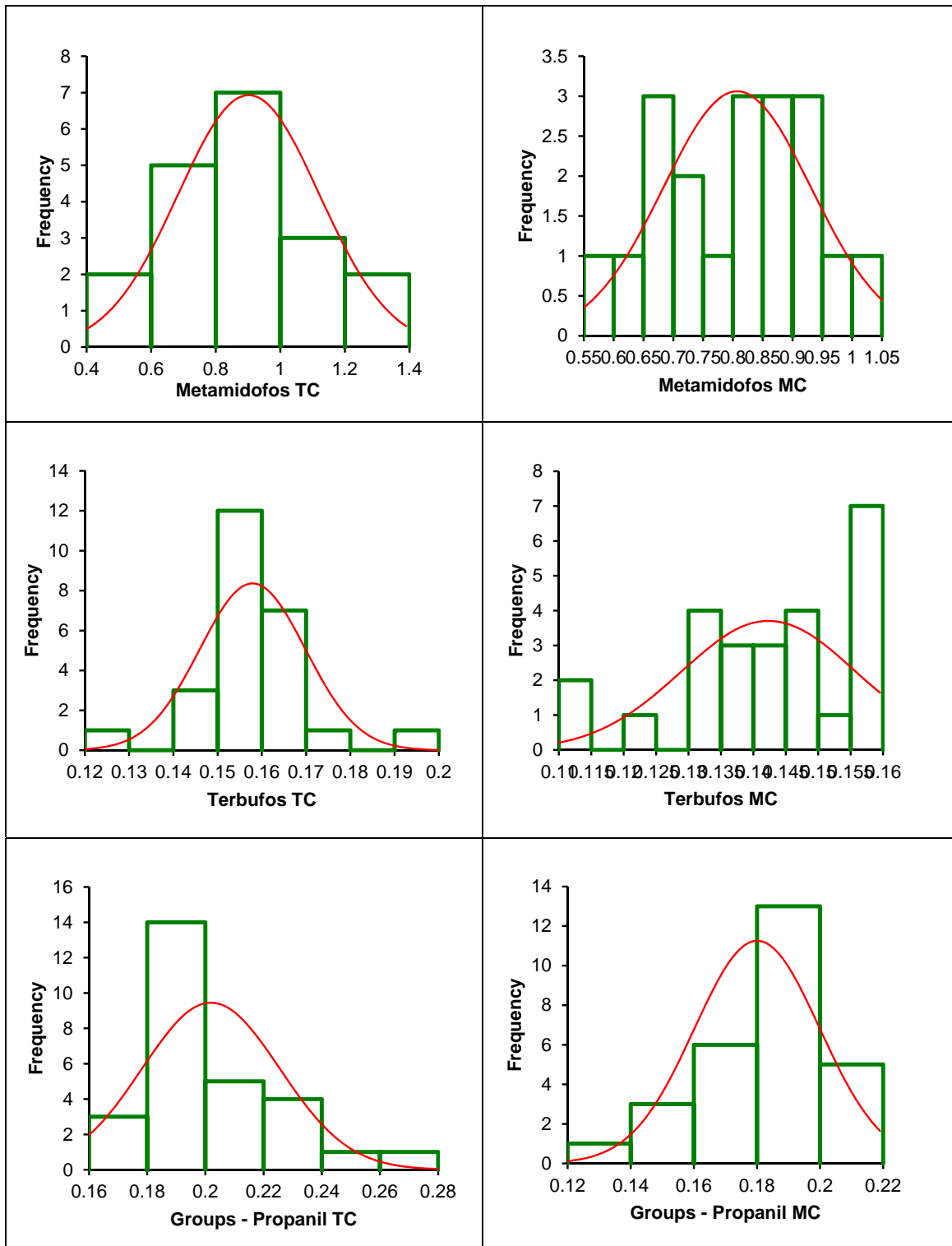
- Burden R. y Faires J. 1998. *Análisis numérico*, sexta edición, Thomson editores, México, 810 pp.
- Brandt A, *et. al.*; *Analysis of Pesticides in Ground and Surface Water*, Springer 1995, Alemania, 219 pp.
- Burke, Shaun; *Regression and Calibration*, LC GC Europe Online Supplement
<http://chromatographyonline.findanalytichem.com/lcgc/data/articlestandard//lcgceurope/502001/4500/article.pdf> [Accesado el 20 de abril de 2010]
- Chelala, C. 2004 *Un reto constante: los plaguicidas y su efecto en la salud y el medio ambiente*, Washington D.C. Organización Panamericana de la Salud. 39 pp
- Cremlyn R. 1978. *Pesticides, preparation and Mode of action*, John Wiley & Sons, Great Britain, 228 pp.
- Columbia analytical services, *Lab science news: tips & techniques from laboratory experts*:
<http://www.caslab.com/News/gcms-full-scan-vs-cgms-sim.html> [Accesado el 6 de septiembre de 2009]
- Dunnivant, F; *Environmental Laboratory Exercises for Instrumental Analysis and Environmental Chemistry*, Wiley-Interscience, John Willey & Sons, Inc. 329 pp.
- Günzler H. *Accreditation and Quality Assurance in Analytical Chemistry*, Springer, Alemania, 1994, 263 pp
- Grob R. 1995. *Modern practice of gas cromatography*, tercera edición, John Wiley & sons, Inc. New York, 1887 pp.
- Henao S. Nieto O. *Aspectos generales sobre los plaguicidas y su efecto sobre el hombre y el ambiente*, INCAP MDE-025.

- Mandel J. 1964. *The Statistical Analysis of Experimental Data*, Dover publications, NY, 158pp.
- Meier P & Zünd R, *Statistical Methods in Analytical Chemistry*, John Willey & Sons, Canadá, 1993, 321 pp.
- Molina, Gustavo; *Control de Riesgos Causados por Plaguicidas*, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, 150 pp.
- Molina R. *Análisis Estadístico*, apuntes de curso del programa de maestría de economía y Administración de empresas. UVG, 150 pp.
- Montgomery D. Runger J. 2005 *Probabilidad y estadística aplicada a la ingeniería*, segunda edición, Limusa Wiley, México, 817 pp.
- Litenau C, Rica I. *Statistical Theory and Methodology of Trace Analysis*, John Willey and Sons, Great Britain, 1980, 446 pp
- Obispo, Tamara; *Diagnóstico Situacional del Uso del DDT y Control de la Malaria*, Proyecto Eliminación Gradual del DDT primera fase, República de Guatemala 2001 Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 95 pp.
- Prichard E. 1997. *Quality in Analytical Chemistry Laboratory*, Ernest Newman ed. John Wiley & sons Ltd, England, 307 pp.
- Schetter, T.S *et. al.*. 2000 *Toxic Threats to Child Development*. Cambridge, 9 pp.
- Skoog D., et, al. 1998. *Instrumental analysis*, quinta edición, Thomson learning, 849 pp.
- Taylor J, *Quality Assurance of Chemical Measurement*, Lewis Publisher , United States of America 1987, 328 pp.
- Wernimont G. T. 1993. *Use of Statistics to develop and evaluate analytical methods*, William Spendley ed. AOAC. Virginia. 183 pp.

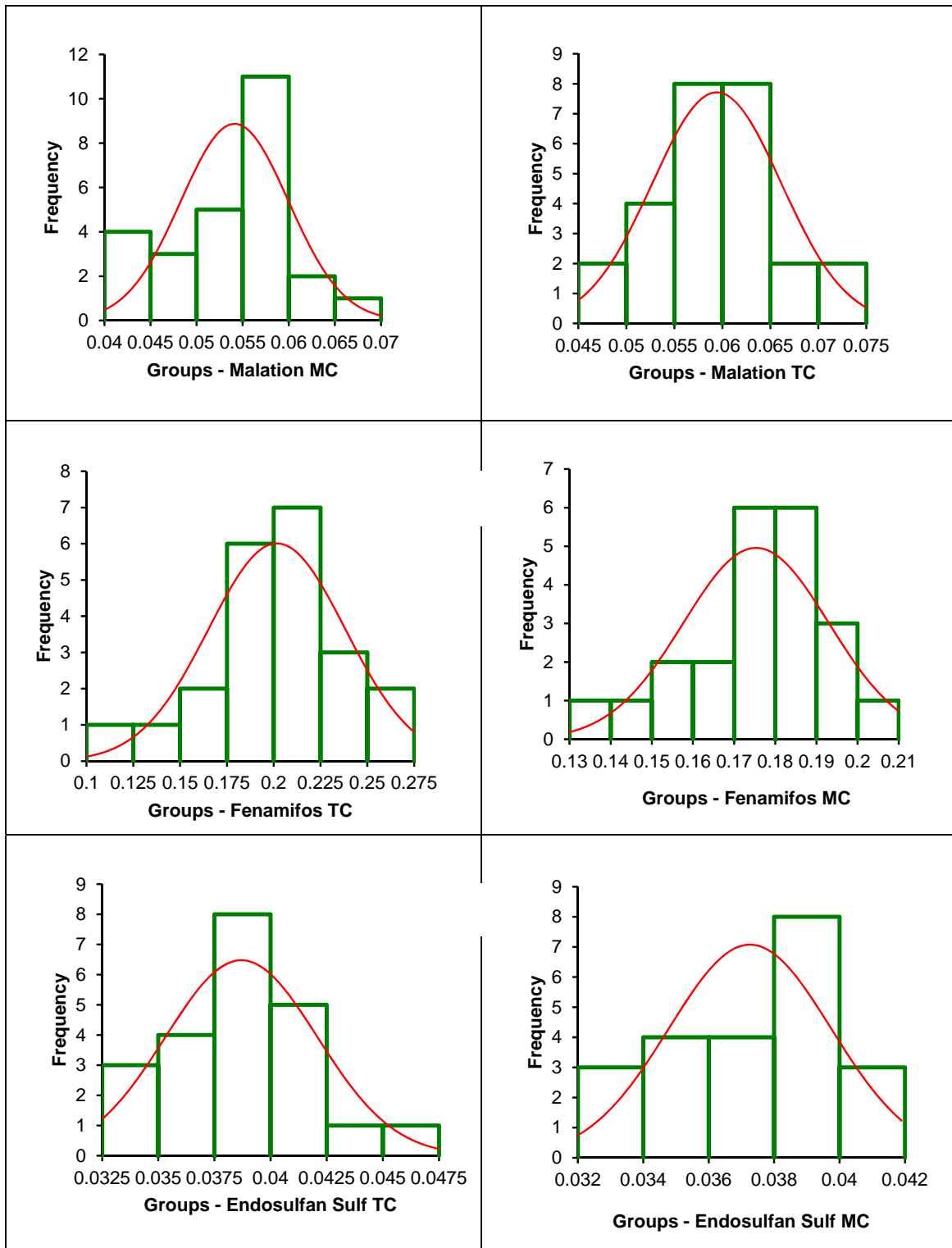
Wernimont G. 1977. *Statistical control of measurement processes, in validation of the measurement process*. DeVoe (ed), ACS sympo. Ser. No.63, American Chemical Society, Washington.

X. APÉNDICE 1

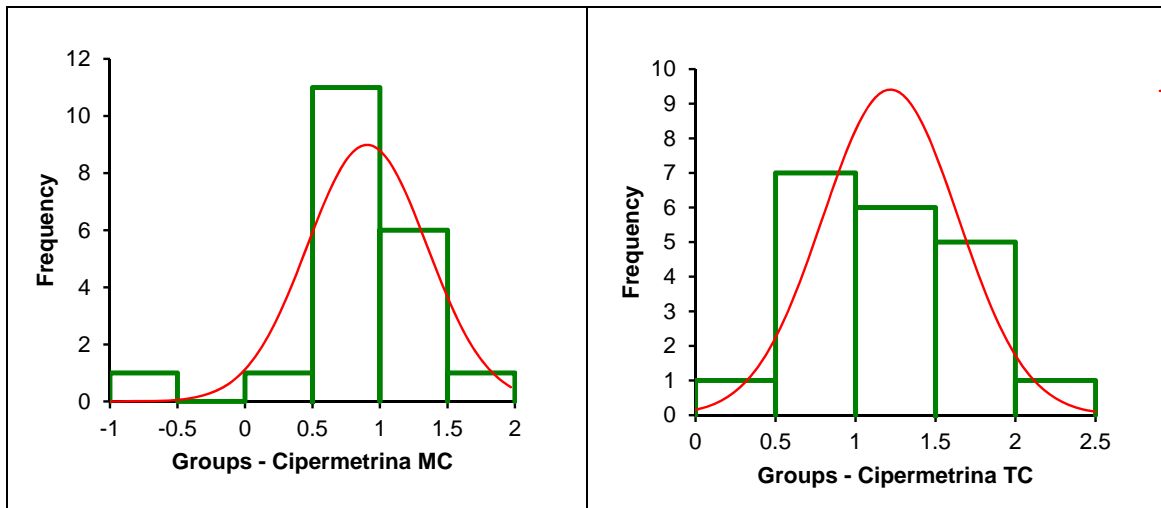
Cuadro 9: Histogramas correspondientes al grupo 1 de datos correspondiente a 7 plaguicidas en las dos categorías de interpolación. TC: Trazadores Cúbicos, MC: Mínimos Cuadrados.



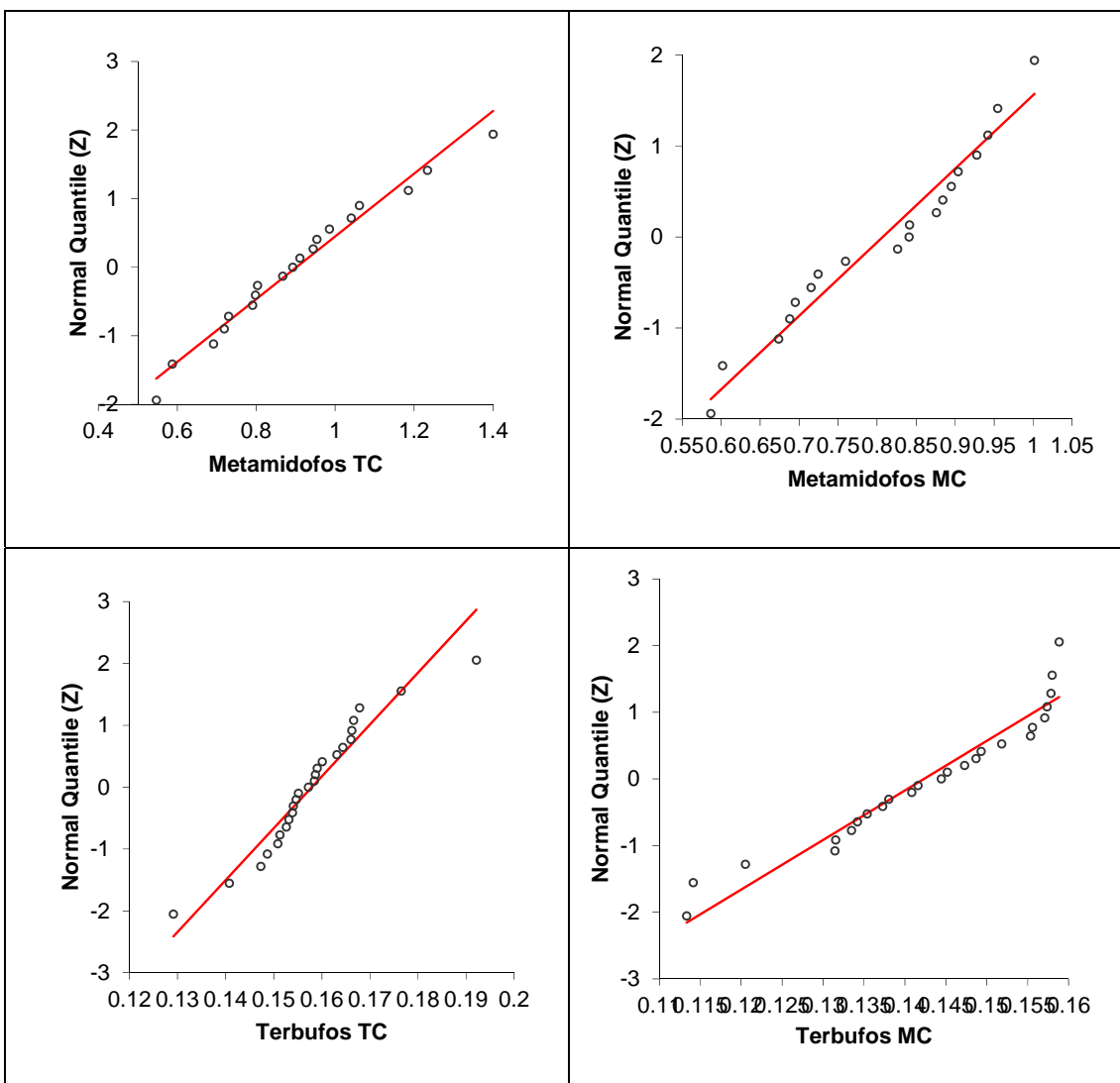
continuación Cuadro 9



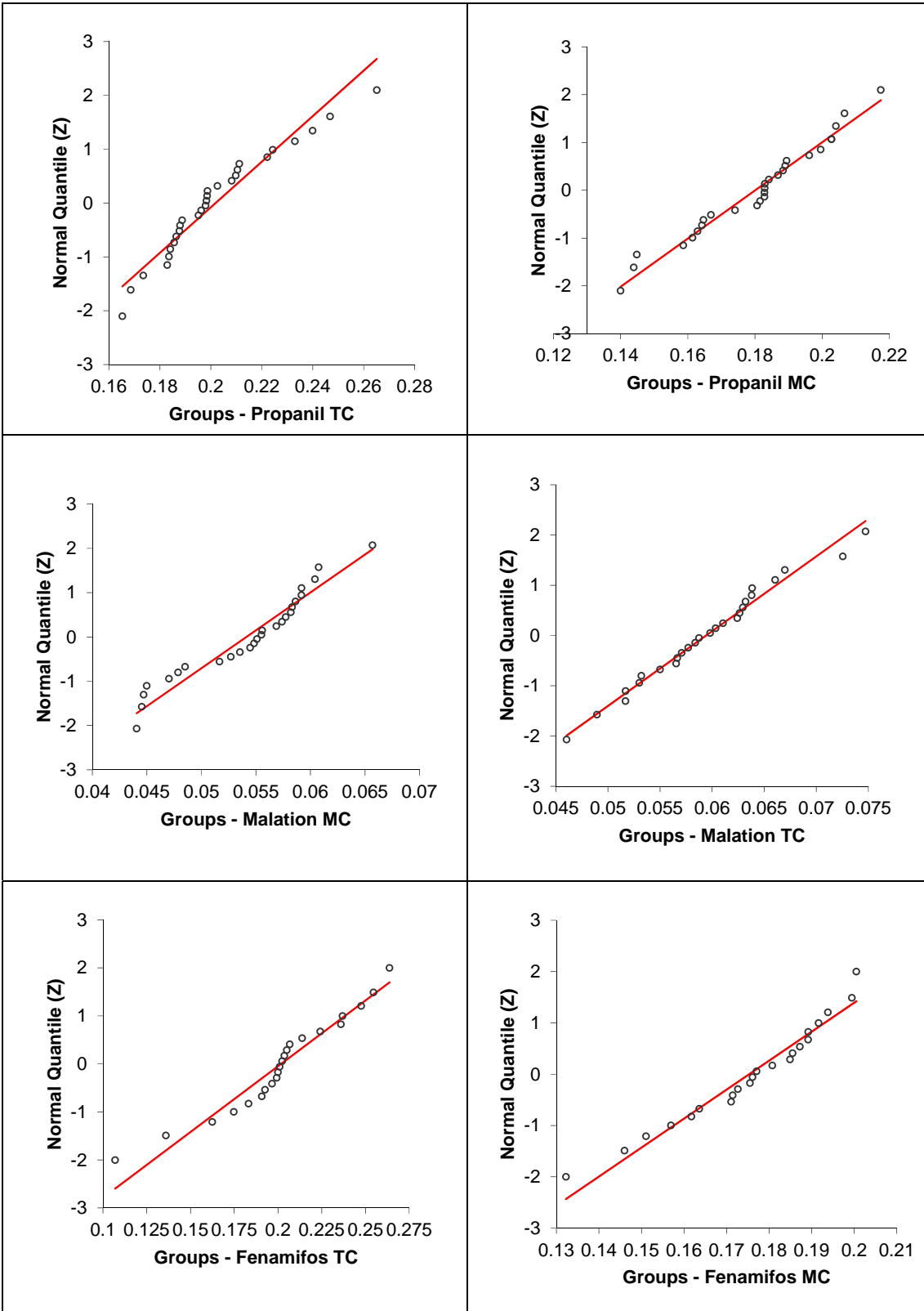
continuación Cuadro 9

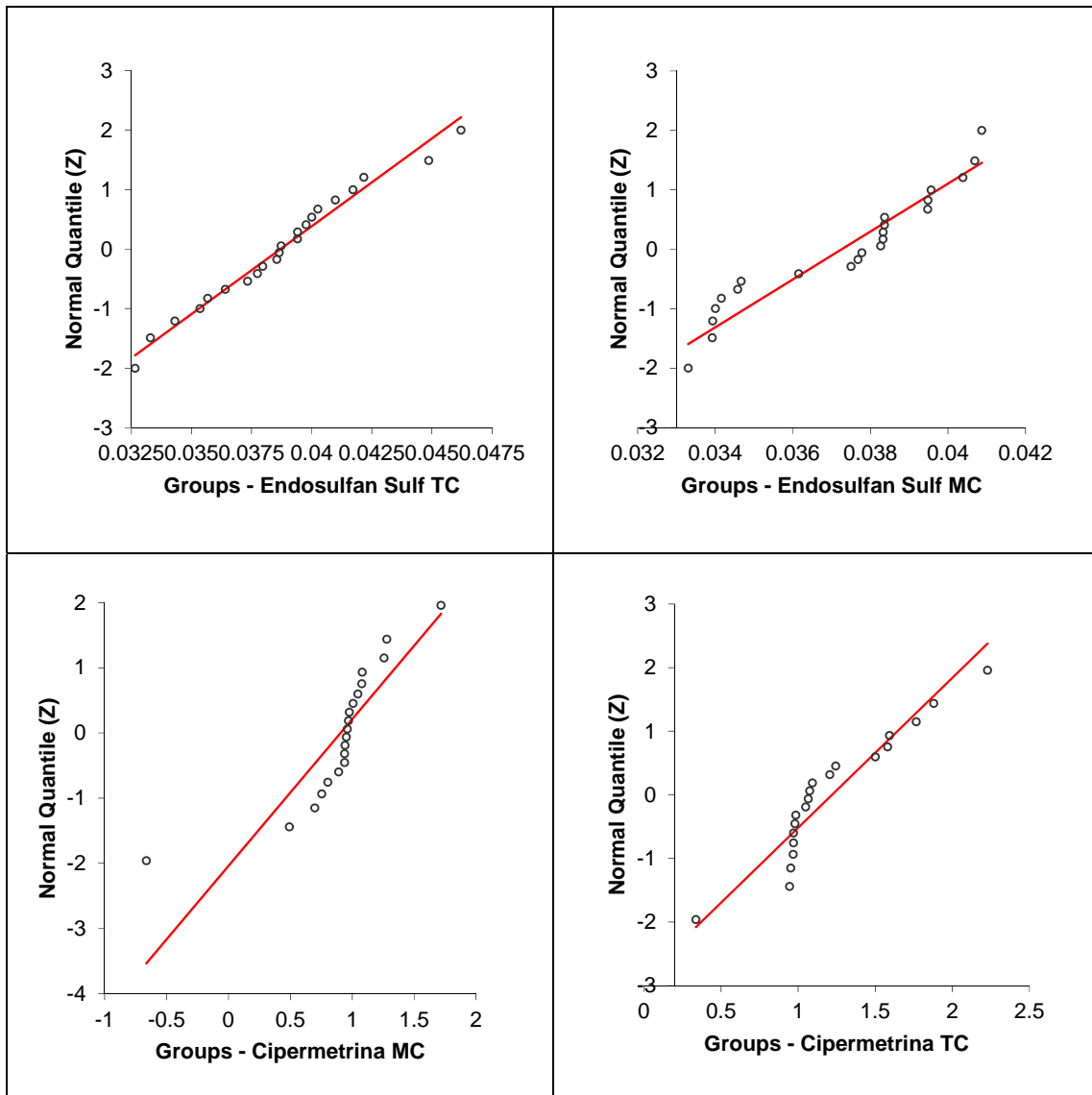


Cuadro 10: Gráficas de Probabilidad normal correspondientes al grupo 1 de datos correspondiente a 7 plaguicidas en las dos categorías de interpolación. TC: Trazadores Cúbicos, MC: Mínimos Cuadrados.



continuación Cuadro 10



continuación **Cuadro 10**

XI. APÉNDICE 2

# Calibración	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Metamidofos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Profos	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
Forato	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
Dimetato	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125
Terbufós	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160
Diazinon	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195
Disulfotón	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230
Clorotalonil	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265
Propanil	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300
Metil Paration	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335
Metalaxil	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
Metil Pirimifos	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405
Malatión	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440
Clorpirifos	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
Captan	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510
Alfa Endosulfan	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545
Fenamifós	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580
Profenofos	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615
p,p-DDE	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650
Beta endosulfan	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685
Endosulfan sulfato	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720
p,p-DDT	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755
Permetrina cis	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790
Permetrina trans	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825
Cipermetrina	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860

# Calibración	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
Metamidofos	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
Profos	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
Forato	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
Dimetato	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175
Terbufós	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
Diazinon	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245
Disulfotón	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280
Clorotalonil	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315
Propanil	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350
Metil Paration	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
Metalaxil	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420
Metil Pirimifos	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455
Malatión	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
Clorpirifos	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525
Captan	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560
Alfa Endosulfan	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595
Fenamifós	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630
Profenofos	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665
pp-DDE	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700
Beta endosulfan	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735
Endosulfan sulfato	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770
pp-DDT	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805
Permetrina cis	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840
Permetrina trans	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875
Cipermetrina	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900

números aleatorios generados por Analysis Tool Pack															
835	774	747	673	632	606	548	505	486	414	369	345	252	213	193	122
815	790	767	676	634	600	527	522	476	398	379	320	277	221	188	116
809	788	766	672	648	619	544	495	461	408	358	332	269	232	200	133

XII. APÉNDICE 3

Profos	n	Mean
TC	3	0,071216
MC	3	0,068483
Difference (TC - MC)	3	0,002734

Mean difference	0,002734	to 0,006804
95% CI	-0,001337	
SE	0,0009461	

t statistic	2,89
DF	2
2-tailed p	0,1018

	n	Mean
teorico	3	0,080
TC	3	0,071
Difference (teorico - TC)	3	0,009

Mean difference	0,009	to 0,011
95% CI	0,007	
SE	0,0005	

t statistic	16,60
DF	2
2-tailed p	0,0036

	n	Mean
teorico	3	0,080
MC	3	0,068
Difference (teorico - MC)	3	0,012

Mean difference	0,012	to 0,018
95% CI	0,005	
SE	0,0015	

t statistic	7,87
DF	2
2-tailed p	0,0157

Forato	n	Mean
TC	3	0,057291
MC	3	0,056614
Difference (TC - MC)	3	0,000678

Mean difference	0,000678	
95% CI	-0,001057	to 0,002412
SE	0,0004031	

t statistic	1,68
DF	2
2-tailed p	0,2348

	n	Mean
teorico	3	0,060
TC	3	0,057
Difference (teorico - TC)	3	0,003

Mean difference	0,003	
95% CI	-0,005	to 0,011
SE	0,0019	

t statistic	1,43
DF	2
2-tailed p	0,2897

	n	Mean
teorico	3	0,060
MC	3	0,057
Difference (teorico - MC)	3	0,003

Mean difference	0,003	
95% CI	-0,006	to 0,013
SE	0,0023	

t statistic	1,49
DF	2
2-tailed p	0,2743

Dimetato	N	Mean
TC	3	0,387491
MC	3	0,380469
Difference (TC - MC)	3	0,007022

Mean difference	0,007022	to 0,018119
95% CI	-0,004076	
SE	0,0025792	

t statistic	2,72
DF	2
2-tailed p	0,1126

	n	Mean
teorico	3	1,0
TC	3	0,4
Difference (teorico - TC)	3	0,6

Mean difference	0,6	to 1,9
95% CI	-0,7	
SE	0,31	

t statistic	1,98
DF	2
2-tailed p	0,1860

	n	Mean
teorico	3	1,0
MC	3	0,4
Difference (teorico - MC)	3	0,6

Mean difference	0,6	to 1,9
95% CI	-0,7	
SE	0,31	

t statistic	2,02
DF	2
2-tailed p	0,1813

Diazinon	n	Mean
TC	3	0,061386
MC	3	0,050084
Difference (TC - MC)	3	0,011302

Mean difference 0,011302
 95% CI -0,025519 to 0,048123
 SE 0,0085578

t statistic 1,32
 DF 2
 2-tailed p 0,3175

	n	Mean
teorico	3	0,060
TC	3	0,061
Difference (teorico - TC)	3	-0,001

Mean difference -0,001
 95% CI -0,012 to 0,009
 SE 0,0024

t statistic -0,58
 DF 2
 2-tailed p 0,6206

	n	Mean
teorico	3	0,060
MC	3	0,050
Difference (teorico - MC)	3	0,010

Mean difference 0,010
 95% CI -0,021 to 0,041
 SE 0,0071

t statistic 1,39
 DF 2
 2-tailed p 0,2985

Disulfotón	n	Mean
TC	3	0,131004
MC	3	0,099000
Difference (TC - MC)	3	0,032003

Mean difference 0,032003
 95% CI -0,011698 to 0,075705
 SE 0,0101569

t statistic 3,15
 DF 2
 2-tailed p 0,0877

	n	Mean
teorico	3	0,120
TC	3	0,131
Difference (teorico - TC)	3	-0,011

Mean difference -0,011
 95% CI -0,046 to 0,024
 SE 0,0082

t statistic -1,33
 DF 2
 2-tailed p 0,3137

	N	Mean
teorico	3	0,120
MC	3	0,099
Difference (teorico - MC)	3	0,021

Mean difference 0,021
 95% CI -0,023 to 0,065
 SE 0,0102

t statistic 2,07
 DF 2
 2-tailed p 0,1748

Clorotalonil	N	Mean
TC	3	0,067456

MC	3	0,053396
Difference (TC - MC)	3	0,014060
Mean difference	0,014060	to 0,032907
95% CI	-0,004788	
SE	0,0043805	
t statistic	3,21	
DF	2	
2-tailed p	0,0849	
	n	Mean
teorico	3	0,060
TC	3	0,067
Difference (teorico - TC)	3	-0,007
Mean difference	-0,007	to 0,011
95% CI	-0,026	
SE	0,0043	
t statistic	-1,74	
DF	2	
2-tailed p	0,2232	
	N	Mean
teorico	3	0,060
MC	3	0,053
Difference (teorico - MC)	3	0,007
Mean difference	0,007	to 0,020
95% CI	-0,007	
SE	0,0031	
t statistic	2,11	
DF	2	
2-tailed p	0,1688	
Metil Paration	N	Mean
TC	3	0,057258
MC	3	0,053241
Difference (TC - MC)	3	0,004017

Mean difference	0,004017	to 0,011970
95% CI	-0,003936	
SE	0,0018484	
t statistic	2,17	
DF	2	
2-tailed p	0,1618	
	n	Mean
teorico	3	0,060
TC	3	0,057
Difference (teorico - TC)	3	0,003
Mean difference	0,003	to 0,008
95% CI	-0,003	
SE	0,0012	
t statistic	2,21	
DF	2	
2-tailed p	0,1577	
	N	Mean
teorico	3	0,060
MC	3	0,053
Difference (teorico - MC)	3	0,007
Mean difference	0,007	to 0,020
95% CI	-0,006	
SE	0,0030	
t statistic	2,26	
DF	2	
2-tailed p	0,1526	
	n	Mean
Metalaxil		
TC	3	0,146428
MC	3	0,122486
Difference (TC - MC)	3	0,023942

Mean difference	0,023942	to 0,090609
95% CI	-0,042725	
SE	0,0154944	
t statistic	1,55	
DF	2	
2-tailed p	0,2623	
	n	Mean
teorico	3	0,160
TC	3	0,146
Difference (teorico - TC)	3	0,014
Mean difference	0,014	to 0,070
95% CI	-0,043	
SE	0,0132	
t statistic	1,03	
DF	2	
2-tailed p	0,4116	
	N	Mean
teorico	3	0,160
MC	3	0,122
Difference (teorico - MC)	3	0,038
Mean difference	0,038	to 0,066
95% CI	0,009	
SE	0,0066	
t statistic	5,72	
DF	2	
2-tailed p	0,0292	
Metil Pirimifos	N	Mean
TC	3	0,017111
MC	3	0,017900
Difference (TC - MC)	3	-0,000790
Mean difference	-0,000790	

95% CI SE	-0,001520 0,0001697	to -0,000060
t statistic DF 2-tailed p	-4,65 2 0,0432	
	n	Mean
teorico	3	0,020
TC	3	0,017
Difference (teorico - TC)	3	0,003
Mean difference 95% CI SE	0,003 -0,010 0,0029	to 0,015
t statistic DF 2-tailed p	0,99 2 0,4266	
	N	Mean
teorico	3	0,020
MC	3	0,018
Difference (teorico - MC)	3	0,002
Mean difference 95% CI SE	0,002 -0,010 0,0028	to 0,014
t statistic DF 2-tailed p	0,76 2 0,5258	
	n	Mean
Clorpirifos		
TC	3	0,061961
MC	3	0,051556
Difference (TC - MC)	3	0,010405
Mean difference 95% CI SE	0,010405 -0,062066 0,0168434	to 0,082877

t statistic	0,62	
DF	2	
2-tailed p	0,5997	
	n	Mean
teorico	3	0,060
TC	3	0,062
Difference (teorico - TC)	3	-0,002
Mean difference	-0,002	to 0,069
95% CI	-0,073	
SE	0,0165	
t statistic	-0,12	
DF	2	
2-tailed p	0,9160	
	N	Mean
teorico	3	0,060
MC	3	0,052
Difference (teorico - MC)	3	0,008
Mean difference	0,008	to 0,015
95% CI	0,002	
SE	0,0016	
t statistic	5,33	
DF	2	
2-tailed p	0,0334	
Captan	n	Mean
TC	3	0,251280
MC	3	0,192916
Difference (TC - MC)	3	0,058364
Mean difference	0,058364	to 0,209827
95% CI	-0,093099	
SE	0,0352021	
t statistic	1,66	
DF	2	

2-tailed p	0,2392	
	n	Mean
teorico	3	0,20
TC	3	0,25
Difference (teorico - TC)	3	-0,05

Mean difference	-0,05	to 0,17
95% CI	-0,27	
SE	0,052	

t statistic	-0,99
DF	2
2-tailed p	0,4251

	n	Mean
teorico	3	0,20
MC	3	0,19
Difference (teorico - MC)	3	0,01

Mean difference	0,01	to 0,08
95% CI	-0,06	
SE	0,016	

t statistic	0,43
DF	2
2-tailed p	0,7079

Alfa Endosulfan	n	Mean
TC	3	0,063487
MC	3	0,059650
Difference (TC - MC)	3	0,003838

Mean difference	0,003838	to 0,006585
95% CI	0,001091	
SE	0,0006384	

t statistic	6,01
DF	2
2-tailed p	0,0266

	n	Mean
teorico	3	0,060
TC	3	0,063
Difference (teorico - TC)	3	-0,003

Mean difference	-0,003	to 0,002
95% CI	-0,009	
SE	0,0012	

t statistic	-2,81
DF	2
2-tailed p	0,1067

	n	Mean
teorico	3	0,060
MC	3	0,060
Difference (teorico - MC)	3	0,000

Mean difference	0,000	to 0,008
95% CI	-0,007	
SE	0,0017	

t statistic	0,20
DF	2
2-tailed p	0,8567

Profenofos	n	Mean
TC	3	1,036895
MC	3	0,931456
Difference (TC - MC)	3	0,105439

Mean difference	0,105439	to 0,294419
95% CI	-0,083541	
SE	0,0439218	

t statistic	2,40
DF	2
2-tailed p	0,1384

	n	Mean
teorico	3	1,0
TC	3	1,0
Difference (teorico - TC)	3	0,0

Mean difference 0,0
 95% CI -0,4 to 0,3
 SE 0,08

t statistic -0,48
 DF 2
 2-tailed p 0,6814

	n	Mean
teorico	3	1,0
MC	3	0,9
Difference (teorico - MC)	3	0,1

Mean difference 0,1
 95% CI -0,1 to 0,2
 SE 0,03

t statistic 2,01
 DF 2
 2-tailed p 0,1824

p,p-DDE	n	Mean
TC	3	0,039090
MC	3	0,035188
Difference (TC - MC)	3	0,003902

Mean difference 0,003902
 95% CI -0,004468 to 0,012271
 SE 0,0019452

t statistic 2,01
 DF 2
 2-tailed p 0,1827

	n	Mean
teorico	3	0,040
TC	3	0,039
Difference (teorico - TC)	3	0,001

Mean difference	0,001	to 0,006
95% CI	-0,004	
SE	0,0012	

t statistic	0,76
DF	2
2-tailed p	0,5253

	n	Mean
teorico	3	0,040
MC	3	0,035
Difference (teorico - MC)	3	0,005

Mean difference	0,005	to 0,008
95% CI	0,001	
SE	0,0008	

t statistic	6,16
DF	2
2-tailed p	0,0253

Beta endosulfan	n	Mean
TC	3	0,743265
MC	3	0,719358
Difference (TC - MC)	3	0,023906

Mean difference	0,023906	to 0,124531
95% CI	-0,076719	
SE	0,0233867	

t statistic	1,02
DF	2
2-tailed p	0,4142

	n	Mean
teorico	3	0,80
TC	3	0,74
Difference (teorico - TC)	3	0,06

Mean difference	0,06	
95% CI	-0,04	to 0,15
SE	0,022	

t statistic	2,55
DF	2
2-tailed p	0,1252

	n	Mean
teorico	3	0,80
MC	3	0,72
Difference (teorico - MC)	3	0,08

Mean difference	0,08	
95% CI	-0,03	to 0,19
SE	0,026	

t statistic	3,05
DF	2
2-tailed p	0,0927

p,p-DDT	n	Mean
TC	3	0,037535
MC	3	0,036158
Difference (TC - MC)	3	0,001377

Mean difference	0,001377	
95% CI	-0,002315	to 0,005069
SE	0,0008580	

t statistic	1,60
DF	2
2-tailed p	0,2498

	n	Mean
teorico	3	0,040
TC	3	0,038
Difference (teorico - TC)	3	0,002

Mean difference 0,002
 95% CI -0,001 to 0,006
 SE 0,0008

t statistic 2,91
 DF 2
 2-tailed p 0,1004

	n	Mean
teorico	3	0,040
MC	3	0,036
Difference (teorico - MC)	3	0,004

Mean difference 0,004
 95% CI -0,003 to 0,011
 SE 0,0016

t statistic 2,35
 DF 2
 2-tailed p 0,1437

Permetrina cis	n	Mean
TC	3	0,073344
MC	3	0,066589
Difference (TC - MC)	3	0,006755

Mean difference 0,006755
 95% CI -0,022755 to 0,036265
 SE 0,0068585

t statistic 0,98
 DF 2
 2-tailed p 0,4285

	n	Mean
teorico	3	0,080
TC	3	0,073
Difference (teorico - TC)	3	0,007

Mean difference	0,007	
95% CI	-0,023	to 0,036
SE	0,0069	

t statistic	0,97
DF	2
2-tailed p	0,4347

	n	Mean
teorico	3	0,080
MC	3	0,067
Difference (teorico - MC)	3	0,013

Mean difference	0,013	
95% CI	0,011	to 0,016
SE	0,0007	

t statistic	20,61
DF	2
2-tailed p	0,0023

Permetrina trans	n	Mean
TC	3	0,080470
MC	3	0,074233
Difference (TC - MC)	3	0,006238

Mean difference	0,006238	
95% CI	-0,012641	to 0,025117
SE	0,0043878	

t statistic	1,42
DF	2
2-tailed p	0,2911

	n	Mean
teorico	3	0,080

TC	3	0,080		
Difference (teorico - TC)	3	0,000		
Mean difference	0,000			
95% CI	-0,012	to 0,011		
SE	0,0026			
t statistic	-0,18			
DF	2			
2-tailed p	0,8713			
	n	Mean		
teorico	3	0,080		
MC	3	0,074		
Difference (teorico - MC)	3	0,006		
Mean difference	0,006			
95% CI	-0,014	to 0,025		
SE	0,0045			
t statistic	1,28			
DF	2			
2-tailed p	0,3286			
Metamidofos MC	n	Mean	SE	SD
TC	19	0,902105	0,0501785	0,218723
MC	19	0,807232	0,0283907	0,123752
Difference (TC - MC)	19	0,094873	0,0557400	0,242965
Mean difference	0,094873			
95% CI	-0,022233	to 0,211978		
SE	0,0557400			
t statistic	1,70			
DF	18			
2-tailed p	0,1060			
	n	Mean		
teorico	19	1,000000		
TC	19	0,902105		
Difference (teorico - TC)	19	0,097895		

Mean difference	0,097895	
95% CI	-0,007526	to 0,203316
SE	0,0501785	

t statistic	1,95
DF	18
2-tailed p	0,0668

	n	Mean
teorico	19	1,000000
MC	19	0,807232
Difference (teorico - MC)	19	0,192768

Mean difference	0,192768	
95% CI	0,133121	to 0,252415
SE	0,0283907	

t statistic	6,79
DF	18
2-tailed p	<0.0001

	n	Mean
Terbufos TC	25	0,157915
Terbufos MC	25	0,142339
Difference (Terbufos TC - Terbufos MC)	25	0,015576

Mean difference	0,015576	
95% CI	0,010957	to 0,020195
SE	0,0022380	

t statistic	6,96
DF	24
2-tailed p	<0.0001

	n	Mean
teorico	25	0,160
Terbufos TC	25	0,158
Difference (teorico - Terbufos TC)	25	0,002

Mean difference	0,002	
95% CI	-0,003	to 0,007
SE	0,0024	

t statistic	0,87
DF	24
2-tailed p	0,3907

	n	Mean
teorico	25	0,160
Terbufos MC	25	0,142
Difference (teorico - Terbufos MC)	25	0,018

Mean difference	0,018	
95% CI	0,012	to 0,023
SE	0,0027	

t statistic	6,56
DF	24
2-tailed p	<0.0001

	n	Mean
Propanil TC	28	0,2018701
Propanil MC	28	0,1800556
Difference (Propanil TC - Propanil MC)	28	0,0218145

Mean difference	0,0218145	
95% CI	0,0115543	to 0,0320748
SE	0,00500053	

t statistic	4,36
DF	27
2-tailed p	0,0002

	n	Mean
teorico	28	0,20
Propanil TC	28	0,20
Difference (teorico - Propanil TC)	28	0,00

Mean difference	0,00	
95% CI	-0,01	to 0,01
SE	0,004	
t statistic	-0,42	
DF	27	
2-tailed p	0,6787	
	n	Mean
teorico	28	0,20
Propanil MC	28	0,18
Difference (teorico - Propanil MC)	28	0,02

Mean difference	0,02	
95% CI	0,01	to 0,03
SE	0,004	
t statistic	5,32	
DF	27	
2-tailed p	<0.0001	
	n	Mean
Malation TC	26	0,059421
Malation MC	26	0,054125
Difference (Malation TC - Malation MC)	26	0,005295

Mean difference	0,005295	
95% CI	0,003633	to 0,006958
SE	0,0008073	
t statistic	6,56	
DF	25	
2-tailed p	<0.0001	
	n	Mean
teorico	26	0,060
Malation TC	26	0,059
Difference (teorico - Malation TC)	26	0,001

Mean difference	0,001	
95% CI	-0,002	to 0,003

SE		0,0013	
t statistic		0,44	
DF		25	
2-tailed p		0,6642	
		n	Mean
teorico		26	0,060
Malation MC		26	0,054
Difference (teorico - Malation MC)		26	0,006

Mean difference		0,006	
95% CI		0,004	to 0,008
SE		0,0011	

t statistic		5,12
DF		25
2-tailed p		<0.0001

		n	Mean
Fenamifos TC		22	0,201693
Fenamifos MC		22	0,175340
Difference (Fenamifos TC - Fenamifos MC)		22	0,026353

Mean difference		0,026353	
95% CI		0,014387	to 0,038319
SE		0,0057541	

t statistic		4,58
DF		21
2-tailed p		0,0002

		n	Mean
teorico		22	0,20
Fenamifos TC		22	0,20
Difference (teorico - Fenamifos TC)		22	0,00

Mean difference		0,00	
95% CI		-0,02	to 0,01
SE		0,008	

t statistic	-0,22
DF	21
2-tailed p	0,8299

	n	Mean
teorico	22	0,20
Fenamifos MC	22	0,18
Difference (teorico - Fenamifos MC)	22	0,02

Mean difference	0,02	to 0,03
95% CI	0,02	
SE	0,004	

t statistic	6,53
DF	21
2-tailed p	<0.0001

	n	Mean
Endosulfan Sulf TC	22	0,038702
Endosulfan Sulf MC	22	0,037263
Difference (Endosulfan Sulf TC - Endosulfan Sulf MC)	22	0,001440

Mean difference	0,001440	to 0,002331
95% CI	0,000548	
SE	0,0004287	

t statistic	3,36
DF	21
2-tailed p	0,0030

	n	Mean
teorico	22	0,040
Endosulfan Sulf TC	22	0,039
Difference (teorico - Endosulfan Sulf TC)	22	0,001

Mean difference	0,001	to 0,003
95% CI	0,000	
SE	0,0007	

t statistic	1,80
DF	21
2-tailed p	0,0868

	n	Mean
teorico	22	0,040
Endosulfan Sulf MC	22	0,037
Difference (teorico - Endosulfan Sulf MC)	22	0,003

Mean difference	0,003	
95% CI	0,002	to 0,004
SE	0,0005	

t statistic	5,18
DF	21
2-tailed p	<0.0001

	n	Mean
Cipermetrina TC	20	1,218787
Cipermetrina MC	20	0,905239
Difference (Cipermetrina TC - Cipermetrina MC)	20	0,313548

Mean difference	0,313548	
95% CI	0,040096	to 0,587000
SE	0,1306493	

t statistic	2,40
DF	19
2-tailed p	0,0268

	n	Mean
teorico	19	1,0
Cipermetrina TC	19	1,2
Difference (teorico - Cipermetrina TC)	19	-0,2

Mean difference	-0,2	
95% CI	-0,4	to 0,0
SE	0,10	

t statistic	-2,00
DF	18

2-tailed p		0,0613	
		n	Mean
teorico		19	1,0
Cipermetrina MC		19	1,0
Difference (teorico - Cipermetrina MC)		19	0,0
Mean difference		0,0	
95% CI		-0,1	to 0,1
SE		0,06	
t statistic		0,21	

XIII. APÉNDICE 4

Metamidofos:

n	19		
Mean	0,902105	Median	0,892434
95% CI	0,796684 to 1,007526	98.1% CI	0,729754 to 1,040400
SE	0,0501785		
Variance	0,041840	Range	0,85320
SD	0,218723	IQR	0,291301
95% CI	0,165270 to 0,323453	Percentile	
		0th	0,546743 (minimum)
CV	24,2%	25th	0,739920 (1st quartile)
		50th	0,892434 (median)
Skewness	0,53	75th	1,031220 (3rd quartile)
Kurtosis	0,19	100th	1,399947 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,97		
p	0,865		
n	19		
Mean	0,8072321	Median	0,8409471
95% CI	0,7475854 to 0,8668788	98.1% CI	0,6949000 to 0,9038183
SE	0,02839072		
Variance	0,0153146	Range	0,414996
SD	0,1237523	IQR	0,2040901
95% CI	0,0935088 to 0,1830079	Percentile	
		0th	0,5866540 (minimum)
CV	15,3%	25th	0,6982869 (1st quartile)
		50th	0,8409471 (median)
Skewness	-0,30	75th	0,9023770 (3rd quartile)
Kurtosis	-1,06	100th	1,0016497 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,95		
p	0,366		

Terbufos

n	25		
Mean	0,157915	Median	0,157208
95% CI	0,152991 to 0,162838	95.7% CI	0,153135 to 0,163141
SE	0,0023855		
Variance	0,000142	Range	0,06298
SD	0,011928	IQR	0,012751
95% CI	0,009313 to 0,016593	Percentile	
CV	7,6%	0th	0,129141 (minimum)
Skewness	0,47	25th	0,152167 (1st quartile)
Kurtosis	2,70	50th	0,157208 (median)
Shapiro-Wilk W	0,94	75th	0,164918 (3rd quartile)
p	0,159	100th	0,192126 (maximum)

n	25		
Mean	0,1423	Median	0,1444
95% CI	0,1368 to 0,1479	95.7% CI	0,1354 to 0,1518
SE	0,00269		
Variance	0,0002	Range	0,046
SD	0,0135	IQR	0,0215
95% CI	0,0105 to 0,0187	Percentile	
CV	9,5%	0th	0,1133 (minimum)
Skewness	-0,68	25th	0,1340 (1st quartile)
Kurtosis	-0,20	50th	0,1444 (median)
Shapiro-Wilk W	0,92	75th	0,1554 (3rd quartile)
p	0,054	100th	0,1588 (maximum)

Propanil

n	28		
Mean	0,201870	Median	0,198116
95% CI	0,192706 to 0,211034	96.4% CI	0,187668 to 0,209782
SE	0,0044662		
Variance	0,000559	Range	0,09982
SD	0,023633	IQR	0,024955
95% CI	0,018685 to 0,032168	Percentile	
CV	11,7%	0th	0,165297 (minimum)
Skewness	0,93	25th	0,185929 (1st quartile)
Kurtosis	0,76	50th	0,198116 (median)
Shapiro-Wilk W	0,94	75th	0,210884 (3rd quartile)
		100th	0,265117 (maximum)

p	0,089		
n	28		
Mean	0,180056	Median	0,182833
95% CI	0,172360 to 0,187751	96.4% CI	0,166855 to 0,188967
SE	0,0037506		
Variance	0,000394	Range	0,07746
SD	0,019847	IQR	0,028913
95% CI	0,015691 to 0,027014	Percentile	
CV	11,0%	0th	0,139978 (minimum)
Skewness	-0,33	25th	0,164396 (1st quartile)
Kurtosis	-0,40	50th	0,182833 (median)
		75th	0,193309 (3rd quartile)
		100th	0,217436 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,96		
p	0,443		

Malation

n	26		
Mean	0,054125	Median	0,055293
95% CI	0,051764 to 0,056487	97.1% CI	0,051654 to 0,058193
SE	0,0011466		
Variance	0,000034	Range	0,02162
SD	0,005847	IQR	0,009896
95% CI	0,004585 to 0,008071	Percentile	
CV	10,8%	0th	0,044060 (minimum)
Skewness	-0,35	25th	0,048444 (1st quartile)
Kurtosis	-0,67	50th	0,055293 (median)
		75th	0,058340 (3rd quartile)
		100th	0,065680 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,94		
p	0,103		
n	26		
Mean	0,059421	Median	0,059272
95% CI	0,056706 to 0,062136	97.1% CI	0,056551 to 0,062942
SE	0,0013182		
Variance	0,000045	Range	0,02869
SD	0,006722	IQR	0,008406
95% CI	0,005271 to 0,009278	Percentile	
CV	11,3%	0th	0,046033 (minimum)
Skewness	0,25	25th	0,054851 (1st quartile)
Kurtosis	0,24	50th	0,059272 (median)
		75th	0,063257 (3rd quartile)
		100th	0,074723 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,98		
p	0,941		

Fenamifos

n	22		
Mean	0,201693	Median	0,201656
95% CI	0,185505 to 0,217882	98.3% CI	0,190784 to 0,224108
SE	0,0077845		
Variance	0,001333	Range	0,15680
SD	0,036512	IQR	0,034946
95% CI	0,028091 to 0,052179	Percentile	
CV	18,1%	0th	0,106915 (minimum)
Skewness	-0,70	25th	0,190147 (1st quartile)
Kurtosis	1,25	50th	0,201656 (median)
Shapiro-Wilk W	0,94	75th	0,225093 (3rd quartile)
p	0,237	100th	0,263713 (maximum)

n	22		
Mean	0,175340	Median	0,176568
95% CI	0,167490 to 0,183190	98.3% CI	0,163593 to 0,189153
SE	0,0037748		
Variance	0,000313	Range	0,06826
SD	0,017705	IQR	0,025717
95% CI	0,013622 to 0,025302	Percentile	
CV	10,1%	0th	0,132239 (minimum)
Skewness	-0,76	25th	0,163438 (1st quartile)
Kurtosis	0,23	50th	0,176568 (median)
Shapiro-Wilk W	0,95	75th	0,189155 (3rd quartile)
p	0,348	100th	0,200498 (maximum)

Endosulfan sulfato

n	22		
Mean	0,038702	Median	0,038688
95% CI	0,037201 to 0,040204	98.3% CI	0,036411 to 0,040254
SE	0,0007222		
Variance	0,000011	Range	0,01355
SD	0,003387	IQR	0,003965
95% CI	0,002606 to 0,004841	Percentile	
CV	8,8%	0th	0,032660 (minimum)
Skewness	0,27	25th	0,036350 (1st quartile)
Kurtosis	0,22	50th	0,038688 (median)
Shapiro-Wilk W	0,98	75th	0,040315 (3rd quartile)
		100th	0,046208 (maximum)

p	0,880		
n	22		
Mean	0,037263	Median	0,038021
95% CI	0,036163 to 0,038363	98.3% CI	0,034579 to 0,039477
SE	0,0005289		
Variance	0,000006	Range	0,00757
SD	0,002481	IQR	0,004934
95% CI	0,001908 to 0,003545	Percentile	
		0th	0,033301 (minimum)
CV	6,7%	25th	0,034544 (1st quartile)
		50th	0,038021 (median)
Skewness	-0,28	75th	0,039478 (3rd quartile)
Kurtosis	-1,33	100th	0,040871 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,90		
p	0,032		

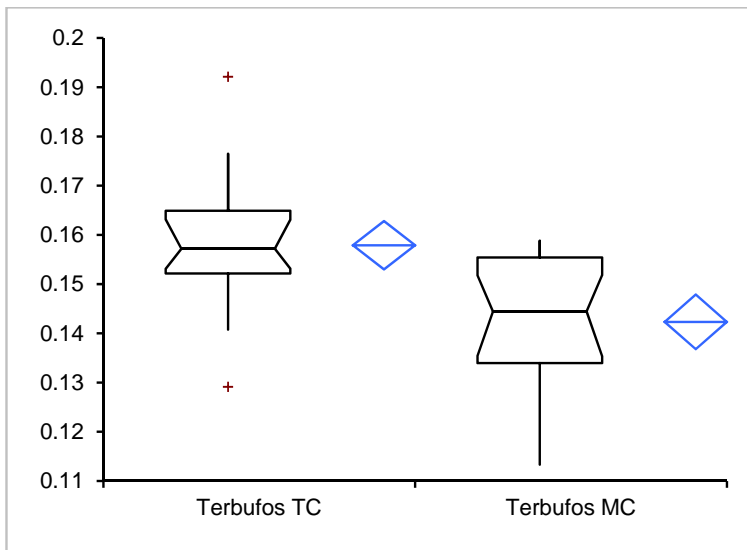
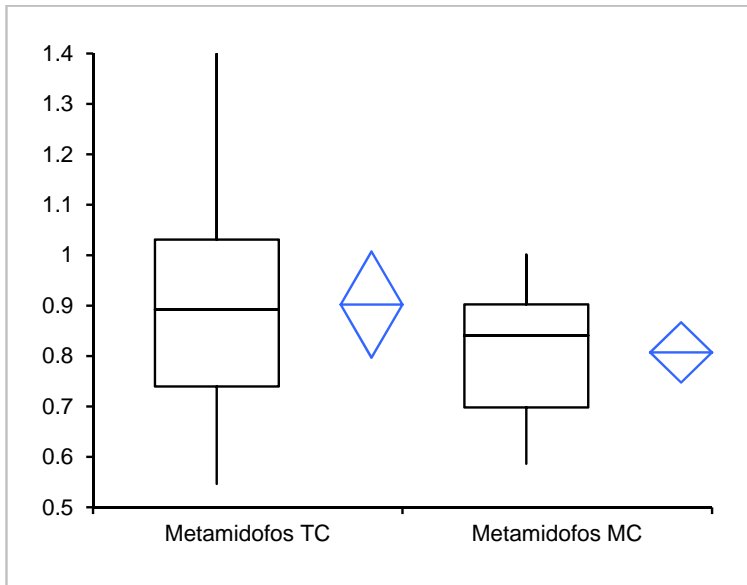
Cipermetrina

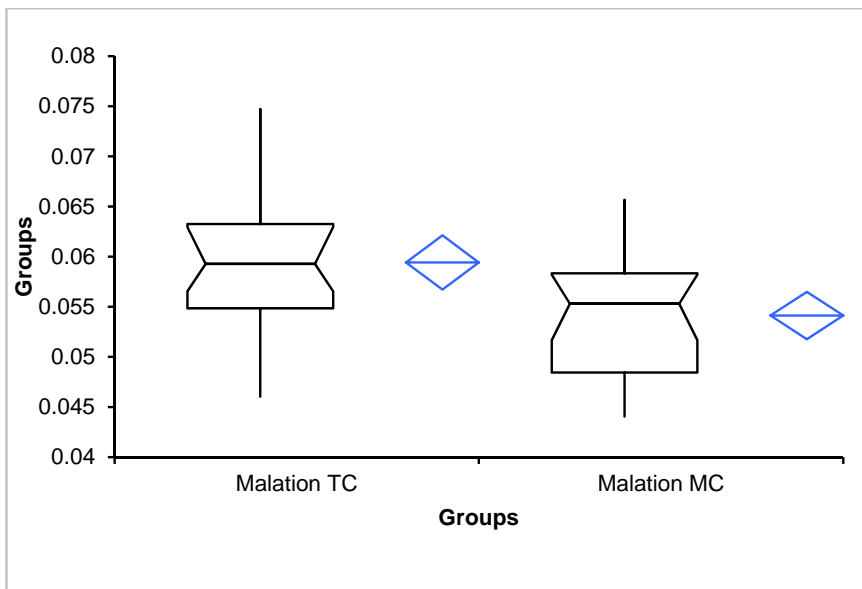
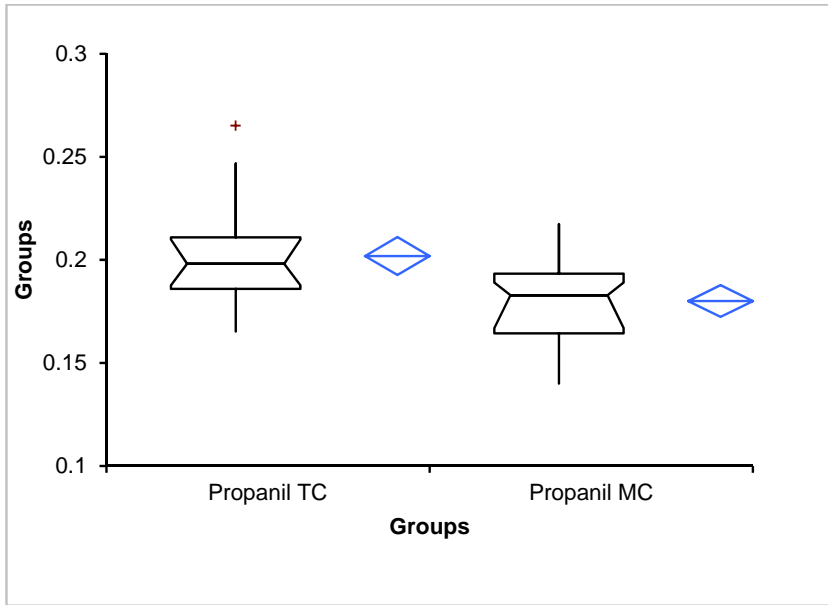
n	20		
Mean	0,905239	Median	0,955654
95% CI	0,697613 to 1,112864	95.9% CI	0,889780 to 1,044913
SE	0,0991989		
Variance	0,196808	Range	2,38026
SD	0,443631	IQR	0,224732
95% CI	0,337377 to 0,647955	Percentile	
		0th	-0,663590 (minimum)
CV	49,0%	25th	0,838661 (1st quartile)
		50th	0,955654 (median)
Skewness	-2,21	75th	1,063393 (3rd quartile)
Kurtosis	8,70	100th	1,716673 (maximum)
Shapiro-Wilk W	0,75		
p	0,000		

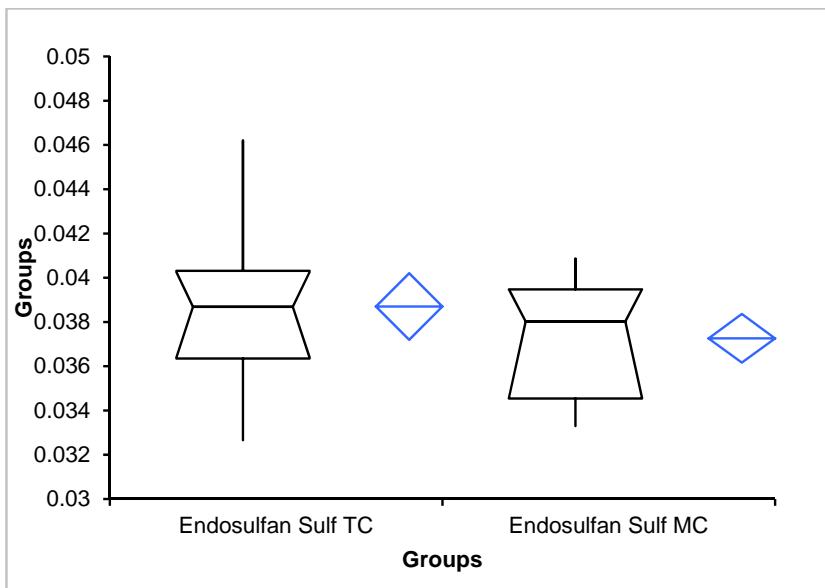
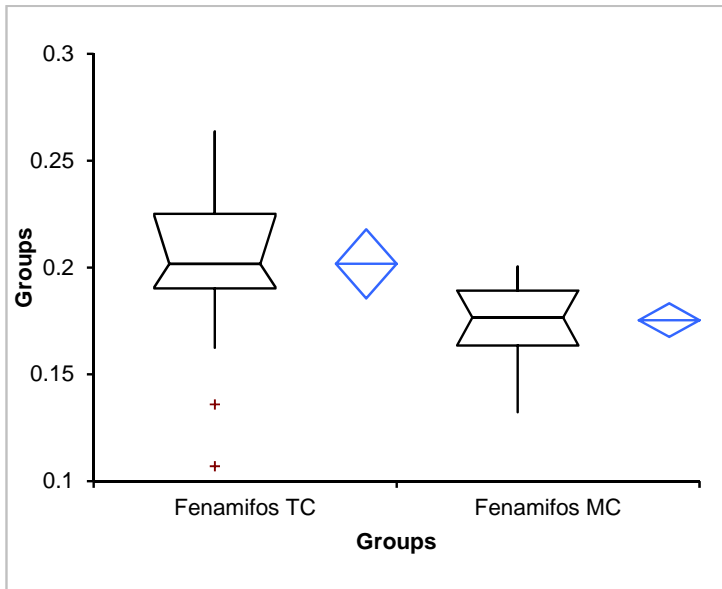
n	20		
Mean	1,218787	Median	1,069533
95% CI	1,020352 to 1,417222	95.9% CI	0,969851 to 1,500000
SE	0,0948076		
Variance	0,179770	Range	1,89079
SD	0,423993	IQR	0,577303
95% CI	0,322442 to 0,619272	Percentile	
		0th	0,337044 (minimum)

CV	34,8%	25th	0,969556	(1st quartile)
		50th	1,069533	(median)
Skewness	0,60	75th	1,546859	(3rd quartile)
Kurtosis	0,92	100th	2,227831	(maximum)
Shapiro-Wilk W	0,90			
p	0,039			

XIV. APÉNDICE 5







XV. APÉNDICE 6

n		123			
Grupos	n	Media	SE	SE Ponderada	SD
terbufos	25	-0,002085	0,0023855	0,0040279	0,011928
propanil	28	0,001870	0,0044662	0,0038060	0,023633
malation	26	-0,000579	0,0013182	0,0039497	0,006722
fenamifos	22	0,001693	0,0077845	0,0042938	0,036512
endosulfan sulfato	22	-0,001298	0,0007222	0,0042938	0,003387

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	DF	Media de cuadrados	F estadístico	p
Grupos	0,000315	4	0,000079	0,19	0,9410
Residual	0,047861	118	0,000406		
Total	0,048176	122			

n		123			
Grupos	n	Media	SE	SE Ponderada	SD
terbufos	25	-0,0176610	0,00269198	0,00276477	0,0134599
propanil	28	-0,0199444	0,00375064	0,00261246	0,0198465
malation	26	-0,0058745	0,00114660	0,00271108	0,0058465
fenamifos	22	-0,0246599	0,00377476	0,00294726	0,0177052
endosulfan sulfato	22	-0,0027372	0,00052887	0,00294726	0,0024806

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	DF	Media de cuadrados	F estadístico	p
Grupos	0,0083226	4	0,0020807	10,89	<0.0001
Residual	0,0225497	118	0,0001911		
Total	0,0308723	122			

n		54			
Trazadores Cúbicos	n	Media	SE	SE Ponderada	SD
Profos	3	-0,008784	0,0005290	0,0239645	0,000916
Forato	3	-0,002709	0,0018979	0,0239645	0,003287
Dimetato	3	-0,002848	0,0234221	0,0239645	0,040568
Diazinon	3	0,001386	0,0023892	0,0239645	0,004138
Disulfotón	3	0,011004	0,0082452	0,0239645	0,014281
Clorotalonil	3	0,007456	0,0042740	0,0239645	0,007403
Metil Paration	3	-0,002742	0,0012406	0,0239645	0,002149
Metalaxil	3	-0,013572	0,0131881	0,0239645	0,022842
Metil Pirimifos	3	-0,002889	0,0029194	0,0239645	0,005057
Clorpirifos	3	0,001961	0,0164591	0,0239645	0,028508
Captan	3	0,051280	0,0516008	0,0239645	0,089375
Alfa Endosulfan	3	0,003487	0,0012405	0,0239645	0,002149
Profenofos	3	0,036895	0,0776172	0,0239645	0,134437

p,p-DDE	3	-0,000910	0,0011937	0,0239645	0,002068
Beta endosulfan	3	-0,056735	0,0222150	0,0239645	0,038477
p,p-DDT	3	-0,002465	0,0008460	0,0239645	0,001465
Permetrina cis	3	-0,006656	0,0068677	0,0239645	0,011895
Permetrina trans	3	0,000470	0,0025643	0,0239645	0,004442

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	DF	Media de cuadrados	F estadístico	p
Trazadores Cúbicos	0,023214	17	0,001366	0,79	0,6897
Residual	0,062024	36	0,001723		
Total	0,085238	53			

n	54				
Mínimos Cuadrados	n	Mean	SE	Pooled SE	SD
Profos	3	-0,011517	0,0014627	0,0111415	0,002533
Forato	3	-0,003386	0,0022704	0,0111415	0,003933
Dimetato	3	-0,050494	0,0232494	0,0111415	0,040269
Diazinon	3	-0,009916	0,0071241	0,0111415	0,012339
Disulfotón	3	-0,021000	0,0101634	0,0111415	0,017604
Clorotalonil	3	-0,006604	0,0031231	0,0111415	0,005409
Metil Paration	3	-0,006759	0,0029948	0,0111415	0,005187
Metalaxil	3	-0,037514	0,0065541	0,0111415	0,011352
Metil Pirimifos	3	-0,002100	0,0027568	0,0111415	0,004775
Clorpirifos	3	-0,008444	0,0015830	0,0111415	0,002742
Captan	3	-0,007084	0,0164002	0,0111415	0,028406
Alfa Endosulfan	3	-0,000350	0,0017120	0,0111415	0,002965
Profenofos	3	-0,068544	0,0341302	0,0111415	0,059115
p,p-DDE	3	-0,004812	0,0007810	0,0111415	0,001353
Beta endosulfan	3	-0,030221	0,0000000	0,0111415	0,000000
p,p-DDT	3	-0,003842	0,0016381	0,0111415	0,002837
Permetrina cis	3	-0,013411	0,0006508	0,0111415	0,001127
Permetrina trans	3	-0,005767	0,0045019	0,0111415	0,007797

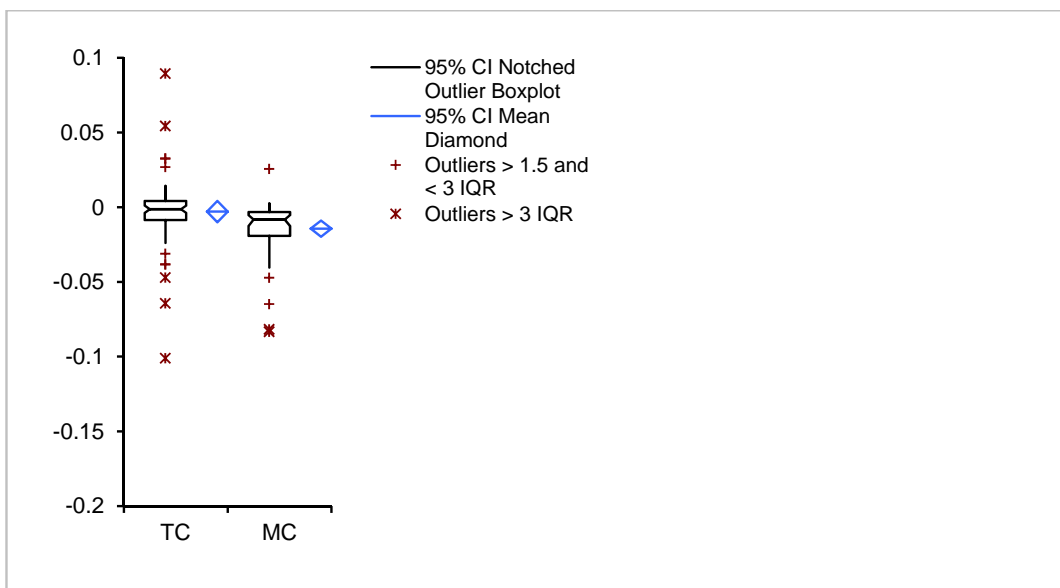
Fuentes de variación	Suma de cuadrados	DF	Media de cuadrados	F estadístico	p
Mínimos Cuadrados	0,017967	17	0,001057	2,84	0,0042
Residual	0,013406	36	0,000372		
Total	0,031374	53			

n	54				
---	----	--	--	--	--

	n	Mean	SE	SD
TC	54	-0,00295	0,003548	0,02607
MC	54	-0,01436	0,002686	0,01974
Difference (TC - MC)	54	0,01141	0,003619	0,02659

Mean difference	0,01141	
95% CI	0,00415	to 0,01867
SE	0,003619	

t statistic	3,15
DF	53
2-tailed p	0,0027



	n	Mean	95% CI	SE	SD
TC	54	-0,00295	-0,01006 to 0,00417	0,003548	0,026074
MC	54	-0,01436	-0,01975 to -0,00897	0,002686	0,019739

	n	Min	1st Quartile	Median	95% CI	3rd Quartile	Max	IQR
TC	54	-0,1010	-0,00858	-0,00129	-0,00383 to 0,00109	0,00417	0,0894	0,01275
MC	54	-0,0833	-0,01916	-0,00834	-0,01258 to -0,00528	-0,00323	0,0257	0,01593

XVI. APÉNDICE 7

Cuadro 11: Incertidumbres calculadas para calibraciones individuales y para conjunto de calibraciones con m replicas

Pesticida	Valor interpolado	Incertidumbre IC			
		Con $m > 3$ repeticiones		Calibraciones individuales	
Metamidofós	0,81	±0,46	±46%	±0,87	±87%
Profós	0,07	±0,02	±21%	±0,02	±29%
Forato	0,06	±0,001	±1%	±0,001	±2%
Dimetato	0,98	±0,06	±6%	±0,09	±9%
Terbufós	0,14	±0,04	±25%	±0,08	±49%
Diazinón	0,05	±0,01	±19%	±0,02	±39%
Disulfotón	0,11	±0,03	±24%	±0,05	±42%
Clorotalonil	0,06	±0,02	±28%	±0,02	±37%
Propanil	0,19	±0,06	±32%	±0,09	±43%
Metil Paratión	0,06	±0,01	±20%	±0,01	±21%
Metalaxil	0,13	±0,11	±68%	±0,09	±55%
Metil Pirimifós	0,02	±0,002	±10%	±0,007	±34%
Malatión	0,06	±0,02	±32%	±0,04	±64%
Clorpirifós	0,05	±0,03	±45%	±0,03	±48%
Captán	0,19	±0,03	±17%	±0,05	±24%

continuación Cuadro 11

Pesticida	Valor interpolado	Incertidumbre IC			
		Con m>3 repeticiones		Calibraciones individuales	
Alfa Endosulfan	0,06	±0,01	±11%	±0,01	±17%
Fenamifós	0,18	±0,06	±32%	±0,10	±51%
Profenofós	0,96	±0,39	±39%	±0,47	±47%
p,p-DDE	0,04	±0,01	±20%	±0,01	±30%
Beta endosulfan	0,75	±0,07	±9%	±0,09	±11%
Endosulfan sulfato	0,04	±0,01	±17%	±0,01	±27%
p,p-DDT	0,04	±0,001	±4%	±0,002	±5%
Permetrina cis	0,07	±0,03	±42%	±0,04	±46%
Permetrina trans	0,08	±0,005	±6%	±0,006	±7%
Cipermetrina	0,96	±0,57	±57%	±1,22	±122%

XVII. APÉNDICE 8

```

NSplineCoeff[S_,a_,b_,c_,d_,n_,t_]:=Module[{f,alpha,mu,z,L,h},
  n=Length[S];
  f=Table[S[[i,2]],{i,1,n}];
  t=Table[S[[i,1]],{i,1,n}];
  a=Table[0,{i,1,n}];
  b=Table[0,{i,1,n}];
  c=Table[0,{i,1,n}];
  d=Table[0,{i,1,n}];
  alpha=Table[0,{i,1,n}];
  mu=Table[0,{i,1,n}];
  z=Table[0,{i,1,n}];
  L=Table[0,{i,1,n}];
  h=Table[0,{i,1,n}];
  L[[1]]=1;
  mu[[1]]=0;
  z[[1]]=0;
  h[[1]]=t[[2]]-t[[1]];
  For[i=2,i<n,i++,
    h[[i]]=t[[i+1]]-t[[i]];
    alpha[[i]]=(3/(h[[i]]*h[[i-1]]))*(f[[i+1]]*h[[i-1]]-
      f[[i]]*(h[[i]]+h[[i-1]])+f[[i-1]]*h[[i]]);
    L[[i]]=2*(h[[i]]+h[[i-1]])-h[[i-1]]*mu[[i-1]];
    mu[[i]]=h[[i]]/L[[i]];
    z[[i]]=(alpha[[i]]-h[[i-1]]*z[[i-1]])/L[[i]]
  ];
  L[[n]]=1;
  z[[n]]=0;
  c[[n]]=0;
  For[j=n-1,j>0,j--,
    c[[j]]=z[[j]]-mu[[j]]*c[[j+1]];
    b[[j]]=(f[[j+1]]-f[[j]])/h[[j]]-h[[j]]*
      (c[[j+1]]+2*c[[j]])/3;
    d[[j]]=(c[[j+1]]-c[[j]])/(3*h[[j]]);
    a[[j]]=f[[j]]
  ];
  Print["finished"]

```