DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN AGUA POR CROMATOGRAFIA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Química Farmacéutica

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN AGUA POR CROMATOGRAFIA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN

LESBIA JUDITH PEREZ CAMEY

Guatemala
1997

Vo.Bo. :

(f) _____.
Licenciado Willy Knedel Führer
Asesor

Tribunal:

(f) _____.
M.Sc. Margarita Selle S.
Coordinadora de Instrumentación Analítica
Universidad del Valle de Guatemala

(f) _____.
Licenciado Willy Knedel
Director del Programa de Química Analítica Ambiental
Universidad del Valle de Guatemala

(f) _____.
M.A. Rolando López
Director del Departamento de Química Farmacéutica
Universidad del Valle de Guatemala

Fecha de Aprobación: 30 Octubre de 1997.

A mis padres Rafael y Florencia

A mis hermanos Fredy y Julio

A mi tia Sofia

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Lic. Willy Knedel, por su valiosa ayuda en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Así tambien quiero agradecer la colaboración de las siguientes personas:

Lic. Rolando López

M.Sc. Margarita Selle

Ing. Astrid Moran

Lic. Aarón Argueta

Lic. Luis Carlos Castellanos

Lic. Jose Carlos Chiquin

CONTENIDO

3. Normas de restricción de plaguicidas en agua potable

4. Evaluación de repetibilidad de inyección en el sistema cromatográfico en el ECD y el FPD para los tres niveles de concentración.

5.Porcentajes de recuperación de cada inyección en los tres niveles de fortificación en la extracción líquido - líquido.

6. Porcentajes de recuperación de cada inyección en los tres niveles de fortificación en la extracción sólido - líquido.

7. Evaluación de repetibilidad en los tiempos de retención y tiempo relativo respecto al clorpirifos para cada plaguicida en los tres niveles de concentración.

8. Formatos para controles y calibraciones

LISTA DE CUADROS

LISTA DE FIGURAS

RESUMEN

El presente trabajo corresponde al desarrollo y validación de un novedoso método de cromatografía de gases de alta resolución para el análisis de residuos de plaguicidas organofosforados en agua. Este método consiste en la utilización de un sistema de detección simultánea, para el cual se uso el detector de captura de electrones y el fotométrico de llama. Además incorpora la técnica de inyección de Grob, para divisiones de flujo programable. El método es aplicable a catorce plaguicidas organofosforados en un rango de concentración que va desde 0.10µg/mL hasta 37µg/mL como se explica en el cuadro No. 2.5.

Con estas herramientas integradas al sistema cromatográfico, se logró montar dos métodos de extracción de plaguicidas organofosforados de la matriz agua: La extracción líquido - líquido, con un porcentaje de recuperación de 71%, y la extracción en fase sólida, con un porcentaje de recuperación de 68%.

Con la incorporación de estas técnicas al programa de Química Analítica Ambiental, se logró establecer un método en el que se pueden analizar no sólo plaguicidas organofosforados, sino también los plaguicidas organoclorados y los piretroides.

Para llevar a cabo cada paso en el desarrollo y validación de este método se siguieron los parámetros que indican los principios de buenas prácticas de laboratorio de la la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD) en "***The OECD Principles of Good Laboratory Practice***" y los lineamientos dados por la Organización Internacional para la Estandarización en la Guía ISO 25 "***General requeriments for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC Guide 25".***

I. INTRODUCCIÓN

Se ha establecido que la mitad de la población guatemalteca económicamente activa la constituyen los agricultores. Se estima que el 80% de estas personas están en contacto directo con los plaguicidas. Sin embargo el conocimiento del uso correcto de estos compuestos químicos no ha llegado a la población. Esto da como consecuencia problemas de salud y contaminación de suelos, aire y agua, principalmente en nuestro país, en donde el agua ha servido durante mucho tiempo como medio para desechar cualquier tipo de sustancia. Además se debe tomar en cuenta que esta misma agua es la que se utiliza para consumo de la población, y la mayoría de las veces no se hace un tratamiento previo que elimine los contaminantes.

Al considerar estos aspectos, es de suma importancia el hecho de regular con gran detalle el empleo de los compuestos químicos que son altamente tóxicos para los humanos y el medio (como por ejemplo la mayoría de los plaguicidas organofosforados). Ya que no es posible que se dejen de usar, es importante establecer los niveles permitidos en agua para este tipo de compuestos sin que lleguen a ser dañinos para el ecosistema y en especial, que no comprometan la salud humana.

Para el caso del bien agua, no sólo se debe contar con una norma que regule cuáles son estos valores de una manera individual para cada plaguicida organofosforado, sino también disponer de un método de análisis de estos compuestos en esta matriz.

En el presente trabajo se desarrolló un método para la determinación de residuos de 14 plaguicidas organofosforados (ver cuadro No.1.1) en agua por medio de cromatografía de gases de alta resolución, presentándose dos opciones en lo que respecta a la preparación de muestra; estas son la tradicional extracción líquido - líquido (ELL) y la más moderna extracción por medio de fase sólida o extracción sólido - líquido. Durante todo el desarrollo y validación del método integral, se trabajó de acuerdo con los criterios fundamentales de las buenas prácticas de laboratorio.

Los plaguicidas que conformaron el universo de trabajo se indican en el cuadro a continuación. Se caracterizan con los nombres comerciales más aceptados mundialmente. En vista de que algunos varían por país, se incluye también un nombre comercial alterno que puede facilitar su ubicación

CUADRO No. 1.1

LISTA DE PLAGUICIDAS QUE FORMAN EL UNIVERSO DE TRABAJO DE ESTA INVESTIGACIÓN Y SINÓNIMOS (19)

Otros Nombres comunes	Nombre utilizado en el trabajo		Otros Nombres comunes	Nombre utilizado en el trabajo
Metamidofós	Monitor		Geomet	Forato
Diclorvos	DDVP		Fosalone	Zolone
Disulfotón	Disistón		Mevinfos	Fosdrin
Azinfos- Metil	Gutión		Folidol	Metil Paratión
Diazonyl	Diazinón		Fifanon	Malatión
Dimetoato	Cigón		Etanox	Etión
Clorpirifos	Clorpirifos		Coumanfos	Co-ral

II. MARCO CONCEPTUAL

A. ANTECEDENTES

1. Conceptos generales

Para el desarrollo de un método analítico, es esencial definir con claridad la naturaleza del problema. Los métodos analíticos deben ser validados antes de que sean utilizados rutinariamente.

Los criterios utilizados en la validación de un método deben ser certeros, seguros y confiables. Cuando se valida un método hay que considerar ciertos criterios típicos como son: Precisión, exactitud, linealidad, especificidad, Límites de cuantificación y detección, aseguramiento de calidad y rango. También la robustez es un criterio muy importante, ya que nos garantiza el funcionamiento del método bajo condiciones distintas de otros laboratorios (tipo de instrumentación, experiencia técnica de sus laborantes, condiciones ambientales, etc.)

Validación: Es la obtención de pruebas, convenientemente documentadas, demostrativas de que un método de control es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos. (12)

Linealidad: Es la habilidad del método para asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro del intervalo determinado. (55, 59)

Precisión: es el grado de concordancia mutua entre los datos que se han obtenido de una misma forma. La precisión mide el error aleatorio, o indeterminado de un análisis. Los parámetros de calidad de precisión son la desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa. (55)

Dentro del término precisión de un método se pueden distinguir tres tipos de estudios: Repetibilidad, Reproducibilidad y Robustez. (12)

Repetibilidad: Es la medida de la precisión de un método efectuado en las mismas condiciones, sobre la misma muestra, por un mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos aparatos y reactivos y en

el curso de la misma serie de análisis efectuados, generalmente, en un corto intervalo de tiempo. (12, 55)

Reproducibilidad: Es la medida de la precisión de los resultados de un método analítico efectuado sobre la misma muestra pero en condiciones diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) (12, 55)

Robustez: Evalúa los efectos de pequeños cambios en las condiciones operacionales del análisis sobre la fiabilidad del método analítico. (12, 55)

Aunque en sentido estricto no pueden considerarse equivalentes, la distinción entre reproducibilidad y robustez no deja de ser sutil ya que, al fin y al cabo, la robustez es el grado de reproducibilidad de un método analítico sometido deliberadamente a pequeñas variaciones en el "modus operandi" con objeto de conocer su estabilidad frente a ellas y definir las de mayor influencia sobre la variabilidad de los resultados. (12)

Exactitud: Indica la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximos posibles al valor verdadero. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena. Una diferencia grande significa que la exactitud es inadecuada y revela la existencia de errores determinados. (12, 55, 59)

Sensibilidad: Se puede definir como la medida de la capacidad del método o del instrumento de discriminar entre pequeñas diferencias en la concentración del analito. (55, 59)

Especificidad: También se le denomina selectividad, se define como la habilidad de medir con exactitud y específicamente un analito en presencia de otros componentes que pueden esperarse dentro de la matriz. (12, 55)

Límite de detección: concentración o masa mínima de analito que pueden detectarse para un nivel de confianza dado. El área de los picos debe de ser 2 a 3 veces más grande que el ruido de la línea base. Este límite solamente indica su presencia, mas no permite expresar la misma en términos cuantitativos. (12, 55)

Límite de cuantificación: Es la cantidad de analito en la cual los datos que se obtienen son cuantificables aplicando los criterios de integración preestablecidos. El área de los picos debe ser 5 a 10 veces más grande que el ruido de la línea base. (55)

Aseguramiento: Es el grado en que los resultados obtenidos por el método analítico concuerdan con los valores reales. Los valores reales se pueden obtener de dos maneras. Una es la de comparar los resultados obtenidos en el método con los de establecidos con un método de referencia. El segundo es el de fortificar la matriz de interés con concentraciones conocidas del material de referencia. Después de la extracción del analito de la matriz y la inyección, la respuesta se compara con una inyección de solución de calibración. El análisis de blancos es muy importante para el aseguramiento del método. Los blancos que se deben incluir son los de los solventes, estándares y la matriz de interés. (55)

Estabilidad: Es la capacidad del equipo a responder de una manera precisa a un mismo ensayo durante un tiempo determinado. Se considera que un sistema es estable si la desviación estándar obtenida en diferentes pruebas no es mayor del 30 % cuando se trabaja al nivel de trazas. (26, 55)

Rango: Es el intervalo en el que fue fueron determinados la precisión, exactitud y linealidad del método. El rango es expresado normalmente en las mismas unidades que los resultados de la validación del método analítico. (55)

Extracción:

Para extraer los analitos de la matriz de una manera efectiva es necesario llevar a cabo pruebas de la capacidad de extracción del método seleccionado. Estas pruebas se realizan por medio de tres pasos esenciales: la fortificación, la incorporación y la extracción. La fortificación consiste en agregar una concentración conocida del analito a una matriz preparada en el laboratorio. En la incorporación se ponen en contacto la

matriz con el analito y se utiliza para ello la agitación moderada de la mezcla durante una hora. Y por último la extracción. En este documento se trabajaron los conceptos de extracción líquido - líquido y extracción sólido - líquido, los cuales se explican a continuación:

Extracción Líquido - Líquido: Consiste en la separación de los componentes de una solución por el contacto con otro líquido no - miscible, llamado solvente. Para que exista una separación, la concentración de equilibrio del soluto en cada fase debe ser distinta. En este caso, se dice que el soluto se distribuye en ambas fases. Es habitual definir un coeficiente de partición K, como la relación entre las concentraciones del soluto en las dos fases:

$$K = \frac{x_i^{\alpha}}{x_i^{\beta}}$$

(30)

Donde i es el componente en cuestión; α y β son las fases. El soluto obtenido mediante una extracción de este tipo se encuentra en forma de solución, por lo cual es necesario aplicar alguna otra operación (evaporación) para obtener el soluto puro y recuperar el solvente. (30)

Para elegir el solvente adecuado se deben considerar los siguientes aspectos:

- Que proporcione un alto coeficiente de partición, lo que permite usar menos solvente
- Que sea selectivo hacia el soluto
- Que tenga baja solubilidad con la matriz (gran inmiscibilidad)
- Que tenga alta recuperación
- Que tenga alta tensión interfacial, para favorecer la rápida coalescencia de las emulsiones
- Que sea químicamente inerte.

(30)

Este tipo de extracción se puede llevar a cabo de dos maneras:

OPERACIÓN POR CONTACTO DISCRETO:

- Extracción en una etapa: Hay un contacto íntimo entre las fases, lo cual se lleva a cabo mediante un agitador. Una vez producida la transferencia, la mezcla se traslada a un segundo recipiente, ampolla de decantación, donde las fases se separan para dar los productos (30)
- Por contacto en varias etapas: Es una extensión del proceso en una etapa, donde el refinado se utiliza como alimentación para otra etapa y así sucesivamente hasta alcanzar el grado de extracción deseado. Existen dos posibilidades para realizar el contacto entre el refinado y el solvente en cada etapa, en cuanto a lo que se llama configuración de flujo:
  - Flujo cruzado: En cada etapa se agrega solvente fresco y se obtiene un extracto en forma independiente de las otras etapas, que es recolectado en común. (30)
  - Flujo contracorriente: No se introduce solvente fresco en cada etapa, sino que los productos de cada etapa alimentan a la siguiente y así sucesivamente. Esta configuración aumenta notablemente la pureza de los productos con un gasto mínimo de solvente. (30)

OPERACIÓN POR CONTACTO DIFERENCIAL: Las fases, refinado y extracto, correspondientes a la alimentación del solvente respectivamente, circulan en contracorriente. (30)

Extracción en fase sólida: Este proceso de extracción involucra un líquido y una fase sólida. Esta última debe tener mayor poder de separación que el del líquido. (59)

La fase sólida está formada por diferentes compuestos que dependen de la substancia que se quiere separar. En el caso de la separación de plaguicidas organofosforados se utiliza una membrana manufacturada por 3M Co (St. Paul, MN) bajo las condiciones de Empore ™ y distribuida por Analytichem International y J.T. Baker Inc. , Phillispsburg, NJ. Estas están

compuestas en un 90% de su peso de octadecilo (C18) enlazadas con partículas de sílica. Cada membrana pesa aproximadamente 570mg. Tiene una porosidad en el rango de 0.5 a 1.5 µm. (27)

El enlace de la sílica con la cadena C18 se lleva a cabo por la reacción entre los organosilanos con la sílica activada. El producto es un material que contiene un grupo funcional organosilano enlazado a la sílica por medio de un enlace éter. (59)

Los enlaces formados son estables en un rango de pH de 2 a 7.5. En soluciones acuosas con un pH mayor al de 7.5 es posible que la sílica se disuelva. A pH menor de 2 el enlace éter se rompe. Es posible utilizar matrices que tengan un pH entre 1 - 14 si el tiempo en que están en contacto con el material es corto. (59)

Los enlaces de la fase sólida son químicamente estables a prácticamente todos los solventes orgánicos. (59)

El primer paso en la extracción en fase sólida es el de solvatación. Este proceso consiste en preparar a la fase sólida, creando el ambiente adecuado para la retención de los compuestos de interés. El proceso se lleva a cabo mediante la interacción entre un solvente y la membrana. Este solvente debe interactuar tanto con los grupos silanos como con los átomos de carbono. Comúnmente se utiliza el metano, pero también es posible el uso del acetonitrilo, isopropanol y tetrahidrofurano. Es importante que la membrana no se seque completamente antes de que la muestra quede retenida en ella. Si la membrana se seca antes de que se comience a pasar la muestra se realiza nuevamente la solvatación, pero si la membrana se seca durante el paso de la muestra es imposible volver a realizar la solvatación, ya que se perdería todo lo que ha quedado retenido. (59)

La retención es el fenómeno en donde existe una atracción entre la membrana y el compuesto en la muestra que se desea separar. (59)

La elución es el proceso en donde el compuesto aislado es removido de la membrana. (59)

La capacidad de una membrana se define como el total de masa del analito de interés que puede ser retenido en condiciones óptimas. (59)

La selectividad es la habilidad de la membrana de discriminar entre el analito y otros compuestos de la muestra. La selectividad en una extracción es función de la estructura química del analito, propiedades de la membrana y la composición de matriz. (59)

Entre los enlaces carbono - hidrógeno de los grupos funcionales de la membrana y los del analito existen interacciones no-polares conocidas como fuerzas de van der-Waals o de dispersión. Todas las membranas utilizadas para la extracción en fase sólida presentan algún grado de interacción no-polar, pero la de mayor interacción es la C18. (59)

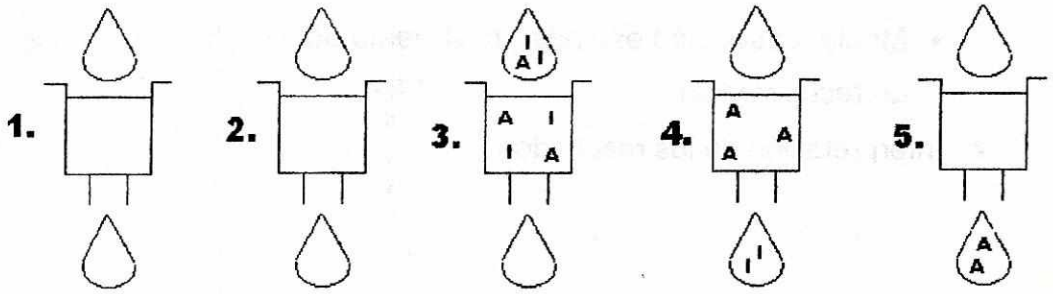
La retención de analitos con interacciones no-polares se facilita con el uso de solventes polares. La elución de éstos se facilita con solventes o mezcla de solventes con suficientes características no-polares como para destruir la interacción no-polar que existe entre la membrana y el analito. (59)

El desarrollo de la extracción en fase sólida que se sigue en este trabajo en el siguiente:

(41)

1. Activación de la fase estacionaria
2. Eliminación de la solución activadora
3. Adición de la prueba
4. Eliminación de interferencias (I)
5. Elución de la substancia purificada y concentrada (A)

Además de lo anterior, se debe seguir una secuencia en el desarrollo



(41)

del método, la cual incluye los siguientes pasos:

- Definición de las características y requerimientos que debe satisfacer el método analítico: Precisión exigible, sensibilidad deseable, grado de selectividad, tiempo, costo, tipo de instrumentación necesaria, etc. (12)
- Puesta a punto del método analítico, desde los primeros estudios de tanteo con patrones hasta la utilización del método en muestras reales, pasando por la definición de los parámetros de idoneidad que garanticen el buen funcionamiento del sistema en el momento del análisis. (12)
- Validación del método analítico. Esta tercera etapa permitirá conocer la fiabilidad del método para su aplicación rutinaria y, en combinación con las etapas anteriores, sus características de funcionamiento con consecuencias positivas para su rendimiento. (12)

Con las fases del desarrollo del método analítico ya definidas se describen a continuación los pasos que se siguieron en el trabajo:

- Obtención de datos de los compuestos químicos a determinar, como: propiedades físicas y químicas, estructura, etc. (esta información se encuentra en el anexo No.1)
- Preparación de soluciones: Estas incluyen todas las soluciones utilizadas durante el proceso de validación:
  - Fijar y preparar los niveles de concentración de las soluciones de calibración y fortificación
  - Preparación de agua de laboratorio
  - Preparación de las extracciones y fortificaciones de agua
- Cálculo de resultados
  - Obtención del área de los picos y cálculo de los datos estadísticos
  - Media, desviación estándar, coeficiente de variación, porcentajes de recuperación.
- Interpretación de los resultados

- Con los datos que producen los cálculos se obtienen los resultados de precisión, exactitud, límite de cuantificación, etc.

El sistema de calidad se debe basar en la prevención, los errores se deben detectar antes que ocurran. Para poder obtener un método confiable es preciso seguir un plan de aseguramiento de calidad, es decir que se lleve a cabo siguiendo en cada paso las buenas prácticas de laboratorio:

Prevención: La calidad es el cumplimiento de ciertos requisitos determinados para la validación. Por lo tanto el sistema de calidad se debe basar en la prevención, los errores se deben detectar antes que ocurran. Para lograrlo se deben planear acciones para antes o durante el análisis, por ejemplo: entrenamiento, calibración y mantenimiento de instrumentos, y frecuentes estandarizaciones (24)

Controles periódicos: esto con el fin de determinar la precisión y exactitud del análisis, por ejemplo: análisis en duplicado y chequeo de muestras, validación de la metodología, lo que incluye: Desarrollo, validación y verificación durante el proceso. (24)

Corrección: determinar las causas de los defectos de calidad y repararlos. Se define como defecto el no - cumplimiento de un requerimiento preestablecido incluyendo los aspectos de seguridad. (24)

1. Metodología de extracción líquido - líquido

La ***American Public Health Association - American Water Works Association - Water Pollution Control Federation*** en 1975 describe un método para el análisis de plaguicidas organofosforados que se basa en la inhibición que estos producen en la colinesterasa. La velocidad de catalización de una enzima, depende de la concentración e la enzima, la concentración del substrato, la temperatura y el pH. El substrato normal de la colinesterasa in vivo es la acetilcolina. La enzima cataliza la siguiente reacción:

acetilcolina + agua $\longrightarrow$ ácido acético + colina

En este método en vitro el 3,3 - dimetil butil acetato (DMBA) es usado como substrato y la enzima cataliza la hidrólisis del éster al 3,3 - dimetil butanol (DMB) y al ácido acético. La velocidad es seguida por la determinación de la concentración del DMB producido por una fracción de tiempo especifica. Muchos organofosforados son latentes inhibidores de la colinesterasa in vitro. In vivo estos compuestos son oxidados enzimáticamente a potentes inhibidores. Estos compuestos pueden ser activados con bromo en agua. Después de que los plaguicidas son extraídos del agua por medio de diclorometano, esto son activados por medio de bromo en agua. Una porción de la muestra es evaporada a sequedad y el residuo es incubado con una solución de colinesterasa para permitir la reacción entre la enzima y los inhibidores presentes. La actividad del residuo tratado es medida por la capacidad para hidrolizar al DMBA. Después la hidrólisis es detenida por adición de ácido fórmico y la mezcla de reacción es extraída con disulfuro de carbono. La determinación del DMB en disulfuro de carbono se realiza por medio de cromatografía de gases y se utiliza un detector de ionización de llama. (6)

La ***American Public Health Association - American Water Works Association - Water Pollution Control Federation*** en 1995 describe un método de análisis para 16 plaguicidas organoclorados y 4 plaguicidas organofosforados, en donde se comienza con 1000 mL de agua de laboratorio y se concentra hasta 10 mL para lo que se utiliza diclorometano/hexano como solvente de extracción, obteniendo al final una concentración de 0.3 g de plaguicidas por litro de agua. Para la determinación de los plaguicidas se utilizó un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura de electrones. Se obtuvo un porcentaje de recuperación (promedio) del 83% para todos los plaguicidas. (5)

El Manual ***Analytical Methods***, del Laboratorio de Estudios Ambientales de los Estados Unidos en 1977, describe un método de análisis para 42 plaguicidas organoclorados, 38 plaguicidas

organofosforados y 7 carbamatos, en donde se comienza con 500 mL de agua de laboratorio y se concentra hasta 0.5 mL para lo que se utiliza diclorometano como solvente de extracción, obteniendo al final una concentración de 0.4g de plaguicidas por litro de agua. Además de la extracción se realizó un fraccionamiento líquido -sólido por medio de sílica utilizando como eluyentes: Fracción I hexano, Fracción II benceno - hexano (60:40 v/v), Fracción III acetonitrilo - benceno (5:95 v/v) y Fracción IV acetona - cloruro de metilo (25/75 v/v). Para la determinación de los plaguicidas organofosforados se utilizó un cromatógrafo de gases equipado con un detector fotométrico de llama. En las muestras obtenidas por el fraccionamiento se obtuvo un porcentaje de recuperación del 80% para 31 de los 38 plaguicidas organofosforados y un rango de 60-79% para 5 de éstos. No se recuperó nada de los organofosforados disulfutón y oxidementón metil. En general se recupera mayor porcentaje cuando se realiza sólo la extracción. Este método, también recomienda el uso de cromatografía en capa fina para la confirmación de los plaguicidas. (39)

La ***NAQUADAT***, *National Water Quality Database of Canada* en 1978, realizó un estudio de plaguicidas organofosforados en agua natural y determinación por cromatografía de gases con un detector fotométrico de llama. Se partió de un litro de agua, a la cual se le agregaron las cantidades de plaguicidas necesarias para llegar a las concentraciones descritas en el cuadro 2.1.

CUADRO No. 2.1
CONCENTRACIONES DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS UTILIZADOS PARA LA FORTIFICACION DE AGUA NATURAL EN EL ESTUDIO HECHO POR EL NAQUADAT EN CROMATOGRAFÍA DE GASES

(49)

PLAGUICIDA	Concentración obtenida para el nivel alto en µg/litro	Concentración obtenida para el nivel bajo en µg/litro
GUTIÓN	100	10
DIAZINÓN	10	1
DISISTÓN	5	0.5
ETIÓN	10	1
MALATIÓN	10	1
METIL PARATIÓN	10	1

Para la extracción de los plaguicidas se utilizó benceno, para luego hacer una concentración por evaporación del solvente hasta 0.5 mL. Se hicieron 8 réplicas de nivel alto y 6 de nivel bajo, obteniéndose porcentajes de recuperación arriba de 80% en la de nivel bajo en la mayoría de los casos. (49)

Stahr, en su publicación **Analytical Methods in Toxicology**, de Estados Unidos en 1991, muestra un método de análisis de plaguicidas organofosforados en agua en donde realiza una extracción con 120 mL de hexano: acetona 90:10 v/v por 30 minutos. El análisis se realiza por medio de cromatografía de gases; este método recomienda la utilización de un espectrómetro de masas para la confirmación de los plaguicidas encontrados. También recomienda el uso del test de inhibición de acetilcolinesterasa para la confirmación de la presencia organofosforados en una muestra. (56)

La Association of Analytical Chemists (AOAC) en 1995, describe dentro de sus métodos oficiales, uno para el análisis de 44 plaguicidas nitrogenados y organofosforados; se realizó un pre - tratamiento de las muestras de agua natural con cloruro de mercurio (utilizado como

preservante). La extracción líquido -líquido se realizó con 100 mL de diclorometano para 1000 mL de agua para luego concentrar hasta 1 mL. Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de Nitrógeno y Fósforo. Se encontró una desviación estándar < del 20 %. (1)

2. Metodología de Extracción en Fase Sólida

Junk, en su publicación en la revista **Analitycal Chemistry (USA)** en 1988, describe un método para compuestos orgánicos en agua de laboratorio, en el cual se realiza una extracción por fase sólida. En este estudio se trabajó con 2 plaguicidas organofosforados (clorpirifós y fonofos) en concentraciones que oscilan entre 1- 10 µg/l Se obtuvo un porcentaje de recuperación de 82 ± 7 para el clorpirifós hasta 96 ± 7 para el fonofos. (37)

Senseman, en su publicación en la revista **Analytical Chemistry (USA)** en 1995, realizó un estudio del efecto de la estabilidad de los plaguicidas que han sido extraídos del agua por medio de fase sólida con discos Empore. (sílica modificada con cadenas de octadecilo entretejidas con teflón, producidas por 3M industrial and Electronic Sector, New Products Departament, St. Paul, MN, distribuido por J.T. Baker Inc. , Phillispsburg, NJ) Se trabajó con un total de 12 plaguicidas, entre los cuales se incluyeron organoclorados, carbamatos y organofosforados con diferentes propiedades químicas y físicas. Entre éstos se encuentra el metil - paratión. Se diluyeron en metanol, luego 1 mL de éste se usó para fortificar 250 mL de agua; se concentró hasta obtener niveles de concentración de 5 y 20 µg/l de cada uno. Se utilizaron discos Empore de 47 mm de diámetro. Los plaguicidas fueron eluidos de los discos con porciones de 5 mL de acetato de etilo. La determinación consistió en la identificación y cuantificación por medio de un cromatógrafo de gases/ espectrómetro de masas (CG/EM) Varian 3400. Esta técnica de extracción es mucho más rápida y simple que la extracción líquido - líquido, y se encontró un porcentaje de recuperación del 83% para el metil paratión. (54).

3. Salud humana y medio ambiente

Los plaguicidas organofosforados son utilizados por muchas personas sin saber que son venenos muy peligrosos. Esto se puede comprobar al observar las dosis letales de algunos organofosforados en el cuadro 2.2. (Para mayor información se puede consultar la sección III.B y anexo No. 1) (8, 13, 48)

CUADRO No.2.2
DOSIS LETAL PARA ALGUNOS
PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

(8)

Plaguicida	Dosis letal g/70Kg de peso
Disistón	0.20
Co-ral	10.00
Fosdrin	0.15
Etil-paratión	0.15
Malatión	60.00
Diazinón	25.00

Por esto muchos trabajos enfocan como punto primordial la salud, cuando se investiga el uso de este tipo de plaguicidas. A continuación se citan algunos estudios relacionados, en Guatemala. (8, 13, 49)

Contreras, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó en 1986 un trabajo sobre el riesgo de intoxicación crónica por plaguicidas organofosforados. Este trabajo se realizó al medir la actividad de acetilcolinesterasa en la población de Santiago Atitlán. Se encontró que el 23.4% de la población está en riesgo de intoxicación. Del 76.6% restante, el 63% tiene un nivel de actividad de la enzima inferior a la media normal, lo que significa que están propensos a una intoxicación crónica debida a plaguicidas organofosforados. (17)

Sandoval, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, realizó en 1991 un estudio de los niveles de contaminación de los acuíferos

superficiales por plaguicidas organofosforados entre los cuales se incluye al metamidofós, dimetoato, metil paratión, malatión y diazinón, en distintas comunidades del municipio de Jalapa. Encontró que hay contaminación tanto en el suelo como en los acuíferos locales, debido al agua subterránea que acarrea con los residuos de plaguicidas utilizados en las plantaciones. (53)

Alvarado de la Universidad del Valle de Guatemala, realizó en 1991 un estudio de plaguicidas organoclorados en las aguas del lago de Amatitlán. Trabajó con cromatografía de gases y encontró niveles de concentración de ocho plaguicidas organoclorados que pueden causar intoxicación crónica, éstos se indican en el cuadro 2.3

CUADRO No.2.3
PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS ENCONTRADOS
EN EL AGUA DEL LAGO DE AMATITLÁN en 1991

(3)

PLAGUICIDA	Concentración en mg/L
LINDANO	0.05506
ALDRIN	0.0698
EPOXIDO DE HEPTACLORO	0.0386
P-P DDE	0.5486
P-P DDD	0.0858
P-P DDT	0.0514
METOXICLORO	2.8054

También en 1986 se estudió el uso del plaguicida organofosforado fenitrotión en la Bananera de Guatemala (Bandegua), ubicada en Morales, Izabal, Guatemala. Aquí se realizaron rociamientos periódicos con el plaguicida organofosforado, cada cuatro meses, para la erradicación del mosquito vector de la malaria. Se concluyó que este tipo de método para la erradicación del vector no es eficaz en la forma que se utiliza ya que sólo deja sus efectos residuales en el medio. (42)

Actualmente en el centro de investigaciones de la malaria de la Universidad del Valle de Guatemala (UVG), se realizan estudios sobre el insecto vector, encontrándose que en Guatemala se utilizan compuestos de la familia de los piretroides, además del fenitrotión para la erradicación de este vector. (Información verbal con encargada del centro de investigaciones de la malaria UVG)

El Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), en 1992, presentó un estudio donde indica que Costa Rica es el único país en Centro América que aún utiliza el Malatión en los programas de Malaria; para Guatemala el más utilizado es el Fenitrotión; ambos plaguicidas pertenecen al grupo de los organofosforados. (35)

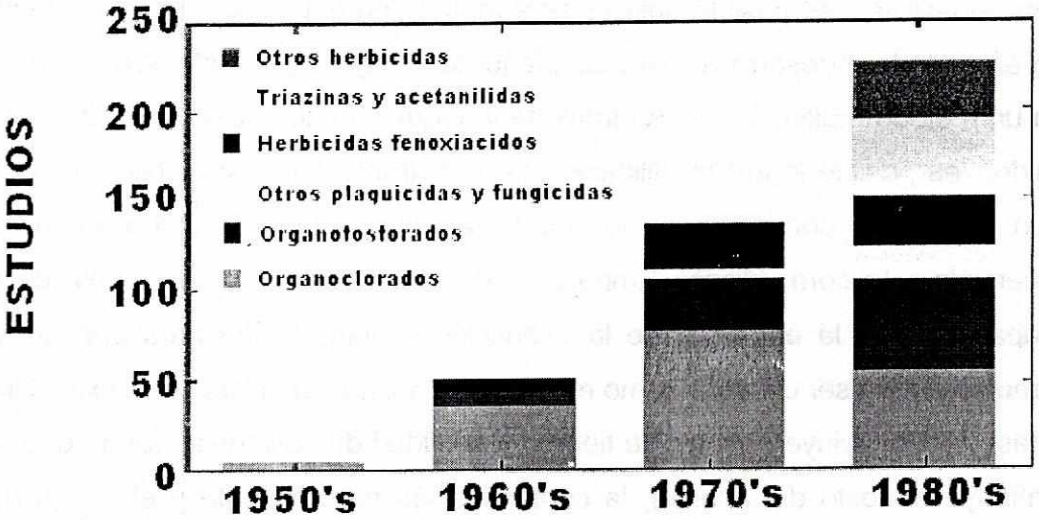
4. Normas

La mayoría de países cuenta con una estricta regulación de los niveles de plaguicidas en agua, como se puede observar en anexo No. 3. En cada una de estas normas se especifica cada uno de los plaguicidas y sus respectivos límites en agua. En Guatemala se cuenta con la norma "Regulación guatemalteca para calidad de agua potable" establecida en 1985, por el Comité Guatemalteco de Normas, COGUANOR 29001, que rige los limites máximos permisibles de plaguicidas, entre otros contaminantes, en el agua potable (ver anexo No.3). Según últimas publicaciones hechas por el Ministerio de Agricultura de Guatemala, el etil paratión y el leptofos deberían estar prohibidos y, el dimetoato, metil paratión y diazinón restringidos Al revisar la norma hecha por COGUANOR se concluye que se necesita una actualización, debido a que estos cambios aún no han sido incluidos. Esta establece un límite de 100µg/L como suma de los plaguicidas organofosforados y carbamatos presentes en el agua sin hacer distinción entre familia de plaguicidas y mucho menos hacer la aclaración de los plaguicidas ya prohibidos o restringidos. (11, 16)

B. JUSTIFICACIONES

En la actualidad los plaguicidas organofosforados son una de las familias de agroquímicos más estudiadas en el mundo entero. Esta tendencia se puede ver en la figura 2.1

FIGURA No. 2.1
ESTUDIOS HECHOS A DIFERENTES FAMILIAS DE PLAGUICIDAS EN LAS ÚLTIMAS DECADAS



(10)

Esto se debe, en gran parte, al uso indiscriminado que le han dado a los organofosforados desde el primer momento en que se comercializan como plaguicidas.

Guatemala no ha sido la excepción en cuanto al consumo elevado de estos plaguicidas. Sin embargo, aquí, no hay estudios de contaminación, riesgo a la salud o cuantificación de éstos en los últimos años. El Ministerio de Agricultura ha publicado que el etil paratión y leptofós están prohibidos; el dimetoato, metil paratión y diazinón están restringidos. A pesar de esto, el Comité Guatemalteco de Normas, indica en la norma COGUANOR No. 29001, para agua potable, publicada en 1985 en el Diario Oficial de Guatemala, que los límites máximos aceptables y permisibles de plaguicidas organofosforados y

carbamatos, de una manera general, no deben exceder de 100µg/L. Entonces, es importante no sólo hacer una revisión a esta norma, sino también plantear la manera de cuantificar estos niveles en el agua, por lo que uno de los fines que se persiguen con este trabajo es el de desarrollar y validar un método cuantitativo y semicualitativo para el análisis de los plaguicidas organofosforados en agua.

En el Programa de Química Analítica Ambiental en la Universidad del Valle de Guatemala se cuenta con un método validado de extracción líquido - líquido y cuantificación por cromatografía de gases, para plaguicidas organoclorados en agua. Este método es utilizado para analizar muestras naturales que se recolectan en diferentes ríos del país. Con el fin de aprovechar estas muestras, es posible unificar este método de extracción líquido - líquido con el método a desarrollar para los plaguicidas organofosforado para culminar con un método multiresiduos. Además de la validación de la extracción líquido – liquido, es posible lograr la validación de la extracción en fase sólida, usando silica modificada con cadenas de octadecilo entretejidas con teflón (conocido comercialmente como discos Empore). Al llevar a cabo esto se consigue la comparación de la eficiencia de la extracción en fase sólida para que en su momento pueda ser utilizado como método alterno. Las ventajas de la extracción en fase sólida incluyen ahorro de tiempo y cantidad de solventes, con lo que se disminuye el costo del análisis, la contaminación del ambiente y el riesgo del personal.

En el método para la cuantificación de organoclorados se realiza una extracción líquido - líquido por medio de diclorometano en una proporción de 1000 mL de agua por 100 mL de diclorometano. Según la bibliografía consultada de métodos de extracción de plaguicidas organofosforados y el procedimiento estándar del Programa de Química Analítica Ambiental para plaguicidas organoclorados, este mismo solvente permite una alta recuperación de los plaguicidas organofosforados en agua. Por lo tanto es recomendable el uso de este solvente para la extracción de plaguicidas organofosforados del agua.

Al validar los dos métodos se puede ampliar la capacidad analítica del Programa de Química Analítica Ambiental. Además, es posible, el empleo de un

método de extracción multiresiduos (extracción líquido – líquido) de plaguicidas organoclorados y organofosforados.

C. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los plaguicidas organofosforados son altamente tóxicos en altas y bajas concentraciones (ver sección III.B y anexo No. 1). Este hecho hace que este tipo de compuestos químicos sean unos de los venenos más fuertes que el hombre ha sintetizado y que utiliza, muchas veces, sin ningún tipo de cuidado. Tal caso se da principalmente en países agrícolas, en donde se usa a gran escala este tipo de venenos. Esto causa daños a la su salud y al equilibrio ecológico.

Para controlar la cantidad de organofosforados que están presentes en el ambiente, en Guatemala existe la norma COGUANOR 29001, pero aún no está actualizada. Por lo tanto es de suma importancia que se replantee esta norma, tomando en cuenta todas las nuevas investigaciones que existen sobre los plaguicidas organofosforados y especificar aquellos que ya están prohibidos o restringidos en Guatemala, además de proponer un método validado para el análisis de los plaguicidas organofosforados en agua.

D. ALCANCES Y LÍMITES

1. Alcance

El Laboratorio de Química Analítica Ambiental cuenta con 14 patrones de plaguicidas organofosforados, y se incorporan por completo al estudio por la importancia de monitorear cada uno de ellos en el agua. A continuación se listan en el cuadro No.2. 4 (para más información ver Anexo No.1)

CUADRO No. 2.4
LISTA DE PLAGUICIDAS QUE FORMAN EL UNIVERSO DE TRABAJO DE ESTA INVESTIGACIÓN Y SINÓNIMOS

(46)

Nombre utilizado en el trabajo	Otros Nombres comunes	Nombre utilizado en el trabajo	Otros Nombres comunes
Monitor	Metamidofós	Zolone	Fosalone
DDVP	Diclorvos	Fosdrin	Mevinfos
Disistón	Disulfotón	Metil Paratión	Folidol
Gutión	Azinfos- Metil	Malatión	Fifanon
Diazinón	Diazonyl	Etión	Etanox
Cigón	Dimetoato	Co-ral	Coumanfos
Forato	Geomet	Clorpirifos	Clorpirifos
Zolone	Fosalone		

El método es aplicable a aguas naturales es decir todas las aguas superficiales (ríos y lagos) y subterráneas (pozos); y a aguas tratadas para hacerlas potables.

Se trabajó con el rango de concentraciones indicado en el cuadro 2.5

CUADRO 2.5
CONCENTRACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN LOS TRES NIVELES DE TRABAJO PARA LA EXTRACCIÓN DEL AGUA

PLAGUICIDA	NIVEL 1 µg/mL	NIVEL 2 µg/mL	NIVEL 3 µg/mL
MONITOR	0.15	0.75	1.50
DDVP	0.10	0.50	1.00
FOSDRIN	0.10	0.50	1.00
FORATO	0.10	0.50	1.00
CIGÓN	0.10	0.50	1.00
DIAZINÓN	0.10	0.50	1.00
DISISTÓN	1.00	5.00	10.00
METIL PARATIÓN	0.10	0.50	1.00
MALATIÓN	0.40	2.00	4.00
CLORPIRIFOS	0.20	1.00	2.00
ETIÓN	0.20	1.00	2.00
ZOLONE	1.50	7.50	15.00
GUTIÓN	1.50	7.50	15.00
CO-RAL	3.70	18.50	37.00

2. Límites

El método no se aplica a aguas servidas (agua de desecho industrial). Permite la determinación de plaguicidas en un rango de 0.1 a 1 µg/mL para la mayoría de los plaguicidas.

III. MARCO TEÓRICO

A. HISTORIA

Al finalizar la segunda guerra mundial, se encaminó el estudio de los organofosforados en lo que respecta a combatir plagas perjudiciales para la agricultura. Antes de esto, en la primera guerra mundial, los alemanes introdujeron el uso de sustancias químicas de elevada toxicidad para combatir a las fuerzas contrarias, teniendo bastante éxito los venenos organoclorados y la nicotina. Luego, en la segunda guerra mundial se reinicio la búsqueda de tales armas, enfocándose sus estudios a los recién descubiertos plaguicidas organofosforados. Afortunadamente sólo algunos pocos eran útiles ya que las propiedades de dispersión en gas de la mayoría de estos no los hacen electivos para ese fin. Los primeros organofosforados desarrollados fueron el Tetraetil pirofosfato (TEPP) (sintetizado por el alemán Gerhard Schrader), Etil, N-dimetil fosforoamidocianodato (TABUN) y el Isopropil Metil-fósoforo-fluoridato (SARIN), los cuáles fueron conocidos como "Gases nerviosos". (17, 19, 43)

En Guatemala, en el año de 1951 se inició la reforma agraria, cuya ley, el decreto 900, especificaba la importancia de la diversificación de cultivos, lo cual conllevó un incremento en el uso de sustancias químicas para aumentar la producción, mejorar la tierra y proteger las cosechas de plagas indeseables, situación que contribuyó a colocar al país, básicamente agrícola, al nivel de contaminación ambiental por plaguicidas que tienen otros países que son productores de estos compuestos tóxicos. Según datos de diversas fuentes, hay un alto consumo de plaguicidas agrícolas: insecticidas, fungicidas, herbicidas, etc. Este proceso creciente de agroquimización de la tierra cobró fuerza con el entusiasmo de la denominada "Revolución verde", cuya propaganda y consiguientes paquetes tecnológicos se extendieron por fincas y parcelas de la costa sur de la república desde las postrimerías de los años cincuenta. (17, 51)

A mediados de la década 1940-50, se inició en Guatemala el empleo del plaguicida dicloro difenil tricloro-etano (DDT) en limitados programas

sanitarios destinados a controlar los brotes epidémicos de malaria en algunas regiones del país. El programa de rociamiento intradomiciliario se emprendió en 1955, se cambio el uso del DDT por otro plaguicidas organoclorado, el Dieldrín, por causa de una mayor facilidad logística. En vez de dos rociados al año se haría uno, lo que a su vez bajaba substancialmente los costos del programa. Paralelamente se tenían noticias de que el mosquito vector adquirió resistencia fisiológica al DDT. Estudios toxicológicos posteriores, revelaron que el Dieldrin es mucho más dañino para la salud humana. Todas las normas actualizadas contemplan niveles máximos permisibles de Dieldrín/ Aldrín en agua, del orden de 0.03µg/L como suma (ver Anexo No.3). (4, 25)

Para el año de 1959 la Malaria se redujo en el país a un centésimo de la cantidad estimada para 1955, a pesar de que el Dieldrín no fue tan eficaz como el DDT y hubo que volver al uso de este último. Fue así como se abrieron a la agricultura y colonización agrícola extensas regiones del país que, por causa de su alta endemicidad palúdica, permanecieron ociosas para el desarrollo del país. Para mediados de la década de 1950-60, se inicia en el país el cultivo a gran escala del algodón en estas regiones y, por ende el empleo de plaguicidas en cantidades sin precedentes, en su mayoría por el hecho de la falta de conocimiento práctico sobre el control integrado de plagas del algodón. La aparición acelerada de resistencia fisiológica en las plagas agrícolas ha hecho que se presenten cambios en los plaguicidas utilizados. Los resultados no se hicieron esperar: destrucción del ecosistema, tremenda presión de plaguicidas sobre las especies del área, extinción de algunas especies por falta de los insectos, etc. (4)

En la siguiente década (1960-70) apareció en el mercado centroamericano una gran variedad de plaguicidas organosintéticos, especialmente organofosforados y carbamatos. Las escasas restricciones gubernamentales relativas al uso agrícola de plaguicidas convirtieron a Centroamérica en una especie de campo experimental para las compañías productoras de plaguicidas. Las regulaciones inadecuadas sobre plaguicidas y la creencia de que la mezcla de varios plaguicidas aumentaba su eficiencia

de control condujeron a los productores a situaciones en que podían escoger entre más de 50 alternativas entre productos y soluciones para el control químico de una plaga. La aparición de nuevas plagas y la resistencia a los plaguicidas obligó a los algodoneros a emplear mayores cantidades de plaguicidas y a efectuar aplicaciones más frecuentes. Los costos por concepto de control de plagas alcanzaron el 50% de los costos de producción. Los rendimientos unitarios, que habían alcanzado niveles máximos a mediados de la década, empezaron a disminuir. La baja de precio de la fibra en el mercado internacional causó el abandono del cultivo en las tierras marginales. Para la siguiente década el número de especies importantes perjudiciales al cultivo había aumentado de 4 a 8. Ante esta situación algunos países centroamericanos iniciaron programas para la reducción de tratamientos con plaguicidas. El Salvador, con la asesoría de Israel comenzó con la nueva asistencia técnica, lo cual implicaba el uso de controles biológicos en sus plantaciones; luego Nicaragua con la ayuda de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO); Honduras con La Cooperativa Algodonera del sur. En 1976, Guatemala, inicia el cultivo a gran escala del azúcar, el cual desplazó totalmente al algodón y que aún en nuestros días es una de las mayores fuentes de ingresos monetarios para el país. (16)

A pesar del alto consumo reportado de los plaguicidas organofosforados, en Guatemala aún no se ha establecido un límite máximo aceptable por cada plaguicida de los que pertenecen a este grupo en agua, ya que COGUANOR menciona para agua un límite en forma general para el grupo químico unido al de los carbamatos (ver Anexo No. 3) (16, 17, 53)

B. ORGANOFOSFORADOS

La acción integradora del sistema nervioso autónomo es de vital importancia para la salud del organismo. En general, el sistema nervioso autónomo regula las actividades de estructuras que no están bajo control voluntario y que habitualmente funcionan por debajo del nivel de conciencia.

Así es que el sistema nervioso autónomo regula, en parte o totalmente, la respiración, la circulación, la temperatura corporal, el metabolismo, la sudoración y las secreciones de algunas glándulas endocrinas. (25)

La acetilcolina es el neurotrasmisor de todas las fibras autonómicas preganglionares, todas las fibras parasimpáticas posganglionares y algunas fibras simpáticas posganglionares; estas fibras son denominadas colinérgicas. (25)

La transmisión sináptica se lleva a cabo por medio de la llegada del potencial de acción a las terminales axónicas, que inician una serie de acontecimientos que permiten la transmisión neurohormonal de un impulso excitatorio o inhibitorio a través de la sinapsis o la unión neuroefectora. Estos acontecimientos son los siguientes:

- Liberación del transmisor: Los transmisores neurohormonales no peptídicos se sintetizan en su mayoría en la región de las terminales axónicas y se almacenan allí dentro de vesículas sinápticas. Durante el estado de reposo ocurre una liberación lenta continua de pequeñas cantidades que esten aisladas del transmisor. El potencial de acción produce una liberación de varios cientos de cuantos de neurotrasmisor. La despolarización del terminal axónico desencadena este proceso; el paso crítico es el influjo de Ca^{++}, que ingresa al citoplasma axónico y de alguna forma promueve la fusión entre la membrana axoplasmática y aquellas próximas a ella. Entonces, el contenido de vesículas se descarga al exterior por un proceso denominado exocitosis. (25)

- Combinación del transmisor con receptores postsinápticos y producción del potencial postsináptico: El transmisor se difunde a través de la hendidura sináptica o de la unión y se combina con receptores especializados en la membrana postsináptica; esto causa un aumento localizado en la permeabilidad iónica, o conductancia, de la membrana. (25)

- Iniciación de la actividad postsináptica: Si un potencial postsináptico excitatorio excede cierto valor umbral, inicia un potencial de acción propagado en una neurona postsináptica o un potencial de acción muscular en el músculo cardíaco o esquelético. En el músculo liso, donde los impulsos mínimos, en potencial postsináptico excitatorio puede aumentar la frecuencia de despolarización espontánea e incrementar el tono muscular; en las células glandulares inicia la secreción. (25)

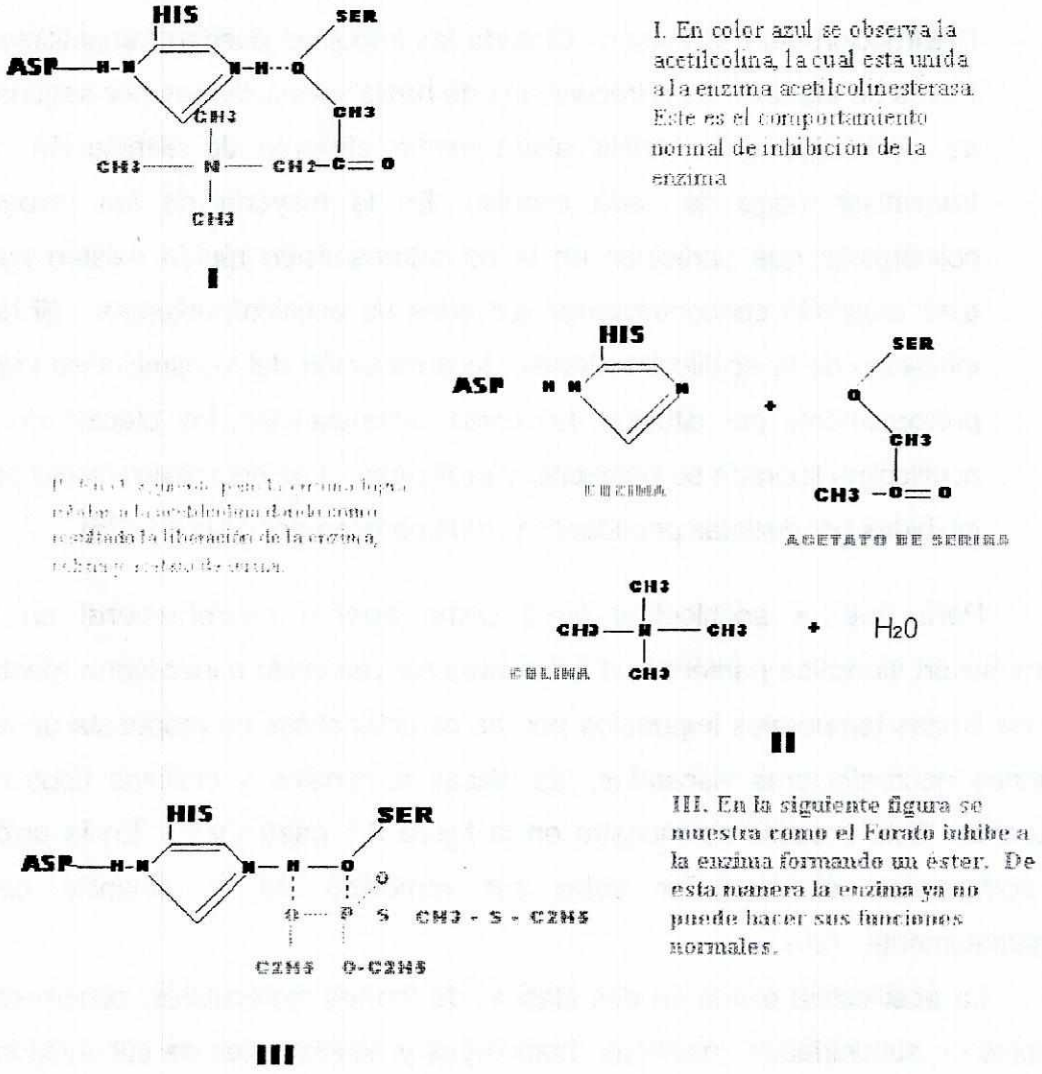
- Destrucción del transmisor: Cuando los impulsos pueden transmitirse a través de las uniones a frecuencias de hasta varios cientos por segundo, es obvio que debe existir algún medio eficiente de eliminación del transmisor luego de cada impulso. En la mayoría de las uniones colinérgicas que participan en la neurotransmisión rápida existen para este propósito concentraciones elevadas de acetilcolinesterasa. Si hay inhibición de la acetilcolinesterasa, la eliminación del transmisor se logra principalmente por difusión. En estas circunstancias, los efectos de la acetilcolina liberada se potencian y prolongan. Los neurotrasmisores son inhibidos por distintas peptidasas y desaparecen por difusión. (25)

Para que la acetilcolina sirva como agente neurohumoral en la transmisión sináptica periférica, el éster debe ser removido o inactivado dentro de los límites temporales impuestos por las características de respuesta de las uniones neuroefectoras viscerales, las placas terminales y distintos tipos de neuronas. Este proceso se muestra en la figura 3.1 paso I y II. En la unión neuromuscular, el mediador debe ser removido de la sinapsis casi inmediatamente. (25)

La acetilcolina existe en dos clases de formas moleculares: oligómeros simples de subunidades catalíticas homólogas y asociaciones de subunidades heterólogas que forman estructuras alargadas y complejas. El centro activo de ésta consiste en un subsitio negativo, que atrae al grupo cuaternario de la colina por medio de fuerzas culómbicas e hidrofóbicas, y en su sustituto esteárico, donde ocurre el ataque nucleofílico sobre el acil carbono del sustrato. Durante el

ataque enzimático sobre el éster se forma un intermediario tetraédrico entre enzima y éster que por un colapso da un conjugado de acetil enzima con la liberación concomitante de colina. La acetil enzima es lábil a la hidrólisis, lo cual conduce a la formación de acetato y enzima activa, como se observa en la figura No. 3.1 (25)

Figura No. 3.1
MECANISMO DE ACCION DE LA ACETILCOLINESTERASA Y LA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA POR UN PLAGUICIDA ORGANOFOSFORADO

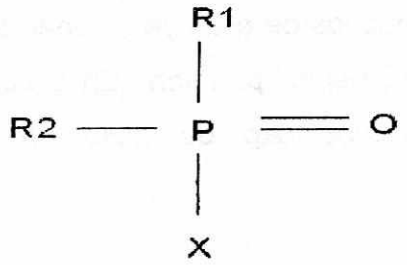


Los organofosforados son inhibidores de la acetil enzima, sirven como hemisustratos verdaderos, ya que la enzima fosforilada resultante es muy estable. Si los grupos alquilos en la enzima fosforilada son etilo o metilo, la regeneración espontánea de la enzima activa requiere varias horas. Los grupos alquilo secundarios o terciarios aumentan más la estabilidad de la ezima fosforilada, y no se observa una regeneración importante de la enzima activa. (25)

Los efectos característicos de estos agentes se deben principalmente a la prevención de la hidrólisis de la acetilcolina por la acetilcolinesterasa en sitios de transmisión colinérgica. Así se acumula el neurotrasmisor y la acción de la acetilcolina que es liberada por impulsos colinérgicos o que escapa espontáneamente de la terminal nerviosa aumenta. Esto da como resultado la pérdida de coordinación muscular, convulsiones, y finalmente la muerte En los insectos ocurre un mecanismo similar, pero es mortal debido a que las concentraciones de la enzima son menores que las de un humano. (8,19, 25)

La fórmula general para los plaguicidas organofosforados se presenta en la figura 3.2. Es posible una gran variedad de sustituyentes: R_1 y R_2 pueden ser grupo alquilo, alcoxi, ariloxi, amido, mercaptán y otros, y X, el grupo que queda , puede representar a un grupo haluro, cianuro, tiocianato, fenoxi, tiofenoxi, fosfato, ticolina o carboxilato. (25)

FIGURA 3.2
FORMULA GENERAL DE LOS
PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS



Como se observa en el anexo No. 1, algunos de estos compuestos son solubles en agua, además, se hidrolizan fácilmente dependiendo del pH del agua. Su baja estabilidad y volatilidad en solución acuosa, hace que se comiencen a usar los organofosforados como insecticidas. Regularmente son esparcidos como aerosoles o como polvos consistentes en el compuesto organofosforado absorbido a un material inerte, finamente particulado. Por la manera en que los aplican es fácil que contaminen todo a su alrededor, además, algunos persisten por varios días en el suelo como se indica en el cuadro No. 3.1 (8, 13, 25)

CUADRO No. 3.1
PERSISTENCIA EN EL SUELO DE ALGUNOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

(8)

PLAGUICIDA	DOSIS EN Kg./Ha	Tiempo en días
MALATIÓN	5.5	5 a 8
METIL PARATIÓN	5.5	15 a 20
FORATO	5.5	50 a 60
ETIL PARATIÓN	5.5	50 a 60

Los compuestos organofosforados altamente purificados que se utilizan en estudios científicos son menos tóxicos que las formulaciones comerciales menos concentradas. Esto se debe a la purificación que se realiza después de la síntesis en el caso de los organofosforados utilizados en ciencia. Los productos comerciales llevan impurezas altamente activas como anticolinesterasas, que obligadamente elevan el potencial tóxico de las sustancias, y disminuyen la velocidad con la cual el organismo puede metabolizar estos venenos. (17)

La elevada toxicidad de algunos plaguicidas organofosforados tiene como consecuencia que muchos de ellos ya no sean utilizados actualmente en Guatemala, tal es el caso del etil paratión. En el cuadro No. 3.2 se da la dosis letal media en gramos/70kg de peso de algunos plaguicidas organofosforados. (8)

CUADRO No.3.2
DOSIS LETAL DE ALGUNOS
PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

(8)

Plaguicida	Dosis letal g/70Kg de peso
Disistón	0.20
Co-ral	10.00
Fosdrin	0.15
Etil-paratión	0.15
Malatión	60.00
Diazinón	25.00

C. SISTEMA CROMATOGRÁFICO

Para evaluar la importancia de la cromatografía gas - líquido (CGL), es necesario distinguir entre los dos papeles que desempeña la técnica. El primer papel consiste en ser herramienta para realizar separaciones; en este sentido resulta inmejorable cuando se aplica a muestras orgánicas complejas. El segundo papel es el de llevar a cabo la determinación de los componentes separados. Los datos proporcionados por la señal del detector se utilizan generalmente para el análisis cuantitativo y semicualitativo:

- Alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa. Se comparan las áreas de los picos de los plaguicidas en la muestra con las áreas de los picos de los plaguicidas en las calibraciones. (38, 55)
- Tiempos de retención para la identificación semicualitativa. No es cualitativo debido a que el tiempo de retención del plaguicida puede coincidir con otro compuesto diferente en las mismas condiciones de análisis cromatográfico. Para tener la certeza de la identidad de un pico se debe recurrir a un sistema de confirmación, del cual se habla más adelante (38,55)

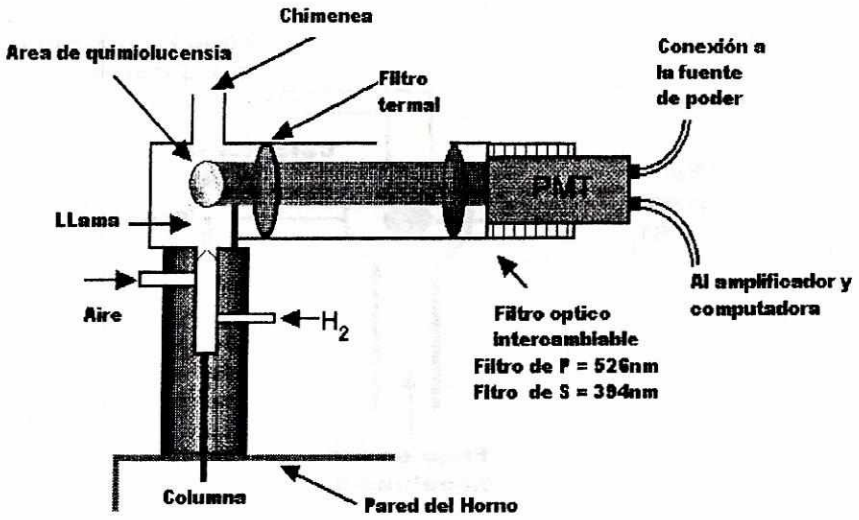
En condiciones cuidadosamente controladas se consigue una exactitud (relativa) del 3.5-5% en el análisis cuantitativo (áreas de soluciones

de calibración) y menor del 1% en lo semicualitativo (tiempos de retención de los picos de plaguicidas en las soluciones de calibración). (38, 55)

Como gas portador se utilizó el Nitrógeno purificado mediante el uso de 4 trampas distintas. Estas trampas eliminan hidrocarburos, humedad, oxígeno y una indicadora que absorbe oxígeno, humedad y dióxido de carbono (El orden en el que se encuentran en el sistema es el mismo en el que se mencionaron). El gas portador tiene una tarea decisiva en la detección de compuestos en el ECD. Por lo tanto es importante que no contenga ningún compuesto que interfiera en el análisis. (38, 55)

La razón para utilizar diferentes tipos de detectores en la cromatografía de gases es conseguir un método específico para determinados tipos de compuestos. Para la determinación de Fósforo o Azufre, el Detector Fotométrico de Llama (FPD) es el indicado. Este tipo de detector utiliza las reacciones de quimioluminicencia que se llevan a cabo en presencia de una llama de Hidrogeno/ Aire y produce una información analítica que es relativamente especifica para estos dos tipos de átomos. El azufre es excitado de S a S_2. La lambda máxima para esta especie es de aproximadamente 394nm. Los compuestos que contienen fósforo son excitados a HPO (lambda máxima = doblete 510-526 nm). Luego los compuestos pasan a través de un filtro siguiendo el orden en el que fueron eluidos a través de la columna. La señal pasa a través de un filtro óptico. Este se cambia dependiendo de la familia de compuestos a ser detectados (fosforados o azufrados). (15, 38, 55, 59)

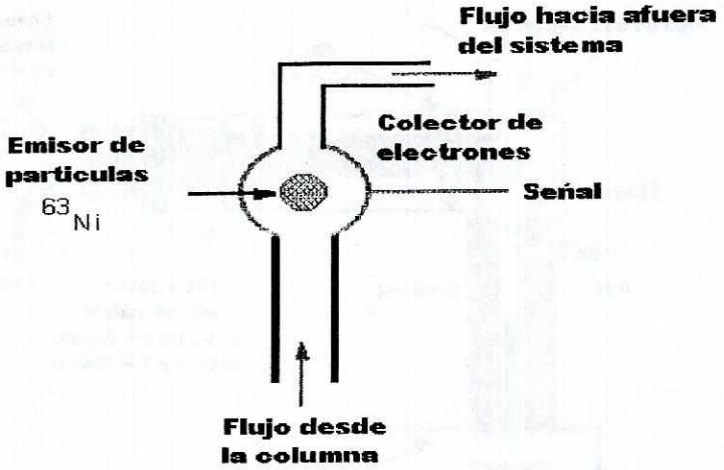
FIGURA 3.3.
DETECTOR FOTOMETRICO DE LLAMA (FPD)



(15)

En el detector de captura de electrones el efluente de la columna pasa sobre un emisor de partículas ß como níquel-63 (absorbido sobre una lámina de platino o titanio). Un electrón rápido del emisor provoca la ionización del gas portador (con frecuencia se trata de nitrógeno). Esta induce una ráfaga de electrones lentos que producen una corriente eléctrica constante. Cuando la muestra pasa a través de esta ráfaga de electrones lentos, las especies electrofílicas capturan los electrones, por lo que disminuye la corriente. Los detectores de captura de electrones son altamente sensibles y tienen la ventaja de no alterar la muestra (a diferencia del detector de llama). (15, 38, 55, 59)

FIGURA 3.4
DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

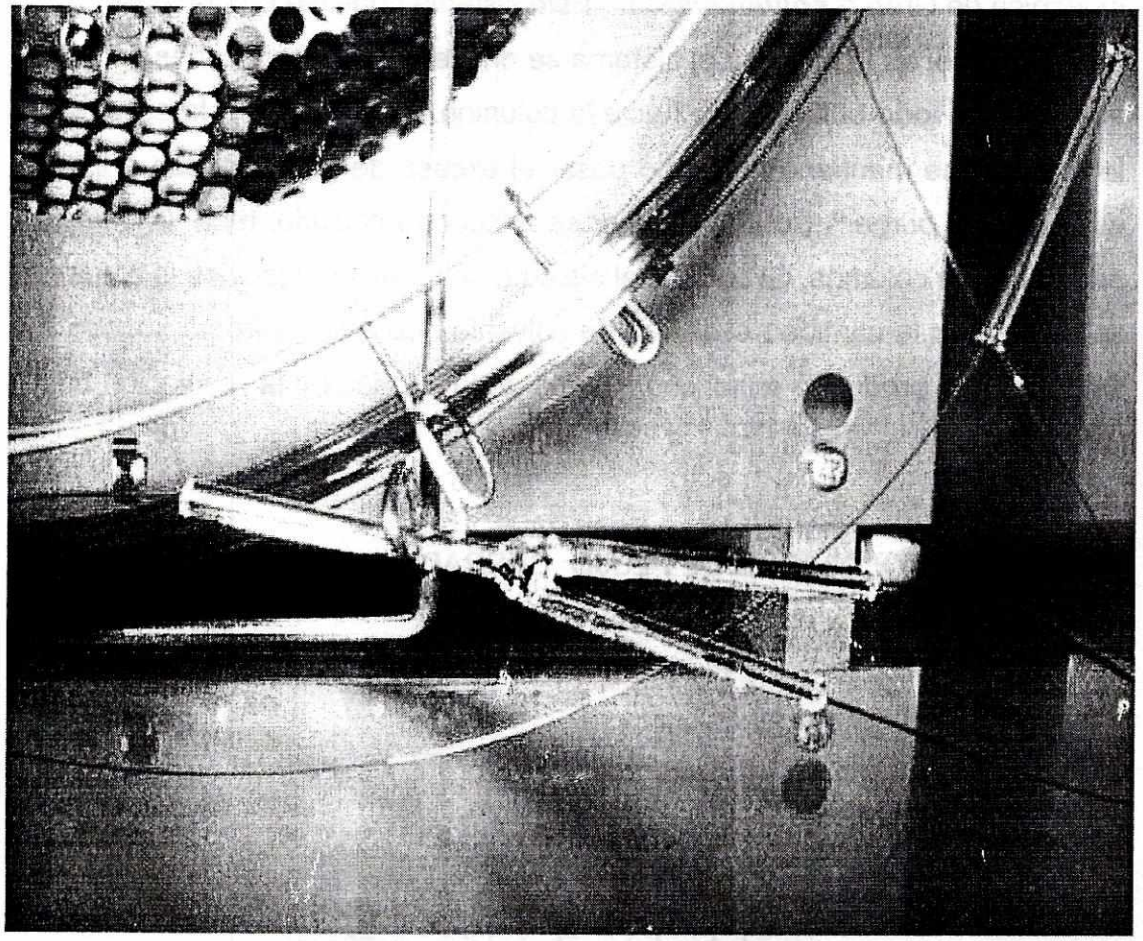


(15)

El utilizar ambos detectores en forma simultánea es una manera de la confirmación de picos. Este sistema se adecuó de tal manera que dos columnas HP-5 (fase estacionaria 5% fenil y 95% metilsilicona) de 30 metros de largo, 0.32mn de diámetro interno y 0.25µm de fase estacionaria se unieron por una conexión de vidrio marca Supelco para formar una columna de 60 metros. Al final de esta columna se colocó una conexión de vidrio desactivado en forma de "Y" (figura No. 3.5), también marca Supelco. Con esta división en "Y" se logra que el flujo de la columna se parta en dos (1:1). El flujo dividido pasa a través de dos secciones e igual longitud de columna sin fase estacionaria hacia ambos detectores. Con este sistema se logra la detección simultánea. Se obtienen datos cuantitativos en ambos detectores e información cualitativa adicional. (15, 38, 55, 59)

Figura No.3.5

SISTEMA DE DOBLE DETECCIÓN SIMULTÁNEA



Otro tipo de confirmación cualitativa es el de utilizar otra columna para el análisis y verificar los tiempos de retención de los compuestos analizados. Para este caso se utilizó una columna más polar: Carbowax 20M de 0.53mm de diámetro interno y 15 metros de largo en un programa isotérmico de 200°C durante 30 minutos. (15, 38, 55, 59)

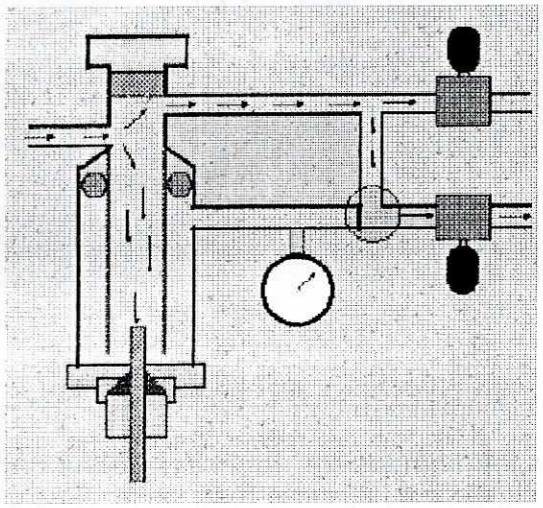
También como sistema de confirmación cualitativa se utilizaron los tiempos de retención relativos respecto al Clorpirifos. Se eligió este plaguicida por su característica de ser detectado por ambos detectores, tener una buena señal en los dos detectores y tener un tiempo de retención que lo hace estar

estar al centro de la corrida. El pico de este plaguicida no tiene problemas de traslape con otros picos. (15, 38, 55, 59)

El sistema de inyección utilizado para la validación de este método fue la técnica de Grob o ***splitless/split.*** Este sistema consiste en dos pasos:

Al inyectar la muestra el sistema se encuentra en condiciones splitless, es decir que todo el flujo pasa hacia la columna. La presión a la cabeza de la columna se mantiene haciendo pasar el exceso de gas portados a través del " *septum purge* ". Como el divisor se encuentra cerrado, toda la muestra pasa hacia la columna. Si se deja el sistema en estas condiciones la columna se satura con la cantidad excesiva de solvente que entra. Si ésto sucede se sabe que se producen ensanchamientos de las bandas y la resolución baja. (15, 28, 55)

FIGURA NO. 3.5
DIVISOR DE FLUJO CERRADO (SPLITLESS)

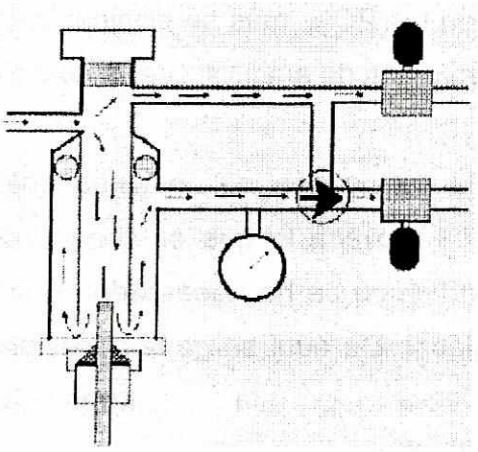


(28)

Con la técnica de Grob se consigue eliminar la saturación del sistema. Esto se logra al abrir el sistema después de un tiempo que se fija durante el proceso. En este caso el tiempo se fijó experimentalmente en 35 segundos. Al abrir el divisor de flujo el resto de solvente que aún se encuentra en el inyector sale del sistema a través del "*split vent*". (28)

FIGURA NO. 3.7
DIVISOR DE FLUJO ABIERTO (SPLIT)

(28)



D. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

Las buenas prácticas de laboratorio (BPL) identifican, definen y describen los principios que deben regir los procesos de organización y las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo la planificación y ejecución de los análisis de laboratorios de análisis, incluyendo registro de datos, la preparación de los informes de análisis y los procedimientos de control y garantía de calidad de estas actividades. (32)

El concepto de BPL en relación con el trabajo de laboratorios de análisis comenzó a difundirse en la década del 70. En 1982 la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD) realizó una publicación para establecer los principios de las BPL en todos los países miembros de la organización. (50, 52, 62)

Las BPL requieren de programas escritos que servirán como base para el montaje de un proceso. Un buen programa escrito incluye: qué, lo que, dónde, cuándo, por qué y cómo del programa. Explica claramente el alcance

del programa, individuos responsables, su importancia, parámetros, vigilancia de actividades y expedientes, acciones correctivas y actividades de verificación. A estos procedimientos se les conoce como Procedimientos de Operación Normalizados (PON). Cuanto más detallada sea la descripción de cada actividad en los PON, más se eliminarán las causas potenciales de variación de los resultados de análisis. (Ver anexo No. 8) (36, 62)

La existencia de normas no comunes entre diferentes países con tecnologías similares provoca lo que se conoce como "barreras técnicas". Desde hace mucho tiempo se ha necesitado de una norma en común para lograr un trabajo global. De aquí surge la necesidad de establecer las ISO. Estas son establecidas por la **International Organization for Standardization**. (32, 36)

El incremento de la demanda por datos legales y aceptables para el aseguramiento de los sistemas de calidad hace que se incluya junto con las BPL las guías ISO/IEC 25 (ISO 17025) y la ISO 9000. Las guías ISO dictan la manera en la que un laboratorio se puede acreditar por medio de normas establecidas para todos los laboratorios de análisis. (32, 36) Las ISO se encargan de regular los requerimientos de calidad en cualquier sistema, mientras las BPL se encargan de los laboratorios que trabajan con sustancias reguladas por la ***Food and Drug Admininstration*** (FDA) y su equivalente en cada país. Según estas normas un método analítico consiste en la utilización específica, simultánea o secuencial, de una o más técnicas para realizar una medición analítica determinada. Una sustancia química de referencia (SQR) o patrón es el material de uniformidad comprobada que se utiliza en determinadas pruebas químicas, físicas y microbiológicas como referencia para comparar las propiedades de la muestra problema con las de la SQR y que posee un grado de pureza suficiente para el uso al que se destina. (31, 62)

IV. MARCO METODOLÓGICO

A. OBJETIVOS

1. Generales

- Desarrollar y validar un método cuantitativo y semicualitativo para el análisis de plaguicidas organofosforados en matriz agua por medio de extracción líquido-líquido y cromatografía de gases.
- Desarrollar y validar un método alternativo de extracción de plaguicidas organofosforados por medio de fase sólida.
- Determinar la adecuación de los instrumentos de medición para obtener datos precisos y exactos dentro del intervalo de concentración de interés para el método a desarrollarse.
- Ampliar la cobertura de los métodos de determinación de plaguicidas utilizados en el Programa de Química Analítica Ambiental de la Universidad del Valle de Gualemala mediante la validación de la metodología de los plaguicidas organofosforados.
- Proponer un método cromatográfico validado en el que se utiliza la técnica de detección simultánea y de inyección de Grob
- Aportar un método de análisis validado para residuos de plaguicidas organofosforados en agua potable, que haga posible el cumplimiento de la legislación existente para este tipo de compuestos químicos previstos en la norma COGUANOR No. 29001 de 1985.

2. Específicos

- Desarrollar un método de extracción de residuos de plaguicidas organofosforados que se acople al método ya existente en el Programa de Química Analítica Ambiental en la Universidad del Valle de Guatemala para plaguicidas organoclorados, tanto en tiempos de incorporación como extracción.
- Desarrollar un método que haga posible la cuantificación e identificación semicualitativa de los plaguicidas organofosforados extraídos del agua por medio de la extracción líquido - líquido y la extracción en fase sólida.

- Comparar la eficiencia de la extracción de los plaguicidas organofosforados en fase sólida con la extracción líquido-líquido por medio de la evaluación de los porcentajes de recuperación en las muestras fortificadas con los tres niveles de concentración de los plaguicidas organofosforados.
- Determinar los límites de detección y cuantificación de los detectores de captura de electrones y fotométrico de llama (en el modo fósforo) en el rango de concentración seleccionada para este método.
- Determinar la sensibilidad y linealidad en la respuesta de los detectores de captura de electrones y fotométrico de llama (en el modo fósforo) en el rango de concentración seleccionada para este método
- Determinar la repetibilidad del sistema en cuanto a concentración y tiempo de retención.
- Incorporar la técnica de detección simultánea como sistema confirmatorio al programa de Química Analítica Ambiental
- Validar la técnica de inyección de Grob para el análisis cromatográfico de plaguicidas en el laboratorio de Química Analítica Ambiental

B. HIPÓTESIS

Con la infraestructura disponible en los laboratorios de la Universidad del Valle de Guatemala, mediante la aplicación de los criterios fundamentales de las buenas prácticas de laboratorio, es factible desarrollar y validar un método cuantitativo y semicualitativo de análisis de residuos de plaguicidas organofosforados en agua, mediante el uso de la cromatografía de gases de alta resolución.

C. VARIABLES

1. Independientes

- Nivel de concentración de los plaguicidas agregados en la matriz agua
- Polaridad del solvente de extracción
- Tiempo de incorporación de los plaguicidas al agua de laboratorio (fortificaciones) (una hora como lo indica M. Cabrera 1996 (8))

- Tiempo de extracción de los plaguicidas incorporados al agua tanto en la extracción líquido – líquido como en la extracción en fase sólida.

2. Dependientes

- Porcentaje de recuperación de los plaguicidas incorporados
- Respuesta de los detectores, que puede expresarse en área y convertirse en datos de concentración.
- Tiempos de retención de los plaguicidas organofosforados.
- Reacciones de descomposición de los organofosforados como hidrólisis o descomposición térmica. (ver sección 3.B)

D. Población y muestra

1. Universo de trabajo

Catorce plaguicidas organofosforados: Monitor, DDVP, Fosdrin, Forato, Cigón, Diazinón, Disistón, Metil Paratión. Malatión, Clorpirifos, Etión, Zolone, Gutión y Co-ral

CUADRO No. 4.1
LISTA DE PLAGUICIDAS QUE FORMAN EL UNIVERSO DE TRABAJO DE ESTA INVESTIGACIÓN Y SINÓNIMOS
(12, 21)

Nombre utilizado en el trabajo	Otros Nombres comunes	Otros Nombres comunes	Nombre utilizado en el trabajo
Monitor	Metamidofós	Zolone	Fosalone
DDVP	Diclorvos	Fosdrin	Mevinfos
Disistón	Disulfotón	Metil Paratión	Folidol
Gutión	Azinfos- Metil	Malatión	Fifanon
Diazinón	Diazonyl	Etión	Etanox
Cigón	Dimetoato	Co-ral	Coumanfos
Forato	Geomet	Clorpirifos	Clorpirifos

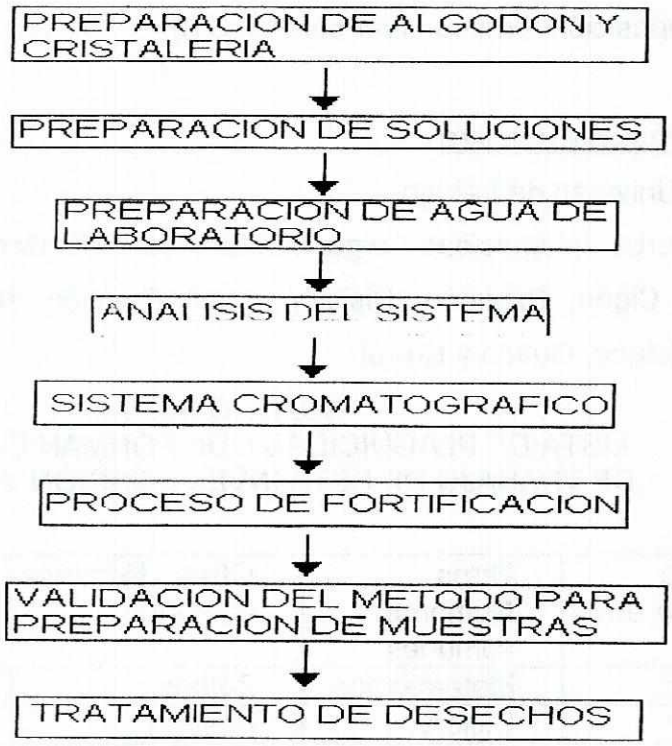
2. Muestra

Treinta y seis litros de agua de laboratorio fortificados con 3 niveles distintos de concentración de los 14 plaguicidas organofosforados y doce litros utilizados como blanco, para un total de cuarenta y ocho litros de

agua de laboratorio. Seis litros de agua natural, tres de ellos incorporando los 14 plaguicidas y los otros tres como blancos.

E. PROCEDIMIENTO

En el siguiente diagrama de flujo se indica en forma general los pasos a seguir para la validación del método. Más adelante se explica en detalle cada uno de éstos.



1. Preparación de algodón y cristalería

Algodón: En un beaker de 1000 mL se colocan aproximadamente 30g de algodón grado quirúrgico. Se agrega diclorometano hasta cubrir por completo (aproximadamente 500 mL), se tapa con papel aluminio, y se deja reposar por 24 horas en la campana de extracción. Se deja escurrir y secar durante otras 24 horas. Empacar en papel aluminio y almacenar. La extracción del algodón se realiza con el fin de eliminar compuestos solubles en diclorometano que puedan interferir en el análisis.

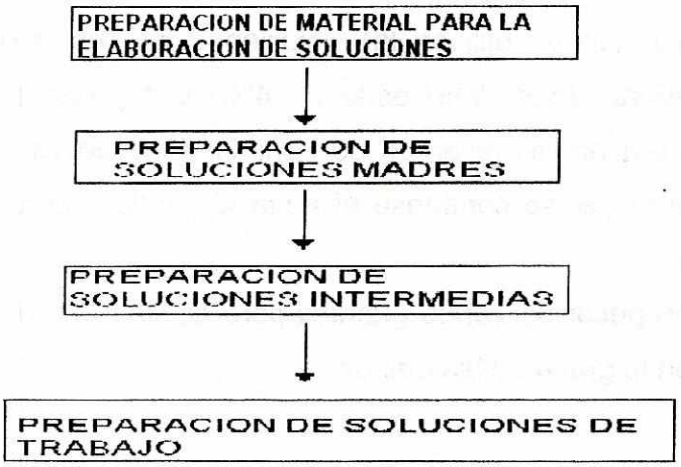
Cristalería: En 10 litros de agua del chorro colocar 50mL de detergente libre de fosfatos. Dejar la cristalería en esta solución durante 24 horas. Desaguar la cristalería 3 veces con agua del chorro y luego 3 veces con agua desionizada. Dejar escurrir por 3 horas. Enjuagar con acetona y luego hexano. Colocar en el horno a 110ºC durante 1 hora (este último paso sólo se debe hacer con los beakers, embudos de cristal y los balones en forma de pera.)

CUIDADOS CON LA CRISTALERÍA:

- Se utilizan detergentes libres de fosfatos para evitar la contaminación a la cristalería con potenciales interferentes.
- Se usan el hexano y acetona al finalizar el proceso de limpieza para eliminar posibles contaminantes apolares y el agua respectivamente.
- No se debe colocar en el horno la cristalería volumétrica.

2. Preparación de soluciones patrón

La preparación de soluciones comienza con la elaboración de las soluciones patrón o soluciones madre. Este término se refiere a las soluciones con mayor concentración del plaguicida en solución, que en este caso es 1000 µg/l. A partir de las soluciones patrón o madre se elaboran diluciones con las que se trabajará a lo largo de la validación. A continuación se presenta un diagrama de flujo con la forma general en que se preparan las soluciones:



Preparación de material para la elaboración de soluciones y precauciones de trabajo:

- Hojas de control de soluciones (ver anexo No.8)
- Balones aforados (con sus respectivos tapones) de 10mL tarados y marcados con un número correlativo hecho con lápiz de punta de diamante (el número debe de ir en el balón y en el tapón). Previamente se deben lavar y secar como se indicó en el proceso de preparación de cristalería. El dato del peso del balón y el tapón se debe reportar en las hojas de control de soluciones.
- Desecadora de vidrio con sílica gel con indicador
- Pipetas volumétricas
- Microdispensador de volumen variable de 20 a 100µL.
- Espátulas
- Bulbos para pipetas pasteur y volumétricas
- Papel encerado
- Balanza analítica
- Acetona
- Refrigerador a 4°C

PRECAUCIONES DE TRABAJO:

- Cuando se dice que la solución se debe dejar por 5 horas a 20°C es para asegurar que la temperatura de la solución está en 20°C. Esto se logra en un cuarto con temperatura controlada (I_1-213 UVG)
- Cada vez que se utilicen las soluciones se deben de sacar de la refrigeradora (que debe estar a 4°C) y esperar a que lleguen a temperatura ambiente antes de abrir la desecadora. Esto se hace para evitar que se condense el agua alrededor del balón y altere la solución.
- Se deben pesar utilizando guantes para eliminar la contaminación del balón con la grasa de las manos.

- El peso de la solución debe coincidir con el peso reportado en la hoja de control de soluciones, aceptándose una diferencia de 0.01 g como máximo y se lleva a su peso original con acetona. Si la diferencia es mayor, la solución se desecha y se prepara de nuevo.

Preparación de soluciones patrón o madre a 1000 µg/L

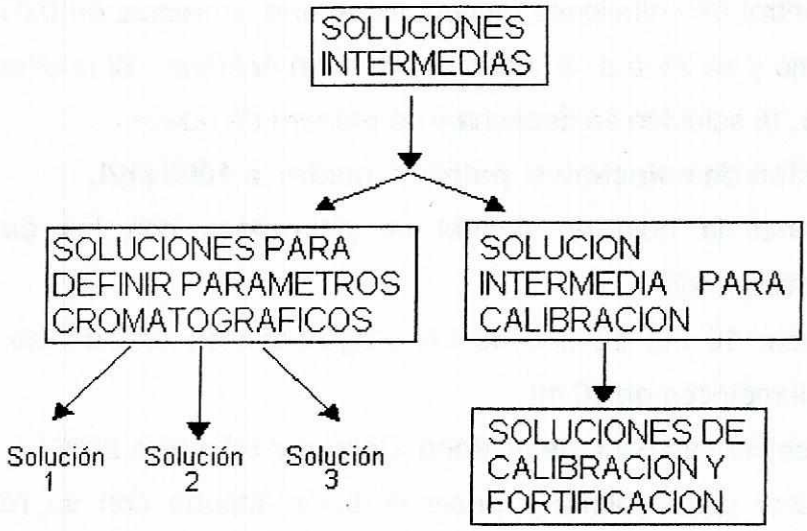
- Llenar la hoja de control de soluciones con los datos que correspondan.
- Pesar 10 mg de uno de los plaguicidas en uno de los balones volumétricos de 10 mL
- Disolver con 5 mL de acetona. Dejar por 5 horas a 20ºC
- Aforar con acetona y pesar el balón tapado con su respectivo tapón. Anotar el peso final en las hojas de control de soluciones
- Colocar el balón en la desecadora a 4°C
- Repetir este proceso para todos los plaguicidas.

Preparación de soluciones individuales intermedias a 100µg/L

- Llenar la hoja de control de soluciones con los datos que correspondan.
- En uno de los balones volumétricos de 10 mL colocar 1 mL de solución madre del plaguicida. Agregar 5mL de acetona y colocar a 20°C por 5 horas.
- Aforar con acetona y pesar el balón tapado con su respectivo tapón. Anotar el peso final en las hojas de control de soluciones
- Colocar el balón en la desecadora a 4°C
- Repetir este proceso para todos los plaguicidas.

Preparación de soluciones de trabajo

A partir de las soluciones individuales intermedias se hacen las soluciones de trabajo. El siguiente diagrama de flujo explica en forma general cuáles son estas soluciones y después se explica cómo se elabora cada una.



Soluciones para definir parámetros cromatográficos

Nota: Estas soluciones no llevan proceso de control debido a que sólo se utilizan para definir los parámetros cromatográficos y luego se desechan.

- SOLUCION 1: Con una pipeta volumétrica medir 2mL de la solución intermedia. Colocar los 2 mL en un balón volumétrico de 10mL. Llevar a volumen con Acetona a 20°C. Concentración final de la solución: 20µg/mL. Repetir este procedimiento para cada una de las soluciones intermedias
- SOLUCION 2: Con una pipeta volumétrica medir 1mL de la solución intermedia. Colocar el mililitro en un balón volumétrico de 10mL. Llevar a volumen con Acetona a 20°C. Concentración final de la solución: 10µg/mL. Repetir este procedimiento para cada una de las soluciones intermedias.
- SOLUCION 3: Con el microdispensador medir 0.100mL de la solución intermedia. Colocar los 0.100mL en un balón volumétrico de 10mL. Llevar a volumen con Acetona a 20°C. Concentración final de la

solución: 0.1µg/mL. Repetir este procedimiento para cada una de las soluciones intermedias

Con estas soluciones se determinan los siguientes parámetros:

- Pureza
  - Inyecciones de cada uno de los plaguicidas y verificación de otros picos que eluyan en el cromatograma (solución 3)
- Determinación de concentración para solución de calibración
  - Inyecciones de cada una de las soluciones (solución 1,2 y 3)
  - Con los cromatogramas obtenidos se determina la respuesta de los detectores en cada plaguicida y se hace una medición de la altura de cada pico.
  - Se compara cada uno de las áreas y alturas de los picos de los plaguicidas organofosforados; se hacen los cálculos necesarios para que cada uno de los plaguicidas queden en carta. (esto significa que queden de un mismo tamaño en el cromatograma aunque a diferentes concentraciones).
- Determinación del programa adecuado de temperatura:
  - Inyecciones de cada uno de los plaguicidas para verificar su tiempo de retención en el programa de temperaturas del método del Programa de Química Analítica Ambiental (PQAA 1) utilizado para los plaguicidas organoclorados. (Solución No.2)
  - Basándose en la forma de los picos se determinan los cambios a realizar para obtener un tiempo de corrida adecuado.

Preparación de solución intermedia para calibración

- Con los datos obtenidos de las inyecciones para determinar la concentración adecuada para los plaguicidas en la solución de calibración se procede a su elaboración.
- Llenar la hoja de control de soluciones con los datos correspondientes

- Colocar el volumen de plaguicida que se indica en el cuadro 4.2 en el balón volumétrico preparado para el proceso.

CUADRO 4.2
VOLUMEN DE SOLUCION INDIVIDUAL INTERMEDIA DE CADA PLAGUICIDA A DILUIR A UN VOLUMEN DE 10mL PARA OBTENER LA SOLUCIÓN INTERMEDIA PARA CALIBRACIÓN

PLAGUICIDA	Volumen agregado µl	Concentración final en la dilución µg/mL
MONITOR	150	15.0
DDVP	100	10.0
FOSDRIN	100	10.0
FORATO	100	10.0
CIGÓN	100	10.0
DIAZINÓN	100	10.0
DISISTÓN	1000	100.0
METIL PARATIÓN	100	10.0
MALATIÓN	400	40.0
CLORPIRIFOS	200	20.0
ETIÓN	200	20.0
ZOLONE	1500	150.0
GUTIÓN	1500	150.0
CO-RAL	3700	370.0

- Colocar a 20°C durante 5 horas
- Aforar con Acetona. Pesar y reportar el dato en la hoja de control
- Colocar en la desecadora a 4°C

A partir de esta solución se hacen las soluciones que se utilizarán para calibrar y fortificar durante todo el proceso.

- **NIVEL 3**:

- Llenar la hoja de control de soluciones con los datos correspondientes
- En un balón volumétrico de 10mL colocar de 1000 µL de solución intermedia para calibración. Agregar 5 mL de acetona
- Colocar a 20°C por 5 horas.
- Aforar con acetona. Pesar y anotar el dato en la hoja de control
- Guardar la solución en una desecadora a 4°C

- **NIVEL 2**:

- Llenar la hoja de control de soluciones con los datos correspondientes
- En un balón volumétrico de 10mL colocar 500 µl de solución de calibración nivel 3. Agregar 5mL de acetona
- Colocar a 20°C por 5 horas.
- Aforar con acetona. Pesar y anotar el dato en la hoja de control
- Guardar la solución en una desecadora a 4°C

- **NIVEL 1**:

Nota: esta solución se realiza a partir del nivel 3 y no de la solución intermedia para calibración como las otras dos soluciones de calibración.

- Llenar la hoja de control de soluciones con los datos correspondientes
- En un balón volumétrico de 10mL colocar 100 µl de solución de calibración nivel 3. Agregar 5mL de acetona
- Colocar a 20°C por 5 horas.
- Aforar con acetona. Pesar y anotar el dato en la hoja de control
- Guardar la solución en una desecadora a 4°C

Preparación de soluciones para la evaluación de la linealidad de la respuesta de los detectores

A partir de la solución de calibración nivel 1 se realizan las diluciones siguientes en balones de 5 mL

CUADRO NO. 4.3

ELABORACION DE SOLUCIONES PARA LA EVALUACION DE LA LINEALIDAD DE LA RESPUESTA DE LOS DETECTORES

µL de solución de calibración nivel 1 colocados en un balón aforado de 5 mL	Nombre de solución	µL de solución de calibración nivel 1 colocados en un balón aforado de 5 mL	Nombre de solución
250	a	2000	e
500	b	3500	f
1000	c	4000	g
1500	d		

CUADRO No. 4.4
CONCENTRACIONES DE LAS SOLUCIONES PARA LA EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD DE LA RESPUESTA DE LOS DETECTORES A LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

PLAGUICIDAS	Concentración de cada plaguicida en las soluciones						
	a	b	C	e	f	g	h
MONITOR	0.075	0.15	0.30	0.45	0.60	1.05	1.20
DDVP	0.050	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
FOSDRIN	0.050	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
FORATO	0.050	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
CIGÓN	0.050	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
DIAZINÓN	0.050	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
DISISTÓN	0.50	1.00	2.00	3.00	4.00	7.00	8.00
METIL PARATIÓN	0.050	0.10	0.20	0.30	0.40	0.70	0.80
MALATIÓN	0.20	0.40	0.80	1.20	1.60	2.80	3.20
CLORPIRIFOS	0.10	0.20	0.60	0.80	1.00	1.40	1.60
ETIÓN	0.10	0.20	0.40	0.80	1.00	1.40	1.60
ZOLONE	0.75	1.50	3.00	4.50	6.00	10.50	12.0
GUTIÓN	0.75	1.50	3.00	4.50	6.00	10.50	12.0
CO-RAL	1.85	3.70	7.40	11.10	14.80	25.90	29.60

3. Preparación de agua de laboratorio

Extraer 1000mL de agua desionizada con 100 mL de diclorometano, para incorporar este último por medio de agitación magnética durante una hora. Separar la capa de diclorometano con la ayuda de una ampolla de decantación. Esto se realiza con el fin de eliminar cualquier tipo de contaminante soluble en diclorometano que pueda interferir en el análisis cromatográfico.

4. Análisis del sistema

a. Recipientes para almacenamiento

Este procedimiento se realiza para verificar la no-contaminación de las muestras que se guardan en los recipientes para almacenamiento

durante varios días. Los solventes a utilizar para medir la capacidad de los recipientes son isooctano y acetona.

- Medir 1 mL del solvente y colocarlo en un recipiente de almacenamiento. Sellar y rotular.
- Guardar a 4°C durante 7 días.
- Hacer una inyección en el sistema cromatográfico ya definido para el análisis de plaguicidas.
- Repetir el procedimiento de almacenado durante 14, 30 y 60 días.
- Verificar en los cromatogramas que no se encuentre ningún pico que interfiera en el análisis.

b. Análisis de solventes

El proceso consiste en la evaluación de los solventes en el sistema cromatográfico. Los solventes a analizar son: diclorometano, éter de petróleo, acetona, acetato de etilo, metanol e isooctano.

- Medir 50mL del solvente (para el isooctano usar 5mL) y colocar en un balón en forma de pera, agregar 0.5 mL de isooctano
- Concentrar hasta aproximadamente 0.5 mL
- Transferir a un balón aforado de 1 mL y llevar a volumen con isooctano.
- Inyectar esta solución con el método establecido para los plaguicidas organofosforados y determinar si existe algún contaminante que interfiera en el análisis.

c. Análisis de sulfato de sodio anhidro

- Medir 100 mL de diclorometano y pasarlo por 25g de sulfato de sodio anhidro recibiéndolo en un balón en forma de pera.
- Agregar 0.5 mL de isooctano, concentrar hasta aproximadamente 0.5 mL
- Transferir a un balón aforado de 1 mL y llevar a volumen con isooctano.

- Inyectar esta solución con el método establecido para los plaguicidas organofosforados y determinar si existe algún contaminante que interfiera en el análisis.

d. Análisis de agua de laboratorio y agua desionizada

Se analiza el agua de laboratorio (agua pre - extraída con diclorometano) y agua desionizada para detectar algún contaminante que interfiera en el análisis.

- Medir 1 litro del agua a evaluar y colocarla en un frasco de vidrio.
- Agregar 50g. de cloruro de sodio y agitar hasta disolver.
- Agregar 100 mL de diclorometano para extraer los plaguicidas, agitar durante 1 hora.
- Separar la capa orgánica, haciéndola pasar por 25g de sulfato de sodio anhidro para eliminar por completo cualquier resto de agua. Colectar en un balón en forma de pera.
- Agregar 0.5 mL de isooctano. Concentrar hasta aproximadamente 0.5 mL
- Agregar 0.5 mL de isooctano y 50mL de éter de petróleo. Concentrar hasta aproximadamente 0.5 mL
- Transferir los 0.5 mL a un balón aforado de 1 mL, y llevar a volumen con isooctano y lavar las paredes de la pera con el mismo solvente.
- Inyectar esta solución con el método establecido para los plaguicidas organofosforados y determinar si existe algún contaminante que interfiera en el análisis.

e. Calibración de la balanza analítica.

- Pesar el juego de pesas de alta precisión
- Apuntar los pesos en las hojas de control de calibración de la balanza (ver anexo No. 8)
- Calcular la diferencia máxima y mínima de los pesos.

5. Montaje y validación del sistema cromatográfico

La elección de un programa cromatográfico fue el primer paso para el montaje y validación metodológicos. Se realizó con base en un programa con el cual contaba el Programa de Química Analítica Ambiental. El programa tenía una duración de 90 minutos para los 14 plaguicidas. Con el método que se desarrolló en el presente trabajo se logró un tiempo de corrida de 45 minutos con una buena resolución de los picos de los plaguicidas.

Las condiciones de trabajo ya optimizadas fueron:

Horno	150°C por 5 minutos
Rampa No. 1	10°C/minuto
Temperatura final	200°C (0 minutos)
Rampa No. 2	20°C/minuto
Temperatura final	270°C (30 minutos)
Inyector	180°C
Detector "A"	300°C
Detector "B"	280°C
Flujo de gas acarreador total (nitrógeno)	20mL/minuto
Flujo de hidrógeno	61.90mL/minuto
Flujo de aire	94.4 mL/minuto
Presión a la cabeza de la columna	14.9 psi
Técnica de inyección Grob, split/ splitless	

Para tener completa la evaluación del sistema cromatográfico se determinaron los siguientes parámetros bajo las condiciones anteriormente explicadas:

- Evaluación de la linealidad de respuesta de los detectores, por medio de inyecciones de las soluciones descritas en el cuadro No. 4.4
- Límite de detección: se considera que una señal es detectable si es el equivalente al doble de la señal del ruido del detector, es decir 1:2 ruido: señal. Para realizar estas mediciones se inyectaron las soluciones descritas en el cuadro No. 4.4
- Límite de cuantificación: se considera que una señal es cuantificable si es el equivalente a cinco veces la señal del ruido

del detector, es decir 1:5 ruido: señal. Para realizar estas mediciones se inyectaron las soluciones descritas en el cuadro No. 4.4

- Repetibilidad cuantitativa:
  - **Nivel 1 de calibración**: Se inyecta 6 veces la solución de calibración. Con las áreas reportadas se calcula la media, la desviación estándar y coeficiente de variación para definir la repetibilidad en cada inyección.
  - **Nivel 2 de calibración**: Se inyecta 6 veces la solución de calibración. Con las áreas reportadas se calcula la media, la desviación estándar y coeficiente de variación para definir la repetibilidad en cada inyección.
  - **Nivel 3 de calibración**: Se inyecta 6 veces la solución de calibración. Con las áreas reportadas se calcula la media, la desviación estándar y coeficiente de variación para definir la repetibilidad en cada inyección.
- Repetibilidad Cualitativa:
  - Al igual que la medición de la repetibilidad cuantitativa, se hacen 6 inyecciones de cada nivel de calibración. En cada nivel se comparan los tiempos de retención. Se calcula la media, desviación estándar y coeficiente de variación para definir la repetibilidad de los datos en los tiempos de retención.

6. Validación de los métodos de fortificación/extracción.

Para lograr la validación del método se debe incluir la validación del proceso de extracción, tanto en ELL cómo en EFS. A continuación se describe el procedimiento para la realización de este paso:

a. Fortificación de agua pre-extraída

- En una probeta con capacidad de 1000mL, medir 1litro de agua de laboratorio y trasvasar a un frasco de vidrio con capacidad de 1500mL.
- Agregar 1 mL de solución de calibración (Solución 1, 2, 3 o nada en el caso del nivel 0), colocar un pedazo de papel aluminio y tapar con la tapadera correspondiente al frasco.
- Agitar durante 1 hora por medio de un agitador magnético

b Extracción líquido-líquido

- Al agua previamente fortificada, agregar 50g de cloruro de sodio, agitar hasta disolver.
- Agregar 100 mL de diclorometano para extraer los plaguicidas, agitar durante 1 hora
- Trasvasar el contenido del frasco a una ampolla de decantación con capacidad de un litro.
- Separar la capa orgánica (capa inferior), la cual contiene los plaguicidas. Pasar la fase orgánica a través de un embudo que contenga 25g de sulfato de sodio anhidro
- Colectar en un balón en forma de pera con capacidad de 100mL. Agregar 0.5 mL de isooctano. Concentrar hasta aproximadamente 0.5 mL utilizando un evaporador rotativo
- Agregar 0.5 mL de isooctano y 50mL de éter de petróleo. Concentrar hasta aproximadamente 0.5 mL
- Transferir cuantitativamente los 0.5 mL a un balón aforado de 1 mL, y llevar a volumen con isooctano, lavando las paredes de la pera.
- Transferir el extracto a un recipiente para almacenamiento con tapón de teflón y almacenar a 4°C.

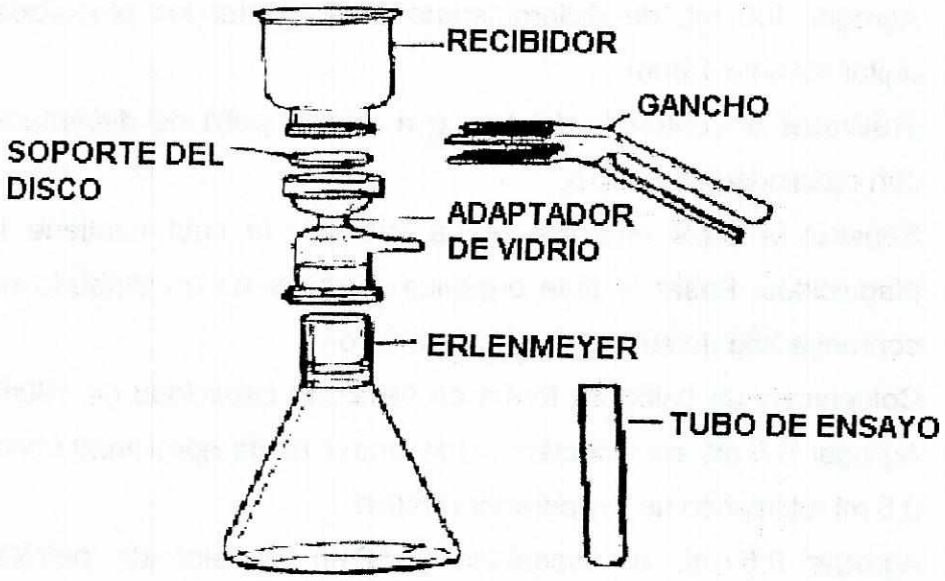
- Se hacen 6 extracciones por cada nivel (incluyendo el 0 ó blanco) y se inyectan (total de 24 extracciones e inyecciones)
- Se calcula el porcentaje de recuperación de cada inyección, mediante la comparación de esta con la solución de calibración.

c. Extracción en fase sólida

- Armar el sistema de extracción como se indica en la figura No. 4.1 utilizando para ello discos de extracción Empore. Pasar 10 mL de acetato de etilo con vacío de 125 mmHg hasta que pase todo.

FIGURA No. 4.1

APARATO DE EXTRACCIÓN EN FASE SOLIDA



- Medir 10 mL de metanol y dejar pasar 0.5 mL. Dejar en el sistema por 2 minutos. Pasar a través del sistema con un vacío de 250 mmHg, dejar un remanente en el disco.
- Pasar 10 mL de agua desionizada a través del sistema con un vacío de 250 mmHg, dejando un remanente en el disco.

- Agregar el agua previamente fortificada en porciones de 250 mL con un vacío de 250 mmHg. Cuando toda la muestra haya pasado (25 minutos) quitar el agua del erlenmeyer receptor, poner el vacío a 500 mmHg y dejar por 20 minutos con el fin de eliminar toda el agua posible.
- Quitar el vacío y colocar en el sistema el tubo recolector. Colocar 5 mL de acetato de etilo en el frasco en donde se hizo la fortificación, agitar y colocar el solvente en el sistema con un vacío de 125 mmHg dejando un remanente. Esperar un minuto y repetir una vez más.
- Agregar 5 mL de acetato de etilo a las paredes del embudo. Conectar el vacío para que pase el solvente, siempre dejando un remanente. Esperar por un minuto y repetir.
- Colocar en el tubo recolector suficiente sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua.
- Transferir a un balón en forma de pera, agregar 0.5 mL de isooctano. Concentrar hasta 0.5 mL aproximadamente. Transferir los 0.5 mL a un balón aforado de 1 mL, y llevar a volumen con isooctano, lavando las paredes de la pera.
- Transferir el extracto a un recipiente de vidrio con tapadera de aluminio y septum de teflón. Almacenar a 4°C.
- Se hacen 6 extracciones por cada nivel (incluyendo el 0) y se inyectan (total de 24 extracciones e inyecciones)
- Se calcula el porcentaje de recuperación de cada inyección, mediante la comparación de esta con la solución de calibración.

7. Tratamiento de desechos

- Desechos líquidos orgánicos con trazas de plaguicidas: Colocar en un frasco de vidrio etiquetado para que sea incinerado como desecho orgánico. (diclorometano, éter de petróleo, etc.)

- Desechos líquidos acuosos con trazas de plaguicidas: Colocar en un frasco de vidrio etiquetado para que sea mineralizado. (Agua)
- Desechos sólidos con trazas de plaguicidas: Se hace un paquete y se le coloca una etiqueta para que sean mineralizados (sulfato de sodio anhidro, cloruro de sodio)

8. Buenas prácticas de laboratorio

a. Controles

- Soluciones: Para cada solución que se preparó, se elaboró una hoja de control donde se apuntaron todos los datos importantes de la solución:
  - peso del balón aforado y el tapón,
  - peso de plaguicida agregado,
  - concentración final de la mezcla en mg/mL,
  - solvente con el cual se disolvió,
  - fecha en que se preparó la mezcla,
  - y peso final de la mezcla a 20º C.

Las soluciones permanecieron almacenadas en una desecadora en la refrigeradora a una temperatura que oscila entre -15ºC a - 20º C. Cuando era necesario utilizar una de ellas, se debió sacar de la refrigeradora y esperar hasta que llegara a temperatura ambiente (20º C). Luego, se pesó la solución y se comparó con el dato reportado como peso final en la hoja de control. Para ajustar el peso de la solución con el reportado en la hoja se agregó el solvente que indicaba la hoja de control. (Ver anexo No. 8).

Es recomendable que todas las soluciones de plaguicidas organofosforados no se usen después de un año de permanecer en la refrigeradora, para evitar los contaminantes por descomposición de los plaguicidas.

b. Calibraciones

- Cromatógrafo de gases: cada día se debe hacer una inyección de calibración. Para que esta inyección sea considerada como aceptable debe reportar las concentraciones con 80% de similitud con el reporte de la inyección de calibración del día anterior. Con esta calibración se procede a hacer una recalibración (ya sea reemplazar completamente la del día anterior o hacer un promedio entre las dos) para que se trabaje sobre la base de estos resultados durante todo el día.
- Balanza analítica: La calibración (descrita en la sección 4.f) se debe realizar por lo menos cada 6 meses. Antes y después de usarla se debe revisar que esté en cero, de lo contrario se debe ajustar. (Ver anexo No. 8 para la referencia de las hojas de calibración de la balanza.)

c. Controles periódicos

Revisión de:

La trampa de humedad (OMI)

La cantidad de perforaciones hechos al septum, el cual no debe ser mayor de 75.

La señal del FPD, la cual no debe ser menor de 239 unidades arbitrarias de Hewlett - Packard.

Buen funcionamiento del generador de nitrógeno.

Las presiones de los cilindros de hidrogeno y aire.

Los manómetros del cromatógrafo.

Temperatura de la refrigeradora

Todos estos datos se apuntan diariamente en hojas de control. Cada mes se evalua el comportamiento de cada uno de estos y se traza una gráfica.

d. Documentación

Los cromatogramas son impresos y guardados en un archivo dentro del laboratorio. En la computadora del cromatógrafo están guardados bajo los métodos BIFOSFO 1,2 y 3 en diferentes archivos ordenados por nivel de concentración. De cada uno de los métodos existen dos copias de seguridad.

Se llevaron dos cuadernos de laboratorio. Uno de ellos pertenece al cromatógrafo, en él se apuntan la fecha en el que se utiliza el aparato, período de tiempo que se usa, usuario, proyecto al cual se pertenece y motivo por el cual se usa al aparato. Además de ésto se apuntan las observaciones que se hicieron durante el día. En el otro cuaderno se apuntas las observaciones del trabajo diario en el laboratorio y en el cromatógrafo. En este cuaderno también se anotaron todos los resultados estadísticos para cada nivel de fortificación y calibración, así como también las especificaciones de los plaguicidas organofosforados de interés y procedimientos

e. Procedimientos de Operación Normados

Cada procedimiento que se valida en el laboratorio debe tener el respaldo de un Procedimiento normatizado de operación (PON). Estos deben incluir toda la información necesaria para que cualquiera pueda seguir el procedimiento descrito. En el anexo No. 8 se incluyen algunos de los PON que se hicieron para la validación de este método.

F. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

1. Diseño experimental

Desarrollo del método

Validación del método y del sistema

Análisis estadístico

Desarrollo del método

Preparativo:

- La elaboración de las soluciones de plaguicidas organofosforados se realizó al utilizar Acetona como solvente. Este solvente facilita la incorporación de los plaguicidas en el agua y todos son solubles en él.
- Extracción líquido-líquido de los plaguicidas en agua. Se comenzó con un volumen de 1000mL y se terminó con 1 mL (Factor de concentración de 1000) Para este proceso se utilizaron tres solventes y dos sales:
  - Para optimizar la separación de los plaguicidas organofosforados del agua se utilizó un solvente de polaridad intermedia y densidad superior a la del agua: **Diclorometano**
  - Para favorecer el paso de los plaguicidas organofosforados del medio acuoso al medio orgánico se utilizó el **Cloruro de Sodio.**

- Para eliminar las trazas de agua que se encuentran en la fase orgánica después de la separación se utilizó el **Sulfato de Sodio Anhidro.**
- Luego de la extracción con el diclorometano, se realizó un cambio de solvente para asegurar que el volumen final no contenga trazas del mismo y acelerar el proceso de concentración en el evaporador rotativo. Para este proceso se utilizó el **Eter de petróleo**
- En cada uno de los procesos de evaporación se utilizó un solvente como "***guardador***" de los plaguicidas organofosforados. En este caso se utilizó el **Isooctano**.

- Extracción sólido- líquido de los plaguicidas en agua, por medio de discos de sílica modificada con cadenas de octadecilo entretejidas con teflón y acetato de etilo como solvente de elución. Se comenzó con un volumen de 1000mL y se terminó con 1 mL (Factor de concentración de 1000) Para este proceso se utilizaron tres solventes y una sal:
  - Al principio las cadenas de octadecilo de las que esta formada la fase sólida se encuentran desactivadas. Para el proceso de activación se utilizó el **Metanol**. Es muy importante que después de la activación de los discos, estos no se queden secos hasta terminar la extracción de los plaguicidas organofosforados para no desactivar las cadenas de octadecilo y disminuir su capacidad de extracción.
  - En la extracción sólido - líquido se utiliza un solvente de elución. Este se encarga de eluir los plaguicidas que se encuentran en la fase sólida. Para este proceso se utilizó el **Acetato de Etilo**.
  - Para eliminar las trazas de agua que se encuentran en la fase orgánica después de la separación, se utilizó el **Sulfato de Sodio Anhidro.**
  - Para el proceso de evaporación nuevamente se utilizó un solvente como "***guardador***" de los plaguicidas organofosforados. En este caso se utilizó el **Isooctano**.

  Analítico:

- Elección de columnas y detectores para el análisis. Esto se realizó tomando en cuenta las características de los plaguicidas organofosforados.

- Determinar los flujos de gases (hidrogeno, aire, nitrógeno) para la mejor resolución de los picos y optimización de la llama del FPD.
- Obtención de un programa de temperaturas con buena resolución para todos los picos de los plaguicidas que se incluyen en el trabajo.
- Optimización del programa de temperatura
- Determinar los niveles de concentración de las soluciones para la calibración multinivel (3 niveles).

Validación del método

- Evaluación de la repetibilidad de inyección: seis inyecciones de cada nivel de las soluciones de calibración. Se analizó para cada una el tiempo de retención, el área y las concentraciones reportadas.
- Evaluación de linealidad de los detectores: Se evaluó haciendo 7 diluciones de la mezcla de calibración más concentrada y se inyectó una vez cada solución. Las concentraciones de estas soluciones se muestran en el cuadro No. 4.2
- Evaluación de porcentajes de recuperación: Se evaluó por medio de los resultados obtenidos en las inyecciones de las soluciones de fortificación. De cada nivel de fortificación se realizaron 6 repeticiones (incluyendo el nivel 0 ó Blanco) y se hizo una inyección de cada muestra.

CUADRO No. 4.5
PARÁMETROS ANALIZADOS PARA VALIDAR ÉL
MÉTODO DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS

PARÁMETRO ANALIZADO	NO. DE INYECCIONES	SOLUCIÓN INYECTADA	RESULTADOS OBTENIDOS PARA TRATAMIENTO POSTERIOR
REPETIBILIDAD DE INYECCION	6	Nivel de calibración 1	Tiempos de retención, Areas y Concentraciones reportadas para cada plaguicida.
	6	Nivel de calibración 2	
	6	Nivel de calibración 3	
TIEMPO DE RETENCION RELATIVO	6	Nivel de calibración 1	Tiempo de retención relativo de todos los picos de los plaguicidas respecto al Clorpirifos
	6	Nivel de calibración 2	
	6	Nivel de calibración 3	
LIMITE DE DETECCION DE LOS DETECTORES	1	Soluciones descritas en el cuadro No. 4.2	Tamaño de los picos de los plaguicidas debe ser 5 veces más grande que la señal del ruido para que aún se considere como detectable.
LIMITE DE CUANTIFICACION DE LOS DETECTORES	1	Soluciones descritas en el cuadro No. 4.2	Tamaño de los picos de los plaguicidas debe ser 3 veces más grande que la señal del ruido para que aún se considere como cuantificable
LINEALIDAD DE LOS DETECTORES	1	Soluciones descritas en el cuadro No. 4.2	Area y Concentración reportada para cada pico de los plaguicidas.
EXTRACCION LIQUIDO - LIQUIDO	6	Extracción del nivel 1	Area y Concentración reportada para cada pico de los plaguicidas.
	6	Extracción del nivel 2	
	6	Extracción del nivel 3	
EXTRACCION SOLIDO - LIQUIDO	6	Extracción del nivel 1	Area y Concentración reportada para cada pico de los plaguicidas.
	6	Extracción del nivel 2	
	6	Extracción del nivel 3	

Análisis estadístico

- La **MEDIA** (X) de n números, se define como

$$\Sigma X_i$$

(55, 57)

Este cálculo se realizó para: Repetibilidad de respuesta (inyección), Repetibilidad en tiempos de retención, Tiempos relativos respecto al Clorpirifos y Porcentajes de recuperación de las extracciones en Líquido - líquido y Sólido - líquido.

- El valor de la **DESVIACIÓN ESTÁNDAR** (d.e.) puede obtenerse con la siguiente ecuación:

$$\sqrt{\frac{\Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i)^2 / N}{N - 1}}$$

(55, 57)

Este calculo se realizó para: Repetibilidad de respuesta (inyección), Repetibilidad en tiempos de retención, Tiempos relativos respecto al Clorpirifos y Porcentajes de recuperación de las extracciones en Líquido - líquido y Sólido - líquido.

- El **COEFICIENTE DE VARIACIÓN** (c. v.) se define como:

$$\frac{d.\ e. * 100}{X}$$

(55)

Este cálculo se realizó para: Repetibilidad de respuesta (inyección), Repetibilidad en tiempos de retención, Tiempos relativos respecto al Clorpirifos y Porcentajes de recuperación de las extracciones en Líquido - líquido y Sólido - líquido.

- Los Porcentajes de recuperación se calculan con la siguiente formula:

$$\frac{Apm}{Apc} * 100\%$$

En donde:

Apm = Area del pico del plaguicida analizado en el cromatograma de la muestra.

Apc = Area del pico del plaguicida analizado en el cromatograma de la calibración.

Este cálculo se realizó para las áreas de los picos de los plaguicidas es los cromatogramas de las extracciones líquido - líquido y sólido - líquido en los tres niveles de fortificación.

- La aplicación del método de los mínimos cuadrados para la obtención de la linealidad requiere de dos hipótesis. La primera de ellas es que existe, en realidad, una relación lineal entre la cantidad del analito (*X*) y la magnitud de la variable medida (*y*); ésto es:

$$y = a + bx$$

Donde a es el valor para y cuando x es cero (la ordenada en el origen) y b es la pendiente de la recta. Una segunda hipótesis es que cualquier desviación de los puntos individuales respecto a una línea recta, es consecuencia, enteramente, del error indeterminado en la medida de y; es decir, que no existe un error significativo en la composición de los patrones. (55)

La línea deducida mediante una evaluación de mínimos cuadrados es aquella que minimiza los cuadrados de los desplazamientos verticales individuales o residuales de esta línea. Además de proporcionar un mejor ajuste entre puntos experimentales y una línea recta, el método proporciona los medios para determinar la ordenada en el origen, a, y la pendiente, b, en la línea. (55)

Por conveniencia, se definen tres cantidades, S_{xx}, S_{yy} y S_{xy}, tal como sigue:

$$S_{xx} = \Sigma (x_i - X)^2 = \Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i)^2 / n$$
$$S_{yy} = \Sigma (y_i - Y)^2 = \Sigma y_i^2 - (\Sigma y_i)^2 / n$$
$$S_{xy} = \Sigma (x_i - X)(y_i - Y) = \Sigma x_i y_i - \Sigma x_i * \Sigma y_i / n \qquad (55)$$

Aquí x_i e y_i, son pares individuales de valores para x e y que se usan para definir puntos a lo largo de la línea de mínimos cuadrados. La cantidad n es el número de pares de datos usados en la preparación de la curva de calibración, mientras que X e Y son las medias para las variables. El cálculo de S_{xx}, S_{yy}, S_{xy} permite la evaluación de los dos parámetros de interés:

Pendiente de la línea: $b = S_{xy} / S_{xx}$
Ordenada en el origen: $a = Y - bX$

- La **VARIANZA DE LA PENDIENTE** S_b^a se utiliza como expresión matemática de la linealidad: a menor varianza mejor linealidad y se determina con la siguiente fórmula:

$$\frac{\Sigma (y-\bar{y})^2}{n-2} (1 - r^2) \qquad (12)$$

- **El COEFICIENTE DE VARIACION DE LOS FACTORES DE RESPUESTA**: El factor de respuesta es la relación entre la lectura del detector y la concentración. Para una concentración determinada, el factor de respuesta puede tomarse como una expresión aproximada de la sensibilidad del calibrado a esta concentración. En una calibración lineal los factores de respuesta deben ser semejantes entre sí y cercanos al valor de la pendiente; por este motivo se puede tomar el coeficiente de variación de los factores de respuesta como una expresión de la linealidad. Esta se calcula de la siguiente manera:

$$f = (\text{Valor de y / valor de X})$$

$$\text{Media de } f = \bar{f}$$

$$\text{Desviación estandar de } f = S_f$$

$$\text{Coeeficiente de variación de } f = \frac{S_f}{\bar{f}} * 100 \qquad (12)$$

- Según la USP XVII del año 1990, para la validación de un método se deben realizar al menos 6 réplicas de cada muestra analizada. (58)

V. MARCO OPERATIVO

A. RECABACIÓN Y TRATAMIENTO DE DATOS

Los datos obtenidos de los cromatogramas son las áreas de los picos de los plaguicidas organofosforados. Por medio de estas áreas se obtienen las concentraciones de los plaguicidas con base en una calibración externa. Todos los datos se recabaron, almacenaron y procesaron en un procesador de datos Vectra 486/100 Mhz, 24MB RAM, disco duro de 850MB, con coprocesador matemático y monitor SVGA de 14 pulgadas. Software Chemstation ™ versión 4.5 todo de Hewlett Packard.

B. RECURSOS

1. Recursos Humanos

   Autora: Br. Lesbia Judith Pérez Camey.

   Asesoramiento. Lic. Willy Knedel, coordinador del Programa de Química Analítica Ambiental del Instituto de Investigaciones de la Universidad del Valle de Guatemala.

2. Recursos materiales

Todo el procedimiento se realizó dentro de las instalaciones de la Universidad del Valle de Guatemala. Equipo, materiales y reactivos fueron proporcionados por el proyecto conjunto entre la UVG - Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), para el proyecto titulado "Programa de Química Analítica Ambiental"

a. Equipo

- Cromatógrafo de gases, Hewlett Packard 5890 Serie II, equipado con detectores fotométrico de llama y captura de electrones. 2 Columnas HP-5 (5% fenil, 95% metil silicona químicamente enlazada) cada una con 30m de longitud, 0.32mm de diámetro y 0.25µm de fase estacionaria, con gas acarreador nitrógeno 99.99% de pureza.

- Procesador Vectra 486/ 100 Mhz, 24MB RAM, disco duro de 850MB. Monitor SVGA de 14 pulgadas. Software Chemstation™ versión 4.5 Impresora Hewlett Packard, Deskjet 400
- Generador de nitrógeno comprimido, marca CLAIND, modelo ANG.
- Balanza Analítica, Mettler H51AR. Capacidad máxima de 160g,
- Evaporador Rotativo, Brinkmann RE-121
- Bomba de Vacío, Fisher- Scientific 701 A
- Refrigerador/congelador, General Electric

b. Materiales y cristalería

CUADRO 5.1
CANTIDAD DE MATERIALES Y CRISTALERÍA MÍNIMA NECESARIA PARA LLEVAR A CABO EL PROCESO DE EXTRACCIÓN

Materiales y Cristalería	Cantidad mínima necesaria
Adaptador de vidrio borosilicato, con diámetro de 57 mm, con una salida que conecta a manguera de vacío	1
Agitadores magnéticos (sin calefacción), con sus respectivas barras magnéticas con forro de teflón	6
Ampollas de decantación de vidrio borosilicato de 1000 mL con llave de teflón y cierre esmerilado con tapón de vidrio	6
Balones aforados de vidrio borosilicato, clase A, tapón de vidrio esmerilado, capacidad de 1 mL	6
Balones aforados de vidrio borosilicato, clase A, tapón de vidrio esmerilado, capacidad de 10mL	25
Balones de vidrio borosilicato en forma de pera de 100 mL con unión esmerilada 14/23	6
Beakers de vidrio borosilicato de 250 mL	6
Cronómetro con alarma	1
Cucharón de plástico con capacidad de 25g	1
Desecadora de vidrio con tapadera	1
Discos Empore de 47 mm	30
Dispensador de volumen fijo de 100 mL con conector esmerilado 24/40 y respectivo frasco de vidrio	1
Dispensador de volumen fijo de 50mL con conector esmerilado 24/40 y respectivo frasco de vidrio	1
Embudos de vidrio borosilicato, diámetro máximo de 80 mm, vástago mediano	6
Erlenmeyer, vidrio borosilicato de 100 mL conector esmerilado 45/35	2
Frascos de vidrio borosilicato de 1000 mL con tapón de	6

plástico	
Gancho de metal para sostener adaptador y el recibidor de la muestra	1
Jeringa cromatográfica con capacidad de 10 µL marca Hamilton	1
Microdispensador de volumen variable de 20 a 100 µL con punta de teflón y cilindro de vidrio marca Brand	1
Papel aluminio	1 rollo
Pinzas universales, pedestales de metal con una altura de 600 mm, anillos de metal y triángulos de porcelana	6 de cada uno
Pipetas de vidrio borosilicato de 0.5 mL, 1 mL 2 mL 5 mL y 10 mL, graduadas	2 de cada una
Pipetas Pasteur, vidrio borosilicato, 230 mm de longitud, con sus respectivos bulbos	1 caja de 1000
Probetas de vidrio borosilicato de 10 mL con graduación	3
Probetas de vidrio borosilicato de 1000 mL con graduación	6
Recibidor de muestra de vidrio borosilicato con capacidad de 250 mL	1
Recipientes para almacenamiento de 2 mL, diámetro de boca 11 mm con sellos de aluminio y septum de teflón	50
Tijeras, pinzas	1 de cada una
Tubo de ensayo de vidrio borosilicato con capacidad de 250 mL	1
Varilla imantada para la recuperación de las barras magnéticas	1

- Sustancias Patrón para Cromatografía

CUADRO NO. 5.2
MARCA Y PUREZA DE LOS PATRONES DE PLAGUICIDAS UTILIZADOS

PLAGUICIDA	MARCA	PUREZA
METAMIDOFOS	POLY SCIENCE	77%
DICLORVOS	POLY SCIENCE	93%
FORATO	POLY SCIENCE	98%
FOSDRIN	POLY SCIENCE	60%
CIGÓN	POLY SCIENCE	98%
DIAZINÓN	RIEDEL DE HAEN	98%
DISISTÓN	POLY SCIENCE	99%
METIL PARATIÓN	RIEDEL DE HAEN	95%
MALATIÓN	POLY SCIENCE	95%
CLORPIRIFOS	RIEDEL DE HAEN	98%
ETIÓN	POLY SCIENCE	98%
ZOLONE	POLY SCIENCE	98%
GUTIÓN	POLY SCIENCE	99%
CO-RAL	POLY SCIENCE	99%

- Solventes para análisis de trazas (grado plaguicida), marca J.T. Baker, USA

CUADRO No. 5.3
NÚMERO DE CATALOGO BAKER PARA CADA SOLVENTE UTILIZADO

SOLVENTE	BAKER 1996 CATALOGO No.
ACETONA	9254-03
DICLOROMETANO	9324-03
ÉTER DE PETRÓLEO	9272-03
ISOOCTANO	9335-03
ACETATO DE ETILO	9260-03
METANOL	9263-03

- Sales para la preparación de muestras, marca J.T. Baker, USA

CUADRO No. 5.4
NÚMERO DE CATALOGO BAKER PARA CADA SAL UTILIZADA

SAL	BAKER 1996 CATALOGO No.
CLORURO DE SODIO	3624-05
SULFATO DE SODIO ANHIDRO	3375-05

- Desecante para almacenamiento en desecadoras en congelador
  - sílica gel con indicador, marca Merck.

c. Aspectos económicos

Mobiliario, cristalería e instrumentación de la Universidad del Valle de Guatemala

Soporte económico para compra de cristalería, reactivos necesarios y necesidades varias proporcionadas por la OIEA (Organismo Internacional de Energía Atómica)

VI. RESULTADOS

El procesador de datos Hewlett Packard con que cuenta el cromatógrafo da los resultados basándose en una inyección de calibración que se hace diariamente. Los resultados que son procesados son:

- Tiempo de retención
- Concentración de los picos basándose en la solución de calibración del día
- Nombre de los compuestos
- Área de cada pico en *counts* (unidades arbitrarias)
- Concentración en µg/mL de plaguicidas encontrados en la muestra que se inyectó.

Para el cálculo de la repetibilidad del sistema cromatográfico, se hacen 6 inyecciones de la solución de calibración. Antes de empezar a inyectar, se debe calibrar con una inyección de calibración que de una respuesta aceptable (es decir su respuesta en la concentración coincida en un 80% o más con las calibraciones anteriores). Los datos que muestra este reporte se toman como el 100% de respuesta del cromatógrafo. Basándose en ésto, se compara con los reportes de las otras seis inyecciones y se calcula el porcentaje de recuperación de cada inyección con base en el reporte de calibración. Con los porcentajes de cada inyección se calculó la media por cada plaguicida en cada nivel de calibración. En el anexo No. 4 se muestran los resultados obtenidos para cada inyección y en los siguientes cuadros se muestran los promedios de éstas.

CUADRO No. 6. 1
CONCENTRACIONES DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS PARA LOS TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN BAJO CONDICIONES OPTIMIZADAS

PLAGUICIDA	Nivel 1 de concentración µg/mL	Nivel 2 de concentración µg/mL	Nivel 3 de concentración µg/mL
MONITOR	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
DDVP	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
FOSDRIN	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
FORATO	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
CIGÓN	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
DIAZINÓN	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
DISISTÓN	1.00	5.00	10.00
METIL PARATIÓN	$1X10^{-1}$	$5X10^{-1}$	1.00
MALATIÓN	$4X10^{-1}$	2.00	4.00
CLORPIRIFOS	$2X10^{-1}$	1.00	2.00
ETIÓN	$2X10^{-1}$	1.00	2.00
ZOLONE	1.50	7.50	15.0
GUTIÓN	1.50	7.50	15.0
CO-RAL	3.70	18.0	37.0

CUADRO No. 6. 2
TIEMPO DE RETENCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS PARA LOS TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN BAJO CONDICIONES OPTIMIZADAS

PLAGUICIDA	TIEMPO DE RETENCIÓN ECD (minutos)	TIEMPO DE RETENCIÓN FPD (minutos)
MONITOR	N.D.	10.210 ±0.001
DDVP	10.714 ±0.003	10.720 ±0.002
FOSDRIN	14.022 ±0.002	14.022 ±0.001
FORATO	17.705 ±0.003	17.704 ±0.002
CIGÓN	18.121 ±0.002	18.142 ±0.001
DIAZINÓN	18.780 ± 0.001	18.780 ±0.002
DISISTÓN	18.996 ±0.002	18.996 ±0.001
METIL PARATIÓN	19.925 ±0.002	19.926 ±0.002
MALATIÓN	20.570 ±0.001	20.570 ±0.001
CLORPIRIFOS	20.895 ±0.003	20.896 ±0.001
ETIÓN	24.374 ±0.002	24.376 ±0.001
ZOLONE	29.475 ±0.001	29.480 ±0.001
GUTIÓN	29.683 ±0.002	29.688 ±0.001
CO-RAL	34.170 ±0.001	34.176 ±0.001

N.D. = No detectable

CUADRO No. 6.3
REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN
PARA EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	7112	285	4
DDVP	9059	529	6	25059	1655	7
FOSDRIN	5561	659	12	14387	1103	8
FORATO	2298	304	13	5866	294	5
CIGÓN	55685	4291	8	7235	588	8
DIAZINÓN	4112	345	8	10126	610	6
DISISTÓN	2739	124	5	7912	432	5
METIL PARATIÓN	21276	1265	6	35819	876	2
MALATIÓN	14390	644	4	21667	522	2
CLORPIRIFOS	46231	1971	4	39415	3209	8
ETIÓN	26155	2463	9	23524	2057	9
ZOLONE	180894	18023	10	74324	2760	4
GUTIÓN	82882	4129	5	89141	5287	6
CO-RAL	202003	15600	8	322530	12707	4
X	50253	3873	8	48866	2313	6

X = Media del área de los picos de los plaguicidas en 6 inyecciones.
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No.6.4
REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN
PARA EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	491070	18951	4
DDVP	32049	1871	6	73419	4850	7
FOSDRIN	24045	2468	10	324687	24894	8
FORATO	8873	880	10	124905	6250	5
CIGÓN	54151	2984	6	176084	14315	8
DIAZINÓN	12239	726	6	94722	42310	45
DISISTÓN	8666	270	3	137624	7506	5
METIL PARATIÓN	47397	2146	5	140056	3425	2
MALATIÓN	26149	899	3	164316	3956	2
CLORPIRIFOS	80714	2670	3	137496	11195	8
ETIÓN	21226	1728	8	66346	6592	10
ZOLONE	79726	7230	9	98536	4564	5
GUTIÓN	42036	1744	4	123350	8424	7
CO-RAL	100651	6891	7	203016	10269	5
X	41379	2501	6	168259	11964	9

X = Media del área de los picos de los plaguicidas en 6 inyecciones.
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No.6.5
REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN
PARA EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	1616263	64825	4
DDVP	70563	4121	6	638988	42208	7
FOSDRIN	42010	4978	12	930211	71321	8
FORATO	18956	2506	13	459936	23015	5
CIGÓN	84777	6533	8	693107	56347	8
DIAZINÓN	26713	2242	8	365410	168125	46
DISISTÓN	23352	1057	5	580209	31645	5
METIL PARATIÓN	129221	7684	6	699736	17114	2
MALATIÓN	74596	3337	4	847714	20407	2
CLORPIRIFOS	239510	10213	4	739582	60215	8
ETIÓN	88959	8378	9	530535	46385	9
ZOLONE	382994	38158	10	762507	28316	4
GUTIÓN	177929	8864	5	1101908	65359	6
CO-RAL	306304	23655	8	1266722	49905	4
X	128145	9364	8	802345	53228	8

X = Media del área de los picos de los plaguicidas en 6 inyecciones.
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

Para realizar el cálculo de la repetibilidad en tiempos de retención, se tomó como base los tiempos de retención de la inyección de calibración (100%) y se comparan con los de las otras inyecciones que se realizan durante un día calculado como un porcentaje para cada uno de los plaguicidas en las seis inyecciones (ver anexo No. 5). Se obtiene un promedio de cada plaguicida por nivel y es lo que se presenta en los siguientes cuadros.

CUADRO No. 6.6
REPETIBILIDAD EN TIEMPOS DE RETENCIÓN PARA EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	100.20	0.41	$4x10^{-3}$
DDVP	99.75	0.02	$2x10^{-4}$	99.66	0.006	$6x10^{-5}$
FOSDRIN	99.79	0.02	$2x10^{-4}$	99.75	0.01	$1x10^{-4}$
FORATO	99.93	0.02	$2x10^{-4}$	99.79	0.02	$2x10^{-4}$
CIGÓN	99.82	0.05	$5x10^{-4}$	99.79	0.03	$3x10^{-4}$
DIAZINÓN	99.87	0.04	$4x10^{-4}$	99.79	0.03	$3x10^{-4}$
DISISTÓN	99.87	0.05	$5x10^{-4}$	99.79	0.04	$4x10^{-4}$
METIL PARATIÓN	99.84	0.02	$2x10^{-4}$	99.98	0.02	$2x10^{-4}$
MALATIÓN	99.82	0.03	$3x10^{-4}$	99.81	0.02	$2x10^{-4}$
CLORPIRIFOS	99.79	0.03	$3x10^{-4}$	99.81	0.02	$2x10^{-4}$
ETIÓN	99.79	0.03	$3x10^{-4}$	99.81	0.01	$1x10^{-4}$
ZOLONE	99.79	0.05	$5x10^{-4}$	99.78	0.02	$2x10^{-4}$
GUTIÓN	99.79	0.02	$2x10^{-4}$	99.76	0.02	$2x10^{-4}$
CO-RAL	99.75	0.02	$2x10^{-4}$	99.76	0.02	$2x10^{-4}$
X	99.82	0.06	$6x10^{-4}$	99.58	0.05	$5x10^{-4}$

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No. 6.7
REPETIBILIDAD EN TIEMPOS DE RETENCIÓN
PARA EL NIVEL 2 CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	98.38	0.29	$3x10^{-3}$
DDVP	99.76	0.03	$3x10^{-4}$	99.45	0.08	$8x10^{-4}$
FOSDRIN	99.90	0.04	$4x10^{-4}$	99.76	0.03	$3x10^{-4}$
FORATO	100.15	0.08	$8x10^{-4}$	99.93	0.07	$7x10^{-4}$
CIGÓN	99.92	0.08	$8x10^{-4}$	99.90	0.02	$2x10^{-4}$
DIAZINÓN	99.92	0.02	$2x10^{-4}$	100.02	0.23	$2x10^{-3}$
DISISTÓN	99.92	0.02	$2x10^{-4}$	99.83	0.06	$6x10^{-4}$
METIL PARATIÓN	99.93	0.02	$2x10^{-4}$	99.91	0.02	$2x10^{-4}$
MALATIÓN	99.93	0.02	$2x10^{-4}$	99.93	0.01	$1x10^{-4}$
CLORPIRIFOS	99.91	0.02	$2x10^{-4}$	99.93	0.02	$2x10^{-4}$
ETIÓN	99.92	0.02	$2x10^{-4}$	99.93	0.02	$2x10^{-4}$
ZOLONE	99.93	0.04	$4x10^{-4}$	99.90	0.02	$2x10^{-4}$
GUTIÓN	99.92	0.02	$2x10^{-4}$	99.93	0.05	$5x10^{-4}$
CO-RAL	99.94	0.02	$2x10^{-4}$	99.93	0.03	$3x10^{-4}$
X	99.96	0.02	$2x10^{-4}$	99.75	0.41	$4x10^{-3}$

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No. 6.8
REPETIBILIDAD EN TIEMPOS DE RETENCIÓN
PARA EL NIVEL 3 CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	99.72	0.07	$7x10^{-4}$
DDVP	99.80	0.04	$4x10^{-4}$	99.71	0.07	$7x10^{-4}$
FOSDRIN	99.84	0.04	$4x10^{-4}$	99.75	0.07	$7x10^{-4}$
FORATO	99.83	0.04	$4x10^{-4}$	99.82	0.05	$5x10^{-4}$
CIGÓN	99.84	0.04	$4x10^{-4}$	99.84	0.05	$5x10^{-4}$
DIAZINÓN	99.84	0.06	$6x10^{-4}$	99.84	0.05	$4x10^{-4}$
DISISTÓN	99.83	0.04	$4x10^{-4}$	99.84	0.04	$4x10^{-4}$
METIL PARATIÓN	99.85	0.04	$4x10^{-4}$	99.84	0.04	$5x10^{-4}$
MALATIÓN	99.84	0.04	$4x10^{-4}$	99.85	0.04	$4x10^{-4}$
CLORPIRIFOS	99.84	0.05	$5x10^{-4}$	99.84	0.03	$3x10^{-4}$
ETIÓN	99.82	0.04	$4x10^{-4}$	99.79	0.04	$4x10^{-4}$
ZOLONE	99.79	0.04	$4x10^{-4}$	99.79	0.07	$7x10^{-4}$
GUTIÓN	99.79	0.07	$7x10^{-4}$	99.79	0.05	$5x10^{-4}$
CO-RAL	99.64	0.24	$2x10^{-3}$	99.79	0.05	$5x10^{-4}$
X	99.80	$5x10^{-5}$	$5x10^{-3}$	99.80	0.05	$4x10^{-4}$

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

Para la comparación de los tiempos de retención se utilizó el clorpirifós como referencia para los demás plaguicidas organofosforados. Se hizo una división entre el tiempo de retención de cada plaguicida con el tiempo de retención del clorpirifós. De igual manera para las seis inyecciones de calibración y de estos datos se calculó un promedio para cada nivel los cuales se muestran en los cuadros No 6.9, 6.10. Y 6.11

CUADRO No.6.9
TIEMPO RELATIVO RESPECTO
AL CLORPIRIFOS EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN-

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	0.492	$4X10^{-3}$	$8X10^{-3}$
DDVP	0.509	0	0	0.592	$7X10^{-3}$	$7X10^{-3}$
FOSDRIN	0.669	0	0	0.699	0	0
FORATO	0.847	0	0	0.847	0	0
CIGÓN	0.868	$4X10^{-4}$	$2X10^{-3}$	0.867	$5X10^{-4}$	$5X10^{-3}$
DIAZINÓN	0.898	0	0	0.898	0	0
DISISTÓN	0.909	0	0	0.908	0	0
METIL PARATIÓN	0.953	0	0	0.953	0	0
MALATIÓN	0.984	0	0	0.984	0	0
CLORPIRIFOS	1.000	0	0	1.000	0	0
ETIÓN	1.160	0	0	1.166	0	0
ZOLONE	1.410	$8X10^{-4}$	$2X10^{-3}$	1.409	$4X10^{-4}$	$2X10^{-3}$
GUTIÓN	1.410	0	0	1.420	0	0
CO-RAL	1.630	0	0	1.632	0	0

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No. 6.10
TIEMPO RELATIVO RESPECTO
AL CLORPIRIFOS EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	0.458	$4X10^{-3}$	$9X10^{-3}$
DDVP	0.509	0	0	0.592	0	0
FOSDRIN	0.669	0	0	0.699	0	0
FORATO	0.847	0	0	0.847	0	0
CIGÓN	0.868	$4X10^{-4}$	$4X10^{-3}$	0.867	0	0
DIAZINÓN	0.898	0	0	0.898	0	0
DISISTÓN	0.909	0	0	0.908	0	0
METIL PARATIÓN	0.953	0	0	0.953	0	0
MALATIÓN	0.984	0	0	0.984	0	0
CLORPIRIFOS	1.000	0	0	1.000	0	0
ETIÓN	1.160	0	0	1.166	0	0
ZOLONE	1.410	$8X10^{-4}$	$5X10^{-3}$	1.409	0	0
GUTIÓN	1.410	0	0	1.420	0	0
CO-RAL	1.630	0	0	1.632	$1X10^{-3}$	$6X10^{-3}$

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No.6.11
TIEMPOS RELATIVOS RESPECTO
AL CLORPIRIFOS EN EL NIVEL DE CONCENTRACIÓN 3

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	0.492	$4X10^{-3}$	$9X10^{-3}$
DDVP	0.509	0	0	0.592	0	0
FOSDRIN	0.669	0	0	0.699	0	0
FORATO	0.847	0	0	0.847	0	0
CIGÓN	0.868	0	0	0.867	0	0
DIAZINÓN	0.898	0	0	0.898	0	0
DISISTÓN	0.909	0	0	0.908	0	0
METIL PARATIÓN	0.953	0	0	0.953	0	0
MALATIÓN	0.984	0	0	0.984	0	0
CLORPIRIFOS	1.000	0	0	1.000	0	0
ETIÓN	1.160	0	0	1.166	0	0
ZOLONE	1.410	0	0	1.409	0	0
GUTIÓN	1.410	0	0	1.420	0	0
CO-RAL	1.630	$4X10^{-4}$	$2X10^{-3}$	1.632	$1X10^{-3}$	$6X10^{-3}$

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

El límite de cuantificación para los dos detectores se midió tomando en cuenta que una señal es detectable siempre que sea 5 veces más grande que la señal del ruido. La medición se hizo basándose en los cromatogramas. Para ésto se midió con una regla el tamaño del ruido y se comparó con cada señal en cada uno de los cromatogramas hasta encontrar en qué cromatograma la señal era más pequeña de 5.

Para el cálculo del límite de detección se realizó de la misma manera. En este caso se tomó como señal detectable aquella que fuera 2 veces más grande que la señal del ruido.

CUADRO No.6.12
LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN PARA EL ECD

PLAGUICIDA	LIMITE DETECCIÓN EN µg/mL	LIMITE CUANTIFICACIÓN µg/mL
MONITOR	*	*
DDVP	$3.12x10^{-3}$	$7.8x\ 10^{-3}$
FOSDRIN	$3.12x10^{-3}$	$7.8x\ 10^{-3}$
FORATO	$3.12x10^{-3}$	$7.8x\ 10^{-3}$
CIGÓN	$3.12x10^{-3}$	$7.8x\ 10^{-3}$
DIAZINÓN	$3.12x10^{-3}$	$7.8x\ 10^{-3}$
DISISTÓN	0.0312	0.078
METIL PARATIÓN	$3.12x10^{-3}$	$7.8x\ 10^{-3}$
MALATIÓN	0.0125	0.032
CLORPIRIFOS	$6.25x10^{-3}$	0.016
ETIÓN	$6.25x10^{-3}$	0.016
ZOLONE	0.0468	0.117
GUTIÓN	0.0468	0.117
CO-RAL	0.1156	0.289

* = No detectable
Limite de detección = 1:2 ruido: señal
Límite de cuantificación = 1:5 ruido: señal

CUADRO No. 6.13
LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACION PARA EL FPD

PLAGUICIDA	LIMITE DETECCIÓN EN µg/mL PARA MODO FÓSFORO	LIMITE CUANTIFICACIÓN µg/mL (FÓSFORO)
MONITOR	0.0375	0.0750
DDVP	0.0125	0.0250
FOSDRIN	0.0125	0.0250
FORATO	0.0125	0.0250
CIGÓN	0.0125	0.0250
DIAZINÓN	0.0125	0.0250
DISISTÓN	0.1250	0.2500
METIL PARATIÓN	0.0125	0.0250
MALATIÓN	0.0250	0.1000
CLORPIRIFOS	0.0125	0.0500
ETIÓN	0.0250	0.0500
ZOLONE	0.1875	0.3750
GUTIÓN	0.1875	0.3750
CO-RAL	0.4625	0.9250

Límite de detección = 1:2 ruido: señal
Límite de cuantificación = 1:5 ruido: señal

Para el análisis de linealidad de los detectores se inyectaron 5 concentraciones diferentes de la solución del plaguicida y se realizó una gráfica para el ECD y otra para el FPD en su modo fósforo. En las siguientes tablas se muestran los resultados que fueron generados a partir de los datos proporcionados por el área y la concentración de cada inyección. La información detallada de cada plaguicida se encuentra en el anexo No.2

CUADRO No. 6.14
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LINEALIDAD DE FPD

FPD	PENDIENTE	INTERCEPTO	R^2	COEFICIENTE DE VARIACION
MONITOR	816355	-89873.1	0.94	59
DDVP	294977	3530.7	0.98	22
FOSDRIN	498036	14729.3	0.97	20
FORATO	152437	6430.9	0.97	25
CIGÓN	294977	3530.7	0.98	22
DIAZINÓN	241325	16026.8	0.96	22
DISISTÓN	241636	10263.9	0.97	21
M-PAR	555391	24830.6	0.97	18
MALATIÓN	135943	15343.3	0.97	19
CLORPIRIOS	372092	30130.5	0.97	20
ETIÓN	376812	151771.2	0.87	26
ZOLONE	141504	-35524.6	0.97	23
GUTIÓN	260552	-225249.3	0.97	34
CORAL	184624	-190736.5	0.97	26

CUADRO No. 6.15
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LINEALIDAD DE ECD

ECD	PENDIENTE	INTERCEPTO	R^2	COEFICIENTE DE VARIACION
DDVP	69500	37450	1.00	22
FOSDRIN	37000	20700	1.00	21
FORATO	16500	9250	1.00	26
CIGÓN	69500	37450	1.00	22
DIAZINÓN	24000	14800	1.00	41
DISISTÓN	18500	9550	1.00	26
M-PAR	165000	42500	1.00	34
MALATIÓN	18750	63500	1.00	27
CLORPIRIFOS	157500	109500	1.00	30
ETIÓN	145000	25000	1.00	20
ZOLONE	190000	-285000	1.00	17
GUTIÓN	71333	-89000	1.00	18
CORAL	82432	-785000	1.00	17

Para el cálculo del porcentaje de recuperación de los 3 niveles de fortificación, se tomó como base la calibración del día y se compara contra ella las 6 inyecciones de cada nivel de fortificación. De ésto se obtienen porcentajes de recuperación de cada inyección basándose en una calibración (Estos datos se pueden consultar en los anexos No. 7 para extracción líquido-líquido y 8 para extracción en fase sólida) . Para cada plaguicida se cálculo la media de cada nivel, que son los resultados que se muestran en los siguientes cuadros.

CUADRO No.6.16
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE
CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 1 DE FORTIFICACIÓN
(EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO)

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	54	15	27	58	11	18
FOSDRIN	70	19	28	51	6	12
FORATO	66	21	32	62	18	29
CIGÓN	75	26	33	35	13	38
DIAZINÓN	106	10	9	64	31	48
DISISTÓN	96	63	66	58	26	45
METIL PARATIÓN	45	6	14	40	5	14
MALATIÓN	103	13	12	93	13	14
CLORPIRIFOS	107	12	11	94	14	14
ETIÓN	70	12	17	68	20	29
ZOLONE	78	8	11	67	10	15
GUTIÓN	59	11	18	63	12	19
CO-RAL	82	8	9	74	9	13
X	78	19	22	63	18	24

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v .= coeficiente de variación

CUADRO No.6.17
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE CADA PLAGUICIDA
EN EL NIVEL 2 DE FORTIFICACIÓN
(EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO)

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	93	14	15	65	11	17
FOSDRIN	79	12	16	61	12	19
FORATO	55	11	19	52	11	21
CIGÓN	52	9	17	41	7	18
DIAZINÓN	82	11	13	69	12	17
DISISTÓN	82	20	37	38	13	35
METIL PARATIÓN	60	9	15	45	8	18
MALATIÓN	77	10	13	63	10	16
CLORPIRIFOS	78	9	12	63	9	14
ETIÓN	67	7	11	50	7	14
ZOLONE	56	7	12	44	7	15
GUTIÓN	55	6	12	37	7	18
CO-RAL	57	7	11	39	7	18
X	66	13	16	51	11	18

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No.6.18
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE CADA PLAGUICIDA
EN EL NIVEL 3 DE FORTIFICACIÓN
(EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO)

PLAGUICIDA	ECD X n= 6	ECD d.e.	ECD c.v.	FPD X n= 6	FPD d.e	FPD c.v.
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	66	10	16	61	7	12
FOSDRIN	90	6	7	58	8	13
FORATO	82	8	9	61	5	9
CIGÓN	77	19	24	49	4	8
DIAZINÓN	101	7	7	87	8	9
DISISTÓN	74	8	11	61	7	12
METIL PARATIÓN	86	8	9	69	8	11
MALATIÓN	95	8	8	82	8	10
CLORPIRIFOS	99	8	8	87	10	12
ETIÓN	93	12	12	82	12	16
ZOLONE	96	14	15	85	16	19
GUTIÓN	110	32	29	89	14	16
CO-RAL	102	13	12	94	15	16
X	90	13	13	74	14	12

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No.6.19
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE CADA PLAGUICIDA
EN EL NIVEL 1 DE FORTIFICACIÓN
(EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA)

PLAGUICIDA	ECD			FPD		
	X n=6	d.e.	c.v.	X n= 6	d.e	c.v.
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	6	8	8	17	8	49
FOSDRIN	6	11	1	14	7	51
FORATO	4	50	46	115	58	149
CIGÓN	0	0	0	0	0	0
DIAZINÓN	110	19	7	5	23	20
DISISTÓN	3	51	162	23	42	182
METIL PARATIÓN	100	13	12	98	18	19
MALATIÓN	105	15	15	114	25	26
CLORPIRIFOS	103	11	11	104	18	17
ETIÓN	96	11	11	103	20	19
ZOLONE	100	17	17	98	24	24
GUTIÓN	97	15	16	98	27	27
CO-RAL	91	16	18	83	25	30
MEDIA	69	18	42	76	23	47

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No 6.20
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE CADA PLAGUICIDA
EN EL NIVEL 2 DE FORTIFICACIÓN
(EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA)

PLAGUICIDA	ECD			FPD		
	X n=6	d.e.	c.v.	X n= 6	d.e	c.v.
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	27	11	39	15	5	35
FOSDRIN	26	11	42	11	7	58
FORATO	43	22	50	29	19	64
CIGÓN	12	7	56	3	1	39
DIAZINÓN	95	17	18	82	25	30
DISISTÓN	7	4	58	3	2	66
METIL PARATIÓN	96	19	19	65	32	49
MALATIÓN	98	19	20	87	25	29
CLORPIRIFOS	99	18	19	83	24	28
ETIÓN	95	18	19	81	22	27
ZOLONE	87	14	16	70	16	23
GUTIÓN	85	12	14	63	16	26
CO-RAL	73	11	14	54	11	21
MEDIA	65	14	30	50	16	38

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No 6.21
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE CADA PLAGUICIDA
EN EL NIVEL 3 DE FORTIFICACIÓN
(EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA)

PLAGUICIDA	ECD			FPD		
	X n=6	d.e.	c.v.	X n= 6	d.e	c.v.
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	27	3	1	18	3	19
FOSDRIN	25	4	15	16	3	18
FORATO	24	3	13	37	22	60
CIGÓN	42	22	53	3	1	29
DIAZINÓN	87	9	11	88	18	21
DISISTÓN	14	22	160	13	20	159
METIL PARATIÓN	82	16	19	95	33	35
MALATIÓN	79	17	21	88	30	35
CLORPIRIFOS	78	16	21	77	27	35
ETIÓN	56	16	28	49	18	37
ZOLONE	50	8	20	18	14	27
GUTIÓN	55	9	17	49	15	31
CO-RAL	58	3	6	49	5	11
MEDIA	52	11	30	46	16	40

X = media
d.e. = desviación estándar
c.v. = coeficiente de variación

CUADRO No. 6.22
PROMEDIO DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACION EN LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO EXCLUYENDO AL DISITON.

DETECTOR	ECD			FPD		
NIVEL 1	X n=6	d.e.	c.v.	X n=6	d.e.	c.v.
TODOS LOS PLAGUICIDAS	78	17	22	64	14	24
EXCLUYENDO DISISTON	76	13	18	64	14	22
NIVEL 2	X n=6	d.e.	c.v.	X n=6	d.e.	c.v.
TODOS LOS PLAGUICIDAS	69	10	16	51	9	18
EXCLUYENDO DISISTON	68	9	14	52	9	17
NIVEL 3	X n=6	d.e.	c.v.	X n=6	d.e.	c.v.
TODO LOS PLAGUICIDAS	90	12	13	74	9	13
EXCLUYENDO DISISTON	91	12	13	75	10	13

CUADRO No. 6.23
PROMEDIO DE LOS PORCENTAJES DE RECUPERACION EN LA EXTRACCION SOLIDO-LIQUIDO EXCLUYENDO AL CIGON Y AL DISISTON

DETECTOR	ECD			FPD		
NIVEL 1	X n=6	d.e.	c.v.	X n=6	d.e.	c.v.
TODOS LOS PLAGUICIDAS	69	18	42	76	23	47
EXCLUYENDO CIGON Y DISISTON	79	17	35	87	23	39
NIVEL 2	X n=6	d.e.	c.v.	X n=6	d.e.	c.v.
TODOS LOS PLAGUICIDAS	65	14	30	50	16	38
EXCLUYENDO CIGON Y DISISTON	75	16	25	58	18	35
NIVEL 3	X n=6	d.e.	c.v.	X n=6	d.e.	c.v.
TODOS LOS PLAGUICIDAS	52	11	0	46	16	40
EXCLUYENDO CIGON Y DISISTON	56	9	16	53	17	30

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A. ADECUACIÓN DEL SISTEMA:

Según las normas de buenas prácticas de laboratorio, es necesario tener un control estricto de cada paso mientras se desarrolla y valida un método. Para la metodología que se desarrolló para los plaguicidas organofosforados el primer paso fue la evaluación de la adecuación del sistema cromatográfico a los requerimientos analíticos.

CONFIGURACIÓN DEL SISTEMA CROMATOGRÁFICO

La introducción del sistema de detección simultánea por dos detectores distintos como los son el ECD y el FPD brinda interesantes posibilidades. No sólo de obtener en una sola corrida dos cromatogramas, sino que también de poder utilizarse, con sus limitaciones, a un acercamiento cualitativo de los picos que éstos presentan.

La configuración del sistema de detección simultánea resulta también muy interesante al pensar en su aplicación para un método multiresiduos, ya que permite tanto la detección y cuantificación de organofosforados, como de organoclorados y piretroides.

El sistema de partición del eluato al final de la columna analítica mediante el empleo de una Y calibrada de vidrio desactivado resultó en una división constante del flujo, condición fundamental para juzgar en este punto la adecuación del sistema.

El empleo de un sistema como el antes descrito resulta interesante para la detección de eventuales contaminantes que puedan estar presentes en plaguicidas organofosforados, pero que por sí no contengan ningún átomo de fósforo en su estructura. El ECD puede dar señal positiva sin que el FPD reporte señal alguna. Esto aportaría una pieza adicional de información que de otra manera escaparía.

El sistema de detección simultánea también es un interesante medidor e indicador de los casos de falsos positivos que se pueden

reportar como Organoclorados, cuando en realidad se puede tratar de Organofosforados que son ECD-DETECTABLES. Es importante tomar esto en cuenta, cuando solamente se trabaja con ECD, particularmente si el proceso de extracción cubre el rango de polaridad de ambas familias de plaguicidas.

Confirmación

Para efectos de confirmación de identidad de los plaguicidas el sistema de detección simultánea aporta información parcial y por ello se hace necesario complementar dicha información con un sistema de doble columna de diferente polaridad. El sistema de dos columnas que se utilizó muestra lo importante de seleccionar columnas con doble polaridad que tienen capacidad de invertir el orden de elución de varios plaguicidas. Su limitación se encontró en la capacidad de la columna alterna para alcanzar las temperaturas de operación necesarias para la elución completa de todos los organofosforados estudiados. Esto, sin embargo, puede solucionarse con la adquisición de una columna de similar polaridad pero mayor capacidad térmica, caso de las nuevas capilares tipo SimplicityWax™ que puede operar hasta 280°C.

CUADRO No. 7.1
COMPARACIÓN DEL ORDEN DE ELUCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LA COLUMNA CARBOWAX 20 Y EN LA COLUMNA HP-5

ORDEN DE ELUCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN LA COLUMNA CARBOWAX 20	ORDEN DE ELUCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS EN LA COLUMNA HP-5
DDVP	MONITOR
FOSDRIN	DDVP
FORATO	FOSDRIN
DIAZINÓN	FORATO
DISISTÓN	CIGÓN
MONITOR	DIAZINÓN
CLORPIRIFOS	DISISTÓN
MALATIÓN	METIL PARATIÓN
METIL PARATIÓN	MALATIÓN
CIGÓN	CLORPIRIFOS
ETIÓN	ETIÓN
GUTIÓN	ZOLONE
	GUTIÓN
	CO-RAL

El aspecto de confirmación es fundamental para la detección, identificación y cuantificación de residuos de plaguicidas. Los tiempos de retención absolutos, si bien muestran poca dispersión, no son suficientes para asegurar o negar la presencia de un residuo. Si bien son utilizados por el programa de computación ***CHEMSTATION*** como una referencia para una primera identificación de los picos, se hace necesario reforzar este punto mediante la utilización de los tiempos de retención relativos a un determinado compuesto que se puede agregar a la muestra final. Para demostrar la reproducibilidad de los mismos, se decidió utilizar el clorpirifós como el compuesto de referencia, contra el cual se calcularon los tiempos de retención relativos. La selección del clorpirifós obedeció, entre otros criterios, a su ubicación más o menos central en el cromatograma y al hecho que éste es un compuesto detectable por ambos detectores empleados. Debe resaltarse el hecho que éste es detectado por todos los

detectores que actualmente se utilizan en el análisis de residuos de plaguicidas. Además éste en particular ha sido adoptado por la US FDA como el compuesto de referencia para la generación de todas sus bases de datos de tiempos de retención relativos para plaguicidas y compuestos relacionados.

En la comparación entre detección simultánea y doble columna, la segunda genera información más poderosa para la caracterización semicualitativa de los distintos analitos de interés. También es mucho más onerosa, puesto que se requiere el doble de cromatógrafos y de detectores.

Inyección

La introducción de un sistema de inyección tipo GROB para el presente trabajo también es bastante novedosa y de gran importancia para garantizar la mejor resolución posible de los diferentes analitos, a manera de proteger la columna de innecesarias cargas del solvente en que estos se encuentran disueltos. Sin la aplicación de este tipo de inyección la columna sufre una saturación con el solvente y por ende se reduce drásticamente su capacidad de resolución y la obtención de cromatogramas de alta calidad como los desarrollados en el presente trabajo.

El empleo de la técnica de inyección según GROB puede conducir a que los plaguicidas de elución temprana puedan sufrir un proceso de discriminación, siendo parcialmente liberados al exterior junto con el solvente. Esta situación debe evaluarse cuidadosamente, estableciendo de manera práctica el tiempo óptimo entre inyección y apertura de la válvula de salida.

La poca dispersión cuantitativa mostrada por el sistema bajo el régimen de inyecciones seguidas para evaluar la repetibilidad confirma la adecuación del sistema cromatográfico, en cuanto a que los analitos no sufren discriminación en el momento de su inyección bajo los conceptos

que componen la técnica GROB de inyección sin partición de flujo/con partición.

Como parte de la técnica de inyección de GROB, también se utilizó el concepto de "enfocar" los analitos mediante el empleo de un solvente idóneo. El isooctano, introducido en el proceso de preparación como "guardián", sirvió para el aforo final de todas las muestras. Sus características: punto de ebullición de 120°C y un coeficiente de expansión térmico bajo, hacen del isooctano un solvente que permite iniciar el programa a temperaturas de 115°C, que no satura el volumen interior de la cámara de inyección al pasar a la fase gaseosa a 275°C.

No saturar la cámara del inyector, no tener problemas de discriminación a la hora de la inyección, no inundar la columna con solvente (pérdida de resolución), sino, por el contrario, poder utilizar una pequeña cantidad de solvente para mejorar la resolución haciendo uso del enfoque por solvente representan características muy buenas de la técnica de inyección seleccionada.

Sistema de gases

Al hablar del sistema cromatográfico, es fundamental señalar, dentro de las características que hacen del sistema un sistema adecuado para el análisis instrumental, se halla un punto fundamental, como lo es la posibilidad de contar con fuentes de gases de buena calidad, en especial en lo referente a los gases portadores y/o auxiliares. En este punto Guatemala aún no está en capacidad de generar gases como Nitrógeno de alta pureza con certificación de 4 nueves, el más común para análisis de residuos. Por ello es necesario contar con fuentes alternas. La importación por cilindros es aún bastante onerosa. Los generadores son excelentes opciones, aunque su costo de adquisición inicial es elevado. El Nitrógeno contaminado no sólo termina por arruinar la columna, sino que su efecto a largo plazo tenga un efecto negativo sobre un detector como el ECD. Éste se satura y pierde su sensibilidad a lo largo del rango normal

para tener una respuesta lineal. El detector queda inoperante después de 2 a 3 años de estar constantemente expuesto al gas

Es importante hacer notar esta situación, puesto que muchos laboratorios que realizan análisis de trazas trabajan fundamentalmente con el ECD.

Otro punto que resulta importante, es que, no basta con una fuente de alta pureza, siempre será aconsejable poner en línea las siguientes trampas mínimas: hidrocarburos, humedad y oxígeno.

Análisis del sistema

El desarrollo de un método analítico comienza con la definición de las características y requerimientos que éste debe satisfacer.

Uno de estos requerimientos es la precisión. Para analizar la precisión de un método es necesario analizar la repetibilidad y la reproducibilidad.

Para el análisis de repetibilidad se realizaron 6 inyecciones de las soluciones de calibración de cada nivel. Con los datos obtenidos en cada inyección se hicieron todos los cálculos estadísticos para medir la repetibilidad del método.

Según Castro, M et al. 1991, el coeficiente de variación máximo permitido para el análisis de un analito que se encuentra en un porcentaje menor o igual al 0.0001% en la muestra es de 16. En el cuadro No. 8.2 se observa que en ninguno de los niveles se llega este coeficiente de variación. (9)

CUADRO 7.2
RESULTADOS PROMEDIADOS DE REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN EN LOS TRES NIVELES DE CALIBRACIÓN EN EL SISTEMA DETECCIÓN SIMULTÁNEA

NIVEL		1	2	3	Media de los tres niveles
ECD	X n=6	83	85	92	87
	d.e.	6	3	4	4
	c.v.	7	3	15	8
FPD	X n=6	82	92	102	92
	d.e.	5	5	6	5
	c.v.	6	5	11	7

Según los datos que se presentan en el cuadro anterior, la repetibilidad de inyección es aceptable para este método. Se recomienda que para lograr coeficientes de variación bajos se disminuyan al máximo las fuentes de error que se detectan a lo largo de la validación del método.

Además de la repetibilidad de inyección se analizo la repetibilidad en tiempos de retención (ver cuadros No.6.5, 6.6 y 6.7) En éste se observa un coeficiente de variación muy pequeño. Estos resultados no sólo se usan para el análisis de la repetibilidad del sistema sino que también como un sistema de confirmación como ya se discutió anteriormente.

La reproducibilidad del método se midió al hacer la misma serie de inyecciones que se realizaron para la repetibilidad con una diferencia de 6 meses. En el análisis de estas inyecciones no se encontró ninguna diferencia significativa ni en la concentración de cada plaguicida, ni en los tiempos de retención. Con los resultados obtenidos para los dos análisis realizados para medir la precisión se puede concluir que es un método preciso.

Otro de los requisitos que debe llenar un método es el de linealidad. Para el análisis de este parámetro se utilizaron diluciones de las soluciones de calibración como se indica en el cuadro No. 4.2. El

resultado de la linealidad se representa mediante una recta de regresión. Estas se pueden consultar en el anexo No.2

Además de las rectas es necesario realizar una interpretación estadística de la regresión lineal. Las ecuaciones de la recta se pueden consultar en los cuadros No. 6.13 y 6.14

El coeficiente de correlación **r**, calculado para ambos detectores, refleja el grado de relación entre las variables x (concentración), y (respuesta del detector). Si la **r** es cercana a 1 significa que existe correlación con una probabilidad elevada. Como resultado se obtuvo un mejor **r** para la respuesta del ECD como se observa en los cuadros No. 6.13 y 6.14

En el análisis de linealidad es importante no tomar este valor como único indicador de la linealidad. Para tener un resultado más certero se realizo él calculo de la varianza de la pendiente y el coeficiente de variación de los factores de respuesta. Estos resultados se muestran en los cuadros No. 6.13 y 6.14

La varianza de la pendiente también indica la calidad de la linealidad. A menor varianza mejor linealidad. Según los resultados obtenidos de la varianza de la pendiente, el ECD tiene una respuesta más lineal que la del FPD.

Uno de los requisitos importantes que debe de llenar un método analítico es la determinación de los límites de detección y cualificación, los cuales se fijaron mediante la comparación de la señal del ruido y la señal de la muestra.

Cuando el análisis se realiza en trazas del analito es muy importante fijar el límite de detección como uno de los primeros parámetros. En caso contrario es muy factible que se pueda incurrir en un falso positivo, lo que significa que es posible suponer que exista analito en la muestra cuando de hecho no lo está, ya que el pico es el de un interferente.

Para la determinación de este parámetro se utilizaron las soluciones que se describen en el cuadro No. 4.2. Estas soluciones se inyectaron una

tras otra en el programa establecido para el análisis definiendo como límite de detección: relación ruido: señal 1:2 respectivamente. Esto significa que para que un analito sea detectado su señal debe ser dos veces más grande que la señal emitida por el ruido. Según los resultados obtenidos para ambos detectores, el ECD puede detectar niveles más bajos de concentración del analito en la muestra. Esto se debe a que el ruido de este detector es casi imperceptible, lo cual hace que sea más fácil la detección de niveles de concentración pequeños en el cromatograma.

Para la determinación del límite de cuantificación se utilizaron las mismas soluciones utilizadas en el análisis de límite de detección (Cuadro No. 4.2). Para este parámetro se define como cuantificable cualquier pico que sea 5 veces más grande que la señal del ruido. En este caso el ECD resulto tener la capacidad de cuantificar niveles más bajos del analito en la muestra.

Para la evaluación de la selectividad de un método es indispensable que se tenga toda la información sobre impurezas presentes en la muestra y en la matriz. Este parámetro es esencial para conseguir una buena exactitud por lo que es indispensable su medición durante todo el proceso

La evaluación de la selectividad dio inicio con el análisis de los solventes utilizados para la validación. En este proceso se encontró que el FPD no detecta ningún pico en el programa establecido para los plaguicidas organofosforados. Para el caso del ECD se encontró, en todos los solventes, un pico que eluye a un tiempo de retención cercano al del cigón. Por medio de una evaluación minuciosa y gracias al sistema detección simultánea, se logró la identificación completa del pico del interferente y la eliminación del

error de integrar este pico en lugar del pico correspondiente al plaguicida.

En la validación de este método se utilizaron patrones de plaguicidas de alta pureza. El uso de este tipo de reactivos asegura que no exista ningún tipo de interferente, ya que son altamente puros. Se realizó un análisis cromatográfico de cada uno, encontrando que cumplen con la pureza antes mencionada. Para complementar el análisis de pureza se analizó el blanco (agua de laboratorio). Al igual que en el análisis de solventes, se encontró el pico del interferente del cigón y otros que en ningún momento interfieren en el análisis

Es interesante notar que el ECD, contrario a lo que se esperaba, resulta ser superior en linealidad y en sensibilidad para la mayoría de plaguicidas organofosforados que forman parte de este estudio.

En este punto es importante señalar que para la generación de toda la información cromatográfica sobre la que se sustenta la conclusión que el ECD es superior al FPD, se trabajó exclusivamente con sistemas de alta pureza: solvente / patrón. Al partir de una muestra ambiental, la situación se complica por la aparición de interferentes.

El ECD es más sensible, pero, menos selectivo que el FPD. Este último detecta en modo fósforo únicamente aquellos compuestos que contienen fósforo en su estructura.

Frente a un interferente el FPD resulta muy poderoso ya que discrimina muy bien entre un compuesto organofosforado y los que no lo son.

De allí que el empleo del FPD con fines cualitativos por encima del

ECD es la mejor elección.

Para la evaluación de la exactitud del método se realizaron pruebas durante el proceso de extracción de los analitos en una matriz simulada (agua de laboratorio). Estos resultados se discuten en la siguiente parte.

B. METODOLOGIAS DE EXTRACCIÓN

Los métodos que se desarrollaron y validaron en el presente trabajo, se apoyaron en el análisis por cromatografía de alta resolución de muestras conteniendo 14 plaguicidas organofosforados. Estos fueron extraídos de la matriz agua por medio de dos diferentes métodos de extracción: líquido-líquido y fase sólida

Un método para la determinación de residuos de plaguicidas en una matriz medio ambiental, caso del agua, se considera apropiado si el porcentaje de recuperación promedio es como mínimo de un 80% y si el coeficiente de variación no excede como promedio el 20%. De los dos parámetros, el coeficiente de variación quizás sea el más importante, ya que existen residuos que se recuperan en cantidades de un 50%, pero la recuperación es constante y la dispersión de datos se mantiene dentro del 20%. También,

Grob, R en 1985 (23) dice que para un análisis de trazas en muestras ambientales es permitido un coeficiente de variación de 30. Este razonamiento acompañará la discusión de los resultados hallados en el presente estudio.

Si bien un porcentaje de recuperación del 80%, con una dispersión inferior al 20% sería deseable para cada uno de los analitos, su características físico-químicas, solubilidad muy particularmente, hacen que algunos se recuperen mejor que otros con los solventes empleados: diclorometano para la extracción líquido-líquido y sílica modificada con cadenas de octadecilo utilizando como eluyente al acetato de etilo para la extracción en fase sólida.

A continuación se expone una explicación de los resultados obtenidos para cada una de las metodologías de extracción. Luego se hizo una comparación de ambas para poder concluir cual es la mejor para el análisis de los plaguicidas organofosforados.

Extracción líquido – líquido (ELL)

Uno de los objetivos a cumplir en este trabajo era el de realizar un método de extracción que se pueda acoplar al del laboratorio de Química Analítica Ambiental (PQAA). En este laboratorio se utiliza como método rutinario de extracción de plaguicidas organoclorados a la ELL. Este método, según bibliografía consultada, se puede acoplar de buena manera a la extracción de plaguicidas organofosforados.

El factor más importante para el desarrollo de un método de extracción del tipo ELL, es el de escoger adecuadamente el solvente. De acuerdo a las bibliografías consultadas, los solventes utilizados en este tipo de extracción, para los que se obtienen porcentajes de recuperación satisfactorios para los plaguicidas organofosforados son el benceno (54) y Diclorometano (57).

El benceno quedó descartado por su alta toxicidad. Según el método desarrollado por Cabrera, M (7), el Diclorometano es el solvente de extracción ideal para la ELL de los plaguicidas organoclorados.

El método de ELL del PQAA fue validado en el trabajo de Cabrera, M (7). Por lo tanto, los procesos de incorporación y extracción del método de extracción de los plaguicidas organofosforados fueron tomados de esta bibliografía.

Se llevó a cabo el análisis de las 6 muestras fortificadas, para después hacer el tratamiento estadístico a cada una de los reportes obtenidos. El método basado en la extracción Líquido - líquido, especialmente cuando la cuantificación se hace con base en la señal del ECD, bien llena las condiciones mencionadas anteriormente, con un porcentaje de recuperación promedio de 78% y un coeficiente de variación promedio de

17 % La cuantificación basada en la señal del FPD es un 20% menor, como se puede apreciar en el cuadro No. 7.3

CUADRO No.7.3
RESULTADOS PROMEDIADOS DE LA EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO EN LOS 3 NIVELES DE FORTIFICACIÓN

DETECTOR		NIVEL 1	NIVEL 2	NIVEL 3	PROMEDIO DEL % DE RECUPERACION EN LOS TRES NIVELES
ECD	X n=6	78	66	90	**78**
	d.e.	19	13	13	**15**
	c.v.	23	16	13	**17**
FPD	X n=6	63	51	74	**63**
	d.e.	18	11	14	**14**
	c.v.	24	18	12	**18**

Dado que para las pruebas de fortificación y recuperación se empleó como matriz, agua de laboratorio pre-extraída y el material de fortificación era de alta pureza, nuevamente resulta una respuesta que apunta hacia el ECD como un detector superior frente a los plaguicidas organofosforados. Sin embargo, el método sería luego puesto a prueba en las muestras ambientales que disipan toda duda sobre la necesidad de utilizar el FPD.

Los resultados un tanto pobres para el FPD se deben comparar en esta etapa con aquellos que a la par que se escribía el presente informe, eran generados por el PQAA, que había hecho suyo el método de extracción y el arreglo del sistema cromatográfico propuesto en este trabajo de investigación. En este contexto, la aplicación rutinaria del método permitió afinar la pericia técnica en la ejecución de la metodología integral. Sin haber modificado el método de extracción, el PQAA reporta los siguientes valores como porcentajes de recuperación:

CUADRO NO. 7.4
PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN OBTENIDOS PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL PROGRAMA DE QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL.

Plaguicida	MEDIA	d.e.	C. V.
DDVP	75.27	2.23	2.96
FOSDRIN	72.29	5.14	7.11
FORATO	77.42	2.70	3.49
CIGON	60.79	8.86	14.57
DIAZINON	73.47	3.04	4.14
DISISTON	85.47	1.35	1.58
M-PARATION	77.72	1.20	1.55
CLORPIRIFOS	76.16	2.00	2.62
MALATION	84.05	2.26	2.68
ETION	84.36	1.84	2.18
ZOLONE	81.10	1.50	1.85
GUTION	95.52	8.49	8.89
CORAL	85.79	3.21	3.74
Media	79.18	3.37	4.41

Es importante señalar que muchos laboratorios Latinoamericanos que se inician en cromatografía gaseosa de organoclorados suelen partir de un cromatógrafo equipado con un ECD. Como se ha expuesto, sin embargo, el ECD detecta una buena cantidad de organofosforados. Esto puede conducir, si no se realiza una prueba de confirmación, que eventualmente puedan ser confundidos los organofosforados como señales positivas de los organoclorados.

Extracción Sólido – líquido (EFS)

Entre los procesos de extracción con los que cuenta el PQAA no existe un método de EFS validado para ninguna familia de plaguicidas. En este trabajo se validó este método de extracción para los plaguicidas organofosforados, no sólo con el fin de dar un método alternativo de

extracción al PQAA, sino para realizar una comparación entre este método de extracción y el de ELL.

Al igual que en la ELL el factor más importante es el de escoger el solvente (eluyente) ideal para la extracción de los plaguicidas organofosforados de la fase sólida. Para este caso se tomaron en cuenta los trabajos presentados por Junk en 1988 (43) y Senseman en 1995 (58) en donde utiliza el acetato de etilo obteniendo porcentajes de recuperación del 82% para el plaguicida organofosforado clorpirifós y 82.7% para el metil paratión.

Los resultados globales para la extracción en fase sólida se muestran en el cuadro No. 7.5

CUADRO 7.5
RESULTADOS PROMEDIADOS DE LAS
RECUPERACIONES DE LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

DETECTOR		NIVEL 1	NIVEL 2	NIVEL 3	PROMEDIO DEL % DE RECUPERACION EN LOS TRES NIVELES
ECD	X n=6	69	65	52	**62**
	d.e.	18	14	11	**14**
	c.v.	42	30	30	**34**
FPD	X n=6	76	50	46	**57**
	d.e.	23	16	16	**18**
	c.v.	47	38	40	**42**

A partir de los valores estadísticos obtenidos se concluye que esta técnica presenta aún una alta dispersión en sus resultados.

Es importante destacar que la tendencia que se observa en el cuadro No. 7. 5 es la de que a mayor concentración en la solución con que se fortifico es menor la recuperación. Este fenómeno se debe probablemente a la saturación de la fase sólida a concentraciones altas. Esto da origen a una trans - cromatografía, es decir: En un inicio, cuando la matriz con los analitos (agua y plaguicidas respectivamente) son

puestos en contacto con la fase sólida, ésta los absorbe por completo. Cuando entra en contacto la nueva matriz que lleva más de los analitos, esta actúa como fase móvil, llevándose parte de los plaguicidas retenidos en la fase sólida del primer contacto con la matriz, es decir que actúa como un eluyente. Este fenómeno ocurre una y otra vez hasta que se concluye el paso de la matriz por la fase sólida. Entonces el solvente de elución sólo puede eluir a aquellos analitos que sí fueron retenidos por la fase sólida. El resto de analito se pierde en la matriz.

Igual que en la extracción líquido-líquido, en esta extracción el disistón dio problemas de recuperación. En este caso este plaguicida no se pudo recuperar de buena manera en ninguno de los tres niveles de fortificación mostrando desviaciones estándar y coeficientes de variación muy altos.

El forato también mostró diferencias notables en las recuperaciones. El porcentaje de recuperación disminuye conforme baja la concentración, lo que indica que el método no es capaz de extraer de la fase sólida pequeñas concentraciones del plaguicida. Se obtiene un coeficiente de variación promedio de 145.93 para el nivel más bajo. Esto también indica que este plaguicida no se recupera de una manera confiable (a niveles bajos de concentración), en extracción en fase sólida. Además el cigón no se puede recuperar cuando se utiliza este tipo de extracción.

Comparación de ELL y EFS

En los dos métodos de extracción existe un plaguicida para el cual los porcentajes de recuperación son muy variables: disistón. Y en el caso de la extracción en fase sólida el cigón no se puede recuperar de una manera adecuada. Este hecho afecta negativamente a los porcentajes de recuperación de ambos métodos de extracción. Para verificar este hecho se realizaron los cálculos matemáticos de los porcentajes de recuperación excluyendo a estos plaguicidas. Los resultados se muestran en los cuadros No. 6.21, 6.22 y el resumen de los mismos se muestran en el cuadro No. 7.6

CUADRO No 7.6
RESUMEN DE RESULTADOS EN LOS DOS TIPOS DE EXTRACCIÓN VALIDADOS EN ESTE TRABAJO

NIVEL	ELL		EFS	
	ECD	FPD	ECD	FPD
Nivel 1	78±22	64±24	79±35	87±39
Nivel 2	69±16	51±18	75±25	58±35
Nivel 3	90±13	74±13	56±16	53±30

En la EFS se observan coeficientes de variación mucho mayores que los resultados obtenidos en la ELL. Esto se puede explicar entre otros, por el fenómeno de trans -cromatografía, que hace que la EFS sea muy variable. También incide en ésta, la reproducibilidad entre lotes de las membranas utilizadas para el análisis. En cambio en la ELL la extracción es un proceso más controlado, por lo que los resultados del coeficiente de variación son más pequeños. Para resolver el problema de saturación de la fase sólida es recomendable que se realicen pruebas en una fase sólida con mayor cantidad de fase sólida. Esto se puede realizar utilizando un cartucho con C18 modificada.

Otro factor importante de comparación entre ambas clases de extracción es el uso de recursos y tiempo utilizado para llevar a cabo cada uno. Cuando se compara el uso de solventes en ambas extracciones, la fase sólida sólo utiliza un 27% de la cantidad que se utiliza para la extracción líquido-líquido, lo cual se muestra en el cuadro 7.7

CUADRO 7.7
CANTIDAD DE SOLVENTES
UTILIZADOS EN CADA TIPO DE EXTRACCIÓN.

Solvente	Cantidad en mL utilizada en Extracción líquido-líquido	Cantidad en mL utilizada en extracción en fase sólida
Diclorometano	100	0
Isooctano	1.5	1
Éter de petróleo	50	0
Metanol	0	10
Acetato de etilo	0	30
total en mL	151.5	41

Para los propósitos del PQAA, lo anterior es muy importante, no sólo por la disminución en costos de análisis, sino que también por el impacto ambiental que ocasiona el uso y la forma de desecho de los solventes en grandes cantidades.

La fase sólida puede aplicarse sin problema de obstrucción de la membrana en agua subterránea y agua potabilizada. Sería interesante verlo como una opción para realizar un "screening" en este tipo de agua. Siempre será necesario revisar la capacidad de carga de la membrana de acuerdo con el tipo de muestra y buscar una forma más práctica para poder manipular varias muestras simultáneamente.

Como solución al problema de una posible obstrucción de la membrana, se recomienda que se realice pruebas de EFS utilizando un prefiltro de 0.45µm. Con ésto se evita el cambio del disco extractor, ya que sería posible la eliminación de la materia sólida por medio del filtro.

Para el problema de la manipulación de muestras en la EFS, se recomienda el uso de un manifold para que, al igual que en la ELL, se puedan realizar varias muestras en forma simultánea.

Con todos los datos que se obtuvieron se puede concluir que se pudo validar ambas técnicas de extracción con alto porcentaje de recuperación.

Durante el proceso de validación se comprobó que filtrar el agua muy contaminada con materia sólida no tiene implicaciones en las recuperaciones finales. No se logró validar el proceso del prefiltro para la EFS por falta de los filtros apropiados.

Como un resultado global de la comparación de entre ambas extracciones, se recomienda que bajo las condiciones de trabajo en que se encuentra el PQAA es mejor utilizar la LLE para el trabajo rutinario de extracción de plaguicidas organofosforados de la matriz agua.

C. MUESTRAS AMBIENTALES

Al culminar el proceso de validación del método, fue necesario realizar una prueba con muestras ambientales proporcionadas por el PQAA.

Con el fin de incluir a los plaguicidas organoclorados en una corrida cromatográfica, se trabajó con la ELL (validada para los plaguicidas organoclorados por Cabrera M, 1997 [7]), el programa de temperaturas del PQAA y con el sistema de detección simultánea validado en el presente trabajo.

Con la técnica de detección simultánea desarrollada en el presente trabajo se lograron diferenciar los picos, de los interferentes de los que sí eran plaguicidas organofosforados.

Como se esperaba, el ECD detectó algunos picos que identificó como plaguicidas organofosforados, pero no detectables por el FPD. Tal es el caso del gutión, el cual reporta concentraciones muy altas en el ECD pero no aparece en el FPD.

Este último es un claro ejemplo del potencial del uso del sistema de detección simultánea. La selectividad del FPD evita reportes de falsos positivos, dejando claro que el pico detectado en el ECD no puede ser un organofosforado por carecer de señal en el FPD.

VIII . CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se logró desarrollar y validar un método para la extracción líquido-líquido de los plaguicidas organofosforados en matriz agua, para el cual se obtuvo un porcentaje de recuperación promedio del 78% para el ECD y 63% para el FPD.
- Se desarrolló y valido un método para la extracción en fase sólida de los plaguicidas organofosforados en matriz agua, para el cual se obtuvo un porcentaje de recuperación promedio del 62% para el ECD y 57% para el FPD.
- Para complementar la información de identificación de picos que da el sistema de detección simultánea se debe contar con métodos alternos de confirmación. En el desarrollo de este método se trabajó con otra columna de diferente polaridad en un cromatógrafo alterno, y además, tiempos de retención absolutos y relativos. El sistema de 2 columnas tiene la capacidad de invertir el orden de elución de varios plaguicidas y es muy eficiente. El inconveniente de esta técnica es que resulta muy cara debido a que se requieren dos cromatógrafos, ambos con ECD y FPD. Además de que es necesario contar con una columna adecuada. El sistema de una columna es menos preciso, pero se puede afinar con la utilización de los tiempos de retención relativos y absolutos. Aunque esta segunda técnica nunca supera al sistema de doble columna, se logra una buena confirmación con los tiempos de retención relativos y absolutos, además esta está más al alcance de cualquier laboratorio debido a que sólo se necesita un cromatógrafo.
- Con la técnica de Grob se logra proteger la columna de innecesarias cargas de solvente. Esta técnica permite la obtención de mejores cromatogramas, ya que al evitar que la columna se sature por exceso de solvente se logra aumentar su capacidad de resolución.
- Cuando se utiliza la técnica de Grob, es muy importante establecer el tiempo óptimo entre inyección y apertura de la válvula de salida para

evitar que los plaguicidas de elución temprana sufran un proceso de discriminación.

- El utilizar la técnica de "enfoque" de los analitos mediante el uso de un solvente, el isooctano, resulta ser el complemento perfecto para la técnica de inyección de Grob. Las características fisicoquímicas tomadas en cuenta para la elección de este solvente lo hacen ideal para que no se sature el volumen interior de la cámara de inyección al pasar a la fase gaseosa.
- Las características que proporciona la inyección de Grob a un método cromatográfico como lo son: No tener problema de discriminación de analitos, no saturar la cámara del inyector, no inundar la columna con solvente hacen que esta técnica sea un aporte importante del presente trabajo.
- Para lograr el desarrollo y validación de un método analítico es necesario que se pongan en práctica todos los criterios especificados en las buenas prácticas de laboratorio. La generación de PON (Procedimientos de Operación Normados) para la extracción líquido - líquido y fase sólida en el Programa de Química Analítica Ambiental son parte de su aplicación práctica.
- Según los resultados obtenidos a lo largo de la validación de este método, se encontró que el ECD es más sensible y da una respuesta más lineal que la del FPD en las condiciones que se trabajó en el laboratorio.
- El valor de la técnica de detección simultánea desarrollada en el presente trabajo, se aprecia en el momento de analizar muestras ambientales. La unión de estos dos detectores en el sistema cromatográfico da como resultado un método capaz de detectar en una muestra trazas de plaguicidas de diferentes familias como los son organofosforados, organoclorados o piretroides.
- La recopilación de información técnica, farmacológica y toxicológica de los plaguicidas organofosforados que se realizó en este trabajo, esclarece el por qué la necesidad de realizar una revisión a la norma 29001 de

COGUANOR publicada en 1985. Es fundamental que cuando se lleve a cabo esta revisión se realice una investigación profunda de cada plaguicida en forma individual para tomar en cuenta las consideraciones especiales que cada uno de ellos posee. Con esta investigación se conseguirá establecer límites de cada plaguicida en forma individual.

- Cuando se realice la revisión de la norma 29001 de COGUANOR será necesario contar con un método de análisis que respalde la nueva norma. El método que se desarrolló y validó para los plaguicidas organofosforados y que se puede adaptar perfectamente a un método multiresiduos, como se comprobó en el PQAA, puede ser la opción para ser tomado en cuenta como un método oficial para COGUANOR.
- Para establecer un método de EFS como el de rutina en un laboratorio de análisis de muestras ambientales es necesario que se tome en cuenta el equipo necesario para hacer más rápida y segura la técnica, para lo cual se recomienda contar con un manifold para incrementar el número de muestras analizadas por día.
- La técnica de ELL resulta la mejor opción para un laboratorio de análisis de muestras ambientales como el de PQAA de la Universidad del Valle de Guatemala. Este método, ya puesto en marcha en el PQAA, da resultados de recuperaciones por encima del 80%. Además resulta muy adecuado para el número de muestras que se manejan al nivel de muestreo ambiental.
- La vida del ECD depende muchísimo de la calidad del sistema de gases que se utiliza. Para lograr que este detector no se sature y no pierda su sensibilidad, es esencial contar con un gas portador altamente puro. Se recomienda que para lograr la preservación no sólo del detector, sino de la columna, se trabaje con un sistema de gases puro, y aunque al principio resulte una inversión muy alta, es recomendable que en un laboratorio en donde se utilice como detector de rutina al ECD se adquiera un generador de nitrógeno. Con éste se logra obtener el gas con la pureza necesaria para que el ECD y la columna no sean dañados. Para

proteger aún más el sistema es recomendable línea las siguientes trampas mínimas: hidrocarburos, humedad y oxígeno.

- En el trabajo rutinario de un laboratorio en donde se analizan muestras ambientales, es muy probable tener el problema de obstrucción de la membrana con materia sólida en la EFS. Es posible que al aumentar la capacidad de carga de la fase sólida disminuya este problema. Esto se puede lograr al aumentar la cantidad de C18 en la fase sólida, lo cual se consigue mediante el uso de cartuchos. Atendiendo a esta problemática, se recomienda que se realice un estudio comparativo de la eficiencia de la extracción en fase sólida utilizando cartuchos y membranas.
- Cuando en un laboratorio de análisis de plaguicidas organoclorados se utilice un cromatógrafo de gases equipado solamente con el ECD y el solvente de extracción muestre afinidad por los plaguicidas organofosforados y piretroides, se recomienda tener a la mano patrones de plaguicidas organofosforados y piretroides en caso de necesitar una confirmación de un pico interferente.

FUENTES CITADAS

1. Association of Official Analytical Chemists AOAC 1995 " AOAC official method 991.07 Nitrogen - and - phophorates - containing pesticides in finished drinking water" sect. 10.3.05 (Sawyer, L.; McMahon, B. & Newsome W. , eds) in OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL Vol. I 16th. Edit. USA p. 26-27
2. Albert, L. 1986 PLAGUICIDAS, SALUD Y AMBIENTE Instituto Nacional de investigaciones sobre recursos bioticos. México D.F. 419pp.
3. Alvarado A. 1991 DETERMINACIÓN DE RESIDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS EN LAS AGUAS DEL LAGO DE AMATITLÁN (ÉPOCA DE INVIERNO). Facultad de Ciencias y Humanidades, Química Farmacéutica. Universidad del Valle de Guatemala 40pp
4. Amado, J. 1973 INVESTIGACIÓN DE INSECTICIDAS RESIDUALES EN LA FAUNA MARINA Vol III. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala 71pp.
5. American Public Health Association (APHA) - American Water Works Association (AWWA) - Water Pollution Control Federation (WPCF) . 1995 Standard Mehods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. American Public Health Association USA. 1285 pp.
6. American Public Health Association (APHA) - American Water Works Association (AWWA) - Water Pollution Control Federation (WPCF). 1975 Standard Mehods for the Examination of Water and Wastewater. 14th ed. American Public Health Association USA. 1193 pp.
7. Arena, J. 1979 POISONING 4th. ed. Charles Thomas Publisher USA 827pp
8. BIBLIOTECA PRACTICA AGRÍCOLA Y GANADERA 1987. Edit. Océano/Centrum Vol. 1 Madrid, España. 204pp
9. Buser,H.; Müller M. 1995 "ISOMER-SELECTIVE AND ENANTIOMERSELECTIVE DETERMINATION OF DDT AND RELATED COMPOUNDS USING CHIRAL HIGH - RESOLUTION GAS CHROMATOGRAPHY /MASS SPECTROMETRY AND CHIRAL

HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY" Analytical Chemistry (Switzerland) 67 (15) 2691-2698

10. Cabrera, M. 1997 DESARROLLO Y VALIDACION DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS EN AGUA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCION. Facultad de Ciencias y Humanidades, Química Farmacéutica. Universidad del Valle de Guatemala (En impresión)
11. Castañeda, O. Castañeda P. 1993 PLAGUICIDA EN GUATEMALA - USO, IMPACTO AMBIENTAL Y ALTERNATIVAS. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación Proyecto de desarrollo agrícola. Guatemala 48pp.
12. Castro, M et al. 1991 VALIDACION DE METODOS ANALITICOS SECCIÓN CATALANA DE LA ASOCIACIÓN DE FARMACÉUTICOS EN LA INDUSTRIA. Comisión de Normas de Buenas Prácticas de Fabricación y Control de Calidad. Organizzazione editoriale Médico Farmacéutica 94pp.
13. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 1995 BOLETÍN DE PLAGUICIDAS EN LOS PRODUCTOS NO TRADICIONALES. Guatemala, 15pp
14. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. 1989 LISTADO DE PLAGUICIDAS RESTRINGIDOS Y PROHIBICIONES EN PAÍSES DE LA REGIÓN DE LAS AMÉRICAS Metepec México 125pp.
15. Chasteen, T. 1995 GAS CHROMATOGRAPHY Sam Houston State University, Huntsville Texas. 20pp. http://www.mf.huji.ac.il
16. COMISIÓN GUATEMALTECA DE NORMAS 1985 Norma 29001 para Agua potable. Diario Oficial de Guatemala. Guatemala.
17. Contreras, J. 1986 RIESGO DE INTOXICACIÓN CRÓNICA POR INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS Facultad de Ciencias Medicas, Universidad de San Carlos de Guatemala 71pp.

18. Cremlyn, R. 1982 PLAGUICIDAS MODERNOS Y SU ACCIÓN BIOQUÍMICA Editorial Limusa, México D.F. 354pp

19. Doull, J.; Klaassen, C., Amdum, M. 1980 CASARETT AND DOULL'S, TOXICOLOGY,THE BASIC SCIENCE OF POISONS 2nd. ed. Macmillan Publising Co. N.Y. USA 975pp.

20. Edwars, C. 1973 ENVIRONMENTAL POLLUTION BY PESTICIDES Plenum Press. England 542pp

21. ENVIRONMENTAL PROTEECTION AGENCY (USA) 1992 Federal Register 56 (20) 3538-3597

22. Fest, C.; Schemidt K. 1973 THE CHEMISTRY OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES Springer Verlag. New York USA 339pp.

23. García, J. 1994 BIOLOGÍA Y CONTROL DE PLAGAS URBANA Interamericana-McGraw-Hill México D.F. 355pp

24. Garfield, F. 1984 QUALITY ASSURANCE PRINCIPLES FOR ANALYTICAL LABORATORIES Association of Official Analytical Chemists. Virginia USA 345pp.

25. Goodman, G. & Gilman H. 1995 LAS BASES FARMACOLÓGICAS DE LA TERAPÉUTICA 8ta. de. Editorial Médica Panamericana México D:F: 1850pp.

26. Grob, R. 1985 MODERN PRACTICE OF GAS CHROMATOGRAPHY. Wiley - Interscience Publication USA 897pp.

27. Hagen, D. 1989 MEMBRANE APPROACH TO SOLID PHASE EXTRACTION 3M Company 3M Center, Bldg. 201 -1W - 29 St. Paul, MN 55144. 16pp.

28. Hardy J. 1996 CAPILLARY COLUMN GAS CHROMATOGRAPHY University of Akron USA 27pp. http//ull.chemistry.uakron.edu

29. Harris P. 1993 RATIONALE OF METHOD DEVELOPMENT Analytichem International, Inc. Harbor City, CA USA. 9pp.

30. Helman, J. 1981 FARMACOTECNIA TEÓRICA Y PRÁCTICA. Tomo II Compañía Editorial Continental, México 1970pp.

31. Hoewitz, M. 1994 "GOOD LABORATORY PRACTICES IN ANALYTICAL CHEMISTRY" Analitycal Chemistry (USA) 50 (6) 521-524

32. Huber L. 1993 GOOD LABORATORY PRACTICE FOR HPLC, CE AN UV-VIS SPECTROSCOPY. Hewlett Packard USA 138pp.

33. Hyde, W; Kiesey,J., Ross, P., Stahr, M. 1977 ANALYTICAL TOXICOLOGY METHODS MANUAL. Iowa State University Press USA 310pp

34. Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnológica Industrial ICAITI. 1976 ESTUDIO DE LAS CONSECUENCIAS AMBIENTALES Y ECONÓMICAS DEL USO DE PLAGUICIDAS EN LA PRODUCCIÓN DE ALGODÓN DE CENTROAMERICA. Guatemala. 335pp

35. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. 1992 DIAGNOSTICO, TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN DE INTOXICACIONES AGUDAS CAUSADAS POR PLAGUICIDAS INCAP, ECO & UNED, Guatemala. 105pp

36. Internacional Organization for Standardization ISO. 1990. General requeriments for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC Guide 25. ISO. Switzerland. 26pp

37. Junk,G.; Richard,J., 1988 "ORGANICS IN WATER: SOLID PHASE EXTRACTION ON A SMALL SCALE" Analytical Chemistry (USA) 60 (5) 451-454

38. Klee m. 1991 CG-INLETS- AN INTRODUCTION Hewlett- Packard Co. USA 132pp

39. Laboratory of National Envioromental Research Center. 1977 MANUAL OF ANALYTICAL METHODS sección 10 A USA 25pp

40. Laramée, J.; Eichinger, P., Mazurkiewicz, P., Deinzer, M. 1995 "ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHATE PESTICIDES BY ON TROCHOIDAL ELECTRON MONOCHOMATOR MASS ESPECTOMETER SYSTEM" Analytical Chemistry (USA) 67 (19) 3476-3481

41. Lautenschläger. 1988 PREPARACION DE MUESTRAS CON FASES QUIMICAMENTE ENLAZADAS. Merck, Frankfurter Strabe 250. 30pp.

42. López, J. 1989 FACTORES EPIDEMIOLOGICOS Y ENTOMOLÓGICOS QUE INFLUYEN EN LA PERSISTENCIA DE MALARIA EN BANDEGUA Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala. 54pp

43. Magzul A. 1992 PLAGUICIDA ALTERNATIVO Y DAÑO A LA SALUD Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala. 56pp.

44. Manahan S. 1991 TOXICOLOGICAL CHEMISTRY Lewis Publishers INC. USA 315pp

45. Matsumura, F. 1975 TOXICOLOGY OF INSECTICIDES Plenum Press. England 502 pp

46. Meister Publishing Company. 1996 FARM CHEMICALS HANDBOOK, University of Illinois. USA. Secc.C 450pp

47. Melon, C. 1995 PESTICIDES LABORATORY TRAINING MANUAL. Central America. 645pp.

48. MERCK INDEX AN ENCYCLOPEDIA OF CHEMICALS AND DRUGS. 1976 Merck & Co. Inc. 9a. ed. Rahway N.J. USA 1308pp.

49. National Water Quality Database of Canada NAQUADAT. 1978. November Organophosporus Pesticides (Gas Choramatographic Method B) 119-124 p.

50. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 1980. THE OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE. France. 21pp.

51. Organización Mundial para la Salud (OMS) 1986 PLAGUICIDAS: LA PREVENCIÓN DE RIESGOS EN SU USO, MANUAL DE ADIESTRAMIENTO. 2da. ed. México D.F. 205pp

52. Roe, J. 1995. SPECTROSCOPIC AND ANALYTICAL INSTRUMENTATION FACILITY University of Washington, USA 30 pp. http://www.chem.washington.edu

53. Sandoval, A. 1991 EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE CONTAMINACIÓN DE LOS ACUÍFEROS SUPERFICIALES POR PRODUCTOS BIOCIDAS AGRÍCOLAS EN COMUNIDADES DE LA UNIDAD DE RIEGO DE LA LAGUNA DEL HOYO, MONJAS JALAPA. Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de San Carlos de Guatemala . 141pp

54. Senseman, S.; Lavy, T., Mattice, J. 1995 "DESICCATION EFFECTS ON STABILITY OF PESTICIDES STORED ON SOLID PHASE EXTRACTION DISKS" Analytical Chemistry (USA) 67 (17) 3064-3068.

55. Skoog, D.; Leary, J. 1994 ANÁLISIS INSTRUMENTAL 4ta.ed Editorial Interamericana España. 935pp.

56. Stahr, H. 1991 ANALYTICAL METHODS IN TOXICOLOGY Wiley-Interscience Publication N.Y. USA. 328pp.

57. Swokowski, 1989 ALGEBRA Y TRIGONOMETRIA CON GEOMETRIA ANALITICA. Programas educativos, S.A. de C.V. México D.F. 644pp

58. United States Pharmacopeia, 1990 THE UNITED STATES PHARMACOPEIA XXII AND THE NATIONAL FORMULARY XVII. USP Convention Inc. USA. 2064pp

59. Van Horne, K.C. 1992 SORBENT EXTRACTION TECHNOLOGY Analytichem International, Inc. Harbor City, CA USA. 12pp.

60. Van Horne, K.C. 1994 METHOD DEVELOPMENT- SAMPLE MATRIX CONSIDERATIONS Analytichem International, Inc. Harbor City, CA USA. 12pp.

61. Wilson, M.; Buffington, R. 1987 DETECTORS FOR GAS CHROMATOGRAPHY . Hewlett Packard Co. USA 106pp

62. World Health Organization 1984. GOOD LABORATORY PRACTICES AND GOVERNMENTAL DRUG LABORATORIOES. Geneva 56pp.

63. Zweig,G. 1972 ANALYTICAL METHODS FOR PESTICIDES, PLANT AND FOOD ADDITIVES. Vol. I, II & VI. Academic Press New York, USA 619pp

ANEXOS

ANEXO No. 1

ESPECIFICACIONES DE LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS INCLUIDOS EN EL UNIVERSO DE TRABAJO

CUADRO No.A.1.1
PROPIEDADES DE PLAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS DE INTERÉS

PLAGUICIDA	DENSIDAD	PUNTO DE EBULLICIÓN	PUNTO DE FUSIÓN	SOLUBILIDAD
MONITOR	------	------	------	Soluble en agua 1:1. Miscible en Acetona
DDVP	1.415	140°C	-----	Miscible en alcohol
FOSDRIN	1.250	106.5°C	-----	Miscible en alcohol y acetona
FORATO	1.152	75-78°C	-----	Miscible en xileno, soluble en 50ppm de agua
CIGÓN	1.277	------	52-52.5°C	Poco soluble en agua, soluble en solv. orgánicos
DIAZINÓN	1.117	83-84°C	-----	Miscible en alcohol y éter de Petróleo
DISISTÓN	1.144	108°C	-----	Insoluble en agua
METIL PARATIÓN	1.358	------	37-38°C	0.5mg solubles en 1 mL de agua
MALATIÓN	1.230	156-157°C	2.9°C	Miscible en alcohol y acetona. Se hidroliza a pH mayor de 7 o menor de 5
CLORPIRIFOS	------	-----	41-42°C	0.02 mg solubles en 1ml de agua
ETION	1.220	-----	-12°C	Soluble en xileno y diclorometano
ZOLONE	------	-----	47.5-48°C	Soluble en acetona y alcohol
GUTION	1.440	-----	73-74°C	Soluble en xileno y etanol
CO-RAL	------	----	91°C	Soluble en cloroformo, estabLe en agua

(9,16,37)

----- Indica que no se encontró información sobre el plaguicida

CUADRO No.A.1.2
PROPIEDADES DE PLAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS DE INTERÉS

PLAGUICIDA	DL 50 (1)	Prohibido en...	Cultivos en donde más se usa
MONITOR	50	2	A,F
DDVP	100	----	A,E,F
FOSDRIN	7	3,7	A,B,C,D,E,F,G
FORATO	2	1,6,7	A,E
CIGÓN	215	1,2,3	A,E,F
DIAZINÓN	300	2,5	A,B,G,H,I,J,
DISISTÓN	2	1,7,	A,B,C,D,E
METIL PARATION	6	2,4,7	A,B,E,F,G,H,I,J
MALATIÓN	1375	1	A,E,F,G,H,I,J
CLORPIRIFOS	96	-----	B,F,G
ETION	27	2	E,H,I
ZOLONE	120		B,F,G
GUTION	11	1,2,4	H
CO-RAL	1740	5	----

(9,16,37)

- (1) DL50: dosis letal para el 50% de la población en mg de plaguicidas por kilogramo de peso del individuo.

1. Canadá
2. Belice
3. Ecuador
4. Estados Unidos
5. Guatemala
6. México
7. Panamá

A. Hojas (lechuga)
B. Brassicas (bróculi)
C. Ejote
D. Espárrago
E. Tomate
F. Bulbos (papa)
G. Fresa

H. Lima
I. Melón
J. Raíces

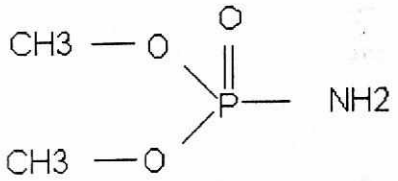
CUADRO No.A.1.3
SINÓNIMOS Y NOMBRES IUPAC DE LOS
PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS DE INTERÉS.

PLAGUICIDA	SINÓNIMOS
MONITOR	METAMIDOFOS
DDVP	2,2 diclorovinil dimetil fosfoato. DICLORVOS.
FOSDRIN	Isómero alfa del 2-carbometoxi-1- metilvinil dimetil fosfato (63%) . Isómero beta equivale al (25%). MEVINFOS
FORATO	O,O, dietil S- [(etil tio) metil] fosforoditioato THIMET
CIGÓN	O,O-dimetil S- metil cabamoilmetil fósforo dietoato. DIMETOATO, FOSFAMID
DIAZINÓN	DIAZONYL
DISISTÓN	O,O, dietil S- [2-(etiltio)etil] fosforoditioato DISULFOTÓN
METIL PARATIÓN	O,O, dimetil o-(4-nitrofenil) fosforotioato METAFÓS
MALATIÓN	O,O, dimetil fosforodiotioato de dietil mercaptosuccionato. MERCAPTOTION, CARBOFÓS
CLORPIRIFOS	Ácido O, O dietil O-(3,5,6- tricloro 2-pidinil) éster fosforotioico. CLORPIRIFOS
ETIÓN	Ácido S, S´metilen O,O,O´ tetraetil éster DIETHION
ZOLONE	S-[(6-cloro-2-oxo-3 {2H}- benzoxazolyl) metil] O,O, dietil fosforodietioato. FOSALONE
GUTIÓN	O,O dimetil S-[(4oxo-1,2,3 benzotirazina -3[4 pirimilil})] fosforotioato. AZINFOS METIL
CO-RAL	Ácido O-(3-cloro-4metil 2-oxo- 2H- 1benzopir 7-il) oO,O dietil éster fosforotioico. COUMANFOS

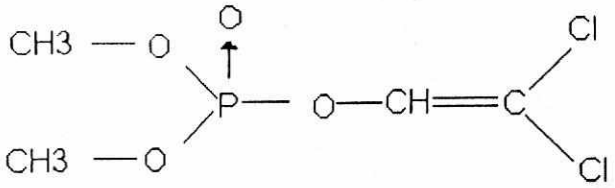
(16,35)

CUADRO No.A.1.1.4
ESTRUCTURAS DE LOS PLAGUICIDAS
ORGANOFOSFORADOS DE INTERÉS

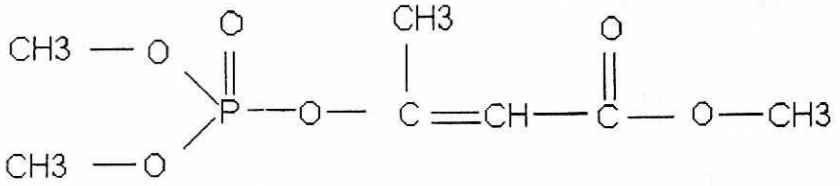
MONITOR:



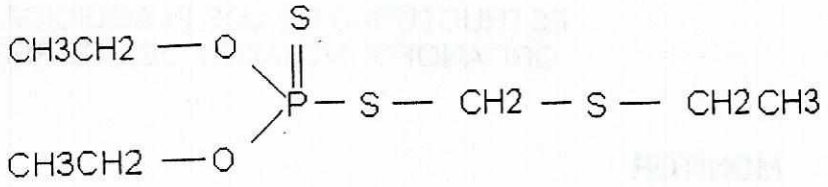
DDVP



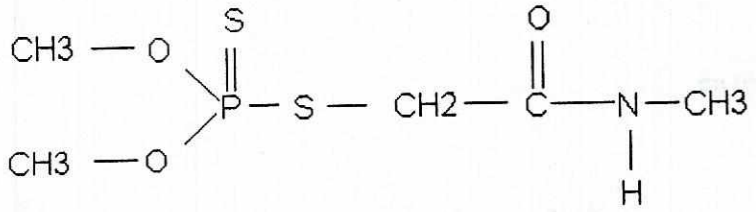
FOSDRIN



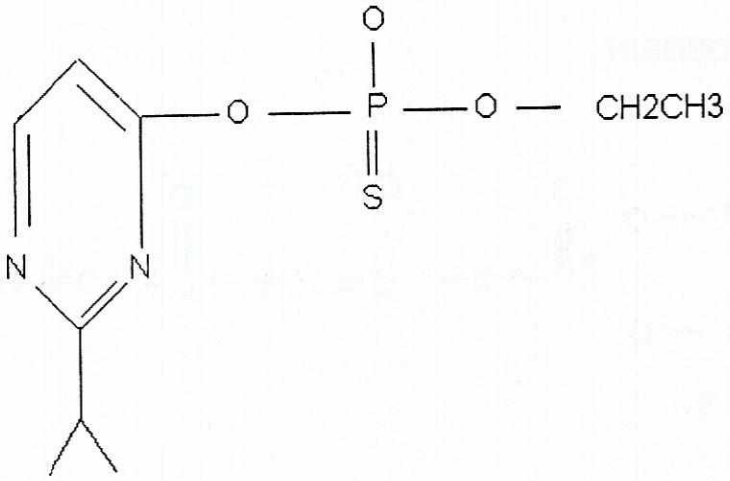
FORATO



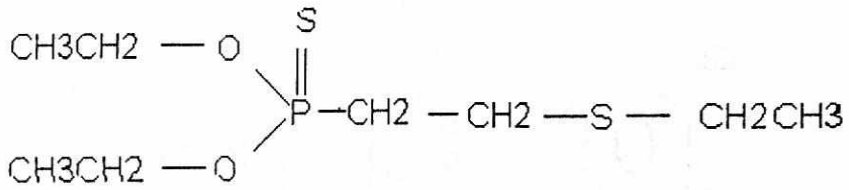
CIGON



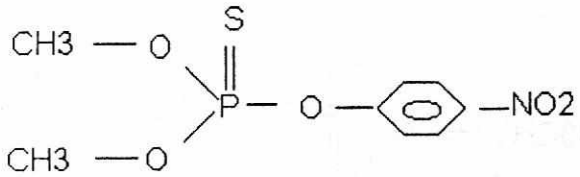
DIAZINON



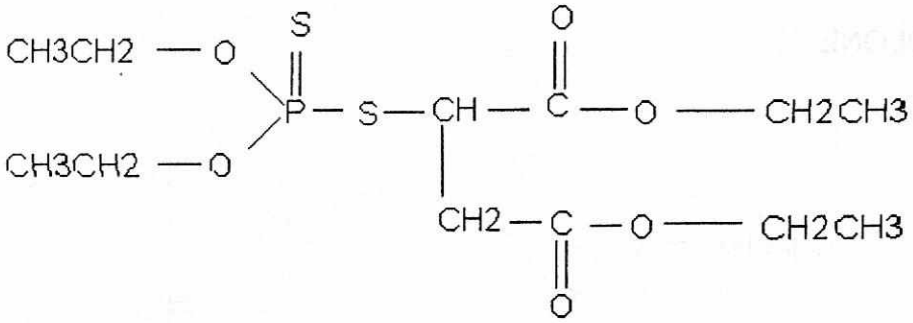
DISISTON



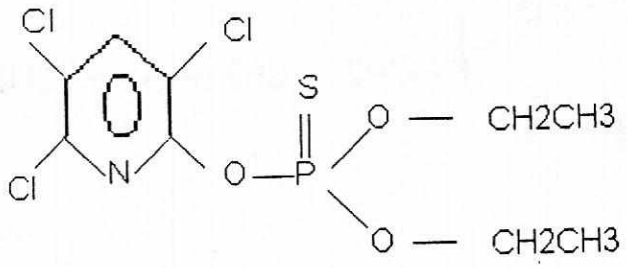
METIL PARATION



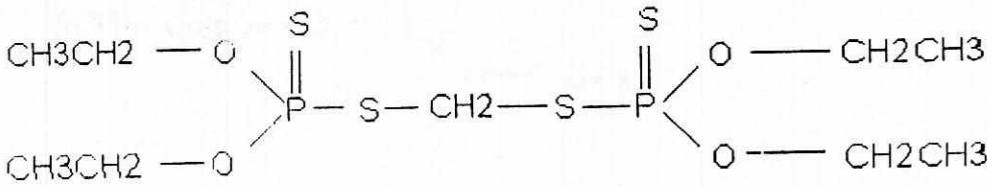
MALATION



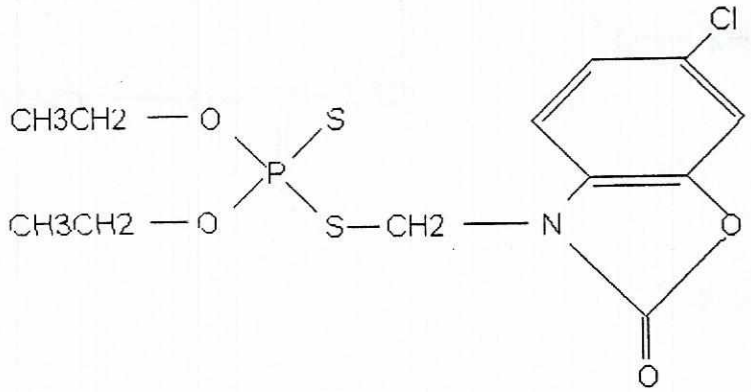
CLORPIRIFOS



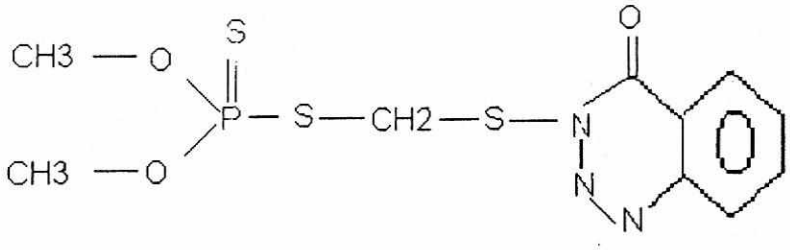
ETION



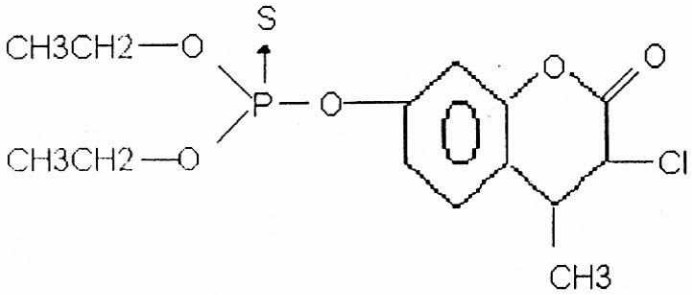
ZOLONE



GUTION



CO-RAL

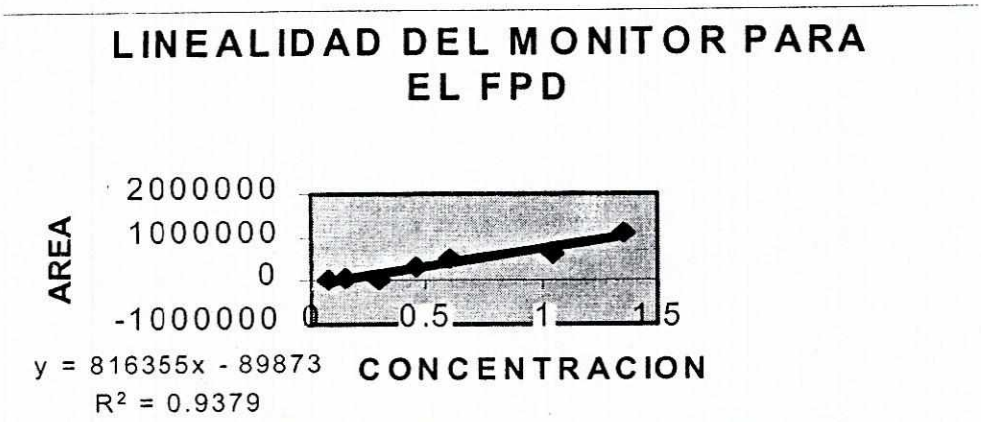


ANEXO No. 2

ANÁLISIS DE LINEALIDAD DEL ECD Y FPD

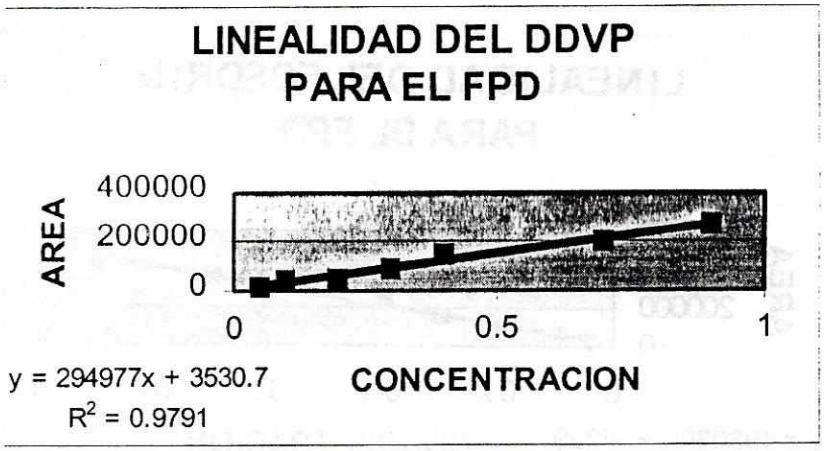
CUADRO No. A.2.1
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL MONITOR EN EL ECD Y FPD

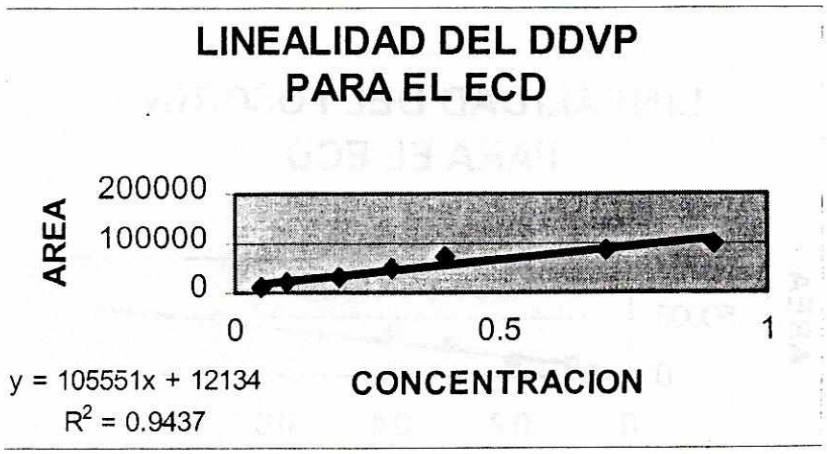
CONC.	ECD	FPD
0,075	0,00E+00	1,48E+04
0,15	0,00E+00	5,51E+04
0,3	0,00E+00	2,00E+05
0,45	0,00E+00	3,22E+05
0,6	0,00E+00	4,85E+05
1,05	0,00E+00	6,19E+05
1,35	0,00E+00	1,10E+06



CUADRO No. A.2.2
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL DDVP EN EL ECD Y FPD

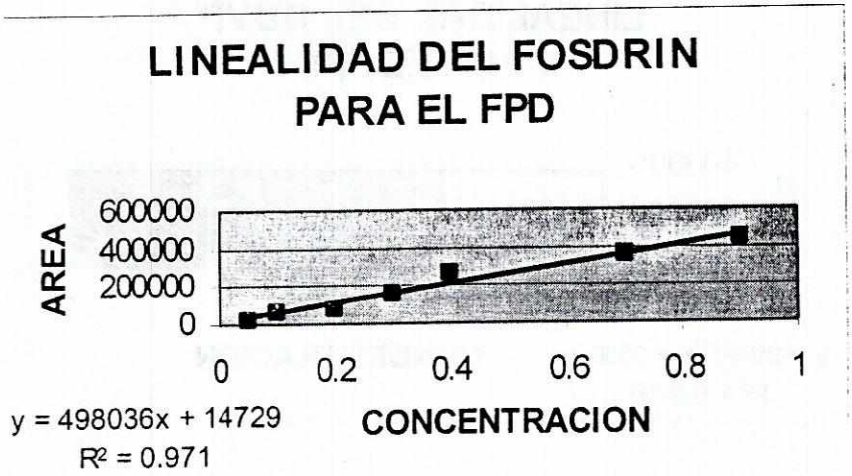
CONC.	ECD	FPD
0,05	5,85E+03	2,79E+04
0,1	1,42E+04	7,80E+04
0,2	1,87E+04	1,28E+05
0,3	2,82E+04	2,04E+05
0,4	3,76E+04	3,00E+05
0,7	4,62E+04	3,74E+05
0,9	5,11E+04	4,63E+05

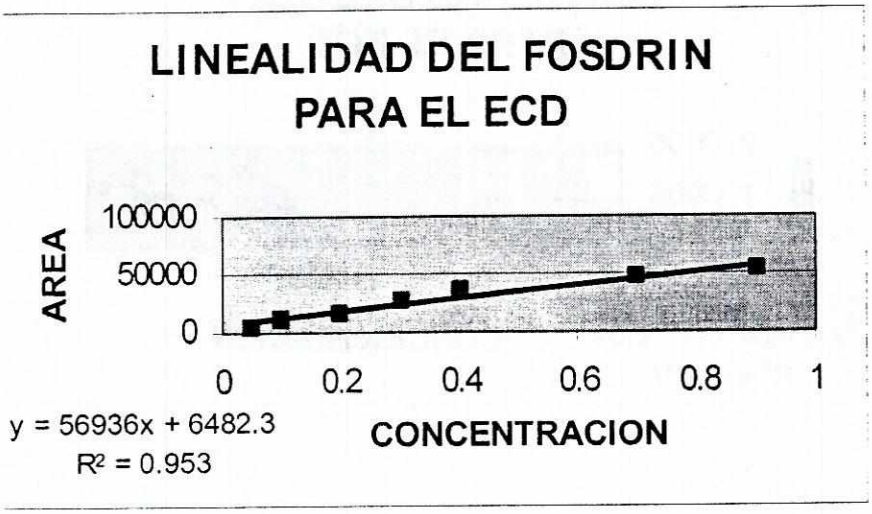




CUADRO No. A.2.
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL FOSDRIN EN EL ECD Y FPD

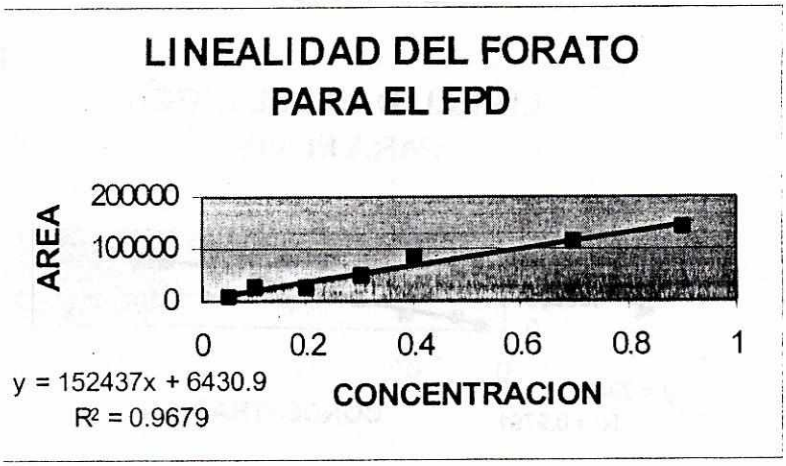
CON.	ECD	FPD
0,05	4756,36	2,23E+04
0,1	1,14E+04	7,20E+04
0,2	1,67E+04	8,46E+04
0,3	2,64E+04	1,69E+05
0,4	3,64E+04	2,67E+05
0,7	4,66E+04	3,64E+05
0,9	5,40E+04	4,44E+05

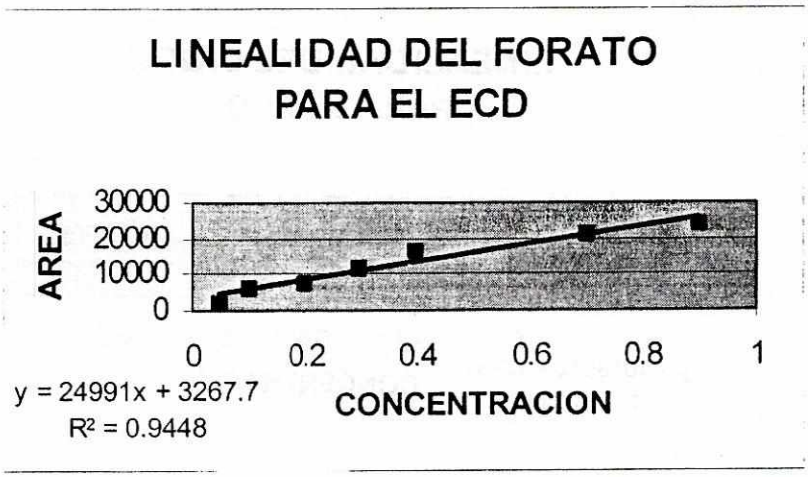




CUADRO No. A.2.4
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL FORATO EN EL ECD Y FPD

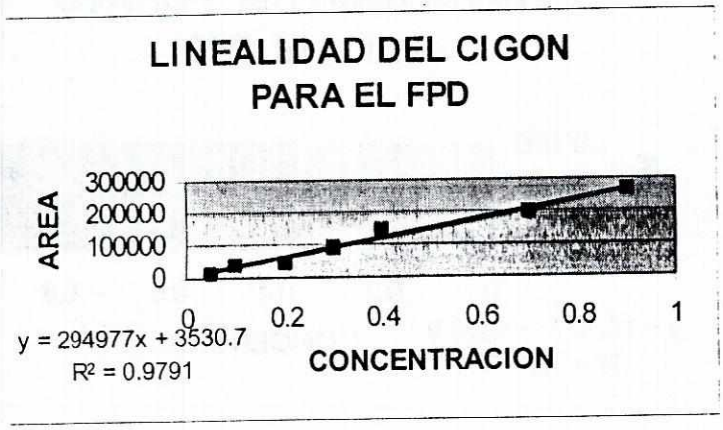
CON.	ECD	FPD
0,05	2,17E+03	7794
0,1	5,87E+03	26488
0,2	7,56E+03	27407
0,3	1,19E+04	52070
0,4	1,67E+04	84377
0,7	2,08E+04	111621
0,9	2,41E+04	139218

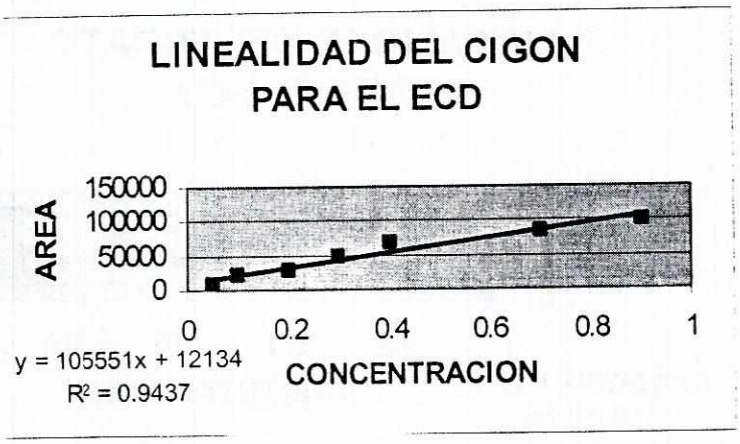




CUADRO No. A.2.5
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL CIGÓN EN EL ECD Y FPD

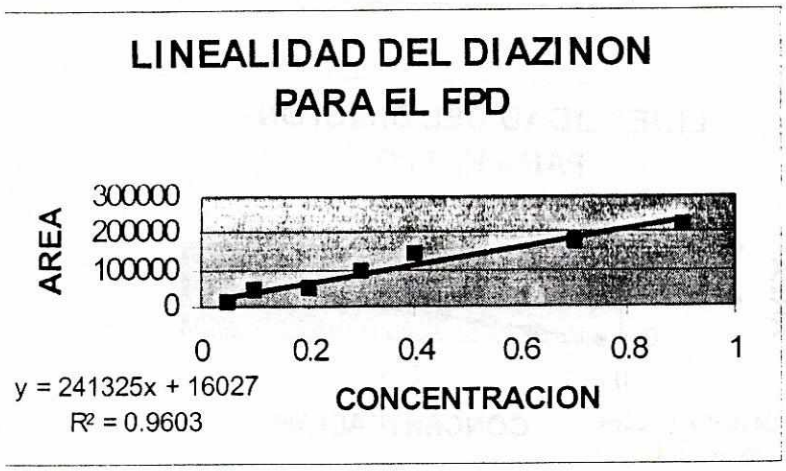
CON.	ECD	FPD
0,05	9076	11530
0,1	21473	40654
0,2	2,94E+04	45262
0,3	4,89E+04	93032
0,4	6,97E+04	146923
0,7	8,61E+04	202092
0,9	1,00E+05	266910

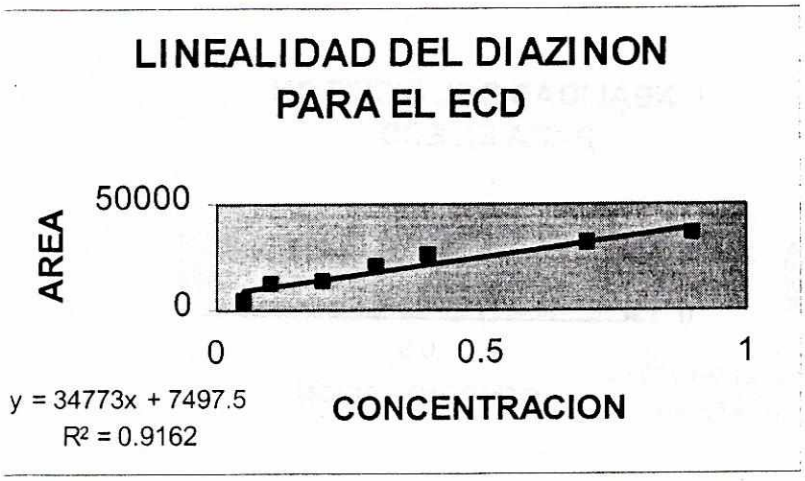




CUADRO No. A.2.6.
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL DIAZINÓN EN EL ECD Y FPD

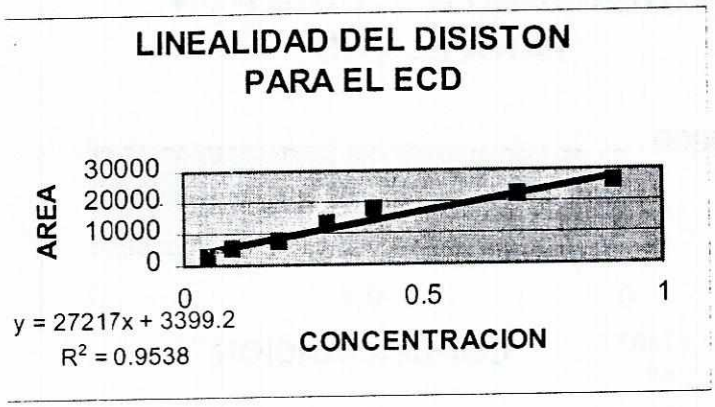
CON.	ECD	FPD
0,05	4,23E+03	1,37E+04
0,1	1,28E+04	4,28E+04
0,2	1,31E+04	5,13E+04
0,3	2,00E+04	9,79E+04
0,4	2,65E+04	1,42E+05
0,7	3,16E+04	1,79E+05
0,9	3,64E+04	2,25E+05





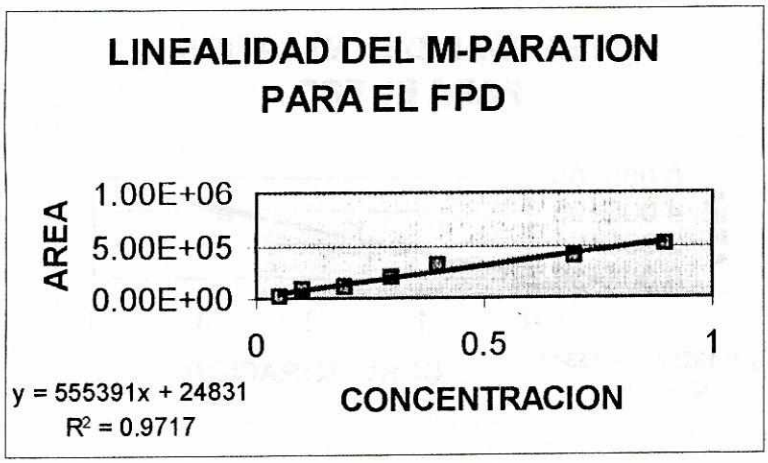
CUADRO No. A.2.7
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL DISISTÓN EN EL ECD Y FPD

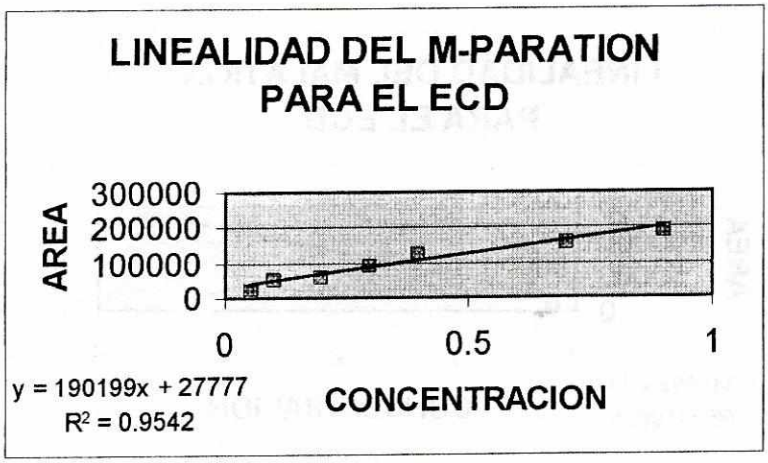
CON.	ECD	FPD
0,05	2,91E+03	12151
0,1	5,64E+03	38908
0,2	7,87E+03	46007
0,3	1,31E+04	88116
0,4	1,77E+04	130660
0,7	2,25E+04	173420
0,9	2,62E+04	222920



CUADRO No. A.2.8
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL METIL PARATIÓN EN EL ECD Y FPD

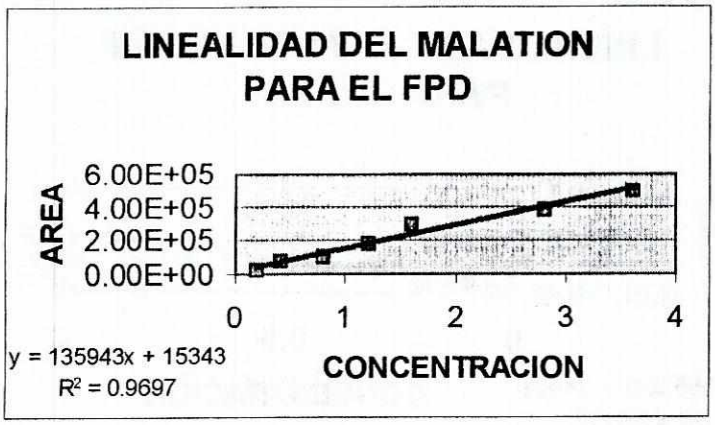
CON.	ECD	FPD
0,05	18267	2,69E+04
0,1	5,47E+04	8,17E+04
0,2	5,93E+04	1,11E+05
0,3	9,22E+04	2,09E+05
0,4	1,25E+05	3,05E+05
0,7	1,58E+05	4,07E+05
0,9	1,91E+05	5,05E+05

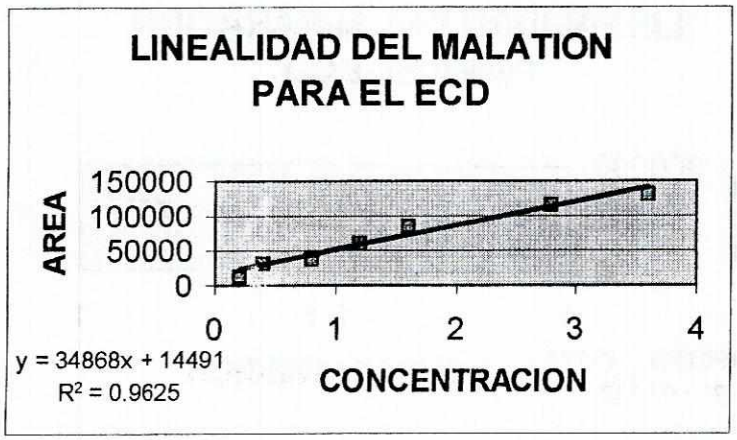




CUADRO No.A.2.9
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL MALATIÓN EN EL ECD Y FPD

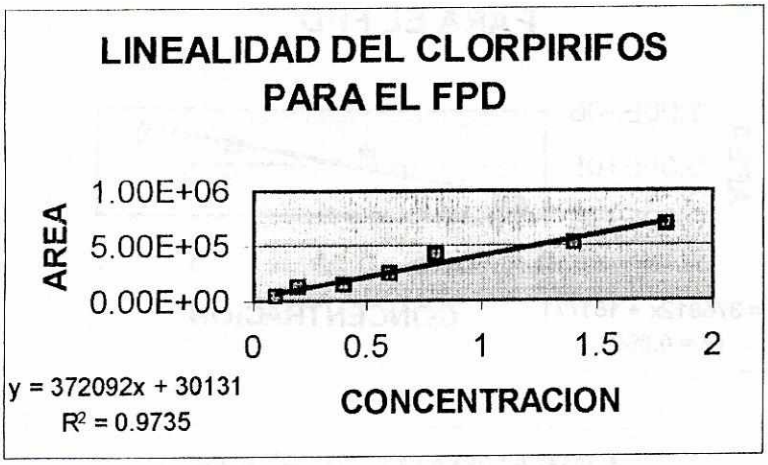
CON.	ECD	FPD
0,2	12199	2,33E+04
0,4	31135	7,53E+04
0,8	3,66E+04	9,88E+04
1,2	5,88E+04	1,80E+05
1,6	8,53E+04	2,97E+05
2,8	1,16E+05	3,79E+05
3,6	1,31E+05	4,95E+05

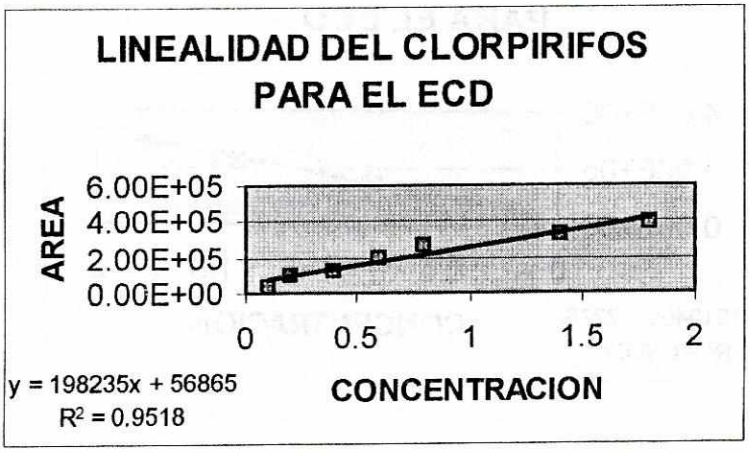




CUADRO No. A.2.10
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL CLORPIRIFOS EN EL ECD Y FPD

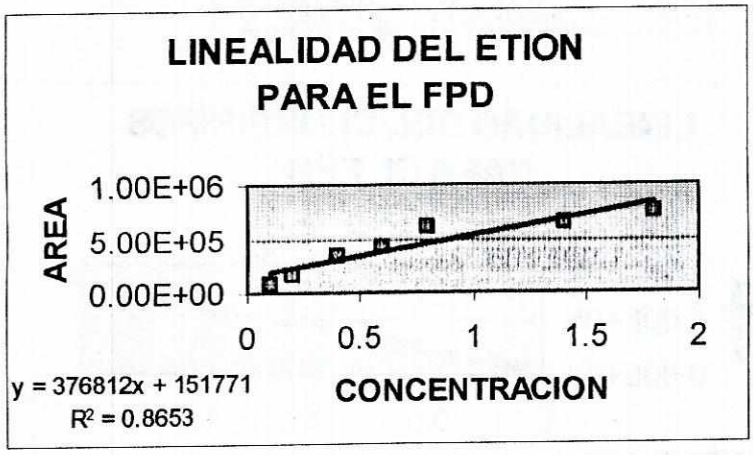
CON.	ECD	FPD
0,1	4,07E+04	3,60E+04
0,2	1,02E+05	1,16E+05
0,4	1,24E+05	1,48E+05
0,6	1,93E+05	2,60E+05
0,8	2,66E+05	4,07E+05
1,4	3,30E+05	5,29E+05
1,8	3,93E+05	6,87E+05

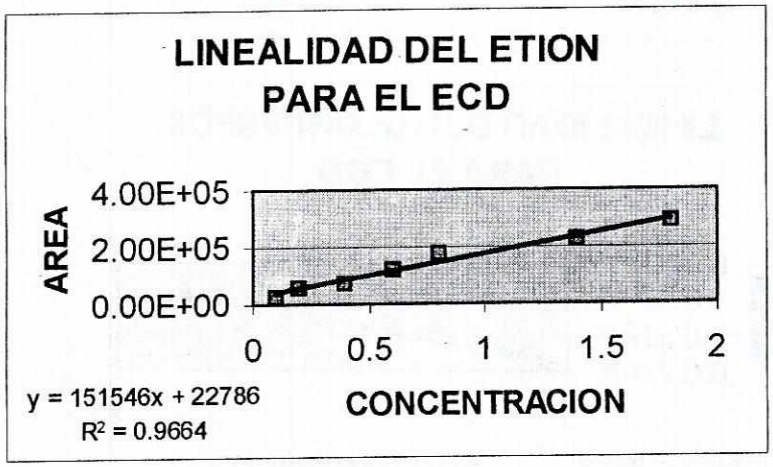




CUADRO No. A.2.11
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL ETION EN EL ECD Y FPD

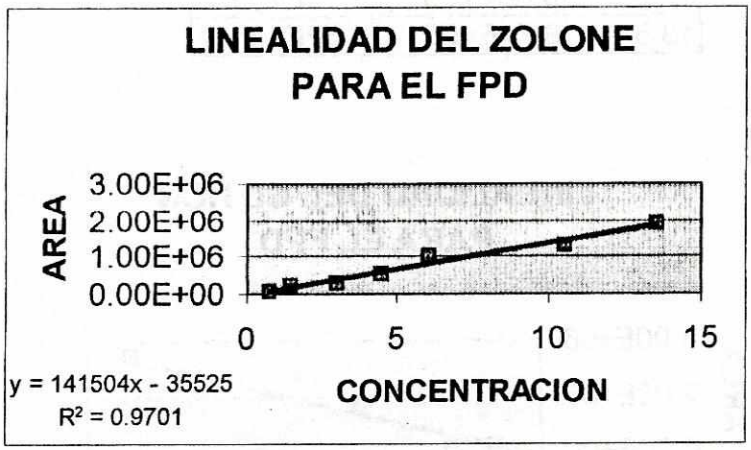
CON.	ECD	FPD
0,1	2,16E+04	8,15E+04
0,2	5,51E+04	1,64E+05
0,4	7,10E+04	3,49E+05
0,6	1,21E+05	4,32E+05
0,8	1,80E+05	6,17E+05
1,4	2,28E+05	6,56E+05
1,8	2,86E+05	7,60E+05

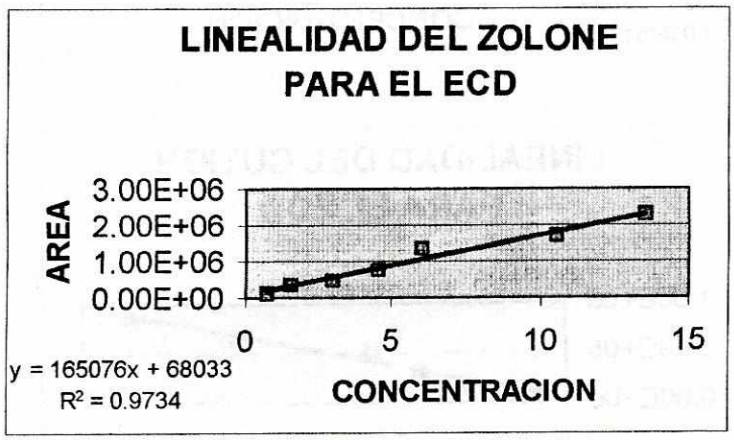




CUADRO No. A.2.12
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL ZOLONE EN EL ECD Y FPD

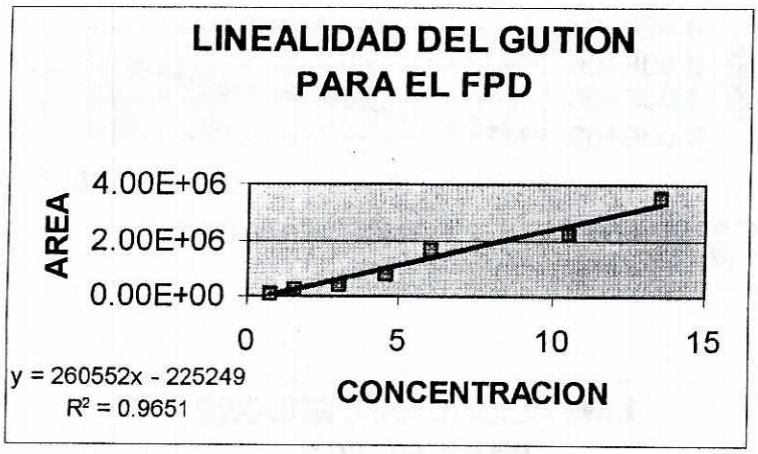
CON.	ECD	FPD
0,75	1,32E+05	6,71E+04
1,5	3,50E+05	2,19E+05
3	4,51E+05	2,80E+05
4,5	7,85E+05	5,40E+05
6	1,33E+06	1,03E+06
10,5	1,71E+06	1,32E+06
13,5	2,28E+06	1,92E+06

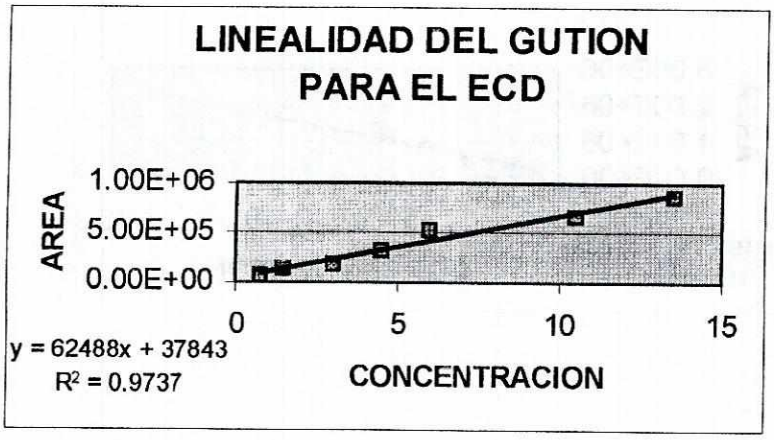




CUADRO No. A.2.13
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL GUTIÓN EN EL ECD Y FPD

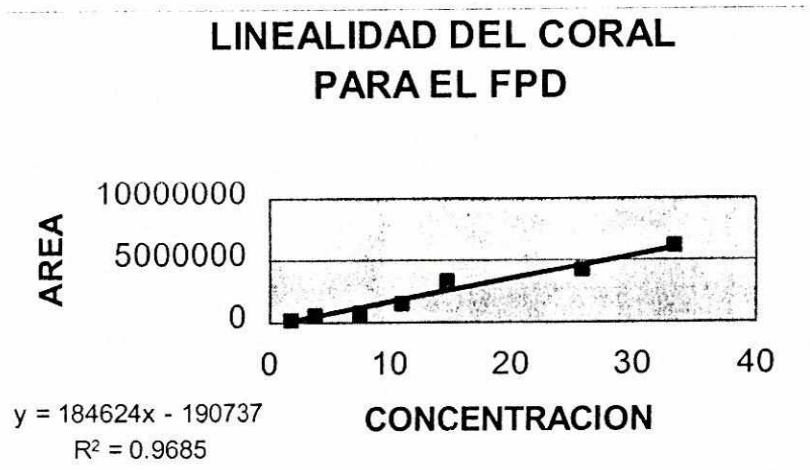
CON.	ECD	FPD
0,75	5,88E+04	7,62E+04
1,5	1,45E+05	2,68E+05
3	1,85E+05	3,63E+05
4,50	3,11E+05	7,73E+05
6	5,15E+05	1,61E+06
10,5	6,60E+05	2,17E+06
13,5	8,74E+05	3,52E+06

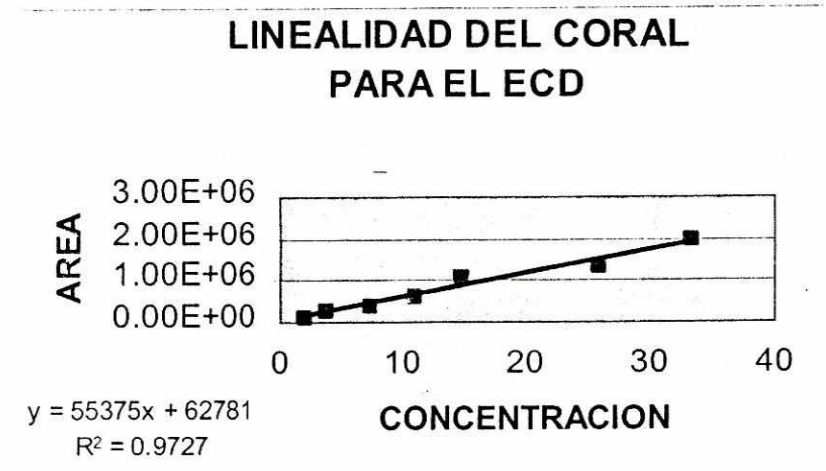




CUADRO No. A.2.14
CONCENTRACIÓN (ppm) Y RESPUESTA (área) DEL CO-RAL EN EL ECD Y FPD

CON.	ECD	FPD
1,85	1,40E+05	196397
3,7	2,94E+05	553654
7,4	4,12E+05	864699
11,1	6,33E+05	1580270
14,8	1,08E+06	3291070
25,9	1,35E+06	4201400
33,3	1,96E+06	6079700





ANEXO No. 3

NORMAS DE RESTRICCIÓN DE PLAGUICIDAS EN AGUA POTABLE

CUADRO No.A.3.1

RESIDUOS	COGUANOR 29001 1985		CAPRE 1993	OPS 1985	EPA 1992	EC 1992
	LMA µg/l	LMP µg/l	VMA µg/l	LMP µg/l	LMP µg/l	LMPµg/l
PLAGUICIDAS ORGANOCLORADOS						
DDT + TDE + DDE	50.0	50.0	2.0	1.0	M	0.1
HEXACLOROBENCENO	NS	NS	NS	NS	M	0.1
ALDRIN	1.0	17.0	0.03	0.03	M	0.1
DIELDRIN	1.0	17.0	0.03	0.03	M	0.1
HEPTACLORO	0.1	18.0	0.03	0.1	0.4	0.1
EPOXIDO DE HEPTACLORO	0.1	18.0	0.03	0.1	0.2	0.1
LINDANO	4.0	56.0	2.0	3.0	0.2	0.1
ENDRIN	0.2	1.0	NS	NS	0.2	0.1
METOXICLORO	35.0	35.0	20.0	30.0	40.0	0.1
CLORDANO	3.0	3.0	0.2	0.3	2.0	0.1
TAXAFENO	5.0	25.0	NS	NS	3.0	0.1
PENTACLOROFENOL	NS	NS	9.0	NS	1.0	0.1
DINOSEB	NS	NS	NS	NS	M	0.1
FENOXIACIDOS						
2,4-D	20.0	100.0	30.0	100.0	70.0	0.1
2,4,5-TP (SILVEX)	30.0	100.0	9.0	NS	50.0	0.1
2,4,5-T	20.0	100.0	9.0	NS	NS	0.1
MECOPROP	NS	NS	10.0	NS	NS	0.1
DICLORPROP	NS	NS	100.0	NS	NS	0.1
MCPA	NS	NS	2.0	NS	NS	0.1
DICAMBA	NS	NS	NS	NS	M	0.1
PICLORAM	NS	NS	NS	NS	M	0.1

DALAPON	NS	NS	NS	NS	M	0.1
ENDOTAL	NS	NS	NS	NS	M	0.1
FUNGICIDAS						
DBCP (1,2-dibromo-3,3-cloropropano)	NS	NS	1.0	NS	0.2	0.1
EBD (Etilenedibromo)	NS	NS	NS	NS	0.05	0.1
1,2-DICLOROPROPANO	NS	NS	20.0	NS	NS	0.1
1,3-DICLOROPROPANO	NS	NS	20.0	NS	NS	0.1
TRIAZINAS						
ATRAZINA	NS	NS	2.0	NS	3.0	0.1
SIMAZINE	NS	NS	2.0	NS	M	0.1
METRIBUZIN	NS	NS	NS	NS	M	0.1
ACETANILIDAS						
ALACHLOR	NS	NS	20.0	NS	2.0	0.1
METOLACLORO	NS	NS	10.0	NS	M	0.1
PROPACLORO	NS	NS	NS	NS	M	0.1
BUTACLORO	NS	NS	NS	NS	M	0.1
CARBAMATOS						
ALDICARB	NS	NS	10.0	NS	3.0	0.1
ALDICARB SULFOXIDE *	NS	NS	NS	NS	3.0	0.1
ALDICARB SULFONE *	NS	NS	NS	NS	3.0	0.1
CARBOFURAN	NS	NS	5.0	NS	40.0	0.1
3-HYDROXYCARBOFURAN	NS	NS	NS	NS	M	0.1
OXAMYL	NS	NS	NS	NS	M	0.1
MET OMYL	NS	NS	NS	NS	M	0.1
BENTAZON	NS	NS	30.0	NS	NS	0.1

MOLINATO	NS	NS	6.0	NS	NS	0.1
PENDIMETALINO	NS	NS	20.0	NS	NS	0.1
ISOPROTURON	NS	NS	9.0	NS	NS	0.1
PYRETROIDES						
PERMET RINA	NS	NS	20.0	NS	NS	0.1
AMIDAS						
PROPANIL	NS	NS	20.0	NS	NS	0.1
PIRIDATO	NS	NS	100.0	NS	NS	0.1
TRIFLURALINA	NS	NS	20.0	NS	NS	0.1
DIQUAT	NS	NS	NS	NS	M	0.1
CARBAMATOS * ORGANOFOSFORADOS	100	100	NS	NS	NS	NS

NS = No se especifica en la norma
LMA = Límite máximo aceptable
LMP = Límite máximo permisible
VMA = Valor máximo admisible
M = No se tiene definido el valor máximo del nivel del contaminante

CAPRE = Comité de Agua Potable para la Región
COGUANOR = Comité Guatemalteco de Normas
EC = Límite de plaguicidas para la comunidad europea, impuesta desde 1992
EPA = Environmental Protection Agency
OPS = Organización panamericana de la salud

(8, 11, 17, 24)

ANEXO No. 4

EVALUACIÓN DE REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN EN EL SISTEMA CROMATOGRÁFICO EN EL ECD Y FPD PARA LOS TRES NIVELES DE CONCENTRACIÓN

(Calculado como porcentaje)

CUADRO No. A.4.1
PROMEDIO DE REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN PARA CADA PLAGUICIDA EN EL ECD EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	103.66	97.24	77.83	43.80	74.55	65.22
FOSDRIN	92.90	101.16	80.88	80.20	81.81	68.58
FORATO	84.95	105.56	85.33	87.11	82.08	77.91
CIGÓN	80.92	120.61	86.15	86.25	81.17	60.31
DIAZINÓN	76.95	107.78	78.79	78.75	85.72	73.05
DISISTÓN	82.98	103.19	83.66	84.18	85.26	76.41
METIL PARATIÓN	83.08	48.10	83.19	84.26	78.66	77.57
MALATIÓN	83.11	97.84	79.56	79.27	78.26	71.80
CLORPIRIFOS	78.79	102.60	82.91	82.48	82.55	74.83
ETION	77.46	102.64	78.68	80.58	76.17	68.82
ZOLONE	69.69	97.57	74.16	72.12	69.26	61.03
GUTIÓN	70.14	97.45	76.15	72.77	75.00	62.31
CO-RAL	69.45	96.12	83.33	72.58	74.50	62.44

CUADRO No.A.4.2
PROMEDIO DE REPETIBILIDAD DE INYECCIÓN PARA CADA PLAGUICIDA EN EL FPD EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	90.09	58.67	41.78	103.47	40.93	130.84
DDVP	100.80	80.24	74.79	116.70	94.69	101.27
FOSDRIN	100.00	74.85	73.02	99.66	70.81	80.31
FORATO	104.17	80.71	79.78	113.33	81.41	83.01
CIGÓN	98.24	71.14	69.97	102.04	68.23	82.18
DIAZINÓN	101.30	77.69	73.09	100.33	74.33	85.84
DISISTÓN	101.12	77.56	74.76	103.10	74.66	88.11
METIL PARATIÓN	104.99	79.62	78.63	114.07	77.24	95.36
MALATIÓN	103.02	77.39	75.38	105.84	73.59	83.88
CLORPIRIFOS	98.98	73.46	70.27	97.34	67.88	84.19
ETION	99.98	71.43	71.31	101.15	64.48	71.86
ZOLONE	95.62	68.95	64.35	97.99	59.79	97.98
GUTIÓN	96.16	66.61	62.54	95.78	58.07	63.94
CO-RAL	93.41	73.94	62.15	96.45	60.04	62.98

CUADRO No.A.4.3
PROMEDIO DE REPETIBILIDAD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL ECD EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	87.02	75.99	82.57	80.83	71.34	88.91
FOSDRIN	93.84	83.40	96.43	95.39	95.48	100.70
FORATO	95.78	83.40	96.24	94.48	93.17	99.98
CIGÓN	90.06	76.25	65.00	83.12	83.14	80.08
DIAZINÓN	96.96	93.93	97.54	95.60	93.07	99.69
DISISTÓN	96.56	80.93	95.01	92.60	91.33	98.03
METIL PARATIÓN	98.26	80.82	96.46	92.90	92.44	98.49
MALATIÓN	97.72	82.35	95.41	94.83	91.01	97.53
CLORPIRIFOS	99.26	80.55	98.53	94.17.	93.78	100.16
ETION	104.20	82.13	97.37	98.37	92.29	97.85
ZOLONE	110.73	77.13	95.67	100.33	91.02	936.39
GUTIÓN	110.31	75.11	96.43	100.31	92.17	96.39
CO-RAL	112.65	77.81	93.47	99.83	89.81	94.11

CUADRO No.A.4.4
PROMEDIO DE REPETIBILIDAD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL FPD EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	86.56	69.93	82.06	80.79	80.63	90.03
DDVP	84.68	68.23	78.19	78.81	75.80	72.33
FOSDRIN	87.73	71.11	85.13	80.97	79.18	89.44
FORATO	90.36	70.34	84.74	81.16	80.28	91.71
CIGÓN	88.06	69.71	83.02	81.62	79.39	85.67
DIAZINÓN	91.01	72.91	86.95	85.47	79.45	90.77
DISISTÓN	92.78	73.55	87.77	86.00	81.19	90.55
METIL PARATIÓN	94.17	67.75	97.36	81.76	77.11	90.45
MALATIÓN	95.29	71.68	89.64	85.22	80.22	89.89
CLORPIRIFOS	90.58	67.93	86.14	83.22	77.29	87.02
ETION	100.75	65.70	85.99	83.46	78.09	86.18
ZOLONE	107.79	65.65	86.18	87.52	79.59	87.08
GUTIÓN	109.17	65.10	86.88	90.71	81.00	87.19
CO-RAL	112.49	65.14	83.34	90.67	77.53	83.45

CUADRO No. A.4.5
PROMEDIO DE REPETIBILIDAD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL ECD EN EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	89.60	82.88	75.02	79.63	83.89	79.95
FOSDRIN	98.06	94.53	89.66	97.27	110.15	107.83
FORATO	98.81	95.56	90.05	97.47	113.84	109.64
CIGÓN	100.08	94.34	94.34	98.78	115.85	108.53
DIAZINÓN	102.84	96.45	93.05	99.56	116.19	113.79
DISISTÓN	101.92	121.00	89.79	95.05	114.70	110.58
METIL PARATIÓN	104.06	95.07	91.38	96.22	118.73	114.71
MALATIÓN	103.39	91.46	90.38	93.42	118.12	115.04
CLORPIRIFOS	106.31	94.75	94.09	97.88	124.45	120.09
ETION	106.34	86.68	92.15	94.80	130.89	120.77
ZOLONE	108.48	84.21	93.18	99.00	142.41	115.41
GUTIÓN	107.95	85.06	93.56	98.35	138.69	114.23
CO-RAL	109.99	87.99	96.35	103.71	143.52	107.41

CUADRO No.A.4.6
PROMEDIO DE REPETIBILIDAD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL FPD EN EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	88.98	81.99	73.97	82.86	98.96	94.49
DDVP	90.85	84.09	75.94	85.77	97.28	92.45
FOSDRIN	89.98	82.24	73.67	83.79	98.60	94.95
FORATO	94.77	84.45	75.41	83.69	101.87	98.02
CIGÓN	94.39	81.72	74.42	82.85	100.66	97.56
DIAZINÓN	94.52	82.78	78.15	81.85	103.33	100.81
DISISTÓN	98.52	82.85	76.55	84.10	106.73	102.64
METIL PARATIÓN	97.41	79.25	72.00	79.63	104.29	100.70
MALATIÓN	95.91	78.71	75.10	81.13	112.58	107.09
CLORPIRIFOS	98.67	81.16	77.67	81.09	111.45	105.25
ETION	102.32	73.74	80.36	88.84	123.20	107.82
ZOLONE	105.58	74.71	73.20	89.46	134.89	103.55
GUTIÓN	106.89	75.02	73.31	89.56	137.83	105.59
CO-RAL	108.69	76.58	75.71	93.39	143.28	95.67

ANEXO No. 5

PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN DE CADA INYECCIÓN EN LOS 3 NIVELES DE FORTIFICACIÓN EN LA EXTRACCIÓN LÍQUIDO- LÍQUIDO

CUADRO No.A.5.1
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL ECD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 1 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	53.88	22.43	52.29	61.31	68.22	61.18
FOSDRIN	73.76	97.00	86.96	76.18	82.91	92.45
FORATO	85.36	87.04	62.57	23.54	68.29	69.30
CIGÓN	38.40	63.32	24.37	30.42	60.32	38.34
DIAZINÓN	103.15	110.80	95.44	92.46	114.31	120.26
DISISTÓN	221.86	91.09	72.64	9.01	98.13	85.16
METIL PARATIÓN	53.11	42.39	34.25	50.61	46.56	41.32
MALATIÓN	110.76	114.32	84.98	85.75	104.07	115.51
CLORPIRIFOS	108.65	109.97	92.80	91.09	111.64	125.51
ETION	62.57	77.81	52.84	62.02	78.19	86.79
ZOLONE	69.59	74.91	70.29	75.01	92.06	86.69
GUTION	75.34	56.25	48.63	59.43	77.64	66.13
CO-RAL	73.49	79.41	76.73	79.70	97.34	85.17

CUADRO No. A.5.2
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL FPD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 1 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	48.87	63.52	60.35	41.76	75.33	59.79
FOSDRIN	41.10	56.83	48.36	50.20	58.97	47.87
FORATO	64.11	76.74	63.44	23.91	79.20	61.77
CIGÓN	36.23	54.86	25.19	18.66	54.07	27.89
DIAZINÓN	94.11	106.92	77.89	76.23	95.71	103.89
DISISTÓN	49.34	82.57	57.47	5.92	79.02	73.41
METIL PARATIÓN	47.24	34.83	38.17	43.64	41.46	31.27
MALATIÓN	109.90	96.18	72.81	79.18	94.14	104.55
CLORPIRIFOS	102.68	100.90	75.18	75.99	99.27	110.74
ETION	48.13	63.24	54.17	54.49	101.65	87.45
ZOLONE	54.04	63.03	63.44	63.08	87.35	71.70
GUTION	48.44	60.28	53.59	63.88	85.81	64.72
CO-RAL	66.16	69.83	65.61	72.18	93.67	74.75

CUADRO No. A.5.3
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL ECD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 2 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	17.14	75.55	66.32	39.21	81.90	65.97
FOSDRIN	20.91	58.34	50.63	35.87	61.02	57.89
FORATO	30.63	45.41	41.00	35.84	47.70	41.89
CIGÓN	18.12	25.22	52.35	40.00	24.79	29.84
DIAZINÓN	45.83	51.87	48.43	43.55	56.23	48.18
DISISTÓN	33.06	34.88	27.03	24.03	36.80	27.42
METIL PARATIÓN	44.84	34.05	34.12	23.02	33.24	27.65
MALATIÓN	55.10	40.57	35.78	34.04	40.54	33.58
CLORPIRIFOS	56.04	40.12	35.83	33.41	41.41	35.50
ETION	64.71	29.01	28.31	24.51	31.11	25.92
ZOLONE	66.28	38.89	38.64	34.34	44.31	39.50
GUTIÓN	64.75	40.23	40.13	28.09	45.21	41.07
CO-RAL	71.93	60.00	61.38	46.40	67.75	62.90

CUADRO No.A.5.4
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL FPD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 2 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	9.55	36.60	37.20	26.39	42.34	56.97
FOSDRIN	10.69	29.71	25.80	17.68	34.18	53.89
FORATO	21.62	27.92	25.04	21.76	29.57	39.89
CIGÓN	7.46	12.70	7.82	4.73	9.57	28.84
DIAZINÓN	30.45	34.27	30.20	27.13	36.95	49.19
DISISTÓN	23.76	22.67	17.73	19.01	25.41	25.41
METIL PARATIÓN	30.11	18.62	15.48	11.47	18.03	20.60
MALATIÓN	39.35	21.92	18.80	16.05	22.85	30.22
CLORPIRIFOS	41.59	24.97	21.46	20.58	25.18	30.40
ETION	52.93	17.90	15.65	14.21	19.02	28.60
ZOLONE	56.12	25.98	22.31	21.03	32.16	35.20
GUTIÓN	55.69	22.61	23.71	16.41	29.78	40.30
CO-RAL	56.91	40.36	48.02	30.07	47.94	60.20

CUADRO No.A.5.5
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL ECD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 3 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	67.34	78.15	75.00	72.12	49.90	54.54
FOSDRIN	86.11	88.28	94.03	100.93	81.90	85.44
FORATO	73.21	79.62	85.86	96.34	78.38	76.11
CIGÓN	60.27	91.81	63.63	52.82	91.02	102.41
DIAZINÓN	96.40	95.75	109.29	111.44	98.60	95.22
DISISTÓN	64.11	70.99	74.33	89.56	74.14	68.29
METIL PARATIÓN	85.28	79.83	95.32	97.34	82.47	76.61
MALATIÓN	94.29	84.43	105.61	106.97	92.86	88.77
CLORPIRIFOS	100.28	89.08	104.26	111.33	96.38	91.79
ETIÓN	101.96	76.13	105.26	106.11	85.39	85.48
ZOLONE	109.11	77.82	106.58	112.65	79.89	88.24
GUTIÓN	175.58	81.90	109.55	116.13	84.69	93.11
CO-RAL	106.45	87.42	111.58	121.54	86.27	99.71

CUADRO No. A.5.6
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL FPD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 3 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	59.29	60.07	67.40	71.57	62.28	55.62
FOSDRIN	46.50	54.22	65.83	69.05	55.75	53.66
FORATO	55.81	60.83	65.42	70.87	59.79	55.27
CIGÓN	49.38	45.93	54.08	55.05	45.70	46.55
DIAZINÓN	86.83	81.46	97.07	98.05	82.72	76.99
DISISTÓN	52.82	58.56	60.84	76.08	63.85	56.61
METIL PARATIÓN	76.60	63.78	79.15	77.97	65.98	57.42
MALATIÓN	83.38	71.07	91.86	91.42	78.52	71.15
CLORPIRIFOS	90.86	75.73	103.66	95.42	82.09	76.22
ETIÓN	96.93	65.43	93.06	91.25	73.28	71.51
ZOLONE	106.77	68.49	93.75	99.13	68.12	76.21
GUTIÓN	111.95	73.23	99.61	104.09	76.11	85.11
CO-RAL	107.98	78.46	101.60	113.66	72.25	87.71

ANEXO No. 6

PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN DE CADA INYECCIÓN EN LOS 3 NIVELES DE FORTIFICACIÓN EN LA EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

CUADRO No.A.6.1
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL ECD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 1 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	24.56	0	19.08	16.33	1.83	16.83
FOSDRIN	25.43	0	21.85	26.59	1.95	0
FORATO	124.74	0	0	81.95	0	0
CIGÓN	143.26	82.59	92.50	109.61	90.00	77.98
DIAZINÓN	139.13	97.77	107.70	147.47	96.09	92.69
DISISTÓN	154.33	28.51	0	166.15	0	0
METIL PARATIÓN	120.20	90.97	97.79	115.34	89.56	87.06
MALATIÓN	130.61	94.64	100.51	121.68	91.83	91.07
CLORPIRIFOS	120.09	95.58	102.51	116.66	93.13	90.68
ETIÓN	111.38	89.10	92.07	109.90	86.03	83.16
ZOLONE	130.66	75.25	66.66	129.33	100.00	90.00
GUTIÓN	118.78	93.93	77.75	121.25	95.00	86.25
CO-RAL	108.53	91.40	63.85	110.56	91.64	79.60

CUADRO No.A.6.2
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL FPD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 1 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	24.07	85.02	21.63	22.87	16.66	15.27
FOSDRIN	24.00	128.00	17.52	17.78	19.80	0
FORATO	149.17	0	0	86.07	0	0
CIGÓN	0	0	0	0	0	0
DIAZINÓN	152.00	99.00	111.11	145.00	96.00	86.78
DISISTÓN	114.00	0	0	234.64	0	0
METIL PARATIÓN	124.75	83.86	94.48	122.77	88.41	81.88
MALATIÓN	157.55	102.52	104.84	139.14	91.16	91.16
CLORPIRIFOS	128.57	93.10	97.54	127.66	86.69	86.69
ETIÓN	136.78	89.96	90.59	121.76	82.38	82.38
ZOLONE	207.76	145.03	76.60	128.83	76.07	76.07
GUTIÓN	132.72	9333	67.50	136.96	73.93	73.93
CO-RAL	107.60	80.64	46.80	118.20	63.92	63.92

CUADRO No. A.6.3
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL ECD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 2 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	80.60	81.00	73.46	100.58	90.67	116.34
FOSDRIN	56.91	70.21	58.86	85.28	79.93	98.38
FORATO	51.61	63.23	41.42	59.88	39.76	67.61
CIGÓN	83.39	48.70	36.23	57.14	52.39	65.33
DIAZINÓN	82.53	78.14	63.90	88.94	78.34	99.48
DISISTÓN	63.54	60.81	37.19	53.80	20.30	60.01
METIL PARATIÓN	81.31	58.83	42.38	64.58	58.80	71.32
MALATIÓN	81.75	73.98	57.38	82.55	76.88	90.53
CLORPIRIFOS	71.88	75.55	60.09	84.31	78.88	89.97
ETION	60.80	69.87	53.09	74.21	63.56	71.73
ZOLONE	59.52	61.48	53.87	60.12	48.06	51.09
GUTION	59.72	59.95	53.84	64.37	46.96	47.88
CO-RAL	60.15	60.11	60.48	65.98	47.50	49.49

CUADRO No. A.6.4
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL FPD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 2 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	64.33	58.83	48.12	72.55	64.36	82.79
FOSDRIN	58.29	56.68	41.14	67.02	60.13	80.10
FORATO	56.90	52.00	36.08	57.45	41.13	68.67
CIGÓN	38.82	39.93	27.03	47.17	42.05	49.83
DIAZINÓN	67.37	65.91	47.77	77.77	66.81	86.56
DISISTÓN	49.47	47.99	25.87	43.84	14.18	48.29
METIL PARATIÓN	47.35	46.08	29.65	50.13	43.10	56.48
MALATIÓN	63.03	63.12	43.11	68.45	61.86	76.28
CLORPIRIFOS	64.57	63.91	45.01	58.88	62.60	74.17
ETION	52.48	57.04	36.94	57.79	46.31	52.29
ZOLONE	44.92	51.19	42.32	52.52	34.65	37.12
GUTION	38.79	43.30	36.30	44.85	27.82	28.89
CO-RAL	39.12	44.02	42.13	47.27	28.90	30.19

CUADRO No. A.6.5
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL ECD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 3 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	31.97	24.89	24.85	27.74	24.65	26.15
FOSDRIN	26.23	20.85	18.29	23.49	26.13	26.71
FORATO	83.38	51.24	48.45	17.57	25.28	26.52
CIGÓN	29.67	3.61	2.60	25.73	3.87	4.52
DIAZINÓN	90.07	86.07	65.91	87.97	91.41	94.59
DISISTÓN	63.33	5.36	9.60	2.03	1.38	1.99
METIL PARATIÓN	93.21	76.78	50.45	85.20	89.03	98.86
MALATIÓN	91.04	69.24	46.98	81.70	86.03	98.18
CLORPIRIFOS	91.18	63.46	45.85	77.81	81.05	93.77
ETION	69.22	36.14	30.77	53.87	54.63	73.14
ZOLONE	56.33	37.84	41.19	50.11	49.25	62.63
GUTIÓN	58.39	43.94	41.14	52.63	52.06	66.55
CO-RAL	58.63	51.97	60.71	61.60	57.09	60.71

CUADRO No.A.6.6
PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN EN EL FPD PARA CADA PLAGUICIDA EN EL NIVEL 3 DE RECUPERACIÓN EN EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	18.08	14.74	12.64	18.79	19.72	22.90
FOSDRIN	17.43	12.48	11.39	15.23	17.95	19.27
FORATO	80.69	42.56	41.19	14.23	19.40	23.18
CIGÓN	3.68	3.05	2.08	2.45	3.67	5.01
DIAZINÓN	88.49	81.22	54.75	91.35	99.46	114.74
DISISTÓN	57.41	6.43	5.05	1.40	3.40	1.95
METIL PARATIÓN	46.49	72.55	38.49	97.99	127.46	136.66
MALATIÓN	98.26	65.13	36.44	90.82	102.31	132.87
CLORPIRIFOS	96.94	52.04	32.96	79.83	87.60	113.76
ETION	61.93	29.29	22.78	48.79	52.91	76.15
ZOLONE	51.01	33.34	36.09	46.82	49.64	64.70
GUTIÓN	47.49	32.25	30.04	45.05	48.89	69.43
CO-RAL	44.21	41.56	48.78	55.03	49.91	57.95

ANEXO No. 7

EVALUACIÓN DE REPETIBILIDAD EN LOS TIEMPOS DE RETENCIÓN Y TIEMPO RELATIVO RESPECTO AL CLORPIRIFOS PARA CADA PLAGUICIDA EN LOS 3 NIVELES DE CONCENTRACIÓN

CUADRO No. A.7.1
REPETIBILIDAD EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN EN EL ECD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	99.97	99.71	99.65	99.67	99.65	99.68
FOSDRIN	99.72	99.75	99.76	99.75	99.74	99.78
FORATO	99.82	99.81	99.80	99.76	99.79	99.79
CIGÓN	99.95	99.97	99.95	99.94	99.95	99.82
DIAZINÓN	99.84	99.83	99.82	99.81	99.80	99.80
DISISTÓN	99.83	99.82	99.82	99.80	99.79	99.79
METIL PARATIÓN	99.84	100.31	99.82	99.79	99.79	99.79
MALATIÓN	99.84	99.82	99.83	99.81	99.80	99.80
CLORPIRIFOS	99.84	99.83	99.83	99.81	99.80	99.80
ETIÓN	99.83	99.82	99.82	99.79	99.79	99.79
ZOLONE	99.80	99.79	99.79	99.75	99.75	99.74
GUTIÓN	99.80	99.78	99.78	99.75	99.75	100.44
CO-RAL	99.80	99.77	99.77	99.74	99.73	99.73

CUADRO No.A.7.2
REPETIBILIDAD EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN EN EL FPD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	99.80	99.87	100.29	100.27	99.95	101.04
DDVP	99.68	99.67	99.66	99.67	99.66	99.67
FOSDRIN	99.77	99.75	99.75	99.76	99.73	99.77
FORATO	99.82	99.81	99.80	99.79	99.75	99.798
CIGÓN	99.82	99.82	99.81	99.78	99.73	99.79
DIAZINÓN	99.83	99.82	99.82	99.80	99.79	99.80
DISISTÓN	99.79	99.82	99.81	100.94	99.79	99.79
METIL PARATIÓN	99.83	99.82	99.82	99.79	99.79	99.79
MALATIÓN	99.84	99.82	99.82	99.80	99.79	99.79
CLORPIRIFOS	99.80	99.82	99.82	99.78	99.80	99.79
ETIÓN	99.80	99.81	99.78	99.75	99.78	99.78
ZOLONE	99.80	99.79	99.77	99.75	99.75	99.78
GUTIÓN	99.80	99.78	99.77	99.75	99.72	99.74
CO-RAL	99.79	99.77	99.77	99.73	99.72	99.74

CUADRO No.A.7.3.
REPETIBILIDAD EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN EN EL ECD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	99.55	99.54	99.49	99.35	99.35	99.33
FOSDRIN	99.82	99.78	99.78	99.74	99.74	99.74
FORATO	99.85	99.91	99.90	99.88	99.89	99.88
CIGÓN	99.94	100.16	100.16	100.13	100.13	100.13
DIAZINÓN	99.95	99.93	99.92	99.91	99.90	99.89
DISISTÓN	99.94	99.93	99.92	99.91	99.90	99.89
METIL PARATIÓN	99.94	99.93	99.93	99.91	99.90	99.90
MALATIÓN	99.99	99.94	99.96	99.92	99.92	99.89
CLORPIRIFOS	99.95	99.93	99.92	99.92	99.91	99.89
ETIÓN	99.97	99.95	99.91	99.91	99.92	99.89
ZOLONE	99.97	99.94	99.91	99.91	99.91	99.89
GUTIÓN	99.97	99.94	99.92	99.91	99.92	99.89
CO-RAL	99.99	99.94	99.94	99.93	99.93	99.90

CUADRO No.A.7.4
REPETIBILIDAD EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN EN EL FPD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	99.38	98.31	99.03	98.18	98.21	98.20
DDVP	99.58	99.53	99.49	99.38	99.37	99.35
FOSDRIN	99.82	99.78	99.79	99.73	99.74	99.74
FORATO	99.96	100.08	99.91	99.89	99.89	99.87
CIGÓN	99.93	99.92	100.55	99.91	99.91	99.88
DIAZINÓN	99.95	99.93	99.92	101.04	99.91	99.88
DISISTÓN	99.94	99.92	99.92	99.91	99.92	99.90
METIL PARATIÓN	99.95	99.93	99.93	99.92	99.91	99.89
MALATIÓN	99.97	99.94	99.93	99.92	99.92	99.90
CLORPIRIFOS	99.96	99.94	99.93	99.91	99.92	99.90
ETIÓN	99.96	99.94	99.93	99.91	99.92	99.90
ZOLONE	99.96	99.94	99.91	99.91	99.91	99.89
GUTIÓN	99.96	99.95	99.93	99.96	99.91	99.88
CO-RAL	99.96	99.96	99.91	99.91	99.92	99.89

CUADRO No.A.7.5
REPETIBILIDAD EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN EN EL ECD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	99.89	99.77	99.81	99.79	99.76	99.64
FOSDRIN	99.90	99.84	99.84	99.82	99.79	99.79
FORATO	99.90	99.87	99.84	99.82	99.78	99.79
CIGÓN	99.90	99.86	99.85	99.82	99.80	99.80
DIAZINÓN	99.96	99.86	99.84	99.82	99.80	99.79
DISISTÓN	99.90	99.87	99.85	99.83	99.70	99.80
METIL PARATIÓN	99.90	99.87	99.84	99.86	99.81	99.80
MALATIÓN	99.90	99.87	99.84	99.82	99.81	99.78
CLORPIRIFOS	99.88	99.87	99.74	99.81	99.81	99.80
ETIÓN	99.88	99.82	99.74	99.77	99.79	99.78
ZOLONE	99.88	99.82	99.79	99.77	99.76	99.75
GUTIÓN	99.88	99.82	99.78	99.77	99.75	99.74
CO-RAL	99.10	99.81	99.77	99.75	99.71	99.73

CUADRO No.A.7.6
REPETIBILIDAD EN EL TIEMPO DE RETENCIÓN EN EL FPD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	99.84	99.77	99.75	99.72	99.64	99.33
DDVP	99.84	99.77	99.72	99.69	99.66	99.74
FOSDRIN	99.88	99.84	99.80	99.78	99.76	99.88
FORATO	99.90	99.96	99.84	99.82	99.75	99.88
CIGÓN	99.94	99.86	99.84	99.82	99.79	100.13
DIAZINÓN	99.91	99.88	99.85	99.83	99.80	99.89
DISISTÓN	99.91	99.87	99.84	99.82	99.80	99.89
METIL PARATIÓN	99.90	99.87	99.87	99.83	99.81	99.89
MALATIÓN	99.91	99.87	99.85	99.82	99.81	99.90
CLORPIRIFOS	99.91	99.87	99.84	99.82	99.79	99.89
ETIÓN	99.90	99.81	99.83	99.81	99.75	99.89
ZOLONE	99.88	99.81	99.79	99.77	99.75	99.89
GUTIÓN	99.88	99.83	99.79	99.77	99.75	99.89
CO-RAL	99.877	99.82	99.77	99.75	99.75	99.90

CUADRO No.A.7.7
TIEMPO RELATIVO RESPECTO DEL CLORPIRIFOS EN EL ECD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509
FOSDRIN	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669
FORATO	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847
CIGÓN	0.868	0.867	0.868	0.868	0.868	0.868
DIAZINÓN	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898
DISISTÓN	0.909	0.909	0.909	0.909	0.909	0.909
METIL PARATIÓN	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953
MALATIÓN	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984
CLORPIRIFOS	1	1	1	1	1	1
ETIÓN	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16
ZOLONE	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409
GUTIÓN	1.419	1.419	1.419	1.419	1.419	1.419
CO-RAL	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63

CUADRO No.A.7.8
TIEMPO RELATIVO RESPECTO DEL CLORPIRIFOS EN EL FPD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 1 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0.501	0.501	0.501	0.501	0.501	0.501
DDVP	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509
FOSDRIN	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669
FORATO	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847
CIGÓN	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868
DIAZINÓN	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898
DISISTÓN	0.908	0.908	0.908	0.908	0.908	0.908
METIL PARATIÓN	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953
MALATIÓN	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984
CLORPIRIFOS	1	1	1	1	1	1
ETIÓN	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16
ZOLONE	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409
GUTIÓN	1.420	1.420	1.420	1.420	1.420	1.420
CO-RAL	1.632	1.632	1.632	1.632	1.632	1.632

CUADRO No.A.7.9
TIEMPO RELATIVO RESPECTO DEL CLORPIRIFOS EN EL ECD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509
FOSDRIN	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669
FORATO	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847
CIGÓN	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868
DIAZINÓN	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898
DISISTÓN	0.909	0.909	0.909	0.909	0.909	0.909
METIL PARATIÓN	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953
MALATIÓN	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984
CLORPIRIFOS	1	1	1	1	1	1
ETIÓN	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16
ZOLONE	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409
GUTIÓN	1.419	1.419	1.419	1.419	1.419	1.419
CO-RAL	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63

CUADRO No.A.7.10
TIEMPO RELATIVO RESPECTO DEL CLORPIRIFOS EN EL FPD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 2 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0.501	0.501	0.501	0.501	0.501	0.501
DDVP	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509
FOSDRIN	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669
FORATO	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847
CIGÓN	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868
DIAZINÓN	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898
DISISTÓN	0.908	0.908	0.908	0.908	0.908	0.908
METIL PARATIÓN	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953
MALATIÓN	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984
CLORPIRIFOS	1	1	1	1	1	1
ETIÓN	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16
ZOLONE	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409
GUTIÓN	1.420	1.420	1.420	1.420	1.420	1.420
CO-RAL	1.632	1.632	1.632	1.632	1.632	1.632

CUADRO No.A.7.11
TIEMPO RELATIVO RESPECTO DEL CLORPIRIFOS EN EL ECD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0	0	0	0	0	0
DDVP	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509
FOSDRIN	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669
FORATO	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847
CIGÓN	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868
DIAZINÓN	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898
DISISTÓN	0.909	0.909	0.909	0.909	0.909	0.909
METIL PARATIÓN	0.953	0.952	0.953	0.953	0.953	0.953
MALATIÓN	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984
CLORPIRIFOS	1	1	1	1	1	1
ETIÓN	1.16	1.16	1.16	1.16	1.15	1.16
ZOLONE	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409
GUTIÓN	1.419	1.419	1.419	1.419	1.419	1.419
CO-RAL	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63	1.63

CUADRO No. A.7.12
TIEMPO RELATIVO RESPECTO DEL CLORPIRIFOS EN EL FPD PARA LOS PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL NIVEL 3 DE CONCENTRACIÓN

PLAGUICIDA	INYECCIÓN 1	INYECCIÓN 2	INYECCIÓN 3	INYECCIÓN 4	INYECCIÓN 5	INYECCIÓN 6
MONITOR	0.501	0.501	0.501	0.501	0.501	0.501
DDVP	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509	0.509
FOSDRIN	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669	0.669
FORATO	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847
CIGÓN	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868	0.868
DIAZINÓN	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898	0.898
DISISTÓN	0.908	0.908	0.908	0.908	0.908	0.908
METIL PARATIÓN	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953	0.953
MALATIÓN	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984	0.984
CLORPIRIFOS	1	1	1	1	1	1
ETIÓN	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16	1.16
ZOLONE	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409	1.409
GUTIÓN	1.420	1.420	1.420	1.420	1.420	1.420
CO-RAL	1.632	1.632	1.632	1.632	1.632	1.632

ANEXO No.8
BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIO

E: \My Documents\I1213 \Qaaword\HControl\Patrones.DOC
Universidad del Valle de Guatemala,
Instituto de Investigaciones
Programa de Química Analítica Ambiental
HOJA DE CONTROL DE PATRONES
HCP.01 Versión 1

SUBSTANCIA # _____ NOMBRE QUIMICO _____

NOMBRE DEL PRODUCTOR _____ No. LOTE _____

FECHA DE VENCIMIENTO _____ PRIMER REGISTRO _____ INICIALES _____

Peso inicial (g)	Peso final (g)	Balanza	Diferencia (g)	Utilizado (g)	Total utilizado (g)	Iniciales	Fecha	# Sol.

E: \My Documents\I1213 \Qaaword\HControl\Balanza.DOC

Universidad del Valle de Guatemala,
Instituto de Investigaciones
Programa de Química Analítica Ambiental
HOJA DE CALIBRACION DE BALANZA
HCCB.01 Versión 3

TABLA DE CALIBRACIÓN No. 7

FECHA: 27-08-96

NOMBRE: JUDITH PEREZ

PESO ESPERADO	PESO MEDIDO (g)	DIFERENCIA (∧ g)
100 g	100.00072	+ 0.00072
50 g	50.00589	+ 0.00589
30 g	30.00029	+ 0.00029
20 g	20.00024	+ 0.00024
10 g	10.00000	---------
5 g	5.00000	---------
3 g	3.00016	+ 0.00016
2 g	2.00017	+ 0.00017
1 g	1.00004	+ 0.00004
500 mg	0.50086	+ 0.00086
300 mg	0.30006	+ 0.00006
200 mg	0.20005	+ 0.00005
100 mg	0.10000	---------
50 mg	0.04988	- 0.00012
30 mg	0.02995	- 0.00005
20 mg	0.01991	- 0.00009
10 mg	0.01000	---------
5 mg	0.00500	---------

E: \My Documents\I1213 \Qaaword\HCONTROL\Madre.DOC
Universidad del Valle de Guatemala,
Instituto de Investigaciones
Programa de Química Analítica Ambiental
HOJA DE CONTROL DE SOLUCIONES MADRE
HCM.02 Versión 1

CONTROL DE SOLUCIÓN MADRE

Compuesto	Solvente y tara de balón	ID	Con. mg/mL	Fecha control de retiros	Peso (g)	Diferencia Observada de peso	Responsable

OBSERVACIONES: Almacenamiento en congelador a -20oC, dentro de una desecadora con sílica gel indicador. Las soluciones madre se encuentran en balones aforados de 10mL de vidrio de borosilicato, clase A, tapón de vidrio esmerilado.