

**SEGUIMIENTO DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LOS  
LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO DE ANTANAS EN SAN JUAN DE  
PASTO**

**INGRID LORENA GUARANGUAY UNIGARRO  
SANDRA MILENA OBANDO MELO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2005**

**SEGUIMIENTO DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LOS  
LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO DE ANTANAS EN SAN JUAN DE  
PASTO**

**INGRID LORENA GUARANGUAY UNIGARRO  
SANDRA MILENA OBANDO MELO**

**Tesis de Grado para optar el título de químico**

**Director:  
JUAN JOSÉ LOZADA CASTRO  
Magíster en Química**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2005**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

---

---

Firma del asesor

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

San Juan de Pasto, Mayo de 2005

Con sentimientos de gratitud:

A Dios en primer lugar por brindarme la oportunidad de vivir y darme la fortaleza para seguir adelante en el transcurso de la vida.

En segundo lugar a mis padres Teresa Unigarro y Leopoldo Guaranguay, quienes por su esfuerzo y cariño han estado pendientes de mi en toda mi carrera profesional

Y finalmente a todas las personas, amigos, compañeros y profesores, que me colaboraron en forma decidida y desinteresada para hacer posible la realización de este trabajo de grado.

Ingrid Lorena Guaranguay Unigarro

A Dios por iluminar mi camino hacia el éxito, darme paciencia y tranquilidad.

A mis padres Antonio Obando y Teresa Melo por su esfuerzo, su apoyo incondicional y su comprensión.

A mis hermanos Viviana, Edison y Ximena; por su compañía, amor y apoyo.

Sandra Milena Obando Melo

## **AGRADECIMIENTOS**

Universidad de Nariño “VIPRI”, por su patrocinio de este trabajo de grado.

Juan José Lozada Castro, Magíster en Química, por su asesoría, apoyo, paciencia y colaboración en el transcurso de este trabajo.

Empresa Metropolitana de Aseo – EMAS, por su constante colaboración en la investigación.

Javier Narvaez, Ingeniero civil, EMAS, por su colaboración y paciencia.

También a todas las personas que colaboraron durante todo el proceso de esta investigación.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	20
1 MARCO TEÓRICO	22
1.1 ANTECEDENTES	22
1.2 RELLENO SANITARIO	24
1.2.1 Lixiviados	25
1.2.1.1 Recogida de lixiviados	26
1.3 PLAGUICIDAS	27
1.3.1 Evaluación de la exposición a plaguicidas	28
1.3.2 Toxicología Humana	29
1.3.3 Ecotoxicología y evaluación de riesgo ambiental	30
1.4 PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS	32
1.4.1 Consideraciones Generales	32
1.4.2 Clasificación de los pesticidas organofosforados de acuerdo con la toxicidad	37
1.4.3 Efectos	39
1.5 PROCESOS DE DEGRADACIÓN	41
1.5.1 Biodegradación	43
1.5.2 Inmovilización Enzimática	43
1.6 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA	44
1.6.1 Fundamentos de la Técnica de Extracción en Fase Sólida	44

1.6.2	Tipos de Extracción en Fase Sólida	44
1.7	VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	46
1.7.1	Características básicas del método analítico	46
1.7.1.1	Exactitud	46
1.7.1.2	Precisión	46
1.7.1.3	Linealidad	46
1.7.1.4	Límite de detección	46
1.7.1.5	Límite de cuantificación	46
2	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	47
2.1	ESTANDARIZACION DEL MÉTODO	47
2.1.1	Estandarización de las condiciones cromatográficas	47
2.1.1.1	Tiempo muerto	47
2.1.1.2	Flujo óptimo	48
2.1.1.3	Optimización de la eficiencia de la columna	48
2.1.2	Validación de las condiciones cromatográficas	49
2.1.2.1	Límite de detección	49
2.1.2.2	Nivel mínimo de cuantificación	49
2.1.2.3	Precisión	49
2.1.3	Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra	50
2.1.3.1	Extracción en fase sólida	50
2.2	CARACTERIZACIÓN DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LOS LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO ANTANAS	54
2.2.1	Muestreo	54

2.2.2	Preparación de muestras	56
2.2.3	Análisis cromatográfico de la caracterización de los OPs en los lixiviados	56
2.3	SEGUIMIENTO DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS	56
2.3.1	Muestreo	56
2.3.2	Preparación de muestras y análisis cromatográfico	57
2.4	IDENTIFICACION DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL TRATAMIENTO FINAL DE LOS LIXIVIADOS	57
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
3.1	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO	58
3.1.1	Estandarización de las condiciones cromatográficas	58
3.1.1.1	Tiempo Muerto	58
3.1.1.2	Flujo óptimo	58
3.1.1.3	Optimización de la eficiencia de la columna	60
3.1.2	Validación de las condiciones cromatográficas	62
3.1.2.1	Curvas de calibración	65
3.1.2.2	Rango lineal	67
3.1.2.3	Límite de detección	68
3.1.2.4	Nivel mínimo de cuantificación	71
3.1.2.5	Precisión	71
3.1.3	Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra	76
3.1.3.1	Extracción en fase sólida	76
3.2	CARACTERIZACIÓN DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LOS LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO ANTANAS	83
3.2.1	Muestreo	83

3.2.2	Preparación de muestras	83
3.2.3	Análisis cromatográfico	83
3.3	SEGUIMIENTO DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS	87
3.3.1	Muestreo	87
3.3.2	Preparación de muestras y análisis cromatográfico	88
3.4	IDENTIFICACIÓN DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS AL FINAL DEL TRATAMIENTO DE LOS LIXIVIADOS	95
4.	CONCLUSIONES	98
5.	RECOMENDACIONES	100
	BIBLIOGRAFIA	101
	ANEXOS	106

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características de los lixiviados de un vertedero	26
Tabla 2. Clasificación de los OPs según su fórmula general (Holmstedt)	33
Tabla 3. Características de los pesticidas organofosforados más representativos	35
Tabla 4. Clasificación de los OPs de acuerdo a la toxicidad	37
Tabla 5. Paralelo de dos tipos de Extracción en Fase Sólida	45
Tabla 6. Tiempo Muerto	58
Tabla 7. Curva de Van Deemter. Flujo óptimo	59
Tabla 8. Parámetros estadísticos de la mezcla de 12 componentes	64
Tabla 9. Parámetros estadísticos de la mezcla de 6 componentes	65
Tabla 10. Ecuación de la recta para las dos mezclas de estándares	67
Tabla 11. Reproducibilidad de la mezcla de 12 componentes	72
Tabla 12. Reproducibilidad de la mezcla de 6 componentes	73
Tabla 13. Repetividad de la mezcla de 12 componentes	75
Tabla 14. Repetividad de la mezcla de 6 componentes	75
Tabla 15. Porcentajes de recuperación de la mezcla de 12 componentes utilizando como solvente de elución metanol	77
Tabla 16. Reproducibilidad de la mezcla de 12 componentes de la extracción en fase sólida	79
Tabla 17. Reproducibilidad de la mezcla de 6 componentes de la extracción en fase sólida	80
Tabla 18. Porcentajes de recuperación a 3 niveles de concentración de la mezcla de 12 componentes	81

Tabla 19.	Porcentajes de recuperación a 3 niveles de concentración de la mezcla de 6 componentes	82
Tabla 20.	Caracterización de los pesticidas organofosforados en el lixiviado viejo	84
Tabla 21.	Caracterización de los pesticidas organofosforados en el lixiviado nuevo	85
Tabla 22.	Seguimiento de los pesticidas organofosforados en el lixiviado viejo durante los 15 días	89
Tabla 23.	Seguimiento de los pesticidas organofosforados en el lixiviado nuevo durante los 15 días	92

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura general de los pesticidas organofosforados	32
Figura 2. Reacción de los pesticidas organofosforados en la acetilcolina	40
Figura 3. Reacción de hidrólisis del paratión	41
Figura 4. Reacción de fotólisis directa del diclorvos	42
Figura 5. Cromatógrafo de Gases	48
Figura 6. Filtración al vacío con el equipo de filtración millipore	51
Figura 7. Cartuchos para extracción en fase sólida	52
Figura 8. Esquema del procedimiento de la extracción en fase sólida	53
Figura 9. Extracción en Fase Sólida	54
Figura 10. Piscina aeróbica de lixiviado	55
Figura 11. Material de muestreo	56
Figura 12. Montaje del microcosmos	57
Figura 13. Curva de Van Deemter	59
Figura 14. Cromatograma de la mezcla de estándares de 12 componentes	60
Figura 15. Cromatograma de la mezcla de estándares de 6 componentes	60
Figura 16. Cromatogramas de las mezclas de estándares por GC/MS	61
Figura 17. Curvas de calibración de las mezclas estándares	66
Figura 18. Señal–ruido y límite de detección para la mezcla de 12 componentes	69
Figura 19. Señal–ruido y límite de detección para la mezcla de 6 componentes	70

Figura 20. Perfil cromatográfico de la recuperación de la mezcla de 12 componentes con metanol	77
Figura 21. Perfil cromatográfico de la recuperación de la mezcla de 12 componentes con la mezcla de acetato de etilo–hexano (90:10)	78
Figura 22. Cromatogramas del lixiviado viejo	84
Figura 23. Cromatogramas del lixiviado nuevo	86
Figura 24. Microcosmos	88
Figura 25. Estabilidad de los pesticidas organofosforados encontrados en el lixiviado viejo a través del tiempo	91
Figura 26. Estabilidad de los pesticidas organofosforados encontrados en el lixiviado nuevo a través del tiempo	93
Figura 27. Unidades correspondientes a la planta del líquido lixiviado	96
Figura 28. Bosque nativo	97

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Cálculos de las concentraciones finales en la extracción en fase sólida de las dos mezclas de estándares	106
Anexo B Relleno Sanitario Vaso I (lixiviado viejo)	107
Anexo C. Relleno Sanitario Ampliación del Vaso I (lixiviado nuevo)	107
Anexo D. Cromatograma de la mezcla de parafinas $C_6 - C_{18}$	108
Anexo E. Tabla de parámetros estadísticos de la mezcla de 12 componentes	109
Anexo F. Tabla de parámetros estadísticos de la mezcla de 6 componentes	111
Anexo G. Tabla de repetividad de la mezcla de 12 componentes de la extracción en fase sólida	112
Anexo H. Tabla de repetividad de la mezcla de 6 componentes de la extracción en fase sólida	114

## ABSTRACT

The aim of this work was to optimize an analytical method to determine organophosphorated pesticides in leached, using analytics procedures such the gas chromatography with FID detector and the solid phase extraction by using florisil cartridge for 18 organophosphorus pesticides (TEPP, monocrotophos, dimethoate, malathion, parathion, EPN, dichlorvos, mevinphos, diazinon, methyl parathion, fenthion, chlorpirifos, tetrachlorinfos, protiophos, fensulfothion, sulphrofos, azinphos methyl y coumaphos). The better solvent of elution was ethyl acetate – hexane (90:10) because it was obtained satisfactory recovery percentages, which oscillated amid 53.27 – 100.07% with variation coefficients between 5 – 6%. These results indicate that the solid phase extraction using florisil cartridge is efficient and reproducible for the detection of Organophosphorus pesticides.

Later on it was identified and it quantified for the method of the external standard the organophosphorated pesticides present in two types of leached: old and new, generated in the glass 1 and amplification of the glass 1 of the sanitary filling Antanas of San Juan de Pasto, obtaining like result respectively 9 and 5 standardized pesticides of the 18 with low concentrations which are within it limits permissible after potable water that is of 0.1 mg/L according to the Norm of environmental quality and unloading of efluentes: Resource water. Also samples were analyzed of leached after all the treatments, verifying that the organophosphorated pesticides disappear by possible biotransformations.

**Key words:** Organophosphorated pesticides, gas cromatography, solid phase extraction, leached.

## RESUMEN

Se optimizó un método de análisis para la determinación de plaguicidas organofosforados en lixiviados, empleando procedimientos analíticos como la cromatografía de gas con detector de ionización de llama (FID) y la extracción en fase sólida (SPE), utilizando cartuchos de florisil para 18 pesticidas organofosforados (TEPP, monocrotofos, dimetoato, malatión, paratión, EPN, diclorvos, mevinfos, diazinon, metil paratión, fention, clorpirifos, tetraclorvinfos, protiofos, fensulfotion, sulprofos, azinfos metil y coumafos). El mejor solvente de elución fue la mezcla de acetato de etilo–hexano (90:10) debido a que se obtuvo porcentajes de recuperación satisfactorios, los cuales oscilaron entre 53.27–100.07% con coeficientes de variación entre 5–6%. Estos resultados indican que la extracción en fase sólida empleando cartuchos de florisil es eficiente y reproducible para la determinación de plaguicidas organofosforados.

Posteriormente se identificó y se cuantificó por el método del estándar externo los pesticidas organofosforados presentes en dos tipos de lixiviados: viejo y nuevo, generados en el vaso 1 y ampliación del vaso 1 del relleno sanitario Antanas de San Juan de Pasto, obteniendo como resultado respectivamente 9 y 5 pesticidas de los 18 estandarizados con concentraciones bajas las cuales se encuentran dentro del límite permisible para agua potable que es de 0.1 mg/L según la Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: Recurso agua. También se analizaron muestras de lixiviado después de todos los tratamientos, verificando que los pesticidas organofosforados desaparecen por posibles biotransformaciones.

**Palabras claves:** Pesticidas organofosforados, cromatografía de gases, extracción en fase sólida, lixiviados.

## LISTA DE ABREVIATURAS

CV	Coeficiente de variación
COF	Compuesto organofosforado
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DQO	Demanda química de oxígeno
EMAS	Empresa Metropolitana de Aseo
EPA	Agencia de protección ambiental
EPN	Etil <i>p</i> -nitrofenil tiobencine fosfonato
FID	Detector de Ionización de Llama
GC	Cromatógrafo de gases
GC/MS	Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas
HEPT	Altura de platos teóricos
IOF	Insecticida organofosforado
LC	Límite de confianza
LD	Límite de detección
LD-50	Dosis Letal media
LQO	Límite de cuantificación
MS	Espectrómetro de masas
N	Número de platos teóricos
NPD	Detector Nitrógeno – Fósforo
OPs	Organofosforados

% R	Porcentaje de recuperación
$s$ ó $\sigma$	Desviación estándar
Sln	Solución
SPE	Extracción en fase sólida
TEPP	Tetraetilpirofosfato
$t_M$	Tiempo muerto
$t_R$	Tiempo de retención
VIPRI	Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales

## INTRODUCCION

Vivimos rodeados de infinidad de compuestos químicos, muchos de ellos susceptibles de afectar a la salud humana y a los ecosistemas. El medio recibe contaminantes de procedencia atmosférica y emite contaminantes a la atmósfera, al agua y al suelo, principalmente a través de las aguas residuales y los residuos sólidos (basuras). Cuando estas basuras se disponen en un vertedero se producen gases y líquidos que se han percolado a través de ellas los cuales se conocen como lixiviados. Tradicionalmente, la contaminación por lixiviación de vertederos mal controlados o por vertidos de aguas residuales se han considerado como fuentes puntuales de contaminación y de hecho, así pueden considerarse en la mayor parte de los casos.

Los lixiviados están compuestos de sustancias tóxicas, fundamentalmente de sales de tipo orgánico e inorgánico dentro de los cuales se encuentran: fosfatos, cloruros, nitratos, nitritos, cianuros, sulfatos, sulfuros; además de elementos de alto riesgo como los elementos pesados, estos son: Hg, Cr, Pb, Cd, Cu, Fe, Al, Mg, Mn, Mo, Se, As. Frecuentemente se encuentran contaminantes orgánicos de alto riesgo como los pesticidas organoclorados, pesticidas organofosforados, hidrocarburos aromáticos, compuestos fenólicos y bifenilos policlorados<sup>1</sup>.

Los pesticidas organofosforados<sup>2</sup> son uno de los contaminantes orgánicos de alto riesgo, aunque han sido diseñados para ofrecer una alta especificidad de acción, su uso genera innumerables efectos indeseados como la generación de organismos resistentes, la persistencia ambiental de residuos tóxicos y la contaminación de recursos hídricos con degradación de la flora y fauna.

El uso generalizado de los plaguicidas en la agricultura, así como en la industria, caminos, carreteras, vías férreas y en uso doméstico, puede llegar a producir un empobrecimiento de la biodiversidad, contaminar las aguas subterráneas y superficiales y amenazar a la salud humana, tanto por exposición directa como a través de sus residuos en alimentos o en aguas potables. La preocupación de los efectos nocivos derivados de la utilización de los plaguicidas en las actividades agrícolas es una constante de nuestra sociedad actual.

-----  
<sup>1</sup> TCHOBANOGLUS, G. Gestión integral de los residuos sólidos. Madrid: McGraw Hill, 1994. 310 p.

<sup>2</sup> ORGANOFOSFORADOS. En: Cricyt Enciclopedia. [Cited 18 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Organofosf.htm>>

Como ya es conocido, el departamento de Nariño tiene una gran tradición en cultivos intensivos, con lo que el consumo de estos productos de síntesis es muy elevado. Además, el número de plaguicidas usados en la actualidad es muy alto y su composición química muy variada, con lo que los efectos tóxicos y los problemas ambientales derivados de su amplia utilización en la agricultura son complejos y muy variados<sup>3</sup>.

Los pesticidas organofosforados pueden generar residuos contaminados ya sea de origen agrícola como elementos vegetales deteriorados que proceden de campos de cultivos, y de origen municipal o urbano que engloban residuos residenciales o domésticos los cuales son trasladados al vertedero, donde se originan los lixiviados que acumulan sustancias tóxicas.

Ello genera la necesidad de metodologías analíticas capaces de determinar plaguicidas a niveles trazas con un nivel de fiabilidad aceptable. Para evaluar los pesticidas organofosforados en los lixiviados del relleno sanitario de la ciudad de Pasto y realizarles un seguimiento de su biotransformación a través del tiempo, se utilizó el cromatógrafo de gases con detector FID y cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas para confirmarlos. Para la preparación de la muestra se empleó la técnica de extracción en fase sólida (SPE), ya que es una técnica muy sencilla y es muy efectiva para extraer este tipo de compuestos de muestras líquidas.

El método desarrollado en este trabajo es aplicable al análisis de 18 plaguicidas organofosforados, los cuales han sido seleccionados de entre los más utilizados en tratamientos agrícolas.

Al determinar los pesticidas organofosforados se realizó su respectiva evaluación, para observar el grado de contaminación en los lixiviados, y así dar inicio a otros campos de investigación como es la microbiología con el fin de reducir la contaminación proponiendo métodos biotecnológicos que mejoren y aceleren los procesos de biotransformación.

Con el proyecto se procura que tanto la universidad como las personas o entidades que necesitan de estos servicios se vean beneficiados, ya que con esta técnica se pondrán determinar, clasificar y cuantificar los pesticidas organofosforados en diferentes medios como agua, suelo, alimentos, entre otros.

---

<sup>3</sup> PITARCH ARQUIMBAU, Elena. Desarrollo de metodología analítica para la determinación de pesticidas organofosforados y organoclorados en muestras biológicas humanas. Castellón de la Plana, 2001, 421p. Tesis doctoral (Química Analítica). Universidad Jaume I de castellón. Departamento de ciencias Experimentales.

## 1. MARCO TEORICO

### 1.1 ANTECEDENTES

Los plaguicidas se conocen desde la antigüedad, aunque fue a partir de los años 20 –30 del siglo XX, y especialmente a partir de la Segunda Guerra Mundial, cuando su empleo se extendió exponencialmente.

Los pesticidas organofosforados son un grupo de pesticidas artificiales para controlar las poblaciones de plagas de insectos, por lo tanto la mayoría de los organofosforados son insecticidas. El primer agente anticolinesterásico, el tetraetil pirofosfato, se sintetizó en 1854 por Clermont; sin embargo las propiedades insecticidas de este compuesto no fueron descubiertas hasta unos 80 años después. Estas investigaciones tuvieron su continuación durante el mismo siglo en Alemania con Michaelis, que estudió los compuestos nitrofosforados, y en Rusia con Arbuznov, que describió los Compuestos organofosforados trivalentes. Las investigaciones modernas sobre estos insecticidas datan de 1932, año en que Lange y Krueger sintetizaron los dimetil y dietil fosfofluoridatos, y describieron por vez primera los efectos nocivos de los compuestos organofosforados sobre los seres vivos.

A finales de los años 30 y principios de los 40 los compuestos organofosforados fueron ampliamente investigados por Schrader y otros muchos como armas de guerra química. Este investigador llegó a sintetizar unos 300 pesticidas organofosforados con fines militares, de los cuales uno de los más conocidos es el DFP. Durante la II Guerra Mundial se crearon en Alemania nuevos compuestos organofosforados como el tabún, el sarin y el somán; con elevada toxicidad. En 1944 Schrader obtuvo la síntesis del paratión, un IOF ampliamente utilizado en la agricultura por su elevada potencia insecticida, su baja volatilidad y su buena estabilidad en el agua. En 1950 se descubrió el malatión, también de amplio espectro pero de menor toxicidad para los mamíferos. Estos dos insecticidas organofosforados han sido ampliamente utilizados a nivel mundial. Desde entonces hasta nuestros días se han sintetizado más de 35.000 compuestos organofosforados, de los que unos 50 son los habitualmente utilizados en la agricultura. Debido al elevado poder mortífero y al relativo bajo precio que cuesta fabricar los pesticidas organofosforados, han sido denominados " el armamento nuclear de los países pobres" <sup>4</sup>.

---

<sup>4</sup> TEXTO–TRABALHADOR rural agrotóxicos. En: Organofosforados-toxicología pesticidas. volume 3, 149-155p, 2001. [Cited 30 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.saudeetrabalho.com.br/t-rural.htm>>

En el transcurso de los años se han venido realizando estudios de los pesticidas organofosforados en diferentes compuestos por varios institutos, universidades y centros de investigación.

Los Científicos del Laboratorio de Salud Ambiental<sup>5</sup>, determinaron pesticidas organofosforados en muestras humanas, como sangre u orina en el año de 1993. Método de "Biomonitoring" que consiste en el análisis de la exposición humana a los compuestos químicos por medio de la determinación de los mismos o sus metabolitos (productos de transformación). En el año de 1994 Gutiérrez Luz<sup>6</sup> determinó pesticidas organofosforados en el agua por cromatografía de gases con Detector de Nitrógeno-Fósforo. En 1999 García Angeles y Sánchez Inés<sup>7</sup>, realizaron el análisis toxicológico de microcontaminantes en miel: residuos de plaguicidas organofosforados, por Cromatografía gaseosa con detectores de captura electrónica y de nitrógeno-fósforo; por otra parte en el Laboratorio de Análisis Fisicoquímicos de la Universidad de Antioquía<sup>8</sup>, se analizó pesticidas organofosforados en aguas, sedimentos, suelos y tejidos. Guevara, S<sup>9</sup> en el año 2000, realizó un montaje y desarrolló un método para la determinación de pesticidas organofosforados en agua del oriente antioqueño por microextracción en fase sólida y cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (SPME/GC/MS). En el 2001 Song Hong y demás investigadores<sup>10</sup>. Desarrollaron un método analítico para 18 pesticidas en residuos domésticos usando SEC, extracción en fase sólida, y GC-MS.

-----  
<sup>5</sup> ANTECEDENTES - Segundo Informe Nacional. [Cited 3 Oct., 2003]. Available from internet: <[http://www.cdc.gov/exposurereport/sp\\_background.htm](http://www.cdc.gov/exposurereport/sp_background.htm)>

<sup>6</sup> Método EPA 8141A-1994. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Septiembre, 2003.

<sup>7</sup> TOXICOLOGÍA Y VETERINARIA legal. En: Programa de prácticas de laboratorio. [Cited 12 Nov., 2003]. Available from internet: <[http://www.facvet.lugo.usc.es/Planes\\_estudios/Plan\\_viejo/toxicología](http://www.facvet.lugo.usc.es/Planes_estudios/Plan_viejo/toxicología)>

<sup>8</sup> GENERALIDADES MISIÓN. [Cited 8 Oct., 2003]. Available from internet: <http://www.ingeniería.udea.edu.co/centros/CIA/servicios.htm>

<sup>9</sup> TQO191. [Cited 30 Sep., 2003]. Available from internet: <[http://www.matematicas.udea.edu.co/~exacta/dependencias/quimica/trabajos\\_fcen/TQ0191.html](http://www.matematicas.udea.edu.co/~exacta/dependencias/quimica/trabajos_fcen/TQ0191.html)>

<sup>10</sup> HONG, Song; KIM, Jooyoun; LEMLEY, Ann; KAY, Obendorf and HEDGE, Alan. Analytical Method Development for 18 Pesticides in House Dust and Settled Residues Using SEC, SPE, TMS Methylation, and GC-MS. En: Journal of Chromatographic Science, 2001. v. 39. p. 101-112.

En el año 2002 J. Muñoz y colaboradores <sup>11</sup>. Estudiaron una nueva técnica de análisis cualitativo de pesticidas organofosforados en residuos de pepino usando un sistema doble de cromatografía de gases: CG—Fotométrico de llama y GC-MS. Beatriz Albero y colaboradores <sup>12</sup>, determinaron pesticidas organofosforados en jugo de frutas por extracción en fase sólida y cromatografía de gases, en el 2003; en el mismo año Hans G.J. Mol e investigadores <sup>13</sup> determinaron pesticidas organofosforados polares en vegetales y frutas usando cromatografía líquida acoplado a espectrómetro de masas y extracción con solventes y en el Martínez Vidal y colaboradores <sup>14</sup>. Estudiaron la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería.

## RELLENO SANITARIO

Los *Residuos sólidos*, son una fracción de los materiales de desecho sólidos o semisólidos sin utilidad que generan las actividades humanas y animales, y que por tanto se producen tras la fabricación, transformación o utilización de bienes de consumo. El origen de estos residuos se puede deber a las actividades agrarias, pero la mayor parte de ellos es generada en las ciudades. En cualquier caso, la producción de cantidades enormes de residuos sólidos plantea el problema de su eliminación. Son materiales que no tienen valor económico, o su aprovechamiento es muy caro, y por ello se acumulan en un relleno sanitario <sup>15</sup>.

---

<sup>11</sup> MUÑOZ, J.; FERNÁNDEZ, E.; GARCÍA, L.; GONZÁLEZ, A. y CUADROS, L. A New approach to qualitative analysis of organophosphorus pesticide residues in cucumber using a double gas chromatographic system: GC-pulsed-flame photometry and retention time locking GC/mass spectrometry. En: Journal of Chromatography A, 2003. V.60. p. 433-447.

<sup>12</sup> ALBERO, Beatriz; SAÑ, Consuelo and TADEO, Joseã L. Determination of Organophosphorus Pesticides in Fruit Juices by Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. v. 51. p. 6915-6921.

<sup>13</sup> MOL, Hans; RUUD, C.; DAM, Van y STEIJGER Odile. Determination of polar organophosphorus pesticides in vegetables and fruits using liquid chromatography with tandem mass spectrometry: selection of extraction solvent. En: Journal of Chromatography A, 2003. v. 1015. p. 119-127.

<sup>14</sup> MARTÍNEZ VIDAL, J.; GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, M. y BELMONTE VEGA, A. Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería. Dpto, Química Analítica. Universidad de Almería. Almería, España. 2004.

<sup>15</sup> CALVACHE, Jesús Armando. Manejo de Residuos Sólidos. Pasto: Universidad de Nariño, 1997. p 25.

El relleno sanitario es una técnica de eliminación y disposición final de residuos sólidos en el suelo que tiene como objetivo disminuir los impactos sobre la comunidad así como evitar riesgos para la salud tanto durante su operación como después de terminado un método diseñado para la disposición final de la basura. Consiste en depositar en el suelo los desechos sólidos, los cuales se esparcen y compactan reduciéndolos al menor volumen posible para que así ocupen un área pequeña, luego se cubren con una capa de tierra y se compactan nuevamente al terminar el día.

Para construir un relleno sanitario es importante seleccionar el terreno que reúna condiciones técnicas adecuadas como son: topografía, nivel a que se encuentran las aguas subterráneas y disponibilidad de material para cubrir la basura<sup>16</sup>.

La disposición de desechos municipales en rellenos sanitarios es una de las prácticas mas comunes y económicas. Los procesos más importantes que se generan dentro de los rellenos están íntimamente relacionados con la degradación de la materia orgánica. Mediante la degradación de la materia orgánica, esta se convierte en líquidos (lixiviados) y gases (biogás). Se llaman lixiviados a los líquidos que se generan a raíz de la degradación de la materia orgánica (de origen bioquímico) y los líquidos que se originan de la infiltración de agua en el relleno (de origen hidrológico). Los gases generados a raíz de la degradación de la materia orgánica se suelen llamar "biogás," gases que cuando se forman en ambientes sin oxígeno contienen principalmente metano y dióxido de carbono<sup>17</sup>.

**1.2.1 Lixiviados.** La descomposición o putrefacción natural de la basura produce un líquido maloliente de color negro, conocido como lixiviado o percolado, muy parecido a las aguas residuales domésticas, pero mucho más concentrado.

De otro lado, las aguas lluvias que atraviesan las capas de basura, aumentan el volumen de los lixiviados en una proporción mucho mayor que la que produce la misma humedad de los desechos; de ahí la importancia de interceptar y desviar las aguas de escorrentía y pequeños hilos de agua antes del inicio de la operación, puesto que si el volumen de este líquido aumenta demasiado puede causar no sólo problemas en la operación del relleno, sino también contaminar las corrientes de agua, los nacimientos y los pozos vecinos.

---

<sup>16</sup> BIBLIOTECA LUIS Ángel Arango. Relleno Sanitario. Guia Temática de Ecología y Medio Ambiente. [Cited 15 Nov., 2003]. Available from internet: <[http:// www.lablaa.org/ayudadetareas/biologia/biolo.htm](http://www.lablaa.org/ayudadetareas/biologia/biolo.htm) >

<sup>17</sup> UESP. Relleno Sanitario. [Cited 20 Nov., 2004]. Available from internet: <<http://www.uesp.gov.co/publicaciones.html>>

Los lixiviados, provenientes de vertederos, tienen normalmente una contaminación orgánica muy alta. El efecto de un drenaje de estos lixiviados directamente en un canal o río, será la destrucción de toda la flora y fauna en el agua y sus alrededores. En la siguiente tabla se muestra las características de los lixiviados.

**Tabla 1.** Características de los lixiviados de un vertedero <sup>18</sup>

<b>Parámetros</b>	<b>Concentración (mg/l)</b>
DBO	40-89.5
DQO	81-33.36
pH	3.7-8.5
Sólidos Disueltos	584-44.9
Sólidos en suspensión	10-700
Alcalinidad (CaCO <sub>3</sub> )	240-20.5
Dureza (Ca CO <sub>3</sub> )	540-22.8
Fósforo Total	0-130
NH <sub>3</sub> -N	0-1106
NO <sub>2</sub> + NO <sub>3</sub> - N	0-10.3
Calcio	60-7200
Cloruro	5-2467
Sodio	34-7700
Potasio	28-3770
Sulfatos	1-1558
Manganeso	0.1-125
Magnesio	17-15.6
Hierro	0-2820
Zinc	0-370
Cobre	0-10
Cadmio	0-17

**1.2.1.1 Recogida de lixiviados.** Los lixiviados más concentrados siempre deben ser separados de los menos concentrados. Eso se puede conseguir con sistemas de tuberías de recogida por separado, alrededor del vertedero. Además y durante la fase operativa del vertedero, las celdas en las cuales se vierten los residuos deben ser las más pequeñas posibles y separadas entre sí para evitar una mezcla de agua de lluvia y de los lixiviados.

<sup>18</sup> RECOGIDA Y TRATAMIENTO de lixiviados. Características del lixiviado de vertedero. [Cited 6 Dic., 2004]. Available from internet: <[http:// www.miliarium.com/Proyectos/Vertederos/RSU/ Lixivybiogas/ Lixiviado.htm](http://www.miliarium.com/Proyectos/Vertederos/RSU/Lixivybiogas/Lixiviado.htm)>

Los lixiviados son recogidos en un depósito de regulación y posteriormente llevados a una planta de tratamiento. Para el tratamiento de los lixiviados se pueden utilizar dos tipos de sistemas. En su primera fase, el vertedero produce lixiviados con un alto contenido en DQO/DBO. Para esta fase el mejor tratamiento sería un sistema anaeróbico. Una vez en pleno funcionamiento (10 años) el contenido en DQO/DBO bajará muy rápidamente y el mejor sistema sería un aeróbico, o combinar los sistemas de tratamiento <sup>19</sup>.

### 1.3 PLAGUICIDAS

Un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezclas de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, producción de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos <sup>20</sup>.

Asimismo, el destino y comportamiento de los plaguicidas en el medio ambiente dependen básicamente de las propiedades físico – químicas del compuesto, así como de la forma en la que es liberado y de las condiciones del ecosistema.

Atendiendo a su movilidad, la contaminación por plaguicidas puede tener lugar en el aire, suelo, agua y biosfera <sup>21</sup>. La contaminación en y a través del aire tiene importancia especial cuando se trata de aplicaciones por medios aéreos, afectando no solo a los operarios, sino que los tratamientos extensivos pueden incidir tanto en la salud humana como en la fitotoxicidad a cultivos, y en buena extensión a la fauna reduciendo en buena parte sus posibilidades de supervivencia. Además, las partículas más livianas pueden ser arrastradas a zonas lejanas del punto de tratamiento, lo que explica la presencia de residuos de insecticidas en zonas que nunca fueron tratadas.

---

<sup>19</sup> SOLUCIONES. Tratamiento de Lixiviados. [Cited 10 Jan., 2005]. Available from internet: <[http:// www.cipres.cec.uchile.cl/~edmunoz/solucio3.html](http://www.cipres.cec.uchile.cl/~edmunoz/solucio3.html)>

<sup>20</sup> PLAGUICIDAS, PESTICIDAS. [Cited 10 Jan., 2005]. Available from internet: <<http://www.tierramerica.net/2002/1201/conectate.shtml>>

<sup>21</sup> BARBERÁ, C. Pesticidas agrícolas. Barcelona: Omega, 1989. p. 58.

Por lo que respecta a la contaminación en el suelo, se debe tanto a los tratamientos específicos, como también por contaminación provenientes de otros tratamientos, como los aéreos, cuando los residuos volátiles caen al suelo o son arrastrados por la lluvia. Muchos plaguicidas (la mayoría de ellos herbicidas polares, derivados fosfóricos) se degradan rápidamente en el suelo, y sus residuos desaparecen en un corto plazo.

El agua es una vía muy importante a través de la cual los plaguicidas se extienden por el medio ambiente, bien por el uso de pesticidas destinados a la higiene pública (por ejemplo la lucha contra las larvas de mosquitos en charcas y aguas estancadas), o indirectamente por la movilización de contaminantes de aire y suelos (por ejemplo, arrastres por agua de lluvia). El plaguicida disuelto en el agua puede ser desplazado horizontalmente, por escorrentía superficial, o verticalmente a través de la zona no saturada (lixiviación) pudiendo alcanzar el agua subterránea; durante su paso a través del suelo, el plaguicida puede quedar adsorbido y/o sufrir transformaciones químicas o microbianas (dependiendo de la reactividad intrínseca de sus grupos funcionales), así como degradación, proceso que reduce o elimina la presencia de plaguicidas en el medio ambiente.

Como consecuencia de las contaminaciones de los tres compartimentos citados anteriormente, de forma directa o indirecta, puede producirse la contaminación de la biosfera. Los plaguicidas pueden entrar en los organismos vivos directamente por partición entre el agua y los tejidos a través de la piel, durante la respiración, o por medio de la alimentación. La eliminación de estos puede tener lugar por excreción o por biotransformaciones metabólicas. Los parámetros que afectan a estos procesos incluyen la solubilidad en agua y la liposolubilidad del compuesto, el grado de ionización, la estabilidad química y el tamaño molecular.

**1.3.1 Evaluación de la exposición a plaguicidas.** La actividad en la que el consumo de plaguicidas es mayor es la agricultura. Las cosechas se ven afectadas por una gran diversidad de plagas así como por la competencia de las malas hierbas. Además, la introducción por el agricultor de especies nuevas más productivas genera desequilibrios ecológicos que tienen como consecuencia la proliferación de plagas debidas a la desaparición de los predadores naturales. El *sector agrícola* es considerado como el grupo poblacional con más alto riesgo de exposición a estos contaminantes tóxicos, como consecuencia de la elevada importancia que viene adquiriendo en algunos países el uso de insecticidas, fungicidas, molusquicidas, bactericidas, herbicidas y fumigantes.

Pero no solamente el sector agrícola se encuentra expuesto a pesticidas, diferentes grupos y sectores de la población en general también están expuestos a ellos, aunque en distinto grado. Uno de los riesgos para la *población general* es la exposición a largo plazo provocada por la presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos como consecuencia de los tratamientos fitosanitarios, así como por los contaminantes ambientales. Debe

tenerse en cuenta que todos los plaguicidas, como biocidas que son, tienen una cierta toxicidad y, por tanto, sus residuos en los productos vegetales tratados pueden suponer un riesgo para la salud de los consumidores si superan unos determinados límites. Debido a esto, se debe respetar el periodo de seguridad para la recolección: tiempo que debe transcurrir entre el tratamiento fitosanitario y la recolección de los productos a consumir.

Por último existen exposiciones accidentales o intencionales. Según datos de la OMS (Organización Mundial de la Salud) se producen anualmente en el mundo alrededor de 1.000.000 de intoxicaciones agudas graves accidentales entre aplicadores de plaguicidas. A esta cifra hay que sumar unos 2 millones de intoxicaciones intencionadas, fundamentalmente suicidios<sup>22</sup>.

**1.3.2 Toxicología Humana.** Prácticamente todos los plaguicidas son tóxicos para los mamíferos, en mayor o en menor grado; por ello, su manejo acarrea unos riesgos de intoxicación que deben ser tenidos en cuenta, especialmente en las personas que los manipulan y los aplican. Los efectos de los plaguicidas en el hombre, no depende solamente de la clase y dosis del tóxico y de la forma de las exposiciones, sino también de la naturaleza de los coadyuvantes (p.e. disolventes). Es muy importante la sensibilidad particular del individuo; las mujeres y los niños son, generalmente, más sensibles que los hombres<sup>23</sup>.

La toxicidad de los plaguicidas presenta distintos aspectos según su trascendencia. Por lo que a sus efectos más inmediatos se refiere, se consideran cuatro clases de toxicidad, cuya determinación previa mediante estudios de contaminación animal es hoy día obligada, cada vez que un nuevo producto se presenta en el mercado.

La *Toxicidad oral aguda*. Se refiere a la ingestión “de una sola vez” de un producto tóxico y se expresa en términos “dosis letal media” LD-50 que significa la cantidad de tóxico que es necesario ingerir de una sola vez para producir la muerte del 50% de los organismos usados para el bioensayo<sup>24</sup>. Esta dosis suele expresarse en miligramos de plaguicida por kilogramo de peso del animal. En este tipo de ensayo el efecto punto final que se mide es la muerte del animal.

---

<sup>22</sup> LOPEZ, F.; OBIOLS, J. y SUBIAS, J. Plaguicidas agrícolas y salud. En: Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos. Castellón de la Plana: Publicaciones de la Universidad Jaume I, 1998. p 96.

<sup>23</sup> KLIMMER, O. Plaguicidas: toxicología, sintomatología y terapia. Barcelona: Oikos- Tau, 1967. p 80.

<sup>24</sup> BARBERÁ, Op. Cit., p. 67.

La LD-50 oral aguda da una idea de la toxicidad relativa de los plaguicidas y extrapolando razonablemente los resultados puede deducirse una LD-50 teórica para los seres humanos.

La Toxicidad Subaguda. Se refiere a exposiciones repetidas durante un mes o menos. Aquí el efecto que se toma en consideración no es la muerte del animal. Puesto que las dosis administradas son más bajas que en la exposición aguda, los efectos también son menos extremos y se registran todas las alteraciones producidas en todos los tejidos y fluidos corporales. Este tipo de experimentación permite obtener la dosis máxima a la que ninguno de los animales muestra efectos tóxicos, que es una medida cuantitativa de la toxicidad de un compuesto, y también presenta una amplia variabilidad con respecto a la especie ensayada.

La Toxicidad Dérmica. Se refiere a los riesgos tóxicos debidos al contacto y absorción del plaguicida por la piel. Al igual que la anterior se expresa en términos de LD-50 y en miligramos /kilo peso.

La Toxicidad Crónica. Esta provocada por la acción prolongada e inadvertida de dosis pequeñas, pero ineficaces en toma única del producto. Se expresa como partes por millón de tóxico presente en la dieta alimenticia, durante los días que se especifiquen y que producen los efectos que se señalen.

Aparte de estas toxicidades que deben considerarse básicas, hay que tener en cuenta otros riesgos como son las reacciones inesperadas de hipersensibilidad o alergia, cuya intensidad no depende de la dosis del producto estudiado y, cuyos síntomas, no son específicos, es decir, son diferentes del cuadro sintomático del producto causante. También en caso de manejo negligente o uso impropio, son frecuentes los síntomas de intoxicaciones por inhalación o por penetración en la piel, boca u ojos. Asimismo, también hay estudios que relacionan a los plaguicidas con la neurotoxicidad, mutagénesis, carcinogenia y reproducción <sup>25</sup>.

**1.3.3 Ecotoxicología y evaluación de riesgo ambiental.** La ecotoxicología la podemos definir como la ciencia que se encarga de estudiar los efectos de las sustancias químicas sobre las estructuras y función de los ecosistemas. Valorar y predecir efectos sobre estructuras muy complejas es sin duda una tarea difícil de desarrollar y es por ello, que se han diseñado modelos de valoración de riesgos que nos permiten predecir situaciones adversas sobre el medio ambiente producto de la liberación de sustancias químicas, plaguicidas.

-----  
<sup>25</sup> PITARCH, Op. Cit., p. 23-24.

Cada plaguicida después de haber sido aplicado o expuesto al ambiente actúa con una dinámica y un destino propio, de acuerdo a las propiedades mismas del plaguicida y a los diferentes compartimentos de los ecosistemas con los que tendrá que interactuar. El movimiento y la dispersión de los ecosistemas de un plaguicida son las causas de la contaminación ambiental. Su dispersión y destino final dependerá de las características del ecosistema y del plaguicida, tipo de formulación, método de aplicación, condiciones ambientales y agrícolas <sup>26</sup>.

Lo anterior tiene importancia para la evaluación y determinación del comportamiento de un plaguicida en el ambiente (suelo, agua y aire), la disponibilidad biológica y la toxicidad a los organismos (terrestres y acuáticos) que se ven expuestos y el potencial bioacumulación.

El principal origen de los plaguicidas en el ambiente es consecuencia de las aplicaciones que se realizan a los cultivos agrícolas y forestales mediante distintos métodos de aplicación terrestres y aéreos.

De acuerdo al método de aplicación, los depósitos del plaguicida es decir, la cantidad que queda sobre el vegetal inmediatamente después del tratamiento pueden variar por muchos factores:

- Dosis del plaguicida aplicado
- Naturaleza química del plaguicida
- Naturaleza de la formulación
- Características de la aplicación (tamaño de la gota)
- Naturaleza y morfología de la superficie vegetal
- Condiciones climáticas, etc.

A partir de los resultados anteriores, vemos que en muchos casos y según las condiciones expuestas una cantidad importante de los plaguicidas en una aplicación es derivado a los suelos y aguas cercanas causando inevitablemente, la contaminación de estos y en consecuencia efectos adversos sobre los ecosistemas de esos compartimentos <sup>27</sup>.

---

<sup>26</sup> EVALUACION DEL riesgo ambiental a la liberacion de plaguicidas. [Cited 20 Sep., 2004]. Available from internet: <[http:// www.monografias.com/ trabajos10/evaries/evaries.shtml](http://www.monografias.com/trabajos10/evaries/evaries.shtml)>

<sup>27</sup> RAPAL. EFECTOS de los plaguicidas en el medio ambiente. EVALUACION DEL riesgo ambiental a la liberacion de plaguicidas. [Cited 20 Sep., 2004]. Available from internet:<[http:// www.rapal.org/v2/index.php.seccion.efectos\\_medio.php](http://www.rapal.org/v2/index.php.seccion.efectos_medio.php)>

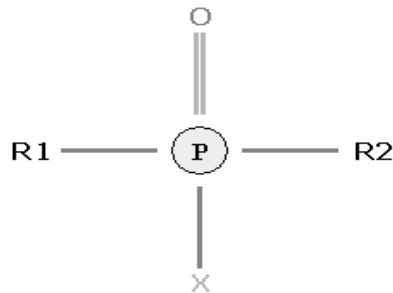
## 1.4 PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

**1.4.1 Consideraciones generales.** Los organofosforados son sustancias orgánicas de síntesis, son ésteres o amidas derivadas del ácido fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico, fosfónico y fosfinico, conformadas por un átomo de fósforo unido a 4 átomos de oxígeno o en algunas sustancias a 3 de oxígeno y uno de azufre.

Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica que lo coloca en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran bioacumulación.

Los insecticidas organofosforados se clasifican según su fórmula general (Holmstedt) <sup>28</sup>, en cuatro categorías de acuerdo con el carácter del grupo X, como se observa en la figura 1 y en la tabla 2.

**Figura 1.** Estructura general de los pesticidas organofosforados



Fuente: HOLMSTEDT, B. Pharmacology of organophosphorus cholinesterase inhibitors.

---

<sup>28</sup> HOLMSTEDT, B. Pharmacology of organophosphorus cholinesterase inhibitors. En: Revista Pharmacol, 1959. v. 11. p. 567-569.

**Tabla 2.** Clasificación de los OPs según su fórmula general (Holmstedt)

<b>CATEGORIA</b>	<b>GRUPO (X)</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
I	Nitrógeno cuaternario	Constituido por las fosforilcolinas. Son los mas tóxicos. No se usan como insecticidas. Uno de ellos el ecotiofato se usa en el tratamiento del glaucoma.
II	Flúor	Constituido por los florofosfatos. Son muy volátiles. Usados como gases de guerra. El mas representativo es el Sarín.
III	CN, OCN, SCN u otro halogenado que no sea flúor	El más representativo es el Tabún. Utilizado también como gas de guerra y no como insecticida.
IV	Otra molécula distinta de las anteriores	Incluye la mayoría de los compuestos utilizados como insecticidas. A su vez se subdividen en 8 subgrupos en relación con los sustituyentes R1 y R2

Los plaguicidas Ops son, en general, sustancias biodegradables en la naturaleza, sin tendencia a acumularse en las grasas del organismo, y que forman parte del grupo de insecticidas llamados “de contacto”, por absorberse por medio de los lípidos del exoesqueleto de los insectos. Son posiblemente los insecticidas mas utilizados en la actualidad .

A lo largo de los últimos 20 años se ha producido un profundo cambio en las prácticas agrícolas, de modo que los plaguicidas organofosforados han reemplazado ampliamente a los plaguicidas organoclorados. Este hecho se ha producido como consecuencia de la alta toxicidad y capacidad de bioacumulación en la cadena trófica de estos últimos, como consecuencias de sus características químicas. Aunque, en principio, los compuestos organofosforados son menos peligrosos para la vida salvaje que los organoclorados, la amplia variabilidad química de este grupo de plaguicidas y el uso masivo que de ellos se está haciendo necesario un estudio exhaustivo de sus propiedades tóxicas y de su capacidad de afección y bioconcentración en seres vivos que no son su objetivo.

Los compuestos organofosforados son productos de elevada reactividad química, lo que les confiere diversos alicientes para su uso; al tratarse de compuestos muy activos las dosis necesarias de materia activa son bajas. Además, se degradan con relativa facilidad, bien mediante reacciones de hidrólisis que dan lugar a productos inocuos para el medio ambiente, o por reacciones de oxidación, que conducen a metabolitos mas o menos tóxicos, pero que son mas fáciles de hidrolizar. Son productos cuya toxicidad aguda es, en general,

mayor que la de los Organoclorados, mientras que la crónica es inferior, ya que tienden a hidrolizarse en vez de acumularse en las grasas <sup>29</sup>.

Su volatilidad es muy variable, se pueden presentar como líquidos o sólidos, pero la mayoría de ellos vienen en forma de líquidos volátiles; dicha volatilidad se aumenta con la temperatura disminuyendo su acción residual al disiparse fácilmente en el ambiente. Esta propiedad de volatilizarse es muy importante desde el punto de vista toxicológico, pues debido a esto la vía de ingreso más rápida al organismo es la respiratoria <sup>30</sup>.

En la tabla 3 se muestra los OPs más representativos con sus respectivas características <sup>31,32,33</sup>.

---

<sup>29</sup> GISBERT. Medicina Legal y Toxicología. Barcelona:Masson-Salvat,1996.p. 90.

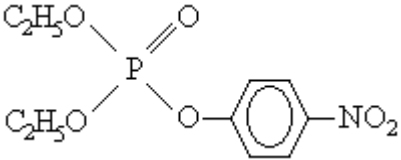
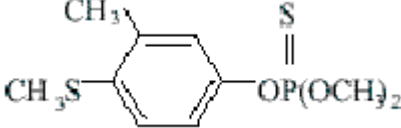
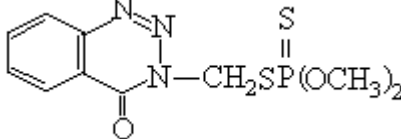
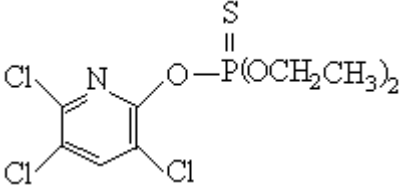
<sup>30</sup> RESTREPO, Ricardo; VARGAS, María y MORA, Amanda, En: Paratión – monografía, [Cited 18 Nov., 2003]. Available from internet: <[http:// www.monografias.com/trabajo14paration/paration.5html](http://www.monografias.com/trabajo14paration/paration.5html) >

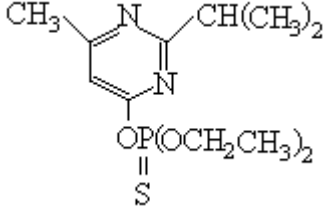
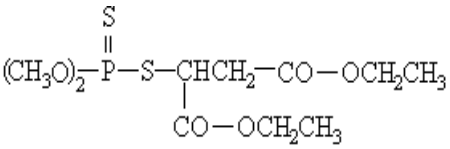
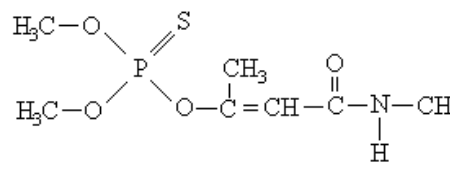
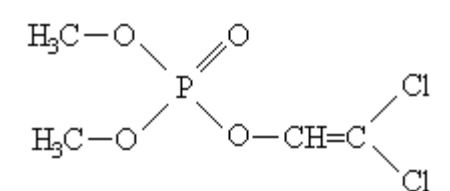
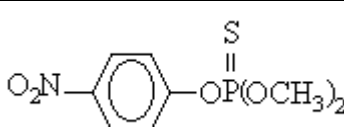
<sup>31</sup>YELAMOS, F.; DIEZ, F.; MARTIN, J.; BLANCO, J.; GARCIA, M. Y PEÑA, J. Intoxicaciones agudas por insecticidas organofosforados en la provincia de Almería. Almería: Med Clin (Barc), 1992. p. 683-684.

<sup>32</sup> MARTIN, J. y GALINDO, J. Protocolo de actuación en intoxicaciones por insecticidas organofosforados. En: Ilustre Colegio Oficial de Médicos de Almería, editor. Almería: Imprenta Ubeda, 1991. p. 107-109.

<sup>33</sup> DE LIÑÁN, C. Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales. Madrid: Agrotécnicas, 1996.

**Tabla 3.** Características de los Pesticidas organofosforados más representativos

NOMBRE	FORMULA	CARACTERISTICAS
Dimetoato	$\text{CH}_3\text{-NH-CO-CH}_2\text{-S-P(=S)(OCH}_3)_2$	<p>Ditiofosfato de O,O-dimetilo y de S-(N-metilcarbamoil) metilo: Es un insecticida-acaricida sistémico con actividad por ingestión y contacto. Pertenecce al grupo IV. Su toxicidad es moderada. Se utiliza con frecuencia en las zonas olivaderas de nuestro país.</p>
Paratión		<p>Etil paratión, tiofosfato de O,O-dietilo y de O-(4-nitrofenilo): Es el plaguicida más utilizado debido a su gran eficacia. Es un insecticida-acaricida con actividad por ingestión y contacto. Su toxicidad es muy alta, por lo que está prohibido su uso en invernaderos y en recintos cerrados.</p>
Fention		<p>3-metil 4-metiltiofenil dimetil tionofosfato: Es un insecticida penetrante, con acción por ingestión y contacto. Pertenecce al grupo IV. Su toxicidad es moderada. Es muy tóxico para abejas y aves.</p>
Azinfos metil		<p>Ditiofosfato de o,o-dimetilo y de 4-oxobenzotriazin-3-ilmetilo. Es un insecticida, gástrico y de contacto, extremadamente tóxico. La sustancia se puede absorber por inhalación del aerosol, a través de la piel y por ingestión. Es neurotóxico.</p>
Clorpirifos		<p>Etil clorpirifos, tiofosfato de O,O-dietilo y de O-(3,5,6-tricloro 2-piridilo): Es un insecticida-acaricida activo por ingestión, contacto e inhalación. Su toxicidad es moderada. Posee un amplio campo de actividad. Se utiliza no solo en la agricultura sino también en los hogares, contra las cucarachas.</p>

Diazinon		<p>Ditiofosfato de o,o-dimetilo y de 4-oxobenzotriazin-3-ilmetilo. Es un insecticida usado para controlar insectos en el suelo, en plantas y en cosechas de frutas y hortalizas. Es uno de los insecticidas causantes de la mayor parte de casos de envenenamiento, tanto en el hombre como en la fauna silvestre. La mayoría de los casos tienen lugar en el hogar.</p>
Malatión		<p>Ditiofosfato de O,O-dimetilo y de S-(1,2-dietoxicarboniletilo): Es el primer IOF que mostró un amplio espectro de acción y una baja toxicidad para los mamíferos. Es un insecticida-acaricida con acción por ingestión y contacto Su toxicidad es baja.</p>
Monocrotofós		<p>Fosfato de dimetilo y de cis 1-metil 2-(N-metilcarbamoil) vinilo. Es un insecticida-acaricida con actividad por vía sistémica y por contacto. Su toxicidad es alta.</p>
Diclorvos		<p>Fosfato de 2,2-diclorovinilo y dimetilo. Líquido viscoso incoloro, de olor característico. Se usa para controlar insectos en áreas de almacenamiento de alimentos, invernaderos, graneros y para el control de insectos en ganado La sustancia se puede absorber por inhalación, a través de la piel y por ingestión.</p>
Metil Paratión		<p>El metilparatión puro existe en forma de cristales blancos, impuro es un líquido pardusco que huele a huevos podridos, es un insecticida que no ocurre naturalmente en el medio ambiente. El metil paratión es usado para matar insectos en cosechas agrícolas, especialmente algodón.</p>

Mevinfos	<chem>COP(=O)(OC)OC(=C)C(=O)OC</chem>	Fosfato de 2-metoxicarbonil-1-metilvinilo y de dimetilo. Líquido incoloro o amarillo pálido. La sustancia se puede absorber por inhalación del aerosol, a través de la piel y por ingestión, ¡también como vapor!.
----------	---------------------------------------	--

Es muy amplia la lista de utilidades de los organofosforados:

En Medicina se han utilizado clásicamente para el tratamiento de la miastenia gravis, el glaucoma, el íleo paralítico y la atonía vesical, y más, recientemente para tratar algunos tumores la enfermedad de Alzheimer y la retinitis por citomegalovirus.

En la industria los COF se utilizan como aditivos del petróleo, disolventes, en las industrias de colorantes, barnices, cuero artificial, aislantes eléctricos, impermeabilizantes, ignífugos, ablandadores de plásticos, plastificantes del caucho etc.

En el ámbito doméstico los COF forman parte de la formulación de muchos insecticidas para cucarachas y hormigas.

Sin embargo el uso más relevante de los COF es en la agricultura fundamentalmente como insecticidas, y en menor grado como helminticidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas y herbicidas<sup>34</sup>.

#### 1.4.2 Clasificación de los pesticidas organofosforados de acuerdo con la toxicidad.

Los OPs se clasifican según su toxicidad el cual se expresa en términos de “dosis letal media” LD-50 ... ver sección 1.3.2 ... La siguiente tabla muestra su respectiva clasificación de acuerdo a su toxicidad.

<sup>34</sup> BAÑOS, J. Y BOSCH, F. Aspectos históricos de los organofosforados. Med Clin (Barc), 1992. p. 718.

**Tabla 4.** Clasificación de los OPs de acuerdo a la toxicidad <sup>35</sup>

<b>Muy tóxico (LD<sub>50</sub>&lt;50 mg/kg)</b>	<b>Moderadamente tóxico (LD<sub>50</sub>&gt;50 mg/kg)</b>	<b>Poco tóxico (LD<sub>50</sub>&gt;1000 mg/kg)</b>
Azinfos-metil	Bromofos-etil	Acefate
Bomyl	Clorpirifos	Bromofos
Carbofenotion	Crotoxifos	Etrimfos
Clorfenvinfos	Cianofos	Iodofenos
Clormefos	Citioato	Malatión
Clortiofos	DEF	Merfos
Coumafos	Demeton-metil+	Foxim
Cyanofenos	Diazinon	Pirimifosmetil
Dialifor	Diclofention	Propiltioprofosfato
Dicrotofos	Diclorvos	Temefos
Dimeton+	Dimetoato	Tetraclorvinfos
Disulfoton+	Dioxation	
EPN	EPBP	
Etil paratión	Etion	
Famfur	Etoprop	
Fenamifos	Fenitrotion	
Fenofosfon	Fention	
Fensulfotion	Formotion	
Fonofos	Heptenofos	
Isofenfos	Isoxation	
Metamidofos	Leptofos	
Metidation	Naled	
Metil paratión	Fencapton	
Mevinfos	Fentoato	
Monocrotofos	Fosalone	
Forate	Fosmet	
Fosfolan	Profenofos	
Fosfamidon	Propetamfos	
Protoato	Pirazofos	
Schradan	Piridafention	
Sulfotepp	Quinalfos	
Terbufos	Sulprofos	
Tetraetil pirofosfato	Triazofos	
Triamifos	Triclorfon	

<sup>35</sup> TOMES PLUS, Software de toxicología. Micromedex, 1997. [Cited 2 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.ensam.inra.fr/cholinesterase/chem/organophosphates.html>>

**1.4.3 Efectos.** En los seres humanos los efectos de salud causados por pesticidas organofosforados ya sea por contacto superficial: manejando productos con pesticidas, inhalación: respirando polvo o rocío o por ingestión: consumiendo pesticidas como un contaminante en la comida o en el agua, afectan el sistema nervioso reduciendo la habilidad de colinesterasa, una enzima, que funciona propiamente regulando un neurotransmisor llamado acetilcolina, esto se debe a que las uniones fósforo-oxígeno de los pesticidas son bastante lábiles y el fósforo liberado de este “grupo libre” se asocia con la enzima. La acetilcolina ayuda a transferir el impulso nervioso de una célula nerviosa a una célula del músculo u otra célula nerviosa. Si la acetilcolina no es controlada propiamente por colinesterasa, los impulsos nerviosos o neuronas permanecen activas más tiempo de lo que deben, pueden estimular los nervios y músculos y causar síntomas como debilidad, parálisis de los músculos e incluso la muerte <sup>36</sup>.

La acetilcolina (CE) tiene un centro activo con dos sitios reactivos principales: un sitio aniónico (por el que se une a la acetilcolina), y un sitio esterásico (al que se une los COF). La unión COF-CE es inicialmente fuerte, aunque es todavía susceptible de ser reactivada mediante la administración precoz de unos fármacos denominados oximas. En las primeras horas se producen unas reacciones químicas que hacen la unión COF-CE más estable, hasta quedar una unión irreversible que tarda entre 60 minutos y varias semanas en deshacerse <sup>37</sup>.

La tolerancia a exposiciones de pesticidas que alteran la colinesterasa está influenciada por factores tales como edad, sexo, estado reproductivo, linaje genético, estado nutricional y tensores endógenos y exógenos. Sin embargo los cambios en sensibilidad no sugiere el mismo patrón, puesto que los adultos no son siempre más tolerantes a cambios tóxicos. Estos modelos de tolerancia son atribuidos a interacciones entre intensidades del sistema nervioso central inmaduro en el caso de los pájaros y el balance de respuesta hepática responsable de la toxicidad del paratión, en los mamíferos <sup>38</sup>. La reacción que produce los OPs en la acetilcolina se muestra en la figura 2.

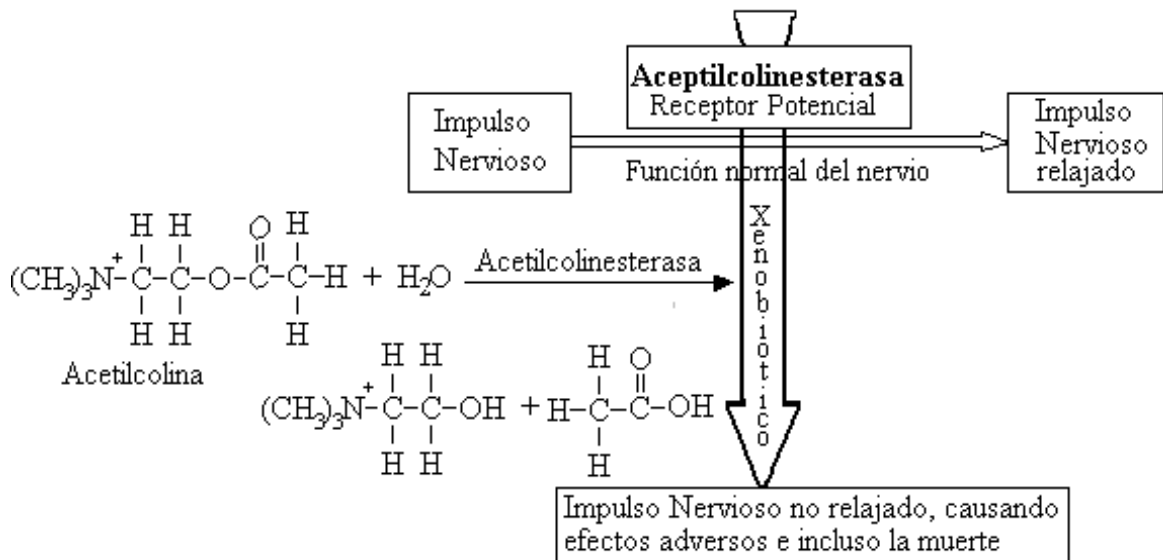
---

<sup>36</sup> ERNEST, K.; THOMAS, M.; PAULOSE, M.; RUPA, V. y GNANAMUTHU, C. Delayed effects of exposure to organophosphorus compounds. *Indian: Med Res*, 1995. p. 81-84.

<sup>37</sup> MARTÍNEZ, J.; MOLINERO, F.; PEÑEIRO, D. y GARCIA D. Valor de la Colinesterasa plasmática en la intoxicación aguda por insecticidas anticolinesterásicos. *En: Revista Diagn Biol*, 1985. v. 34. p. 37.

<sup>38</sup> MARTINEZ, J. Intoxicación por insecticidas anticolinesterásicos. *En: Revista Toxicol*, 1990.v.7. p.135.

**Figura 2.** Reacción de los pesticidas organofosforados en la acetilcolina



Fuente: Organofosforados-toxicología pesticidas. [www.saudeetrabalho.com.br/t-rural.htm](http://www.saudeetrabalho.com.br/t-rural.htm)

Los organofosforados han sido vinculados con diversos síndromes y recientemente con la enfermedad de Parkinson. La participación de factores ambientales en la etiología de este padecimiento fue propuesta a raíz del descubrimiento del daño neurológico provocado por la N-metil,4-fenil-1,2,3,6-tetrahidro piridina (MPTP). Se considera que estos compuestos estimulan las enfermedades infecciosas, sobre todo del tracto respiratorio y se ha encontrado que la leucemia linfocítica crónica es mayor en sujetos expuestos a plaguicidas organofosforados, especialmente crotóxifos, diclorvos y famfur bajo exposiciones agudas, mientras que el conocimiento de los efectos crónico de los plaguicidas OPs es muy limitado e igualmente lo son sus efectos a plazos largos <sup>39</sup>.

Los pesticidas organofosforados también afectan el medio ambiente, estos pueden causar contaminación de agua y maltrato a plantas o animales que no son el interés de la aplicación del pesticida. Por ejemplo, las abejas de miel pueden morir por aplicaciones del pesticida, como insectos que están usándose para ayudar al control de plagas. Animales que viven cerca de una área donde se usan pesticidas puede afectarse, también. Se mira la contaminación de agua a través de escurrimiento o filtración en aguas subterráneas y superficiales.

<sup>39</sup> SOLÉ, J.; MARTINEZ, J.; MOLINERO, F.; y RODRIGUEZ, I. Manifestaciones neurológicas en la intoxicación por insecticidas organofosforados. España: Med Clin (Bare), 1985. p. 217

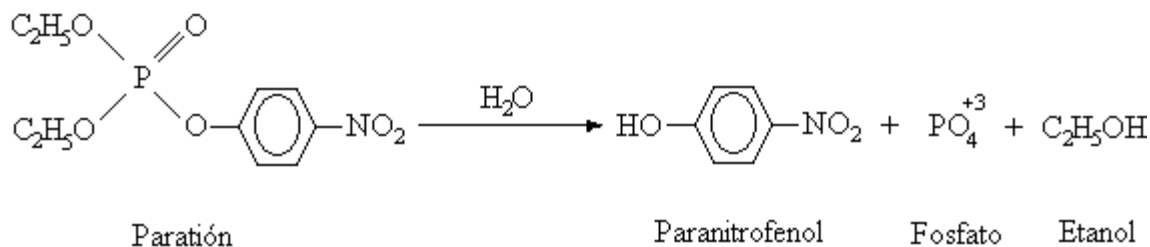
Por tanto estos efectos ecológicos que causan los pesticidas se extienden más allá de los organismos individuales y pueden extenderse a los ecosistemas <sup>40</sup>.

### 1.5 PROCESOS DE DEGRADACION

Una vez dispersados en el medio, los plaguicidas sufren alteraciones en su estructura debido a procesos tanto abióticos como bióticos. En sistemas acuosos los procesos abióticos de degradación principales son la degradación química y la fotodegradación.

Las reacciones de degradación química más importante son las de hidrólisis, que puede tener lugar en condiciones tanto ácidas como básicas, como se indica en la figura 3. Los OPs se degradan mediante este tipo de reacciones, que pueden ser aceleradas por la presencia de minerales o de óxidos metálicos <sup>41</sup>. En cambio, la adsorción de los pesticidas en la materia orgánica, puede llegar a impedir su degradación y en la mayoría de los casos son los mecanismos que contribuyen al proceso de degradación con dependencia al pH <sup>42</sup>.

**Figura 3.** Reacción de hidrólisis del paratión



Con respecto a la fotodegradación podemos considerar dos efectos diferentes, la fotólisis directa y la fotólisis indirecta. La fotólisis directa comprende la absorción directa de la luz por el plaguicida seguido de la reacción química correspondiente, sin ninguna colaboración de otras sustancias químicas.

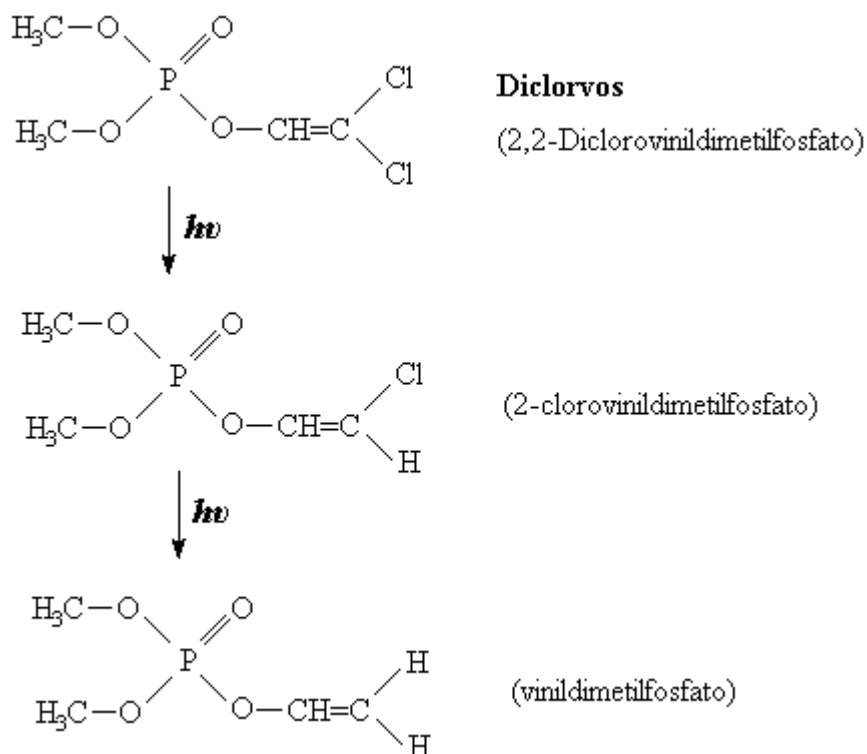
<sup>40</sup> ORGANOFOSFORADOS, Op. cit.

<sup>41</sup> VOUDRIAS, E.y REINHARD, M. ACS Symposium. New York: Series, 1986. 462 p.

<sup>42</sup> MATTHES, G. Pesticides in Groun and Surface Water. Alemania: Springer-Verlag, 1994. p 191.

Este proceso viene condicionado por variables ambientales como la radiación solar en la superficie del agua o su transmisión a través del agua, y por factores intrínsecos de la sustancia como son la velocidad de absorción de la luz <sup>43</sup>.

**Figura 4.** Reacción de fotólisis directa del diclorvos



En los procesos de fotólisis indirecta, la energía de la luz es absorbida por otros constituyentes del agua y es o bien transmitida a un plaguicida cercano o permite la formación de especies reactivas como radicales hidroxilo, que reaccionan con el plaguicida y lo transforman. Estos procesos tienen una gran importancia en la transformación total del compuesto <sup>44</sup>.

<sup>43</sup> STUMM, W. y MORGAN, J. Aquatic Chemistry. New York: Wiley Interscience, 1976. 208 p.

<sup>44</sup> LEIFER, A. The Kinetics of Environmental Aquatic Photochemistry. Washington: American Chemical Society, 1988. 123 p.

Especies orgánicas como los húmicos y fulvicos e inorgánicos como nitratos y nitritos pueden acelerar considerablemente la fotodegradación del pesticida, pero también se ha observado el efecto contrario utilizando agua de mar o determinados compuestos orgánicos. Las principales discrepancias en datos sobre fotólisis de pesticidas provienen de la diversidad en los sistemas acuosos y las fuentes de irradiación utilizadas <sup>45</sup>.

**1.5.1 Biodegradación.** Los primeros estudios sobre el papel de los microorganismos en el rompimiento de insecticidas organofosforados fue investigado por Ahmed y Casida (1958) quienes reportaron a los géneros de bacterias Thiobacillus, Pseudomonas, alga Chlorella y levaduras Torupolsis, como organismos capaces de biodegradar este tipo de compuestos más rápido que los carbamatos y compuestos clorinados. Sin embargo se aclara que su rata de degradación varía de acuerdo a la cantidad de químico dispuesto y formulación del pesticida.

Esta tecnología solo aplica a suelos y aguas contaminadas con pesticidas en concentraciones entre 50 y 100 ppm. Por encima de estos valores es prácticamente imposible pensar en una biodegradación, dado que se produce inhibición total de hongos y bacterias. Por otra parte la aplicación de la biodegradación requiere un sistema de lodos activados y digestión anaeróbica <sup>46</sup>.

**1.5.2 Inmovilización enzimática.** La utilización de enzimas inmovilizadas para la degradación de pesticidas involucra la inmovilización de una hidrolasa paratión de un extracto celular sobre poros de sílica para la hidrólisis del paratión. Esta metodología se basa en la fosfodiesterasa de Pseudomonas diminuta capaz de hidrolizar una gran variedad de pesticidas organofosforados incluyendo metil y etil paratión, diazinon, fensulfotion, entre otros. Además esta fosfodiesterasa es capaz de degradar toxinas mortales como sarin y soman. La reacción más característica de enzima involucra la hidrólisis del paraoxan, donde su inmovilización permite un sistema estable donde los sustratos pueden ser hidrolizados de forma continua y bajo condiciones ambientales.

El método específico de inmovilización se basa en la naturaleza hidrofóbica de la fosfodiesterasa, escogiéndose trityl agarosa como matriz insoluble y de alto poder de retención.

---

<sup>45</sup> CAP 5 – Estudio de degradación. [Cited 10 Jan., 2005]. Available from internet: <[http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_UPC/AVAILABLE/TDX-0130102-115958/08cap5 htm](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UPC/AVAILABLE/TDX-0130102-115958/08cap5 htm)>

<sup>46</sup> RESTREPO. Op. cit., p. 32.

Sin embargo una de las principales limitaciones del sistema fosfodiesterasa inmovilizada es el efecto negativo de altas concentraciones de solvente orgánico, lo cual resulta en la elución de la actividad enzimática del reactor <sup>47</sup>.

## 1.6 EXTRACCION EN FASE SOLIDA

**1.6.1 Fundamento de la técnica de Extracción en Fase Sólida.** Preparación de la muestra: Incluye generalmente un paso de extracción de los plaguicidas o metabolitos y otro alternativo de purificación, que debe ser lo suficientemente efectiva para separar a los analitos de los interferentes que están formando parte de la matriz correspondiente a una muestra extremadamente compleja. Muchos factores deben ser considerados para la elección de la técnica de extracción a desarrollar, principalmente los relacionados con el tipo de matriz objetivo de estudio. Típicamente, la mayoría de los procedimientos publicados en la bibliografía requieren la extracción de los plaguicidas mediante SPE, en algunos casos junto con la aplicación de pasos adicionales de purificación para eliminar interferencias.

La SPE es la técnica actualmente más utilizada que la extracción con disolventes, puesto que es bastante más simple y rápida, reduce el consumo de disolvente orgánico utilizado, posee una mayor capacidad de análisis y es más fácil de automatizar. Además, comercialmente existe una gran diversidad de materiales que pueden utilizarse como adsorbentes y eso supone que el campo de aplicación de esta técnica sea muy amplio y que pueda ser todavía incrementado con el desarrollo de nuevos materiales. La elección del adsorbente es de gran importancia pues debe retener significativamente a los plaguicidas. La capacidad de adsorción de un adsorbente depende, en parte, de su tratamiento, de las condiciones de manufactura y de la composición. Uno de los adsorbentes más utilizados en el análisis de plaguicidas es el florisil <sup>48</sup>.

**1.6.2 Tipos de Extracción en Fase Sólida.** Los dos tipos más utilizados de extracción en fase sólida se muestran en la tabla 5.

---

<sup>47</sup> CALDWELL, S. y RAUSHEL, F. Detoxification of Organophosphate Pesticides Using an Immobilized Phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*. En: Journal of Biotechnology and Bioengineering, 1990. p. 103.

<sup>48</sup> PITARCH. Op. cit., p. 48.

**Tabla 5.** Paralelo de dos tipos de Extracción en Fase Sólida <sup>49</sup>

<b>FASE NORMAL</b>	<b>FASE REVERSA</b>
Los analitos moderadamente polares a polares son extraídos de soluciones no polares hacia adsorbentes polares.	Los analitos moderadamente polares a no polares son extraídos de soluciones polares hacia adsorbentes no polares.
<i>Adsorbentes:</i> silica gel, florisil y alúmina	<i>Adsorbentes:</i> octadecil, octil, etil, ciclohexil, fenil, ciano.
<i>Condiciones:</i>	<i>Condiciones:</i>
Acondicionar la columna con un solvente no polar en el cual la muestra es disuelta.	Acondicionar la columna con metanol u otros solventes miscibles en agua como etanol, isopropanol o acetonitrilo. Acondicionar con solvente polar similar a la solución de la muestra (agua, buffer, etc.). No dejar secar el adsorbente durante las condiciones.
<i>Aplicación de la muestra:</i>	<i>Aplicación de la muestra:</i>
1. Si el analito es retenido por el adsorbente, la solución de la muestra debería estar en un solvente no polar en el cual el analito tiene solubilidad limitada.	1. Si el analito es retenido por el adsorbente, la solución de la muestra debería estar en un solvente polar en el cual el analito tiene solubilidad limitada.
2. Las interferencias polares son removidas de una muestra que contiene un analito no polar usando una solución de muestra no polar en la cual el analito es muy soluble. El analito no polar no retenido pasará a través de la columna con la solución de la muestra.	2. Las interferencias no polares pueden ser removidas de una muestra contenidas por un analito polar usando una solución de muestra polar en la cual el analito es muy soluble. El analito polar no retenido pasará a través de la columna con la solución de la muestra.
<i>Lavado de la columna:</i> Lavar con un solvente no polar.	<i>Lavado de la columna:</i> Lavar con un solvente polar.
<i>Elución del analito:</i> Eluir el analito con solvente moderadamente polar a un polar.	<i>Elución del analito:</i> Eluir el analito con solvente moderadamente polar a un no polar.

<sup>49</sup> ZIEF, Morris y KISER, Ruthann. Solid Phase Extraction for Simple Preparation. New York: J.T. Baker, 1997. 54 p.

## 1.7 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La validación es un proceso netamente experimental, efectuada mediante estudios de laboratorio, que permite evaluar o determinar la capacidad de un esquema analítico particular, cuyas características de diseño cumplen con los requerimientos metodológicos y de resultados para la aplicación analítica propuesta; que involucra el desarrollo de un protocolo, que incluye la estimación de las medidas de precisión y exactitud.

**1.7.1 Características básicas del método analítico.** Este debe conocer cuáles son sus características técnicas básicas, así como también el significado y alcance de las mismas.

**1.7.1.1 Exactitud.** Es el grado de proximidad entre una medida y el valor.

**1.7.1.2 Precisión.** Es el grado de concordancia entre los resultados obtenidos aplicando el método repetidas veces, bajo condiciones determinadas. La precisión describe la repetitividad y reproducibilidad.

- **Repetitividad.** Es expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones.

- **Reproducibilidad.** Describe el grado de concordancia entre resultados individuales obtenidos con el mismo método sobre muestras idénticas pero en condiciones diferentes .

- **Linealidad.** Es la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un margen de concentración determinado.

**1.7.1.4 Límite de detección.** Es la menor concentración de un analito, que se puede distinguir de una muestra en blanco con una confianza razonable.

**1.7.1.5 Límite de cuantificación.** Cantidad o concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión, bajo las condiciones experimentales establecidas <sup>50</sup>.

---

<sup>50</sup> ORTIZ, Jaime. Instituto Nacional de Salud. Curso de Capacitación en Validación de Metodologías Analíticas. Santa Fé de Bogotá: AOAC. Association of Official Analytical Chemists, 1990. p. 35.

## 2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Para desarrollar este proyecto se utilizó como técnica de separación la cromatografía de gases con detector FID (Detector de Ionización de Llama), ya que es el detector universal, de alta sensibilidad porque permite detectar los iones de Carbono que se forman durante la combustión a alta temperatura. Este detector también presenta la característica de poseer un factor de respuesta en masa casi idéntico para todos los hidrocarburos. La misma masa de distintos componentes produce la misma intensidad de señal en el detector. Esta característica transforma al FID en un detector de gran utilidad porque no es necesario conocer la fórmula de un componente para conocer si son óptimos y para realizar análisis aproximados en cuanto a la masa total del sistema <sup>51</sup>. La identificación confirmatoria de los pesticidas se realizó por medio de sus espectros de masa obtenidos en el cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas y para obtener la cuantificación se empleó una mezcla de pesticidas como estándar externo.

El método también involucra una extracción en fase sólida, esta técnica se utiliza debido a que muchos pesticidas organofosforados muestran inestabilidad en matrices acuosas, lo que establece la necesidad de desarrollar y/o optimizar métodos analíticos para extraer, recuperar y cuantificar plaguicidas organofosforados a bajos niveles de concentración. Las muestras fueron extraídas en precolumnas de extracción en fase sólida empacadas con florisil.

### 2.1 ESTANDARIZACION DEL MÉTODO

#### 2.1.1 Estandarización de las condiciones cromatográficas

**2.1.1.1 Tiempo Muerto:** Se utilizó el cromatógrafo de Gases G-17A SHIMADZU (figura 5) con puerto de inyección split/splitless, se empleó el detector FID y una columna cromatográfica capilar de sílice fundida: MDN-5, compuesta por una fase estacionaria de 5% fenil y 95% polidimetilsiloxano, por o tanto es una columna polarizable, con una longitud de 30m, diámetro interno 0.25mm y una película de espesor de 0.25µm, se utilizó también un encendedor comercial que contiene gas butano para la determinación del tiempo muerto.

---

<sup>51</sup> SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMAN Timothy. Principios de análisis instrumental. Madrid: Mc Graw Hill, 1992. p. 765 –766.

**Figura 5.** Cromatógrafo de Gases



**2.1.1.2 Flujo óptimo:** Se realizaron análisis por triplicado de una mezcla de estándar n-parafinas de C6 a C18, a una programación de temperatura de la columna que inició a 40 °C (5min) a 5°C /min hasta 250°C (15min), con un tiempo total del análisis de 62 min y un flujo total de 25 ml/min, y a diferentes flujos internos 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0, con el fin de obtener el flujo óptimo mediante la curva de Van Deemter. Datos establecidos por las estudiantes Diana Gomez y Mirosalba Moran, trabajo de grado de la universidad de Nariño.

**2.1.1.3 Optimización de la eficiencia de la columna:** Se prepararon soluciones de dos mezclas de estándares de pesticidas organofosforados de 12 y 6 componentes (RESTEK, BELLEFONTE.PA) de 1ppm cuya concentración esta por encima del límite de detección del detector (FID) que es de  $10^{-11}$ g de soluto, con el fin de determinar las programaciones de temperatura adecuadas para que la columna separe los compuestos de interés.

- La programación del horno seleccionada para una adecuada separación cromatográfica de la mezcla de 12 componentes fue: 75°C a 6°C/min hasta 310°C (5min), tiempo total del análisis 44min, como gas portador se utilizó Helio a 1ml/min. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 250°C y 310°C respectivamente, se utilizó el modo de inyección splitless con un tiempo de purga de 0.5 min; el volumen inyectado fue de 0.4µL.

- La programación del horno seleccionada para la mezcla de 6 componentes fue: 180°C a 4°C/min hasta 280°C, tiempo total del análisis 25min, como gas portador se utilizó Helio a 1ml/min. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 250°C y 300°C respectivamente, se utilizó el modo de inyección splitless con un tiempo de purga de 1 min; el volumen inyectado fue de 0.4µL.

**2.1.2. Validación de las condiciones cromatográficas.** El proceso de validación permite el conocimiento de las características de funcionamiento del método y proporciona un alto grado de confianza en el mismo y en los resultados obtenidos al aplicarlo el cual debe cumplir con las características de linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión, reproducibilidad y repetividad.

Se preparó soluciones stock de 20 ppm de las mezclas de estándares (RESTEK, BELLEFONTE.PA) y a partir de estas se realizaron soluciones de diferentes concentraciones.

Mezcla de 12 componentes:

Concentraciones (ppm) = 5, 3, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01

Mezcla de 6 componentes:

Concentraciones (ppm) = 10, 7, 5, 3, 1, 0.5

Con estas concentraciones se graficó las curvas de calibración con el fin de calcular el rango dinámico lineal y determinar los límites de detección y de cuantificación.

**2.1.2.1 Límite de detección.** Se determinó la señal del ruido utilizando como blanco la línea base del cromatograma de las concentraciones mas bajas de las mezclas de estándares y se comparó con las señales obtenidas de cada componente de las mezclas.

**2.1.2.2 Nivel mínimo de cuantificación.** El límite de cuantificación se determinó tomando la señal debida solo al analito, el cual es diez veces la desviación estándar de la señal de fondo.

**2.1.2.3 Precisión.** Describe la reproducibilidad y la repetividad de los resultados. Para la reproducibilidad se trabajó con tres concentraciones diferentes que cubren el rango dinámico lineal las cuales se inyectaron por triplicado durante tres días consecutivos, para

la mezcla de 12 componentes fueron de 1, 0.1 y 0.01 ppm y para la de 6 componentes de 7, 5 y 1 ppm.

Para la repetividad se prepararon 3 soluciones de una misma concentración las cuales se inyectaron por triplicado en un solo día. Para la mezcla de 12 componentes fue de 1 ppm y para la de 6 componentes de 5 ppm.

Se determinó la precisión del método, calculando la reproducibilidad y repetividad los cuales se expresan estadísticamente con la desviación estándar, coeficiente de variación y límites de confianza.

### **2.1.3 Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra**

**2.1.3.1 Extracción en Fase Sólida.** Para la estandarización de las condiciones de extracción en fase sólida se preparó una muestra de referencia de lixiviado libre de organofosforados, tomando como parámetros la información existente en la literatura <sup>52</sup>, como hierro, cobre, cromo, manganeso, zinc y DQO; luego se agregó una concentración conocida de las dos mezclas de estándares de estos pesticidas, para la mezcla de 12 componentes se utilizó una concentración de 0.3ppm y para la de 6 componentes 1ppm y se realizó todo el procedimiento como si fuera la muestra problema, con el fin de determinar la exactitud del método calculando los porcentajes de recuperación. También se determinó la precisión de la extracción calculando reproducibilidad y repetividad.

- **Procedimiento de la Extracción en Fase Sólida.** La limpieza de las muestras de referencia se llevó a cabo mediante filtración con papel filtro franja azul y posteriormente con membrana de celulosa de 0.45µm de tamaño del poro y 47mm de diámetro, utilizando el equipo de filtración Millipore Kimberly Clark como se muestra en la siguiente figura.

---

<sup>52</sup> RECOGIDA Y TRATAMIENTO de lixiviados. Op. cit.

**Figura 6.** Filtración al vacío con el equipo de filtración Millipore



La calidad de la extracción en SPE depende del disolvente utilizado en la elución y el volumen de muestra usado. Se ensayó dos solventes para la elución, el metanol y la mezcla de acetato de etilo – hexano (90:10). Solo se utilizó estos dos solventes debido a la falta de reactivos y material para la extracción. Sin embargo, por ensayos preliminares y corroborando mediante referencia bibliográfica <sup>[53-58]</sup> se optó por utilizar la mezcla de acetato de etilo – hexano (90:10) debido a que se obtienen porcentajes de recuperación altos para esta clase de pesticidas.

---

<sup>53</sup> HONG, Op. cit.

<sup>54</sup> ALBERO, Op. cit.

<sup>55</sup> MOL, Op. cit.

<sup>56</sup> MUÑOZ, Op. cit.

<sup>57</sup> HINCAPIE, Margarita y ZAPATA, Mauren. Análisis en leche de pesticidas organofosforados y piretroides por cromatografía gaseosa. Medellín, 1999, 115 p. Trabajo de Grado (Químico). Universidad de Antioquia. Departamento de Química.

<sup>58</sup> BUSCEMA, I.; ETTIENE, G.; MEDINA, D. y PRIETO, A. Optimización de la Extracción en Fase Sólida de Residuos de Plaguicidas Organofosforados en Agua Potable Empleando Cartuchos de Carbón Grafitado. Maracaibo, 2003, 189 p. Trabajo de grado (Agrónomo). Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía.

El proceso de extracción se lleva a cabo de la siguiente manera:

- Se utilizaron cartuchos para extracción en fase sólida de 6ml con relleno de 1000mg de florisil ( $\text{MgO} \cdot 3.6\text{SiO}_2$ ) como se muestra en la figura 7, los cuales previamente se acondicionaron haciéndoles pasar 10ml de hexano y luego 5ml de acetato de etilo.

**Figura 7.** Cartuchos para extracción en fase sólida

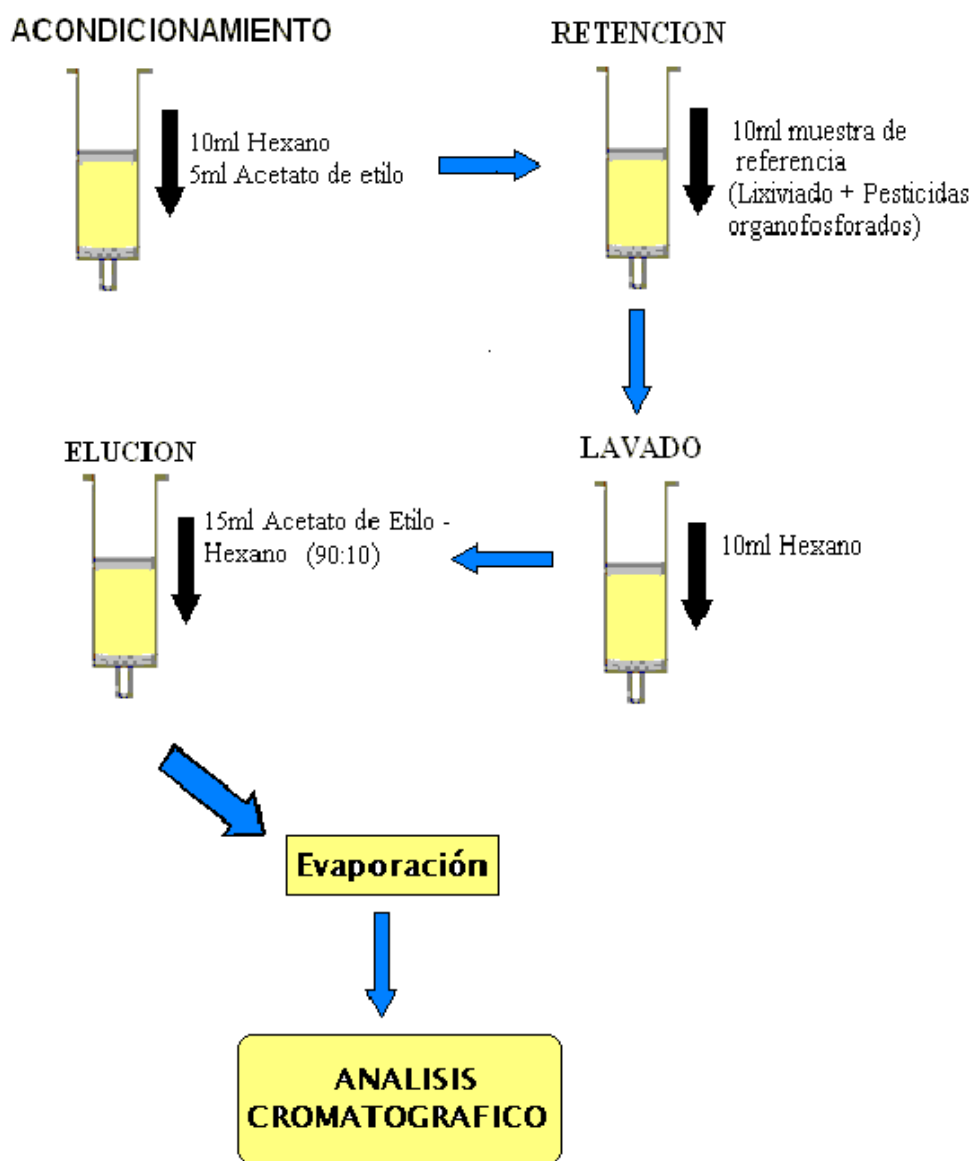


- Inmediatamente sin dejar secar el adsorbente, se adiciona 10ml de las muestras de referencia a través de los cartuchos.
- Se lava los cartuchos con 10ml de hexano, para eliminar cualquier interferencia que se encuentre en la matriz.
- Los pesticidas se eluyen del cartucho con 15ml de una mezcla de acetato de etilo-hexano (90:10)
- Finalmente se recoge el extracto para luego evaporarlo.

Los extractos recogidos se analizan por cromatografía de gases obteniéndose cromatogramas cuyos picos corresponden a los pesticidas que se encuentran en la mezcla de estándares. En las figuras 8 y 9 se muestran el esquema de la extracción en fase sólida.

La precisión se la determina con la reproducibilidad y la repetividad, para las dos mezclas de estándares. Para la mezcla de 12 componentes, se determinó la reproducibilidad inyectando por triplicado durante tres días la muestra de referencia que obtuvo una concentración final (evaporada) de 0.53ppm; y para la repetividad se analizaron a 3 niveles de concentración, 0.54, 0.38 y 0.50 ppm. Para la mezcla de 6 componentes se estudiaron concentraciones finales 1.69, 1.32 y 1.82 ppm (Anexo A). La Exactitud fue estudiada mediante ensayos de recuperación analizando las muestras de referencia de los tres niveles de concentración que se tomaron para la repetividad.

**Figura 8.** Esquema del procedimiento de la extracción en fase sólida.



**Figura 9.** Extracción en Fase Sólida



## **2.2 CARACTERIZACION DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LOS LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO ANTANAS**

**2.2.1 Muestreo.** Se realizó en el Relleno Sanitario Antanas de la ciudad de San Juan de Pasto, ubicado en el sector de Daza a 10Km de la ciudad, con una capacidad de  $0.7 \text{ ton/m}^3$ , cuenta con un área total de 104 hectáreas, de las cuales se dedican 4.5 hectáreas a la construcción del relleno sanitario.

Los lixiviados producidos por la descomposición de la materia orgánica y aguas lluvias son conducidos mediante los drenajes a una piscina con un área de  $288.8 \text{ m}^2$  y 250 centímetros de profundidad. La piscina recibe lixiviados con un caudal aproximado a  $109.72 \text{ m}^3/\text{día}$ . Cuenta con un sistema de aireación para evitar el mal olor y se adicionan nutrientes para acelerar la descomposición de la materia orgánica (figura 10). Posteriormente se recibe los lixiviados en una segunda piscina con un área de  $849.6 \text{ m}^2$ , una profundidad de 2.50 metros y un máximo de caudal de  $106.2 \text{ m}^3/\text{día}$ . Las dos piscinas cuentan con un sistema de recirculación.

**Figura 10.** Piscina aeróbica de lixiviado



El relleno genera dos tipos de lixiviados: el lixiviado viejo que se produce en las basuras que se han depositado en el relleno por bastante tiempo y que se encuentran en el vaso 1 (anexo B); y el lixiviado nuevo que es el que proviene de las basuras que recién llegan y son almacenadas en la ampliación del vaso 1 (anexo C).

Para la caracterización de los pesticidas organofosforados el sitio de muestreo fue antes de la piscina aeróbica de lixiviado, es decir los lixiviados que se producen en el relleno sin ningún tratamiento. Se analizaron muestras representativas, es decir que una cantidad de lixiviado posea las características, lo más cercana e idénticamente posible, al cuerpo de lixiviado que sea muestreado <sup>59</sup>.

Se tomó tres muestras representativas en botellas de ámbar de un litro, las cuales se transportaron en nevera de icopor con hielo para mantenerlas a la menor temperatura posible (4°C) sin que llegue a congelarse (figura 11) hasta su extracción.

---

<sup>59</sup> MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. [Cited 10 Dic., 2004]. Available from internet: <<http://www.ersp.gob.pa/agua/Anexos/393%20Gaceta%20Oficial.html>>

**Figura 11.** Material de muestreo



**2.2.2 Preparación de las muestras.** Primero se realizó la limpieza de las muestras del lixiviado, se filtró la muestra con papel filtro franja azul y luego con membrana de celulosa con el fin de eliminar las partículas sólidas e impurezas. Posteriormente se procedió con la extracción en cartuchos de florisil ... 2do párrafo en 2.1.3.1 ..., se tomó 30ml de muestra, y se utilizó como eluyente 15 ml de acetato de etilo – hexano (90:10), que se seleccionó en la estandarización de las muestras.

**2.2.3 Análisis cromatográfico de la caracterización de los OPs en los lixiviados.** Una vez obtenidas las condiciones cromatográficas para la determinación de los pesticidas organofosforados se realizó la inyección por triplicado en las dos programaciones ... en la sección 2.1.1.3 ... de las muestras que se sometieron a extracción las cuales fueron evaporadas a un volumen de 1.5ml. Se estudiaron los cromatogramas resultantes y los picos correspondientes a los pesticidas organofosforados que se encuentran presentes en los lixiviados, y se procedió a realizar los análisis estadísticos correspondientes.

## **2.3 SEGUIMIENTO DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS**

**2.3.1 Muestreo.** Se diseñó un microcosmos a escala con las mismas condiciones de la piscina aeróbica de lixiviados. El microcosmos que se utilizó en este estudio consiste en la instalación de un tanque Ajovert (1000 L), el cual contiene dos mangueras que permite el ingreso y salida del lixiviado. El microcosmos se ubicó en el relleno sanitario para realizar el análisis, como lo indica la figura 12.

**Figura 12.** Montaje del microcosmos.



El microcosmos fue programado para una duración de 15 días para cada tipo de lixiviado, el viejo y el nuevo, se realizaron muestreos puntuales ya que las muestras fueron tomadas en un tiempo (8:00 A.M) y lugar determinado (microcosmos) para su análisis individual, se hicieron cada tres días y se tomó 3 muestras representativas desde la última semana de Diciembre hasta el 25 de Enero de 2005, para observar los procesos de biotransformación de los lixiviados y por ende el cambio de los pesticidas organofosforados.

**2.3.2 Preparación de las muestras y análisis cromatográfico.** Una vez recogidas las muestras se procedió a realizar la preparación de la muestra: la filtración y la extracción ... 2do párrafo en 2.1.3.1... Para el análisis cromatográfico se inyectó cada muestra representativa por triplicado en las dos programaciones... en la sección 2.1.1.3...

## **2.4 IDENTIFICACION DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL TRATAMIENTO FINAL DE LOS LIXIVIADOS**

Se realizó un muestreo al final del tratamiento de los lixiviados de tres muestras representativas, en el transcurso de un día, posteriormente se procedió hacer la preparación de la muestra: la filtración y la extracción, por último el análisis cromatográfico el cual se inyectó por triplicado cada muestra representativa en las dos programaciones ...Véase el numeral 2.1.1.3...

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1 ESTANDARIZACION DEL MÉTODO

##### 3.1.1 Estandarización de las condiciones cromatográficas

**3.1.1.1 Tiempo Muerto:** Para ello se utilizó la columna cromatográfica MDN-5 polarizable, puesto que es una columna adecuada para el análisis de trazas de pesticidas; es de sílice fundida, más inerte, mucho más fina y versátil, tiene mayor resolución, sensibilidad, mayor eficiencia y mayor reproducibilidad<sup>60</sup>. Se empleó un compuesto que no es retenido por la columna, el gas butano, debido a la composición química de la fase estacionaria. Se determinó el tiempo muerto para corregir el tiempo de retención y se calculó la reproducibilidad con la desviación estándar, coeficiente de variación y límite de confianza como se observa en la tabla 6.

**Tabla 6.** Tiempo muerto

Flujo interno (ml/min)	Datos del tiempo muerto	$\bar{X}$ del $t_M$ (min)	Desviación Estándar	Coeficiente de variación	Límite de Confianza (95%)
0.5	3.9, 3.92, 3.91	3.91	0.010	0.25	$\pm 0.011$
1.0	1.59, 1.61, 1.63	1.61	0.020	1.24	$\pm 0.023$
1.5	1.98, 1.99, 1.97	1.98	0.010	0.50	$\pm 0.011$
2.0	2.59, 2.58, 2.62	2.60	0.020	0.80	$\pm 0.023$

**3.1.1.2 Flujo óptimo:** El flujo fue determinado previamente en un trabajo de grado de la universidad de Nariño<sup>61</sup>, el cual para evaluar la eficiencia de la columna se empleó la mezcla de estándar n-parafinas (C6 – C18). Se determinó el flujo óptimo por medio de la curva de Van Deemter, para ello se identificó el pico C12, puesto es el pico más alto, más simétrico y el más angosto de la mezcla (Anexo D), con los tiempos de retención y anchos del pico obtenidos para cada valor de flujo interno, se determinó las alturas de los platos teóricos (ecuación 1) y el número de platos teóricos (ecuación 2), la cual se presenta en la

<sup>60</sup> NAIR, Harold. Cromatografía de Gases. Washigton: OEA, 1981. p. 38 – 39.

<sup>61</sup> GOMEZ, Diana y MORAN Mirosalba. Extracción e identificación de los metabolitos secundarios presentes en los frutos maduros de *Carica Candamarcensis Hooker fillius*. Pasto, 2005, 123 p. Tesis de pregrado (Químico). Universidad de Nariño. Departamento de Química.

tabla 7 y se graficó flujo Vs altura como se observa en la figura 13, con el fin de hallar el flujo óptimo

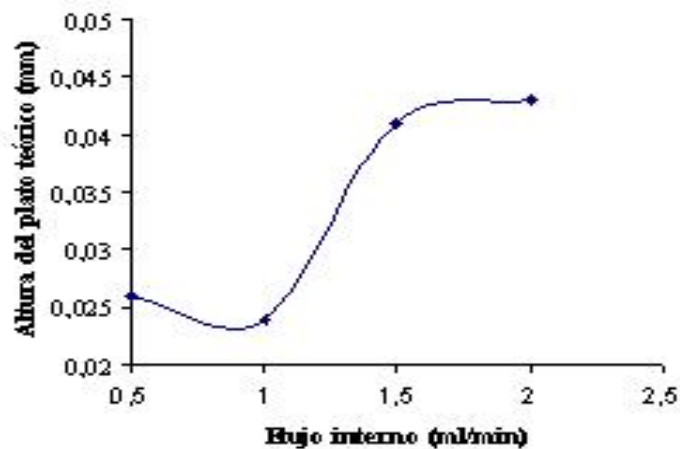
$$HEPT = LW^2/16t_R^2 \quad \begin{array}{l} W = \text{Ancho del pico} \\ L = \text{Longitud de la columna} \\ t_R = \text{Tiempo de retención} \end{array} \quad \text{Ecuación 1}$$

$$N = L/H \quad \text{Ecuación 2}$$

**Tabla 7.** Curva de Van Deemter. Flujo óptimo

Flujo Interno (ml/min)	X del Tiempo de Retención (min)	Ancho del pico (min)	Altura de Platos Teóricos (mm)	Número de Platos Teóricos
0.5	27.41	0.33	0.026	$1.14 \times 10^5$
1.0	23.52	0.27	0.024	$1.24 \times 10^5$
1.5	21.78	0.33	0.041	$7.19 \times 10^4$
2.0	20.71	0.32	0.043	$6.83 \times 10^4$

**Figura 13.** Curva de Van Deemter

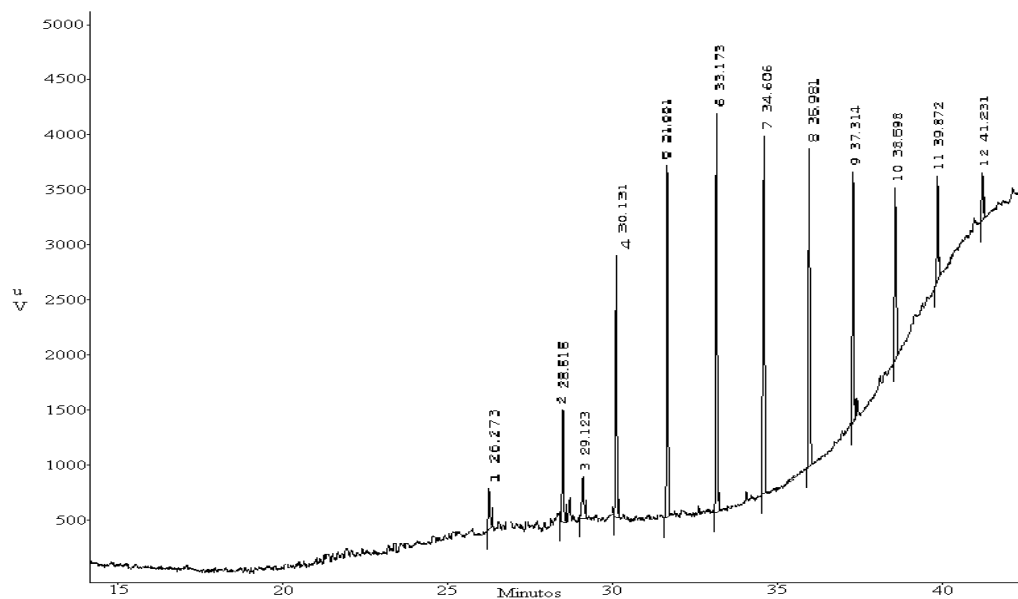


Con la curva de Van Deemter se obtuvo un flujo óptimo de 1.0ml/min, ya que en este flujo se presentó una altura de plato menor 0.024 mm y un número de plato teórico mayor 124188, por lo tanto la columna cromatográfica presenta una buena eficiencia, de acuerdo a las normas cromatográficas las cuales deben ser mayor de 90000 platos teóricos <sup>62</sup>.

<sup>62</sup> NAIR Ibid. p. 35.

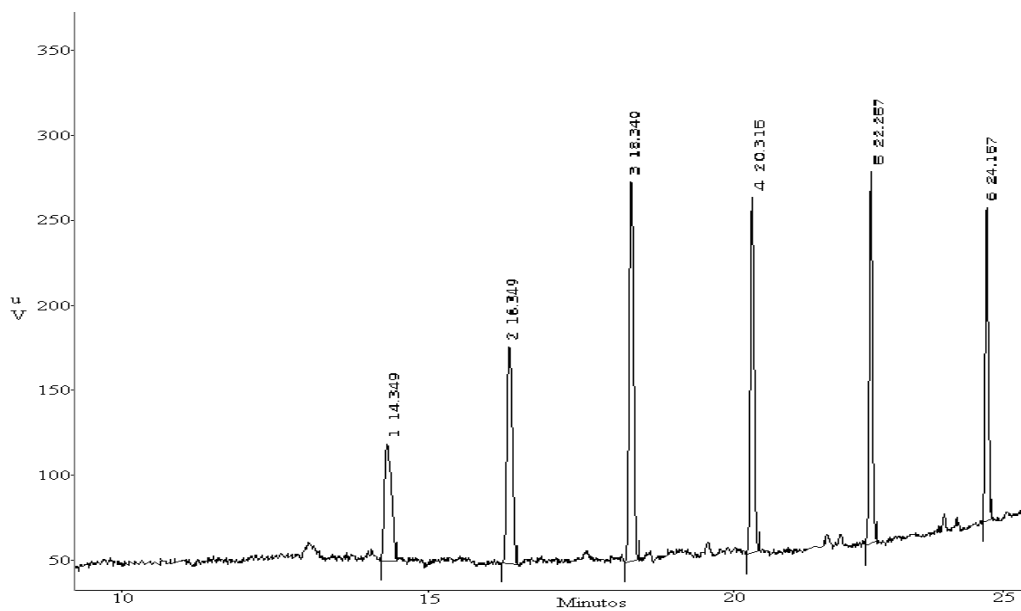
**3.1.1.3 Optimización de la eficiencia de la columna.** Se realizó variando las condiciones de programación de temperatura hasta que los componentes de las mezclas de estándares se separaron totalmente en el menor tiempo posible. La figura 14 indica el cromatograma de la mezcla de 12 componentes con la temperatura del horno seleccionada.

**Figura 14.** Cromatograma de la mezcla de estándares de 12 componentes.



En la figura 15 se observa el cromatograma de la mezcla de 6 componentes con la programación de temperatura del horno seleccionada.

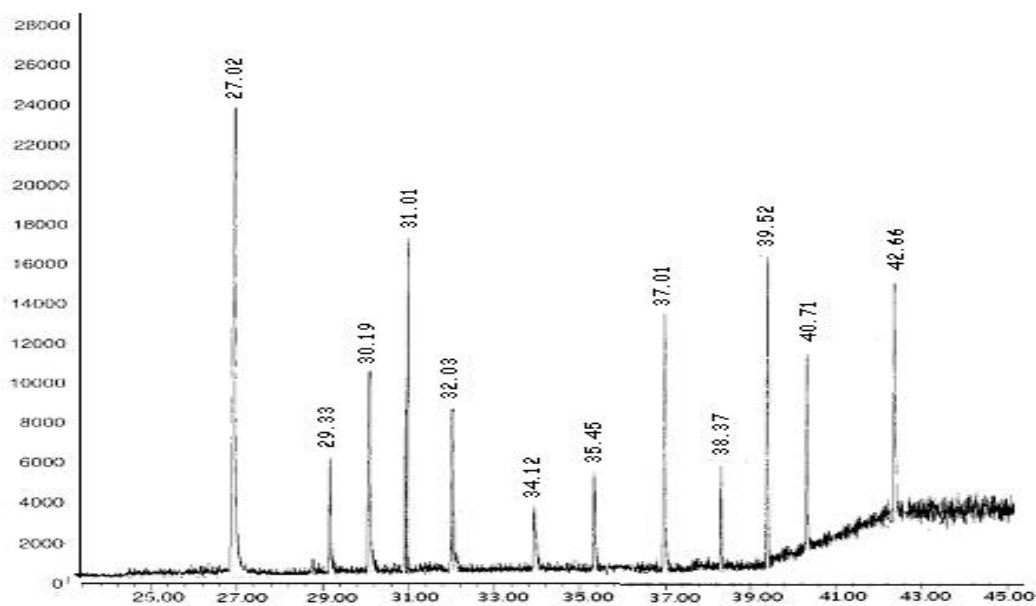
**Figura 15.** Cromatograma de la mezcla de estándares de 6 componentes



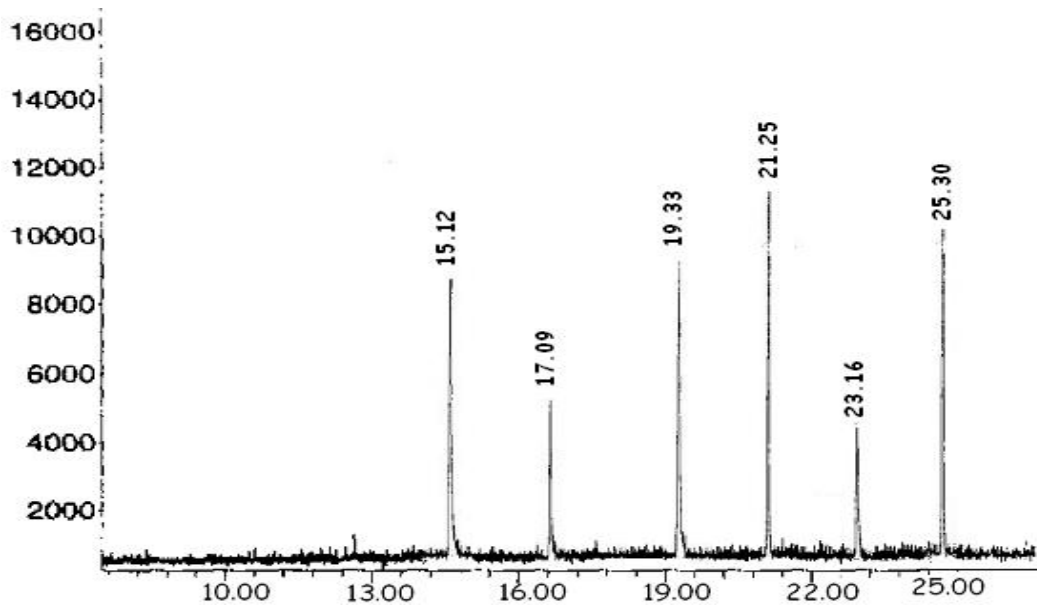
Para confirmar los componentes de las dos mezclas de estándares es fundamental disponer de un cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas, por tanto se vió la necesidad de costear el análisis de las mezclas a la Universidad Industrial de Santander, las cuales fueron analizadas en un cromatógrafo de gases de alta resolución acoplada a un detector selectivo de masas (HRGC/MSD) Hewlett – Packard HP 5890<sup>a</sup> Series II/HP MSD 5972 operado en el modo *full scan*; un sistema de datos HP MS ChemStation, utilizando las mismas programaciones seleccionadas en la estandarización ...ver sección 2.1.1.3... En la figura 16 se observan los cromatogramas que se obtuvieron por GC/MS en las dos mezclas de estándares, de 12 y de 6 componentes.

**Figura 16.** Cromatogramas de las mezclas de estándares por GC/MS!!

a) Cromatograma de la mezcla de 12 componentes por GC/MS



b) Cromatograma de la mezcla de 6 componentes por GC/MS



**3.1.2 Validación de las condiciones cromatográficas.** La validación de un procedimiento de medida establece, mediante estudios sistemáticos de laboratorio, que las características de dicho procedimiento cumplen las especificaciones relativas al uso previsto de resultados analíticos.

Para la validación de las condiciones cromatográficas se determinaron parámetros estadísticos como la desviación estándar (ecuación 3) y el coeficiente de variación (ecuación 4) del tiempo de retención y de las áreas de las soluciones de los estándares, además se calcularon los límites de confianza del  $t_R$  al 95% (ecuación 5).

$$\sigma = \sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 / n - 1}$$

**Ecuación 3**

$\bar{X}_i$  = Medición de una cantidad

$\bar{X}$  = Promedio

n = Número de mediciones

$$CV = (\sigma / \bar{X}) \times 100\%$$

**Ecuación 4**

$$LC = \bar{X} \pm Z\sigma / \sqrt{n}$$

**Ecuación 5**

Z = depende del nivel de confiabilidad (95%)

Z = 1.96

La validación se realizó para la mezcla de 12 componentes con 7 concentraciones: 5, 3, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01 ppm y para la mezcla de 6 componentes 10, 7, 5, 3, 1 y 0.5 ppm. En las siguientes tablas se muestra los diferentes parámetros estadísticos tanto en los tiempos de retención como en las áreas de mayor y menor concentración.

**Tabla 8.** Parámetros estadísticos de la mezcla de 12 componentes

**Tiempos de retención**

		1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
		Diclorvos	Mevinfos	Diazinon	Metil Paratión	Fention	Clorpirifos	Tetra-clorvinfos	Protiofos	Fensulfotion	Sulprofos	Azinfos metil	Coumafos
<b>5 ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.53	29.14	30.14	31.70	33.20	34.62	36.02	37.33	38.64	39.91	41.30
	S	0.012	0.016	0.015	0.010	0	0.012	0.015	0.010	0.021	0.010	0.010	0.0058
	CV	0.044	0.054	0.052	0.033	0	0.038	0.044	0.028	0.056	0.029	0.025	0.014
	LC $\pm$	0.014	0.017	0.017	0.011	0	0.013	0.017	0.011	0.024	0.011	0.011	0.0065
<b>0.01 ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.56	29.15	30.17	31.72	33.21	34.64	36.02	37.35	38.64	39.91	
	S	0	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	
	CV	0	0.020	0.020	0.019	0.018	0	0.017	0.016	0.015	0.015	0.014	
	LC $\pm$	0	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	

**Areas**

		1pico	2pico	3pico	4pico	5pico	6pico	7pico	8pico	9pico	10pico	11pico	12pico
<b>5 ppm</b>	$\bar{x}$	3113.33	4189.66	2197.66	10351.33	13131.33	17302.67	15801.33	15499.67	10667.01	6799.67	4300.03	2300.67
	S	132.36	151.50	58.05	428.13	294.43	446.45	569.87	770.78	375.98	304.71	196.72	106.88
	CV	4.25	3.61	2.642	4.14	2.24	2.58	3.61	4.97	3.52	4.48	4.57	4.65
<b>0.01 ppm</b>	$\bar{x}$	1533.67	210.67	389.67	549.67	822.33	1009.05	898.33	860.01	652.33	379.07	277.00	
	S	37.01	7.02	5.69	29.69	11.59	38.22	46.36	33.45	16.20	19.08	9.17	
	CV	2.41	3.33	1.46	5.40	1.41	3.79	5.16	3.89	2.48	5.034	3.31	

Ver anexo E

**Tabla 9.** Parámetros estadísticos de la mezcla de 6 componentes

**Tiempos de retención**

		1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico
		<b>TEPP</b>	<b>Monocrotofos</b>	<b>Dimetoato</b>	<b>Malatión</b>	<b>Paratión</b>	<b>EPN</b>
<b>10 ppm</b>	$\bar{x}$	14.35	16.34	18.34	20.31	22.25	24.15
	S	0.0085	0.013	0.013	0.0098	0.0092	0.013
	CV	0.059	0.077	0.069	0.048	0.041	0.053
	LC $\pm$	0.0096	0.014	0.014	0.011	0.010	0.014
<b>0.5 ppm</b>	$\bar{x}$			18.35	20.31	22.25	24.16
	S			0.0038	0.0011	0.0017	0.0046
	CV			0.021	0.0057	0.0078	0.019
	LC $\pm$			0.0043	0.0013	0.0019	0.0052

**Áreas**

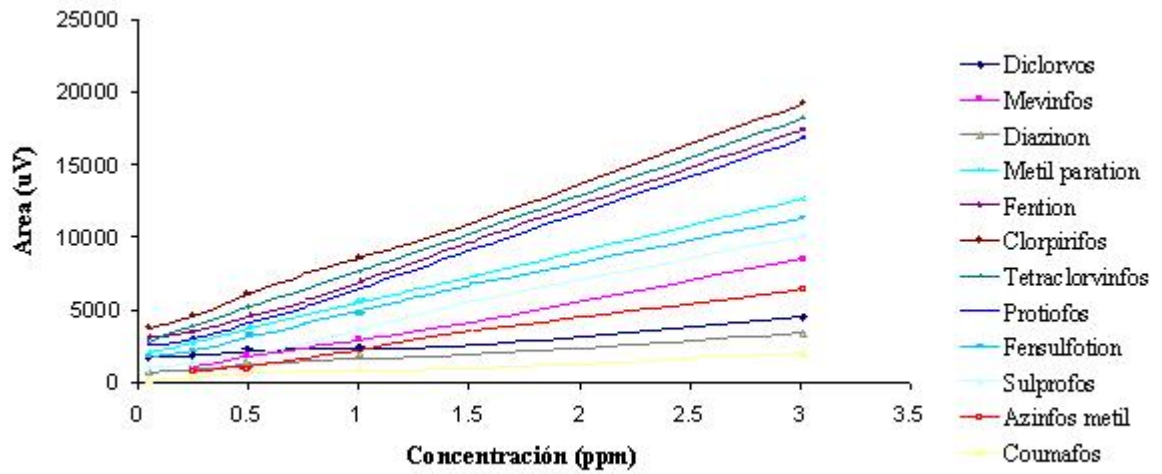
		1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico
		<b>TEPP</b>	<b>Monocrotofos</b>	<b>Dimetoato</b>	<b>Malatión</b>	<b>Paratión</b>	<b>EPN</b>
<b>10 ppm</b>	$\bar{x}$	437.67	517.67	572.00	465.05	377.55	298.67
	S	18.50	11.59	19.31	22.11	17.78	12.89
	CV	4.23	2.239	3.38	4.76	4.71	4.32
<b>0.5 ppm</b>	$\bar{x}$			57.67	30.67	27.02	61.67
	S			2.52	1.16	1.00	2.00
	CV			4.36	3.76	3.70	3.28

Ver anexo F

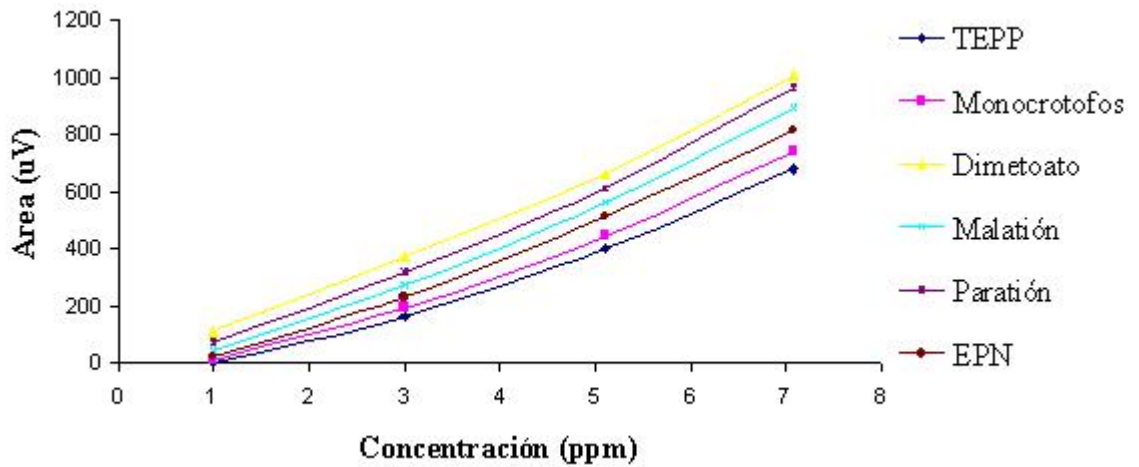
**3.1.2.1 Curvas de calibración.** Con los datos obtenidos en las corridas cromatográficas de las diferentes concentraciones realizadas con los estándares se graficó las curvas de calibración (área Vs concentración), con el fin de calcular el rango lineal. La figura 17 muestra las curvas de calibración que presentan los diferentes componentes en las dos mezclas de estándares.

**Figura 17.** Curvas de calibración de las mezclas de estándares

**a) Mezcla de 12 componentes**



**b) Mezcla de 6 componentes**



**3.1.2.2 Rango lineal.** El intervalo lineal se determinó desde la concentración mas pequeña a la que se puede realizar en medidas cuantitativas (limite de cuantificación) hasta la concentración a la que la curva de calibración se desvió de la linealidad. Para que este método sea útil, el intervalo lineal fue de más de 2 ordenes de magnitud<sup>63</sup>.

Para las mezclas de estándares de 12 componentes; las curvas de calibración resultaron ser lineales en el rango de concentraciones comprendido entre 0.1 a 3ppm para mevinfos y azinfos metil, para el resto de componentes de 0.05 a 3ppm. Para la mezcla de 6 componentes el rango lineal comprende desde 1 ppm hasta 7ppm. En estos rangos el factor de respuesta del detector FID es constante tanto para la mezcla de 12 componentes como para la de 6 componentes de pesticidas organofosforados.

Se encontraron factores de correlación cercanos a 1 (tabla 10) lo que indica que hay linealidad de cada componente del estándar, por lo tanto se pueden cuantificar los compuestos presentes en las muestras de los lixiviados.

**Tabla 10.** Ecuación de las rectas para las dos mezclas de estándares

a) Mezcla de 12 componentes

Componente	Ecuación de la recta	Factor de correlación (R <sup>2</sup> )
Diclorvos	$y = 951.08x + 1679.2$	0.993
Mevinfos	$y = 1636.5x + 1000.3$	0.991
Diazinon	$y = 922.76x + 740.15$	0.993
Metil paratión	$y = 3691.7x + 2234.2$	0.994
Fention	$y = 4387.3x + 2865.8$	0.993
Clorpirifos	$y = 5547.2x + 3470$	0.992
Tetraclorvinfos	$y = 5306.0x + 3016$	0.992
Protiofos	$y = 4943.3x + 2579.6$	0.992
Fensulfotion	$y = 4301.7x + 1651$	0.992
Sulprofos	$y = 2594.6x + 1421.2$	0.992
Azinfos metil	$y = 1937.1x + 822.48$	0.991
Coumafos	$y = 1094.6x + 263.91$	0.996

<sup>63</sup> SKOOG, Op. cit., p. 14

b) Mezcla de 6 componentes

Componente	Ecuación de la recta	Factor de correlación (R <sup>2</sup> )
TEPP	y = 66.89x - 30.15	0.990
Monocrotofos	y = 99.16x - 31.50	0.991
Dimetoato	y = 139.94x - 44.35	0.992
Malatión	y = 125.55x - 48.34	0.990
Paratión	y = 121.34x - 48.95	0.991
EPN	y = 94.68x - 1.53	0.993

**3.1.2.3 Límite de detección.** Fueron obtenidos cuando la señal es tres veces el ruido de fondo en los cromatogramas correspondientes al nivel más bajo de concentración para los analitos de cada mezcla de estándar (ecuación 6).

$$LD = \bar{S}_{bl} + K \cdot s_{bl}$$

**Ecuación 6**

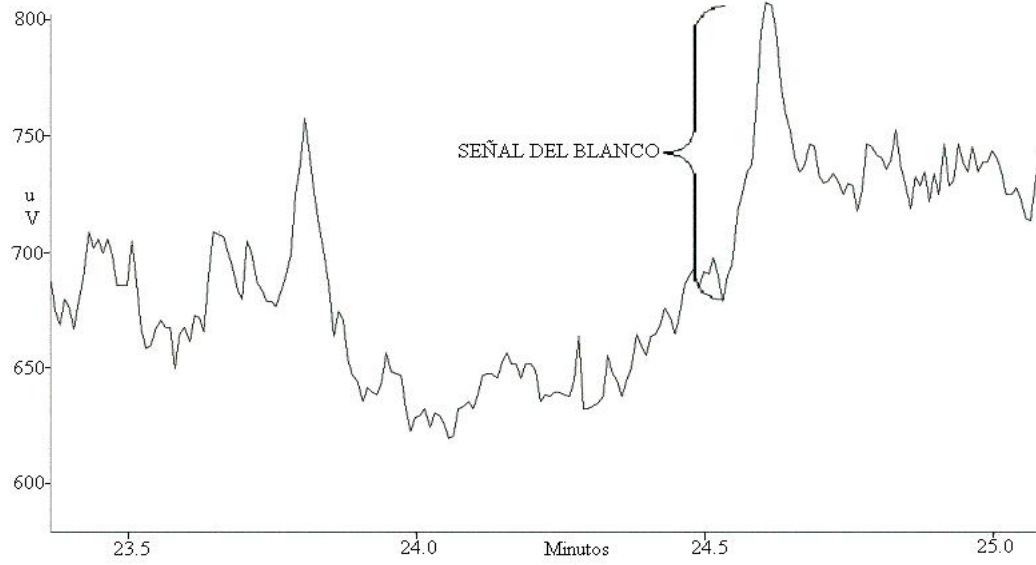
S<sub>bl</sub> = Señal del blanco

K = Constante del blanco = 3

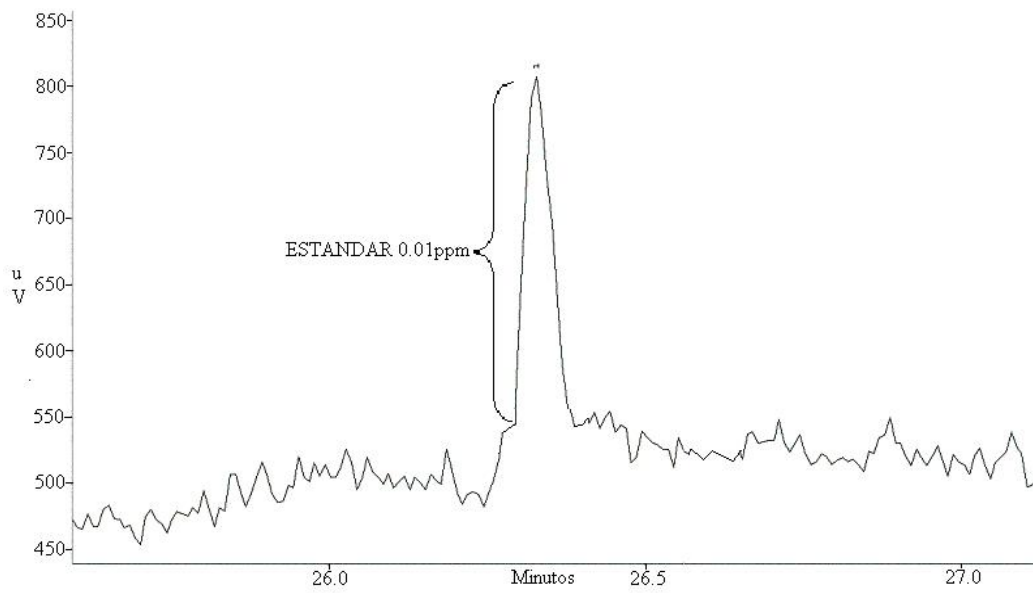
Al comparar los cromatogramas de los estándares se determinó que la cantidad mínima detectable para la mezcla de 12 componentes es de 0.01ppm para diclorvos, diazinon, metil paratión, fention, clorpirifos, tetraclorvinfos, protiofos, fensulfotión, sulprofos y coumafos, y de 0.05 ppm para mevinfos y azinfos metil, como se observa en la siguiente figura.

**Figura 18.** Señal - ruido y límite de detección para la mezcla de 12 componentes

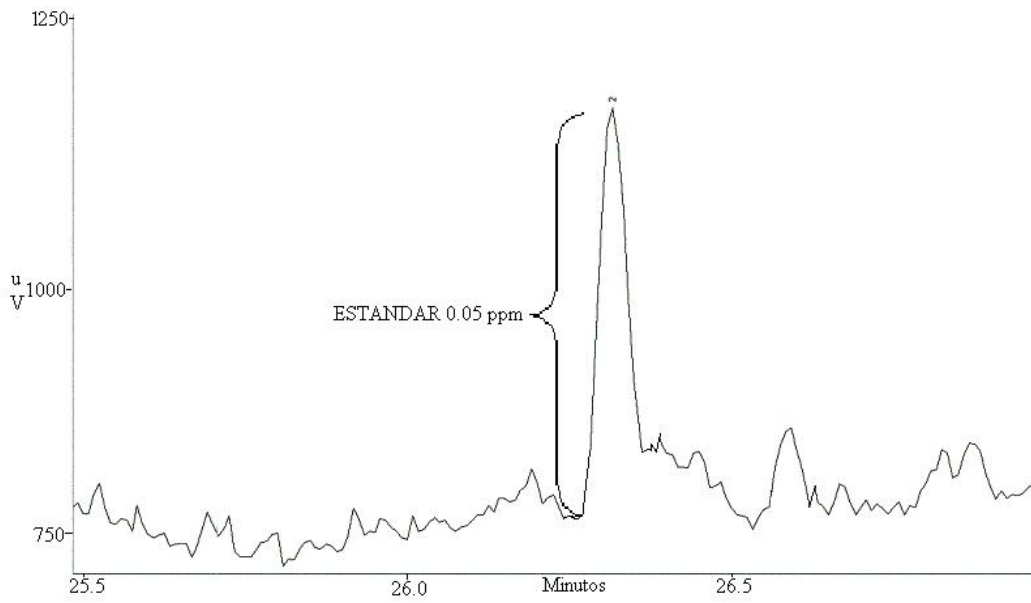
a) Señal del blanco



b) Estándar 0.01ppm



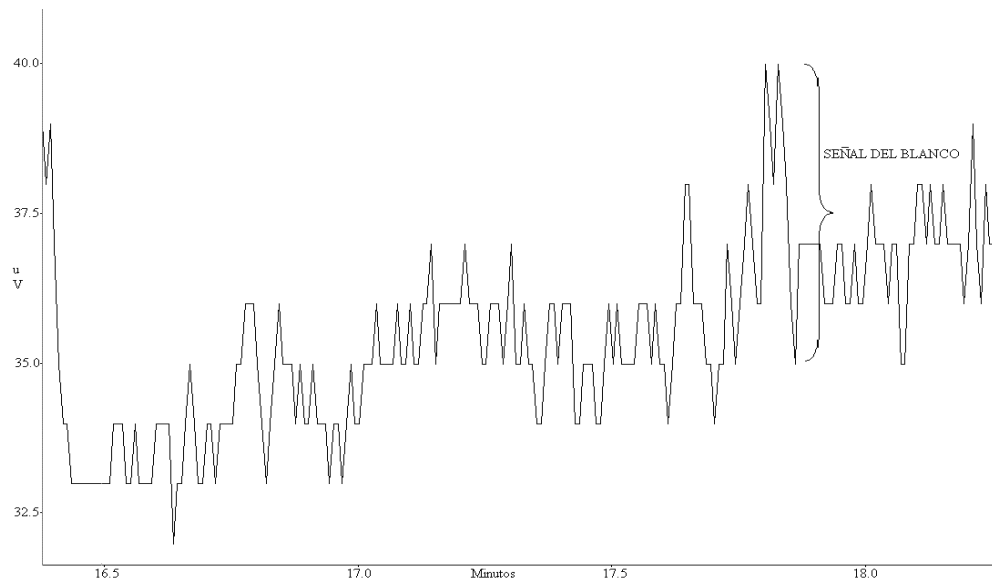
c) Estándar 0.05 ppm



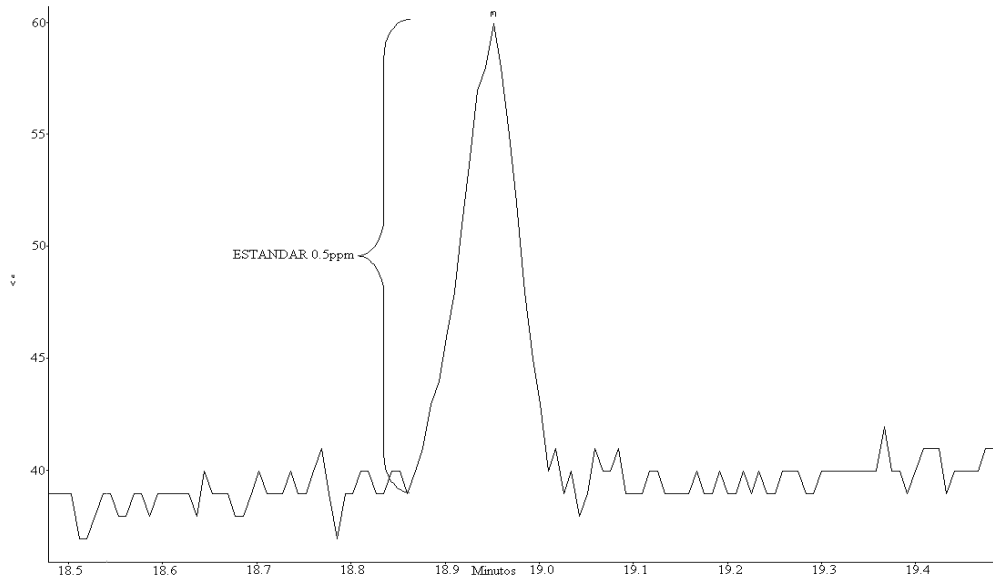
Para la mezcla de 6 componentes el límite de detección fue de 0.5 ppm, como se muestra en la siguiente figura

**Figura 19.** Señal - ruido y límite de detección para la mezcla de 6 componentes

a) Señal del blanco



b) Estándar 0.5 ppm



**3.1.2.4 Nivel mínimo de cuantificación.** Teniendo en cuenta la ecuación 7 se determinó que la cantidad o concentración mínima cuantificable para la mezcla de 12 componentes fue de 0.1ppm para mevinfos y azinfos metil y para el resto de componentes fue de 0.05pm; para la mezcla de 6 componentes el nivel mínimo de cuantificación fue de 1ppm.

$$LOQ \geq 10 Sbl$$

**Ecuación 7**

**3.1.2.5 Precisión.** La reproducibilidad y la repetividad se las obtuvo calculando la desviación estándar del tiempo de retención y de las áreas, los limites de confianza del  $t_R$  al 95% y el coeficiente de variación de las soluciones ...ver sección 2.1.2.3...

- **Reproducibilidad.** Las siguientes tablas indican la reproducibilidad de las mezclas de estándares de 12 y 6 componentes.

**Tabla 11.** Reproducibilidad de la mezcla de 12 componentes

**Promedios de las concentraciones de 1, 0.1 y 0.01 ppm en los tres días**

**Tiempos de retención**

		1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
		Diclorvos	Mevinfos	Diazinon	Metil Paratión	Fention	Clorpirifos	Tetra-clorvinfos	Protiofos	Fensulfo-tion	Sulprofos	Azinfos metil	Coumafos
<b>1ppm</b>	$\bar{x}$	26.29	28.53	29.14	30.15	31.70	33.19	34.62	35.99	37.33	38.62	39.90	41.26
	S	0.010	0.015	0.013	0.0088	0.0069	0.010	0.0084	0.017	0.015	0.011	0.015	0.017
	CV	0.038	0.053	0.046	0.0293	0.022	0.030	0.024	0.047	0.040	0.028	0.038	0.041
	LC $\pm$	0.011	0.017	0.015	0.010	0.0078	0.011	0.010	0.019	0.017	0.012	0.017	0.019
<b>0.1ppm</b>	$\bar{x}$	26.3	28.53	29.14	30.16	31.71	33.20	34.63	36.01	37.33	38.62	39.90	41.26
	S	0.0067	0.013	0.0052	0.0034	0	0.0034	0.0039	0.0019	0.0058	0.0038	0.0060	0.0034
	CV	0.025	0.047	0.018	0.011	0	0.010	0.011	0.0053	0.016	0.0099	0.014	0.0081
	LC $\pm$	0.0075	0.015	0.0059	0.0038	0	0.0038	0.0044	0.0022	0.0065	0.0043	0.0065	0.0038
<b>0.01ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.56	29.14	30.16	31.71	33.20	34.63	36.014	37.349	38.63	39.91	
	S	0.0039	0.0067	0.0077	0.0054	0	0.0050	0.0075	0.0016	0.0069	0.0087	0.0017	
	CV	0.015	0.023	0.026	0.018	0	0.015	0.022	0.0046	0.018	0.022	0.0043	
	LC $\pm$	0.0043	0.0075	0.0087	0.0061	0	0.0057	0.0085	0.0019	0.0077	0.0098	0.0020	

**Areas**

		1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
<b>1ppm</b>	$\bar{x}$	2489.55	3137.78	1829.04	6929.44	9243.44	10441.80	9550.33	8807.55	6964.44	5243.22	3513.11	1624.05
	S	75.87	130.40	96.51	347.47	466.84	551.34	455.82	339.58	268.40	241.19	49.48	71.91
	CV	3.048	4.15	5.27	5.01	5.05	5.28	4.77	3.85	3.85	4.60	1.41	4.43
<b>0.1ppm</b>	$\bar{x}$	2113.05	1085.89	915.67	2661.01	3325.11	4231.22	4044.10	3262.08	2296.11	1760.88	1028.44	356.65
	S	81.88	58.17	24.79	126.34	141.03	71.79	163.61	47.96	107.37	69.63	41.18	9.91
	CV	3.87	5.36	2.70	4.75	4.24	1.69	4.04	1.47	4.67	3.95	4.00	2.78
<b>0.01ppm</b>	$\bar{x}$	1556.53	221.66	370.99	563.86	831.66	984.55	915.99	815.99	650.99	361.88	276.22	
	S	68.92	9.60	17.12	12.35	14.19	47.33	19.97	38.18	21.36	15.00	12.18	
	CV	4.43	4.33	4.61	2.19	1.71	4.81	2.18	4.68	3.28	4.14	4.41	

**Tabla 12.** Reproducibilidad de la mezcla de 6 componentes

**Promedios de las concentraciones de 7, 5 y 1 ppm en los tres días**

	1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico		
	TEPP		Monocrotofos		Dimetoato		Malatión		Paratión		EPN		
	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	
<b>7ppm</b>	$\bar{x}$	14.30	479.89	16.34	716.55	18.33	1000.78	20.31	889.44	22.25	840.11	24.15	708.11
	S	0.026	13.12	0.023	35.50	0.022	26.10	0.021	31.88	0.022	39.23	0.019	20.87
	CV	0.18	2.73	0.14	4.95	0.12	2.61	0.11	3.58	0.099	4.67	0.078	2.95
	LC $\pm$	0.029		0.026		0.025		0.024		0.024		0.021	
<b>5ppm</b>	$\bar{x}$	14.34	276.77	16.34	378.22	18.34	563.11	20.30	446.55	22.25	525.77	24.15	398.66
	S	0.0084	16.32	0.011	19.21	0.011	11.50	0.0081	21.42	0.017	13.56	0.021	16.91
	CV	0.058	5.89	0.065	5.08	0.062	2.04	0.040	4.79	0.074	2.58	0.087	4.24
	LC $\pm$	0.0095		0.012		0.013		0.0091		0.019		0.024	
<b>1ppm</b>	$\bar{x}$	14.35	53.03	16.34	134.11	18.34	126.66	20.31	131.11	22.25	130.33	24.15	121.77
	S	0.015	2.65	0.020	6.34	0.012	5.92	0.023	6.67	0.014	4.66	0.013	3.66
	CV	0.10	4.99	0.12	4.73	0.065	4.68	0.11	5.09	0.062	3.58	0.052	3.00
	LC $\pm$	0.017		0.022		0.013		0.025		0.016		0.014	

Para los tiempos de retención los coeficientes de variación fueron muy bajos como se observan en las tablas 11 y 12, lo que indica que no hay variación significativa entre los valores numéricos de las corridas cromatográficas.

En cuanto a la reproducibilidad obtenida con relación al área es admisible ya que el coeficiente de variación fue menor del 5%.

Los límites de confianza se determinaron a un 95% de probabilidad en el cual el tiempo de retención real oscila en un determinado intervalo y efectivamente se tiene la seguridad de identificar con precisión cada uno de los pesticidas organofosforados presentes en las mezclas de estándares.

**Repetividad.** A continuación se muestran las tablas que se obtuvieron para la repetividad de las mezclas de estándares de 12 y 6 componentes.

**Tabla 13.** Repetividad de la mezcla de 12 componentes

**Promedios de las soluciones de 1ppm**

**Tiempos de retención**

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	26.29	28.53	29.14	30.14	31.70	33.19	34.62	36.00	37.33	38.62	39.90	41.26
S	0	0.013	0.0075	0.0086	0.0084	0.0069	0.0072	0.011	0.017	0.010	0.0098	0.015
CV	0	0.045	0.026	0.028	0.026	0.021	0.021	0.032	0.046	0.026	0.025	0.035
LC $\pm$	0	0.014	0.0085	0.0097	0.0095	0.0079	0.0081	0.013	0.019	0.011	0.011	0.016

**Áreas**

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	2580.11	3100.89	1829.77	7178.66	9451.77	10628.91	10191.70	8758.55	7236.10	5098.05	3353.11	1657.78
S	37.84	157.88	100.61	150.04	264.89	398.34	153.31	480.15	341.26	282.76	149.80	82.95
CV	1.46	5.09	5.49	2.09	2.80	3.75	1.50	5.48	4.71	5.55	4.47	5.00

**Tabla 14.** Repetividad de la mezcla de 6 componentes

**Promedios de las soluciones de 5ppm**

	1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico	
	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area
$\bar{x}$	14.30	272.89	16.34	378.66	18.33	553.77	20.30	451.44	22.27	530.44	24.15	353.89
S	0.010	13.52	0.010	18.48	0.014	9.34	0.0075	23.03	0.017	14.00	0.017	16.43
CV	0.051	4.95	0.062	4.88	0.070	1.68	0.037	5.10	0.079	2.64	0.073	4.65
LC $\pm$	0.011		0.011		0.016		0.0084		0.020		0.019	

Se determinó la repetividad del método con las dos mezclas de estándares (tablas 13 y 14), obteniendo coeficientes de variación muy bajos en los tiempos de retención, mientras que para las áreas los coeficientes de variación fueron un poco mayor que los de la reproducibilidad, sin embargo no sobrepasó el 6%. Además con los límites de confianza se determinó que los tiempos de retención oscilan en un determinado intervalo con un grado de probabilidad del 95%.

Se concluye que la diferencia entre los parámetros de reproducibilidad y repetividad es mínima y que sus resultados son satisfactorios, lo que demuestra la buena precisión del análisis cromatográfico y por lo tanto indica que el método es fiable.

### **3.1.3 Estandarización de las condiciones de preparación de la muestra**

**3.1.3.1 Extracción en fase sólida.** Debido a su fácil automatización, la SPE ha crecido rápidamente, particularmente en muestras de interés medioambiental en donde bajas concentraciones de analito pueden ser concentradas a partir de grandes volúmenes de muestra. La SPE resulta adecuada para estas matrices, principalmente por su selectividad y la obtención de extractos limpios, el ahorro de disolventes y, especialmente la ausencia de emulsiones.

Los pesticidas organofosforados, son retenidos en una fase adsorbente adecuada que se encuentra en cartuchos de extracción, a través de las cuales se hace pasar la muestra. Aunque comercialmente existe una gran diversidad de materiales que pueden utilizarse como adsorbentes, los cartuchos de florisil (silicato de magnesio activado) son uno de los que más se utilizan en análisis de residuos de pesticidas<sup>64</sup>, razón por la cual se optó emplear este tipo de cartuchos para esta investigación.

Teniendo en cuenta la estandarización de las condiciones de preparación de la muestra ... sección 2.1.3.1... el primer paso de la optimización para la extracción fue el de la elección del solvente orgánico para eluir la muestra de los cartuchos SPE utilizados (florisil, 1000mg), obteniendo con la mezcla de acetato de etilo – hexano (90:10) mejores resultados en cuanto a valores de recuperación, puesto que con el metanol se obtuvieron recuperaciones bajas y no se recuperaron todos los compuestos de las dos mezclas de estándares, además se presentaron varios picos correspondientes al solvente los cuales interferían con los componentes de las mezclas (ver tabla 15).

---

<sup>64</sup> PITARCH, Op. Cit., p. 48.

Se procedió a determinar las concentraciones de cada componente extrapolando en las curvas de calibración realizadas en la estandarización de las condiciones cromatográficas (tabla 10), posteriormente se determinó los porcentajes de recuperación (ecuación 8).

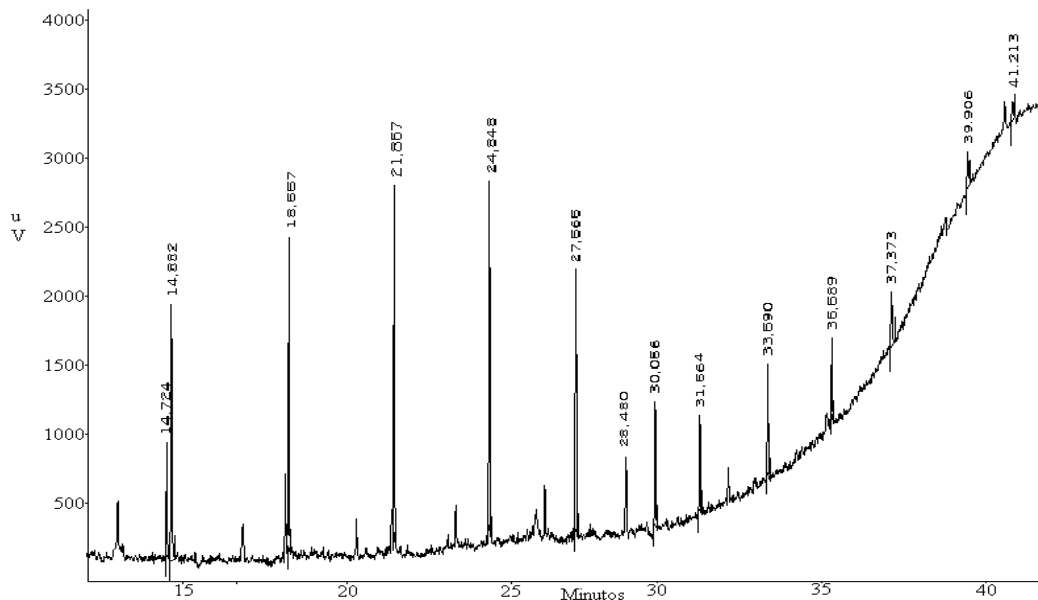
$$\% R = \frac{\text{Concentración de OPs en el lixiviado después de la extracción} \times 100}{\text{Concentración inicial}} \quad \text{Ecuación 8}$$

En la tabla 15 se muestra los porcentajes de recuperación que se obtuvo en la extracción utilizando como solvente de elución el metanol y en la figura 20 su respectivo perfil cromatográfico para la mezcla de 12 componentes.

**Tabla 15.** Porcentajes de recuperación de la mezcla de 12 componentes utilizando como solvente de elución metanol

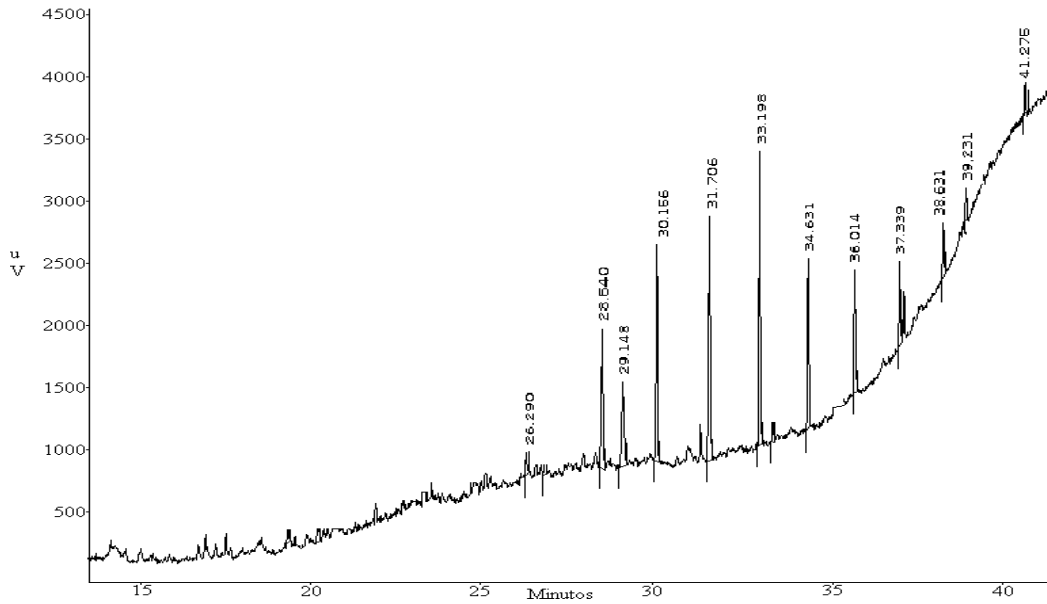
N° pico	t <sub>R</sub>	Compuesto	Area	Porcentaje de Recuperación
2	28.48	Mevinfos	1332.66	37.61%
4	30.06	Metil paratión	3211.08	49.00%
5	31.56	Fention	4817.25	82.37%
9	37.37	Fensulfotión	2975.12	58.08%
11	39.91	Azinfos Metil	1490.04	65.02%
12	41.21	Coumafos	763.45	86.11%

**Figura 20.** Perfil cromatográfico de la recuperación de la mezcla de 12 componentes con metanol



A continuación se observa el perfil cromatográfico de la recuperación de la mezcla de 12 componentes con la mezcla de acetato de etilo–hexano (90:10).

**Figura 21.** Perfil cromatográfico de la recuperación de la mezcla de 12 componentes con la mezcla de acetato de etilo–hexano (90:10)



La precisión se la determinó calculando la reproducibilidad y repetitividad de las dos mezclas de estándares utilizando como eluyente la mezcla de acetato de etilo – hexano (90:10). A continuación se presenta las tablas correspondientes a la reproducibilidad.

**Tabla 16.** Reproducibilidad de la mezcla de 12 componentes de la extracción en fase sólida

**Promedios de los tiempos de retención**

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
	Diclorvos	Mevinfos	Diazinon	Metil Paratión	Fention	Clorpirfos	Tetraclorvinfos	Protiofos	Fensulfotión	Sulprofos	Azinfos metil	Coumafos
$\bar{x}$	26.2	28.42	29.14	30.14	31.70	33.20	34.62	36.04	37.36	38.62	39.91	41.25
S	0.017	0.032	0.0019	0.0066	0.0072	0.0031	0.012	0.054	0.026	0.011	0.0058	0.0069
CV	0.066	0.11	0.0065	0.022	0.023	0.0090	0.033	0.15	0.069	0.029	0.014	0.017
LC±	0.019	0.037	0.0021	0.0075	0.0082	0.0034	0.013	0.061	0.029	0.013	0.0065	0.0078

**Promedios de la áreas**

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	2104.80	1789.23	1211.66	3936.33	5007.40	6157.22	4599.03	4381.68	3865.11	2588.56	1576.90	602.55
S	21.68	30.39	8.35	91.30	101.23	83.68	62.65	105.11	110.94	64.48	39.65	12.54
CV	1.030	1.69	0.69	2.32	2.02	1.36	1.36	2.39	2.87	2.49	2.51	2.08

**Promedios de los porcentajes de recuperación**

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	84.42	90.95	96.20	86.99	92.10	91.4	56.28	68.78	97.08	84.88	73.48	58.37
S	4.30	3.50	2.01	4.66	4.35	2.84	2.23	4.00	4.83	4.72	3.82	2.17
CV	5.09	3.85	2.09	5.36	4.72	3.11	3.96	5.83	4.98	5.55	5.26	3.71

**Tabla 17.** Reproducibilidad de la mezcla de 6 componentes de la extracción en fase sólida

**Promedios**

	1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico	
	<b>TEPP</b>		<b>Monocrotofos</b>		<b>Dimetoato</b>		<b>Malatión</b>		<b>Paratión</b>		<b>EPN</b>	
	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area	$t_R$	Area
$\bar{x}$	14.25	82.99	16.25	121..22	18.26	85.66	20.21	106.33	22.14	99.11	24.07	129.66
S	0.014	2.08	0.0015	5.74	0.031	3.00	0.0080	5.33	0.0089	4.69	0.0030	6.49
CV	0.097	2.51	0.0094	4.73	0.17	3.50	0.039	5.01	0.040	4.73	0.013	3.82
LC $\pm$	0.010		0.0048		0.011		0.013		0.0093		0.0099	

**Promedios de los porcentajes de recuperación**

	<b>1 pico</b>	<b>2 pico</b>	<b>3 pico</b>	<b>4 pico</b>	<b>5 pico</b>	<b>6 pico</b>
$\bar{x}$	99.67	91.12	54.97	74.67	72.17	81.98
S	1.53	3.43	1.85	3.04	2.28	2.85
CV	1.53	3.76	3.41	4.07	3.17	3.149

Los datos de repetividad se presenta en los anexos G y H.

Se llevó a cabo la validación del método evaluando los siguientes parámetros:

- **Precisión.** Fue determinada con la reproducibilidad (tablas 16 y 17) y la repetividad (anexos G y H), para las dos mezclas de estándares.

Se evaluó la reproducibilidad y repetividad con los coeficientes de variación, estos resultaron ser  $\leq 5\%$  tanto para la mezcla de estándares de 12 componentes como para la de 6, lo que indica que los resultados son cercanos, por consiguiente se considera que la precisión del método de extracción es aceptable.

También se determinó los límites de confianza del tiempo de retención, los cuales indica que existe un 95% de probabilidad que el resultado o dato real se encuentre en un determinado intervalo.

- **Exactitud.** Fue estudiada mediante ensayos de recuperación analizando las muestras de referencia a tres niveles de concentración. En las siguientes tablas se indican los porcentajes de recuperación obtenidos en las dos mezclas de estándares.

**Tabla 18.** Porcentajes de Recuperación a 3 niveles de concentración de la mezcla de 12 componentes

Compuesto	Niveles de Concentración				% CV
	0.54ppm	0.38ppm	0.50ppm	Promedio (%)	
Diclorvos	79.84	81.80	74.50	78.73	4.77
Mevinfos	87.33	90.07	83.64	87.00	3.70
Diazinon	94.10	96.38	90.35	93.60	3.25
Metil paratión	81.84	87.18	79.87	82.95	4.55
Fention	87.20	91.35	84.09	87.54	4.15
Clorpirifos	88.54	91.94	85.83	88.76	3.44
Tetraclorvinfos	53.98	55.66	50.22	53.27	5.22
Protiofos	64.37	68.10	61.52	64.62	5.07
Fensulfotion	91.66	95.90	88.44	91.98	4.08
Sulprofos	79.90	84.78	77.71	80.79	4.47
Azinfos metil	69.37	74.01	67.91	70.41	4.51
Coumafos	56.32	60.04	54.41	56.91	5.03

Los porcentajes de recuperación obtenidos de la mezcla de estándares de 12 componentes están comprendidos entre 70.4–93.6%, lo que indica que las recuperaciones son satisfactorias con coeficientes de variación menores del 6% para los tres niveles de concentración. Hubo tres compuestos los cuales presentaron % de recuperación bajos, el Tetraclorvinfos (53.27%), protiofos (64.62%) y el Coumafos (56.91%).

**Tabla 19.** Porcentajes de recuperación a 3 niveles de concentración de la mezcla de 6 componentes

Compuesto	Niveles de Concentración				% CV
	1.69ppm	1.32ppm	1.82ppm	Promedio (%)	
TEPP	101.18	102.88	96.21	100.07	3.49
Monocrotofos	93.50	98.48	89.22	93.76	4.93
Dimetoato	56.25	61.29	53.70	55.81	4.00
Malatión	77.70	80.78	74.54	77.66	4.01
Paratión	74.57	76.70	72.65	74.63	2.70
EPN	84.49	87.77	81.57	84.60	3.66

Para la mezcla de 6 componentes los porcentajes de recuperación obtenidos fueron favorables, entre el 74.6% hasta 100.07%, con coeficientes de variación menores del 5%. La única excepción fue el dimetoato con un porcentaje de recuperación del 55.81%.

Las recuperaciones para estos plaguicidas en las dos mezclas de estándares se ubican en el intervalo óptimo entre 70 y 130% sugerido por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos <sup>65</sup>, lo cual indica que estas condiciones de extracción son eficientes ya que se obtiene el mayor número de plaguicidas recuperados, 14 de 18 pesticidas organofosforados, total de las mezclas de estándares (tablas 18 y 19).

Los pocos compuestos que presentaron bajos porcentajes de recuperación en la estandarización se debe a una fuerte absorción por parte de la matriz sólida “florisil” que es fuertemente polar y retiene fuertemente a estos compuestos; por otro lado la polaridad de la mezcla eluyente utilizada aunque suficiente para eluir la mayoría de los pesticidas analizados no lo fue para arrastrar al tetraclorvinfos, protiofos, coumafos y dimetoato que son bastantes solubles en agua.

<sup>65</sup> BARCELÓ, D. Environmental protection agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *En: Journal of Chromatography*, 1993. p. 143.

## **3.2 CARACTERIZACION DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN LOS LIXIVIADOS DEL RELLENO SANITARIO ANTANAS**

**3.2.1 Muestreo.** Para la caracterización de los pesticidas organofosforados el sitio de muestreo fue antes de la piscina aeróbica de lixiviado, es decir los lixiviados que se producen en el relleno sin ningún tratamiento, el viejo y el nuevo. Las muestras se mantuvieron a la menor temperatura posible (4°C) con el objetivo de reducir la volatilidad de los constituyentes y los efectos de absorción, retardar la acción biológica, la hidrólisis de los compuestos químicos y la biodegradación entre el momento de hacer la toma y el de proceder al análisis <sup>66</sup>. Además se tuvo en cuenta que el tiempo transcurrido entre la recolección de la muestra y su análisis sea menor para que los resultados analíticos sean más exactos y fiables.

**3.2.2 Preparación de las muestras.** Las muestras requieren de una limpieza para eliminar las impurezas de la matriz que interfieren en el análisis y por ello se ha utilizado la extracción en fase sólida que es una de las técnicas más utilizadas en la actualidad... sección 2.2.2...

**3.2.3 Análisis cromatográfico.** Las muestras se analizaron con las mismas condiciones de la estandarización, es decir con las dos programaciones ... en la sección 2.1.1.3... y con los tiempos de retención que se obtuvieron en las mezclas de estándares se identificaron los pesticidas presentes en los lixiviados. La estandarización se realizó con estándar externo, ya que no se contó con un patrón interno adecuado por lo tanto se obtuvo las concentraciones de cada componente extrapolando en las curvas de calibración.

La caracterización se realizó a los dos tipos de lixiviados, las tablas 20 y 21 muestran los OPs que están presentes en el lixiviado viejo y en el nuevo con sus respectivos cromatogramas figura 22 y 23.

---

<sup>66</sup> American Public Health Association. American Water Works Association y American Water Pollution Control Federation. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Díaz de Santos: Madrid, 1992. p. 45-46.

**Tabla 20.** Caracterización de los pesticidas organofosforados en el lixiviado viejo.

a) Programación 1...sección 2.1.1.3...

$t_R$	Compuesto	Area ( $\mu V$ )	Concentración (ng/ml)
28.51	Mevinfos	2183	$8.84 \times 10^{-3}$
30.13	Metil paratión	3637	$5.31 \times 10^{-3}$
31.68	Fention	4130	$2.55 \times 10^{-3}$
33.16	Clorpirifos	5185	$2.48 \times 10^{-3}$
34.60	Tetraclorvinfos	4100	$1.35 \times 10^{-3}$

b) Programación 2...ver sección 2.1.1.3...

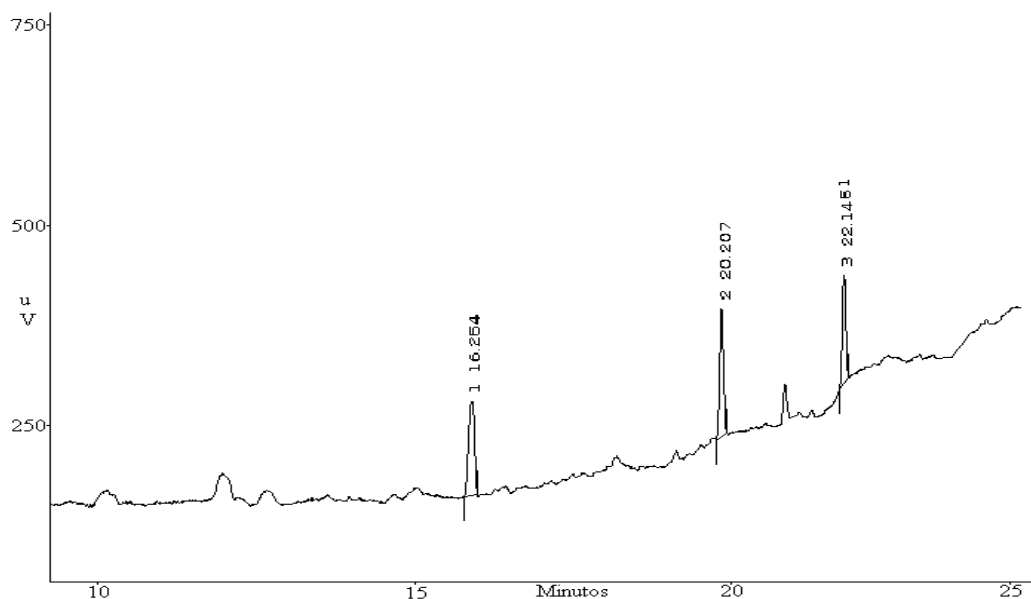
$t_R$	Compuesto	Area	Concentración (ng/ml)
16.26	Monocrotofos	687	0.093
20.21	Malatión	596	0.065
22.15	Paratión	444	0.051

**Figura 22.** Perfil cromatográfico del lixiviado viejo obtenido en CG-FID

a) Cromatograma de la primera programación ...sección 2.1.1.3...



b) Cromatograma de la segunda programación ... ver sección 2.1.1.3...



En el lixiviado viejo se encontraron 8 pesticidas organofosforados, los demás componentes no se identificaron debido a la ausencia o bajo contenido de estos en este tipo de lixiviado formado en el relleno sanitario Antanas.

**Tabla 21.** Caracterización de los pesticidas organofosforados en el lixiviado nuevo.

a) Programación 1 ... ver sección 2.1.1.3...

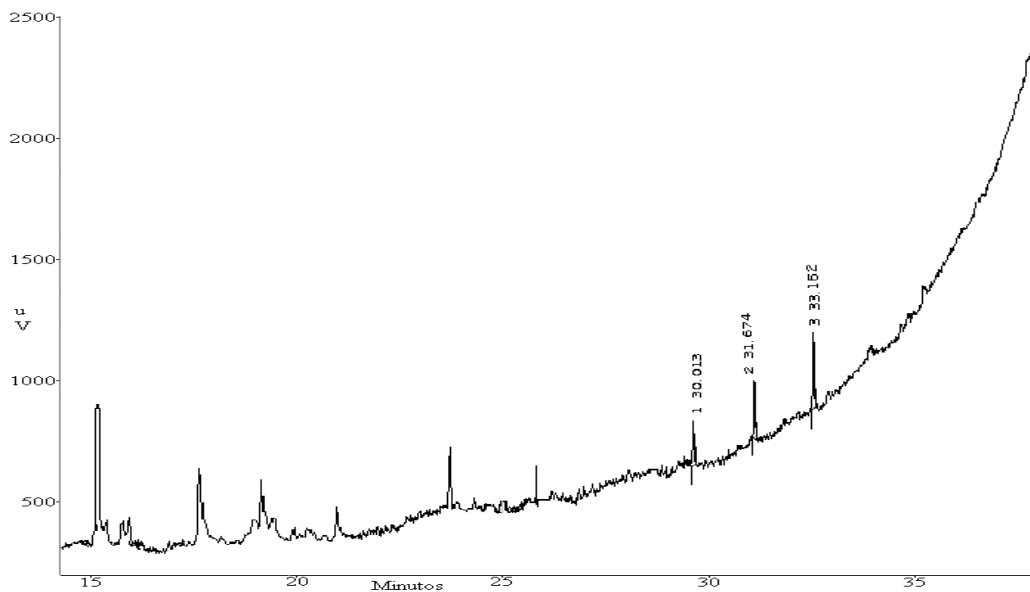
$t_R$	Compuesto	Area	Concentración (ng/ml)
30.01	Metil paratión	3142	$3.43 \times 10^{-3}$
31.65	Fention	4145	$2.60 \times 10^{-3}$
33.15	Clorpirifos	6209	$5.17 \times 10^{-3}$

b) Programación 2... ver sección 2.1.1.3...

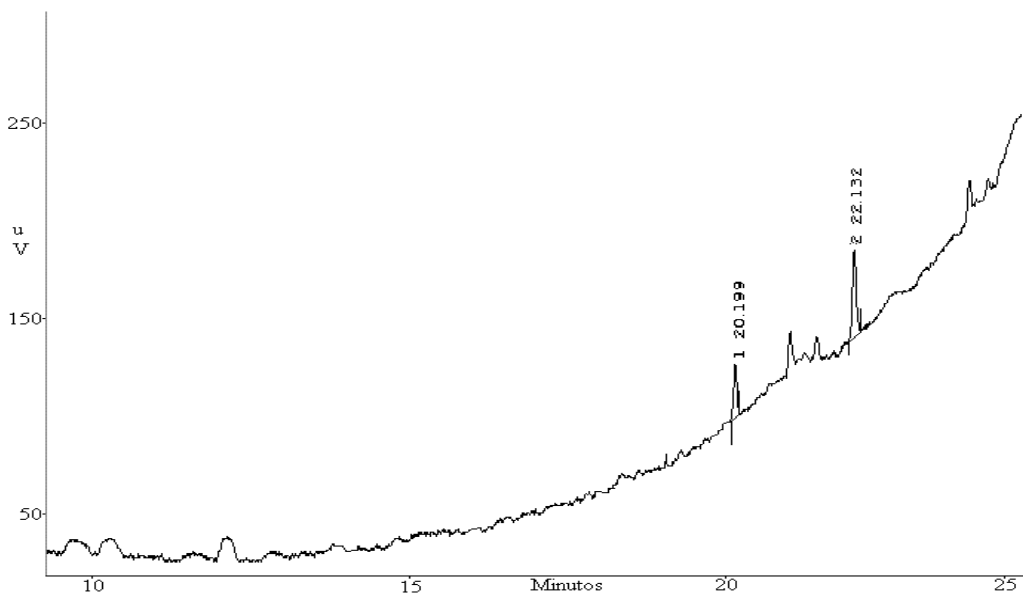
$t_R$	Compuesto	Area	Concentración (ng/ml)
20.18	Malatión	42	$8.72 \times 10^{-3}$
22.11	Paratión	254	0.031

**Figura 23.** Perfil cromatográfico del lixiviado nuevo obtenido en CG-FID

a) Cromatograma de la primera programación ... ver sección...



b) Cromatograma de la segunda programación... ver sección 2.1.1.3...



Se encontraron 5 pesticidas organofosforados en el lixiviado nuevo. El resto de los compuestos no se identificaron debido a la ausencia o bajo contenido de estos en el lixiviado nuevo. Los compuestos encontrados en los dos tipos de lixiviados son aquellos que se venden en el mercado a los agricultores y por lo tanto son los más utilizados en la región (mevinfos, metil paratión, fention, clorpirifos, tetraclorvinfos, monocrotofos, malatión, paratión). Una vez aplicados los pesticidas a los cultivos como maíz, alfalfa, hortalizas y frutas, estas sustancias químicas pueden generar residuos contaminados de origen agrícola como elementos vegetales deteriorados, los cuales proceden de los campos de cultivo, instalaciones ganaderas, bodegas, etc; y de origen municipal o urbano que engloban los residuos residenciales o domésticos procedentes de residencias familiares y los comerciales procedentes de hoteles, talleres de reparación, hospitales, mercados entre otros; los cuales son trasladados al vertedero, donde se originan los lixiviados que acumulan sustancias tóxicas. Además estos pesticidas posiblemente pueden llegar a la basura por escorrentía, por volatilización o por acción del viento, debido a cultivos aledaños al relleno sanitario, también estos pueden incorporarse directamente al relleno por residuos en los envases que quedan sobrantes de los plaguicidas.

Las concentraciones de los pesticidas organofosforados que se obtuvieron en los lixiviados son muy bajas, lo que indica que estos contaminantes no ocasionan inconvenientes al medio ambiente.

### **3.3 SEGUIMIENTO DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS**

**3.3.1 Muestreo.** El principio del sistema de microcosmos se ha utilizado para la evaluación del comportamiento de los ecosistemas naturales. El microcosmos fue instalado de tal manera que los parámetros de éste tenga el mismo valor que en el cuerpo de lixiviado, con el fin de que el sitio de recolección de las muestras sea representativo!!! El microcosmos consta de un tanque de *1000 litros* Ajoever, se utilizó este tipo de tanque con el fin de que no altere los procesos de degradación, el sistema es dinámico y se lo acondicionó con las mismas características de la piscina de lixiviado, es decir contiene el mismo flujo y el mismo tiempo de retención, el cual es de 7 días. El lixiviado entró ascendente y salió descendentemente con un caudal de 0.0017 L/seg, el cual es calculado con respecto a los 7 días correspondiente al tiempo de retención. El tiempo de estudio fue de quince días para cada tipo de lixiviado, durante los días 1, 4, 8, 11 y 15. Se realizaron muestreos puntuales porque las descargas del lixiviado son intermitentes, es decir, se almacenan en tanques y las características de éste son constantes en cuanto a flujo y descarga.

En la figura 24 se observa el montaje del microcosmos que se instaló en el relleno sanitario.

**Figura 24.** Microcosmos.



**3.3.2 Preparación de muestras y análisis cromatográfico.** Una vez identificados y cuantificados los pesticidas organofosforados presentes en los lixiviados se procedió a realizarles un seguimiento con el fin de observar el comportamiento de estos compuestos a través del tiempo, después de efectuados la preparación y análisis cromatográficos correspondientes mediante el procedimiento optimizado en el primer día ... sección 3.2.2 y 3.2.3...

Con los tiempos de retención que se indican en las tablas 21 y 22 se identificaron los pesticidas organofosforados en el transcurso de 15 días tanto para el lixiviado viejo como para el nuevo, se confirmó la presencia de estos compuestos con el análisis estadístico como es el promedio y el coeficiente de variación, este último establece que hay concordancia entre los valores numéricos de las corridas cromatográficas. Con el promedio de las áreas cromatográficas se calculó las concentraciones de cada uno de ellos para examinar su estabilidad en los diferentes días. A medida que pasó el tiempo se observó una disminución en su concentración e incluso algunos desaparecieron antes de los 15 días. En la tabla 22 se observan los resultados del seguimiento en el lixiviado viejo y en la figura 25 se presenta la estabilidad de los OPs en los quince días de muestreo.

**Tabla 22.** Seguimiento de los pesticidas organofosforados en el lixiviado viejo durante los 15 días

**a) Tiempos de retención de los compuestos identificados**

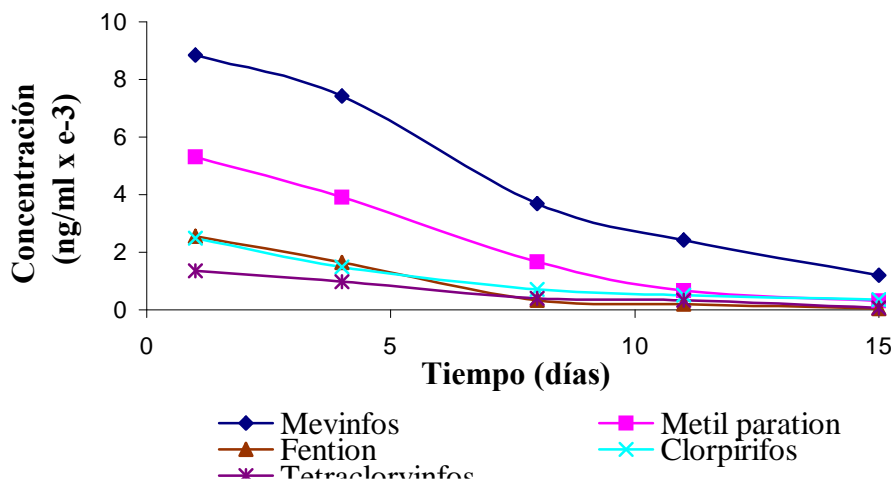
	<b>DIA 1</b>	<b>DIA 4</b>	<b>DIA 8</b>	<b>DIA 11</b>	<b>DIA 15</b>	<b>%CV</b>
<b>Compuesto</b>	<b>1<sup>o</sup> Programación (12 componentes)</b>					
Mevinfos	28.51	28.52	28.49	28.51	28.49	0.047
Metil paratión	30.13	30.14	30.11	30.13	30.11	0.044
Fention	31.68	31.69	31.66	31.69	31.66	0.042
Clorpirifos	33.17	33.18	33.16	33.18	33.15	0.039
Tetraclorvinfos	34.60	34.61	34.56	34.61	34.59	0.059
	<b>2<sup>o</sup> Programación (6 componentes)</b>					
Monocrotofos	16.26	16.27	16.26	16.26	-----	0.030
Malatión	20.21	20.21	20.19	20.17	20.22	0.099
Paratión	22.14	22.15	22.12	-----	-----	0.069

b) Áreas cromatográficas y concentraciones de los compuestos identificados

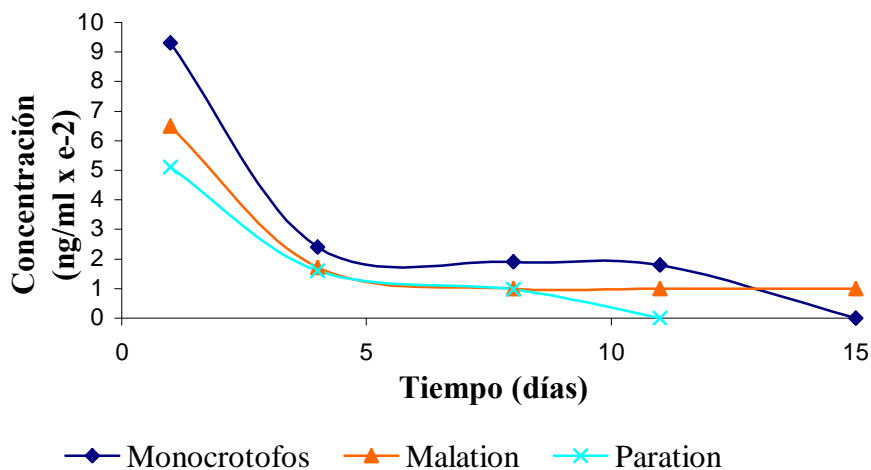
	DIA 1		DIA 4		DIA 8		DIA 11		DIA 15	
	pH	T	pH	T	pH	T	pH	T	pH	T
	8.27	21.1°C	8.30	18.2°C	8.35	16.9°C	8.39	13.9°C	8.35	14.8°C
<b>1° Programación</b>										
<b>Compuesto</b>	Area (μV)	Conc. (ng/ml)	Area (μV)	Conc. (ng/ml)	Area (μV)	Conc. (ng/ml)	Area (μV)	Conc. (ng/ml)	Area (μV)	Conc. (ng/ml)
Mevinfos	2183	8.84x10 <sup>-3</sup>	2026	7.43x10 <sup>-3</sup>	1608	3.69x10 <sup>-3</sup>	1467	2.43x10 <sup>-3</sup>	1331	1.21x10 <sup>-3</sup>
Metil paratión	3637	5.31x10 <sup>-3</sup>	3268	3.91x10 <sup>-3</sup>	2680	1.67x10 <sup>-3</sup>	2415	6.70x10 <sup>-4</sup>	2323	3.20x10 <sup>-4</sup>
Fention	4130	2.55x10 <sup>-3</sup>	3858	1.64x10 <sup>-3</sup>	3466	3.35x10 <sup>-4</sup>	3425	1.98x10 <sup>-4</sup>	3377	3.77x10 <sup>-5</sup>
Clorpirifos	5185	2.48x10 <sup>-3</sup>	4801	1.48x10 <sup>-3</sup>	4505	7.08x10 <sup>-4</sup>	4433	5.19x10 <sup>-4</sup>	4372	3.60x10 <sup>-4</sup>
Tetraclorvinfos	4100	1.35x10 <sup>-3</sup>	3960	9.73x10 <sup>-4</sup>	3748	4.03x10 <sup>-4</sup>	3725	3.41x10 <sup>-4</sup>	3619	5.69x10 <sup>-5</sup>
<b>2° Programación</b>										
Monocrotofos	687	0.093	136	0.024	98	0.019	93	0.018	-----	-----
Malatión	596	0.065	131	0.017	61	0.010	60	0.010	54	9.95x10 <sup>-3</sup>
Paratión	444	0.051	119	0.016	57	9.88x10 <sup>-3</sup>	-----	-----	-----	-----

**Figura 25.** Estabilidad de los pesticidas organofosforados encontrados en el lixiviado viejo a través del tiempo.

**a) Programación 1...2do. párrafo en 2.1.1.3... (Mezcla de 12 componentes)**



**b) Programación 2 ...3er. párrafo en 2.1.1.3... (Mezcla de 6 componentes)**



En el lixiviado viejo, en el primer día se identificó 8 pesticidas organofosforados de acuerdo con las dos mezcla de estándares: Mevinfos, metil paratión, fention, clorpirifos, tetraclorvinfos, monocrotofos, malatión y paratión; el paratión desapareció al onceavo día y el monocrotofos al quinceavo día, los demás compuestos después de los quince días no se identificaron ya que se confundían con el ruido del equipo.

En la tabla 23 se muestra los resultados del seguimiento en el lixiviado nuevo y en la figura 26 se indica la estabilidad de los OPs en los quince días de muestreo.

**Tabla 23.** Seguimiento de los pesticidas organofosforados en el lixiviado nuevo durante los 15 días

**a) Tiempos de retención de los compuestos identificados**

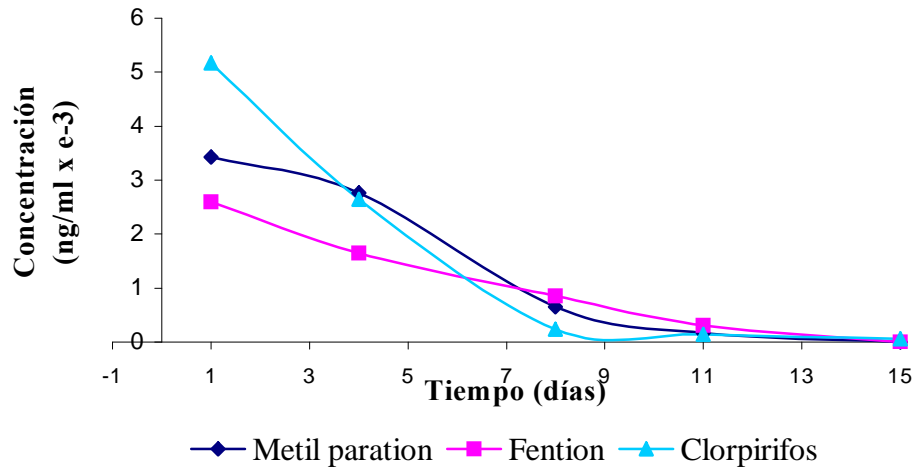
	DIA 1	DIA 4	DIA 8	DIA 11	DIA 15	%CV
<b>1<sup>o</sup> Programación (12 componentes)</b>						
Metil paratión	30.10	30.10	30.11	30.09	-----	0.027
Fention	31.65	31.65	31.65	31.64	-----	0.015
Clorpirifos	33.16	33.14	33.15	33.15	33.11	0.058
<b>2<sup>o</sup> Programación (6 componentes)</b>						
Malatión	20.18	20.17	20.18	-----	-----	0.028
Paratión	22.11	22.12	22.11	-----	-----	0.026

**b) Áreas cromatográficas y concentraciones de compuestos identificados**

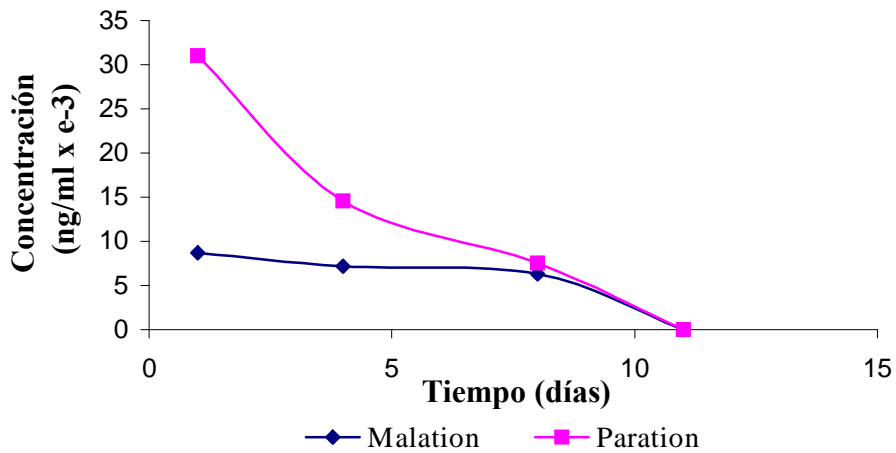
	DIA 1		DIA 4		DIA 8		DIA 11		DIA 15	
	pH	T	pH	T	pH	T	pH	T	pH	T
	6.75	18.9°C	6.27	21.9°C	7.15	18.5°C	7.38	18°C	7.45	16.7°C
<b>1<sup>o</sup> Programación</b>										
<b>Compuesto</b>	Area ( $\mu$ V)	Conc. (ng/ml)	Area ( $\mu$ V)	Conc. (ng/ml)	Area ( $\mu$ V)	Conc. (ng/ml)	Area ( $\mu$ V)	Conc. (ng/ml)	Area ( $\mu$ V)	Conc. (ng/ml)
Metil paratión	3142	$3.43 \times 10^{-3}$	2965	$2.76 \times 10^{-3}$	2410	$6.51 \times 10^{-4}$	2286	$1.79 \times 10^{-4}$	-----	-----
Fention	4145	$2.60 \times 10^{-3}$	3860	$1.65 \times 10^{-3}$	3620	$8.50 \times 10^{-4}$	3461	$3.18 \times 10^{-4}$	-----	-----
Clorpirifos	6209	$5.17 \times 10^{-3}$	5244	$2.64 \times 10^{-3}$	4328	$2.44 \times 10^{-4}$	4291	$1.48 \times 10^{-4}$	4258	$6.15 \times 10^{-5}$
<b>2<sup>o</sup> Programación</b>										
Malatión	42	$8.72 \times 10^{-3}$	28	$7.27 \times 10^{-3}$	19	$6.34 \times 10^{-3}$	----	-----	----	-----
Paratión	254	$3.10 \times 10^{-2}$	101	$1.46 \times 10^{-2}$	35	$7.51 \times 10^{-3}$	----	-----	----	-----

**Figura 26.** Estabilidad de los pesticidas organofosforados encontrados en el lixiviado nuevo a través del tiempo.

a) Programación 1 ... ver sección 2.1.1.3... (Mezcla de 12 componentes)



b) Programación 2 ... ver sección 2.1.1.3... (Mezcla de 6 componentes)



En el lixiviado nuevo, en el primer día se identificó 5 pesticidas organofosforados con referencia a las mezclas de estándares utilizadas anteriormente: Metil paratión, fention, clorpirifos, malatión y paratión; de igual manera que en el lixiviado viejo algunos compuestos fueron desapareciendo a medida que pasaron los días, el malatión y el paratión desaparecieron al onceavo día y el metil paratión y el fention al quinceavo día.

La composición y características de los residuos que se generan en la ciudad de Pasto resulta una información muy valiosa, además de la cantidad y calidad de los residuos sólidos, ya que puede variar en forma significativa a través del año. Debido a que los muestreos se realizaron durante los meses de temporada de vacaciones aumentó la proporción de residuos domésticos y comerciales. En esta época llegaron varias clases de residuos sólidos al relleno sanitario, los cuales pueden dar información de la procedencia de los pesticidas organofosforados. Estos residuos se los clasificó de la siguiente manera.

- Residuos urbanos: Constituidos por restos orgánicos procedentes de la alimentación, papel, cartón, plásticos, textiles, maderas gomas etc, como consecuencia de las siguientes actividades, domiciliarias, comerciales y de servicios, limpieza de zonas verdes y recreativas, abandono de animales muertos, enseres, muebles, industriales, de la construcción, agrícolas.

- Residuos en la naturaleza: Los ecosistemas naturales también generan una serie de basuras o residuos, aunque algunos de éstos son reutilizados, consumidos o reciclados por los diferentes organismos que lo conforman, otros no lo son y por lo tanto son los que llegan al relleno sanitario como envases de sustancias químicas, plaguicidas, que son desechados después de la fumigación a los cultivos.

- Residuos tóxicos y peligrosos: Por ejemplo los metales pesados: plomo, cadmio, níquel, mercurio, etc., los cuales aparecen de los carburantes para motor diesel, petróleo, carbón, humo de tabaco, productos químicos y catalizadores, acero y aleaciones no férreas, conducciones, tuberías de agua, pinturas; además algunos de estos metales proceden de la agricultura y ganadería ya que se los utilizan para combatir los insectos y parásitos.

La diferencia en el número de pesticidas encontrados en cada uno de los lixiviados se debe posiblemente al tiempo de uso en la disposición de los residuos sólidos ya que donde se origina el lixiviado viejo, vaso 1, se encuentra en una fase de descomposición avanzada. El tiempo de uso y la forma de disposición (tipos de residuos sólidos y grado de compactación) influyen principalmente en algunas características fisicoquímicas como la temperatura y el pH, y la cantidad de pesticidas organofosforados.

Los procesos de transformación de los pesticidas OPs dependen, entre otros factores, del “compartimento” medioambiental en el cual los compuestos son dispersados y transportados. Los pesticidas organofosforados pueden permanecer en cualquiera de los tres “compartimentos”, aire, tierra y agua, y su distribución depende de sus propiedades fisico-químicas. Conociendo la presión de vapor, la solubilidad en agua, absorción y desorción, se puede predecir donde se encontraran con mayor probabilidad.

Los procesos de transformación están influidos por distintos factores como la temperatura, intensidad y duración de la luz solar, el pH o la composición del agua. En principio, y bajo condiciones favorables, la degradación tiene lugar hasta la mineralización completa del pesticida, dando como productos finales  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , etc., dependiendo de cada pesticida en particular. Pero en muchas ocasiones, esa transformación total no ocurre, y el pesticida es degradado a otros productos cuya toxicidad, movilidad y efectos sobre el medio son prácticamente desconocidos.

En suelos y acuíferos, los pesticidas pueden reaccionar químicamente, en presencia de agua u oxígeno, se pueden hidrolizar, oxidar o formar isómeros. Pero además, esta degradación puede ser acelerada mediante la fotólisis.

Las reacciones de fotólisis que tienen interés en el medio ambiente son las producidas por la radiación solar, y para que ello ocurra es necesario que la longitud de onda de la radiación solar, esté por encima de los 290nm. Además de la reacción de fotólisis (figura 4), se llevan a cabo fotodegradaciones sensibilizadas debido a la presencia de compuestos o iones naturales, tales como nitratos, nitritos, ácidos húmicos, etc., que aceleran la degradación del compuesto.

Las reacciones de degradación transforman los pesticidas en otros compuestos de menor toxicidad, aunque en otros casos los productos de degradación son tanto o más tóxicos que los propios pesticidas. Por otra parte, los compuestos químicos se presentan normalmente en el medio ambiente como mezclas de composición desconocida, de forma que sus efectos tóxicos pueden ser aditivos, antagonísticos o sinérgicos<sup>67</sup>.

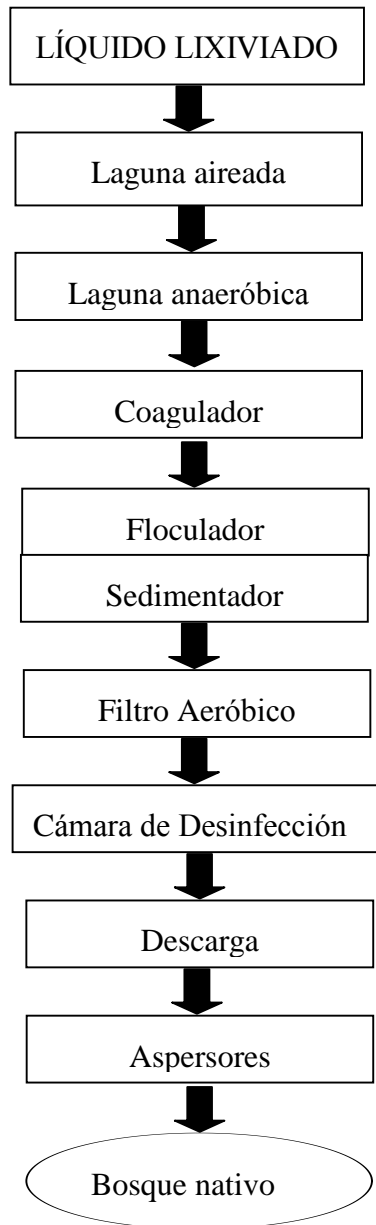
### **3.4 IDENTIFICACION DE LOS PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS AL FINAL DEL TRATAMIENTO DE LOS LIXIVIADOS**

Una vez realizado todos los tratamientos a los lixiviados (figura 27), estos son descargados por medio de aspersores al bosque nativo, el riego por aspersión consta de un sistema de suministro de lixiviado de propulsión a chorro bajo presión a través de tuberías de plástico, (figura 28).

---

<sup>67</sup> CAP 5 – Estudio de degradación. Op. Cit.

**Figura 27.** Unidades correspondientes a la planta de tratamiento de líquido lixiviado



**Figura 28.** Bosque nativo



Al realizar los análisis en el lixiviado final se obtuvo como resultado la ausencia de pesticidas organofosforados, por tanto se concluye que estos compuestos a medida que pasan por los respectivos tratamientos estos desaparecen por posibles biotransformaciones que se producen en estos pesticidas.

#### 4. CONCLUSIONES

- ◆ En la validación de las condiciones cromatográficas, la reproducibilidad y la repetibilidad obtenidas tanto para los tiempos de retención como para las áreas cromatográficas son favorables obteniendo coeficientes de variación bajos, por lo tanto sus resultados son satisfactorios, lo que demuestra la buena precisión del análisis cromatográfico y la fiabilidad del método.
- ◆ La aplicación del procedimiento basado en SPE a muestras ambientales resultó adecuada para la determinación de pesticidas organofosforados, ya que el procedimiento de SPE es rápido, evita la formación de emulsiones y permite la obtención de extractos más limpios, además de que se obtuvieron resultados satisfactorios tanto en la precisión como en la exactitud del método.
- ◆ En función de los resultados obtenidos, se seleccionó como mejor solvente de elución para la extracción en fase sólida la mezcla de acetato de etilo – hexano (90:10), permitiendo la extracción eficiente para 14 de los 18 plaguicidas organofosforados estandarizados, dentro de un intervalo óptimo de porcentajes de recuperación de 70.4 - 100.07% con coeficientes de variación entre 5 y 6%, lo que significa que permite extraer simultáneamente con eficiencia y rapidez plaguicidas organofosforados en muestras de lixiviado.
- ◆ Se identificó y cuantificó 8 pesticidas organofosforados del lixiviado viejo y 5 del lixiviado nuevo con concentraciones bajas, por lo tanto estos contaminantes no ocasionan inconvenientes al medio ambiente.
- ◆ La diferencia de pesticidas encontrados en cada uno de los lixiviados se debe posiblemente al tiempo de uso en la disposición de los residuos sólidos ya que donde se origina el lixiviado viejo, vaso 1, se encuentra en una fase de descomposición avanzada. El tiempo de uso y la forma de disposición (tipos de residuos sólidos, grado de compactación, etc) influyen principalmente en la temperatura, pH y cantidad de pesticidas organofosforados.
- ◆ En general los Ops son poco persistentes en los lixiviados, se observó un constante descenso en su concentración a medida que pasaron los días y algunos desaparecieron

antes de los 15 días. En el lixiviado viejo, el paratión desapareció al onceavo día y el monocrotofos al quinceavo día; en el lixiviado nuevo, el malation y el paration desaparecieron al onceavo día y el metil paratión y fention al quinceavo día.

- ◆ En el lixiviado final no se encontró ninguna clase de pesticidas organofosforados de los cuales se estandarizaron en la metodología, por tanto se puede concluir que estos compuestos a medida que pasan por los respectivos tratamientos desaparecen por sus posibles biotransformaciones.
- ◆ Este estudio dará inicio a otros campos de investigación como la microbiología y la biotecnología capaces de proponer procesos biotecnológicos de aislamiento y caracterización de bacterias que permitan mejorar y acelerar los mecanismos de biotransformación de estos pesticidas para así disminuir la contaminación.

## 5. RECOMENDACIONES

- ◆ Se recomienda la aplicación de esta metodología ya estandarizada y validada porque permite analizar pesticidas organofosforados en diferentes matrices como agua, suelo, alimentos, etc., además de los lixiviados analizados en esta investigación.
  
- ◆ Se sugiere desarrollar un método para la determinación de plaguicidas OPs mediante el uso del cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (CG – MS) y/o en lo posible utilizar el detector nitrógeno – fósforo (NPD), de este modo se intentará mejorar la sensibilidad y selectividad del método, disminuyendo el ruido de fondo de los cromatogramas así como los límites de detección, en relación con el método desarrollado en este proyecto.
  
- ◆ Continuar con el análisis de muestras ambientales realizando un control periódico tanto en el relleno sanitario como a sus alrededores ya estén o no expuestos a estos contaminantes, analizando un mayor número de muestras, con el fin de obtener más datos sobre la presencia de pesticidas organofosforados y poder evaluar los resultados obtenidos.
  
- ◆ Es necesario llevar a cabo estudios de laboratorio sobre la degradación de pesticidas en el medio ambiente, para obtener mas información sobre sus principales vías de transformación en condiciones naturales, así como estudios para determinar la toxicidad de los productos de transformación, presentando procesos biotecnológicos que mejoren y aceleren los mecanismos de biotransformación para reducir su contaminación.

## BIBLIOGRAFIA

ALBERO, Beatriz; SAÑ, Consuelo and TADEO, Joseä L. Determination of Organophosphorus Pesticides in Fruit Juices by Matrix Solid-Phase Dispersion and Gas Chromatography. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003. v. 51. p. 6915-6921.

American Public Health Association. American Water Works Association y American Water Pollution Control Federation. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Díaz de Santos: Madrid, 1992. p. 45-46.

ANTECEDENTES - Segundo Informe Nacional. [Cited 3 Oct., 2003]. Available from internet: <[http://www.cdc.gov/exposurereport/sp\\_background.htm](http://www.cdc.gov/exposurereport/sp_background.htm)>

BAÑOS, J. Y BOSCH, F. Aspectos históricos de los organofosforados. Med Clin (Barc), 1992. p. 718-719.

BARBERÁ, C. Pesticidas agrícolas. Barcelona: Omega, 1989. p. 58.

BARCELÓ, D. Environmental protection agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. En: Journal of Chromatography, 1993. p. 143.

BIBLIOTECA LUIS Ángel Arango. Relleno Sanitario. Guia Temática de Ecología y Medio Ambiente. [Cited 15 Nov., 2003]. Available from internet: <<http://www.lablaa.org/ayudadetareas/biologia/biolo78.htm>>

BUSCEMA, I.; ETTIENE, G.; MEDINA, D. y PRIETO, A. Optimización de la Extracción en Fase Sólida de Residuos de Plaguicidas Organofosforados en Agua Potable Empleando Cartuchos de Carbón Grafitado. Maracaibo, 2003, 189 p. Trabajo de grado (Agrónomo). Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía.

CALDWELL, S. and RAUSHEL, F. Detoxification of Organophosphate Pesticides Using an Immobilized Phosphotriesterasa from Pseudomonas diminuta. En: Journal of Biotechnology and Bioengineering, 1990. p. 103-109.

CALVACHE, Jesús Armando. Manejo de Residuos Sólidos. Pasto: Universidad de Nariño, 1997. p 25.

CAP 5 – Estudio de degradación. [Cited 10 Jan., 2005]. Available from internet: <[http://www.tdx.cesca.es/TESIS\\_UPC/AVAILABLE/TDX-0130102-115958/08cap5 htm](http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UPC/AVAILABLE/TDX-0130102-115958/08cap5 htm)>

DE LIÑÁN, C. Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales. Madrid: Agrotécnicas, 1996. p. 112

ERNEST, K.; THOMAS, M.; PAULOSE, M.; RUPA, V. y GNANAMUTHU, C. Delayed effects of exposure to organophosphorus compounds. Indian: Med Res, 1995. p. 81-84.

EVALUACION DEL riesgo ambiental a la liberacion de plaguicidas. [Cited 20 Sep., 2004]. Available from internet: <<http://www.monografias.com/trabajos10/evaries/evaries.shtml>>

GENERALIDADES MISIÓN. [Cited 8 Oct., 2003]. Available from internet: <http://www.ingeniería.udea.edu.co/centros/CIA/servicios.htm>

GISBERT. Medicina Legal y Toxicología. Barcelona: Masson-Salvat, 1996. p. 90.

HINCAPIE, Margarita y ZAPATA, Mauren. Análisis en leche de pesticidas organofosforados y piretroides por cromatografía gaseosa. Medellín, 1999, 115 p. Trabajo de Grado (Químico). Universidad de Antioquia. Departamento de Química.

HOLMSTEDT, B. Pharmacology of organophosphorus cholinesterase inhibitors. En: Revista Pharmacol, 1959. v. 11. p. 567-569.

HONG, Song; KIM, Jooyoun; LEMLEY, Ann; KAY, Obendorf and HEDGE, Alan. Analytical Method Development for 18 Pesticides in House Dust and Settled Residues Using SEC, SPE, TMS Methylation, and GC-MS. En: Journal of Chromatographic Science, 2001. v. 39. p. 101-112.

KLIMMER, O. Plaguicidas: toxicología, sintomatología y terapia. Barcelona: Oikos-Tau, 1967. p. 80.

LEIFER, A. The Kinetics of Environmental Aquatic Photochemistry. Washington: American Chemical Society, 1988. 123 p.

LOPEZ, F.; OBIOLS, J. y SUBIAS, J. Plaguicidas agrícolas y salud. En: Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos. Castellón de la Plana: Publicaciones de la Universidad Jaume I, 1998. p. 96.

MARTIN, J. y GALINDO, J. Protocolo de actuación en intoxicaciones por insecticidas organofosforados. En: Ilustre Colegio Oficial de Médicos de Almería, editor. Almería: Imprenta Ubeda, 1991. p. 107-109.

MARTINEZ, J. Intoxicación por insecticidas anticolinesterásicos. En: Revista Toxicol, 1990. v. 7. p. 135-136.

MARTÍNEZ, J.; MOLINERO, F.; SOLÉ, J.; RUBIO, R.; PEÑEIRO, D. y GARCIA D. Valor de la Colinesterasa plasmática en la intoxicación aguda por insecticidas anticolinesterásicos. En: Revista Diagn Biol, 1985. v. 34. p. 37.

MARTÍNEZ VIDAL, J.; GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, M. y BELMONTE VEGA, A. Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería. Dpto, Química Analítica. Universidad de Almería. Almería, España. 2004.

MATTHES, G. Pesticides in Ground and Surface Water. Alemania: Springer-Verlag, 1994. p 191.

Método EPA 8141A-1994. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Septiembre, 2003.

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. [Cited 10 Dic., 2004]. Available from internet: <<http://www.ersp.gob.pa/agua/Anexos/393%20Gaceta%20Oficial.html>>

MOL, Hans; RUUD, C.; DAM, Van y STEIJGER Odile. Determination of polar organophosphorus pesticides in vegetables and fruits using liquid chromatography with tandem mass spectrometry: selection of extraction solvent. En: Journal of Chromatography A, 2003. v. 1015. p. 119–127.

MUÑOZ, J.; FERNÁNDEZ, E.; GARCÍA, L.; GONZÁLEZ, A. y CUADROS, L. A New approach to qualitative analysis of organophosphorus pesticide residues in cucumber using a double gas chromatographic system: GC-pulsed-flame photometry and retention time locking GC/mass spectrometry. En: Journal of Chromatography A, 2003. V.60. p. 433-447.

NAIR, Harold. Cromatografía de Gases. Washington: OEA, 1981. p. 38 – 39.

ORGANOFOSFORADOS. En: Cricyt Enciclopedia. [Cited 18 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/Organofosf.htm>>

ORTIZ, Jaime. Instituto Nacional de Salud. Curso de Capacitación en Validación de Metodologías Analíticas. Santa Fé de Bogotá: AOAC. Association of Official Analytical Chemists, 1990. p. 35.

PESTICIDAS, SALUD y ambiente. [Cited 18 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.iibce.edu.uy/posdata/drit.htm>>

PITARCH ARQUIMBAU, Elena. Desarrollo de metodología analítica para la determinación de pesticidas organofosforados y organoclorados en muestras biológicas humanas. Castellón de la Plana, 2001, 421p. Tesis doctoral (Química Analítica). Universidad Jaume I de Castellón. Departamento de ciencias Experimentales.

PLAGUICIDAS, PESTICIDAS. [Cited 10 Jan., 2005]. Available from internet: <<http://>

[www.tierramerica.net/2002/1201/conectate.shtml](http://www.tierramerica.net/2002/1201/conectate.shtml)>

RAPAL. EFECTOS de los plaguicidas en el medio ambiente. EVALUACION DEL riesgo ambiental a la liberacion de plaguicidas. [Cited 20 Sep., 2004]. Available from internet:<[http:// www.rap-al.org/v2/index.php.seccion.efectos\\_medio.php](http://www.rap-al.org/v2/index.php.seccion.efectos_medio.php)>

RECOGIDA Y TRATAMIENTO de lixiviados. Características del lixiviado de vertedero. [Cited 6 Dic., 2004]. Available from internet: <[http:// www.miliarium.com/Proyectos/Vertederos/RSU/ Lixivybiogas/ Lixiviado.htm](http://www.miliarium.com/Proyectos/Vertederos/RSU/Lixivybiogas/Lixiviado.htm)>

RESTREPO, Ricardo; VARGAS, María y MORA, Amanda, En: Paratión – monografía, [Cited 18 Nov., 2003]. Available from internet: <[http:// www.monografias.com/trabajo14paration/paration.5html](http://www.monografias.com/trabajo14paration/paration.5html) >

SKOOG, Douglas; HOLLER, James y NIEMAN Timothy. Principios de análisis instrumental. Madrid: Mc Graw Hill, 1992. p. 765 –766.

SOLÉ, J.; MARTINEZ, J.; MOLINERO, F.; MARCO, J.; RUBIO, R. y RODRIGUEZ, I. Manifestaciones neurológicas en la intoxicación por insecticides organofosforados. España: Med Clin (Bare), 1985. p. 217

SOLUCIONES. Tratamiento de Lixiviados. [Cited 10 Jan., 2005]. Available from internet: <[http:// www. cipres. cec.uchile.cl/~edmunoz/solucio3.html](http://www.cipres.cec.uchile.cl/~edmunoz/solucio3.html)>

STUMM, W. y MORGAN, J. Aquatic Chemistry. New York: Wiley Interscience, 1976. 208 p.

TCHOBANOGLUS, G. Gestión integral de los residuos sólidos. Madrid: McGraw Hill, 1994. 310 p.

TEXTO–TRABALHADOR rural agrotóxicos. En: Organofosforados-toxicología pesticidas. volume 3, 149-155p, 2001. [Cited 30 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.saudeetrabalho.com.br/t-rural.htm>>

TOMES PLUS, Software de toxicología. Micromedex, 1997. [Cited 2 Sep., 2003]. Available from internet: <<http://www.ensam.inra.fr/cholinesterase/chem/organophosphates.html>>

TOXICOLOGÍA Y VETERINARIA legal. En: Programa de prácticas de laboratorio. [Cited 12 Nov., 2003]. Available from internet: <[http:// www.facvet.lugo.usc.es/Planes\\_estudios/ Plan\\_viejo/toxicología](http://www.facvet.lugo.usc.es/Planes_estudios/Plan_viejo/toxicología)>  
TQ0191. [Cited 30 Sep., 2003]. Available from internet: <[http://www.matematicas.udea.edu.co/~exacta/dependencias/quimica/trabajos\\_fcen/TQ0191.html](http://www.matematicas.udea.edu.co/~exacta/dependencias/quimica/trabajos_fcen/TQ0191.html)>

UESP, Relleno Sanitario, [Cited 20 Nov., 2004], Available from internet: <[http://www.uesp.gov.co/publicaciones.aspx?cat\\_id=32html](http://www.uesp.gov.co/publicaciones.aspx?cat_id=32html)>

VOUDRIAS, E.y REINHARD, M. ACS Symposium. New York: Series, 1986. 462 p.

YELAMOS, F.; DIEZ, F.; MARTIN, J.; BLANCO, J.; GARCIA, M.; LARDELLI, A. Y PEÑA, J. Intoxicaciones agudas por insecticidas organofosforados en la provincia de Almeria. Almeria: Med Clin (Barc), 1992. p. 683-684.

ZIEF, Morris y KISER, Ruthann. Solid Phase Extraction for Simple Preparation. New York: J.T. Baker, 1997. 54 p.

## ANEXOS

**Anexo A.** Cálculos de las concentraciones finales en la extracción en fase sólida de las dos mezclas de estándares.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

**Ecuación 9**

$C_1$  = Concentración inicial de las mezclas de estándares en la muestra de referencia de lixiviado.

$V_1$  = Volumen inicial de la muestra de referencia

$V_2$  = Volumen final (evaporado) de la muestra de referencia

$C_2$  = Concentración final = ?

**a)** Mezcla de 12 componentes.

$$C_1 = 0.3\text{ppm} \quad C_2 = \frac{0.3\text{ppm} * 10\text{ml}}{5.6\text{ml}} = 0.54\text{ppm}$$

$V_1 = 10\text{ml}$

$V_2$ (ml)	$C_2$ (ppm)
5.60	0.54
8.00	0.38
6.00	0.50

**b)** Mezcla de 6 componentes

$$C_1 = 1\text{ppm} \quad C_2 = \frac{1\text{ppm} * 10\text{ml}}{5.9\text{ml}} = 1.69\text{ppm}$$

$V_1 = 10\text{ml}$

$V_2$ (ml)	$C_2$ (ppm)
5.90	1.69
7.60	1.32
5.50	1.82

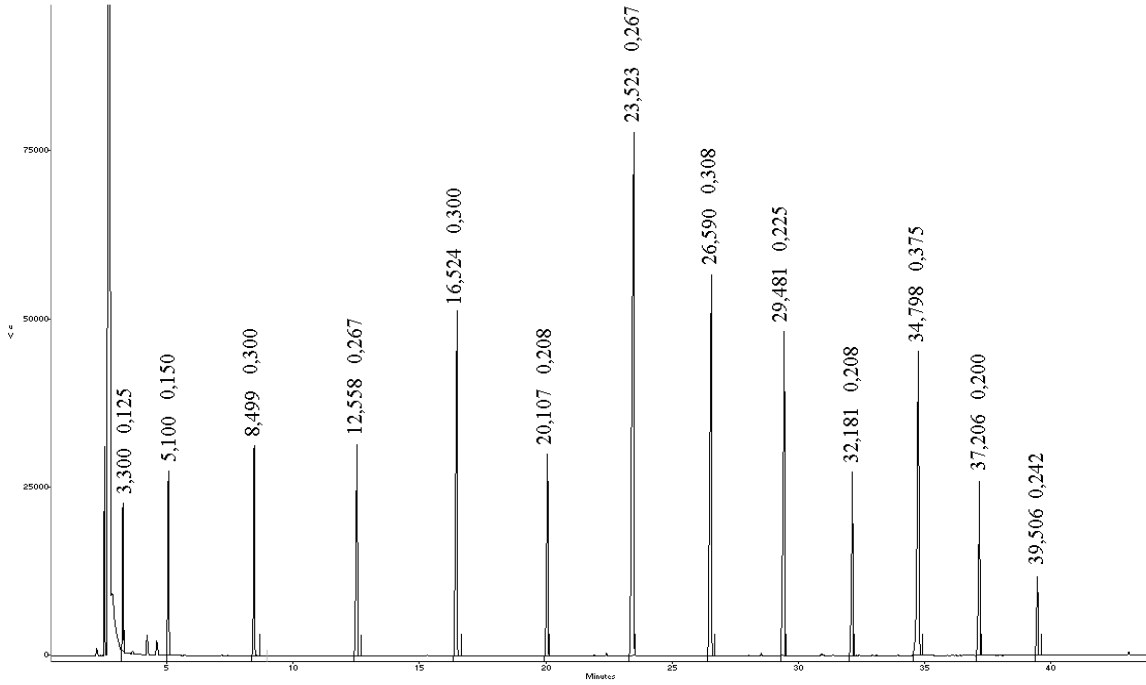
**Anexo B.** Relleno Sanitario. Vaso I (lixiviado viejo).



**Anexo C.** Relleno Sanitario. Ampliación del Vaso I (lixiviado nuevo).



Anexo D. Cromatograma de la mezcla de parafinas C<sub>6</sub> – C<sub>18</sub>



Anexo E. Tabla de parámetros estadísticos de la mezcla de 12 componentes

**Tiempos de retención**

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico	
	Diclorvos	Mevinfos	Diazinon	Metil Paratión	Fention	Clorpirifos	Tetra-clorvinfos	Protiofos	Fensulfotion	Sulprofos	Azinfos metil	Coumafos	
<b>5ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.54	29.15	30.14	31.70	33.21	34.63	36.02	37.34	38.64	39.91	41.31
	S	0.012	0.015	0.015	0.010	0	0.012	0.015	0.010	0.029	0.01	0.01	0.0058
	CV	0.044	0.053	0.052	0.033	0	0.035	0.044	0.028	0.056	0.026	0.025	0.014
	LC±	0.013	0.017	0.017	0.011	0	0.013	0.017	0.011	0.024	0.011	0.011	0.0065
<b>3ppm</b>	$\bar{x}$	26.32	28.54	29.14	30.15	31.70	33.20	34.64	36.01	37.35	38.64	39.92	41.30
	S	0.025	0.015	0.010	0.010	0.0058	0.010	0.021	0.010	0.020	0.015	0.010	0.010
	CV	0.096	0.054	0.034	0.033	0.018	0.030	0.060	0.028	0.054	0.040	0.025	0.024
	LC±	0.028	0.017	0.011	0.011	0.0065	0.011	0.024	0.011	0.023	0.017	0.011	0.011
<b>1ppm</b>	$\bar{x}$	26.30	28.55	29.15	30.16	31.71	33.20	34.63	36.01	37.35	38.63	39.91	41.28
	S	0	0	0.0058	0.0058	0	0.010	0.010	0.0058	0.010	0.010	0	0.0058
	CV	0	0	0.020	0.019	0	0.030	0.029	0.016	0.027	0.026	0	0.014
	LC±	0	0	0.0065	0.0065	0	0.011	0.011	0.0065	0.011	0.011	0	0.0065
<b>0.5 ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.56	29.16	30.18	31.73	33.21	34.65	36.03	37.36	38.65	39.93	41.30
	S	0	0	0	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0	0.0058	0.0058	0.0058
	CV	0	0	0	0.019	0.018	0.017	0.017	0.016	0	0.015	0.014	0.014
	LC±	0	0	0	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0	0.0065	0.0065	0.0065
<b>0.1 ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.54	29.14	30.16	31.71	33.20	34.63	36.01	37.34	38.62	39.90	41.26
	S	0.0058	0.0058	0.0058	0	0	0	0	0	0	0	0.0058	0.0058
	CV	0.021	0.020	0.020	0	0	0	0	0	0	0	0.015	0.014
	LC±	0.0065	0.0065	0.0065	0	0	0	0	0	0	0	0.0065	0.0065
<b>0.05 ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.56	29.15	30.16	31.71	33.21	34.64	36.02	37.35	38.64	39.91	41.28
	S	0	0.0058	0	0.0058	0.0058	0	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058
	CV	0	0.020	0	0.019	0.018	0	0.017	0.016	0.015	0.015	0.014	0.014
	LC±	0	0.0065	0	0.0065	0.0065	0	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065
<b>0.01 ppm</b>	$\bar{x}$	26.31	28.56	29.15	30.17	31.72	33.21	34.64	36.02	37.35	38.64	39.91	
	S	0	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	0.0058	
	CV	0	0.020	0.020	0.019	0.018	0	0.018	0.016	0.015	0.015	0.015	
	LC±	0	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	

## Areas

		1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
<b>5 ppm</b>	$\bar{x}$	3113.33	4189.67	2197.66	10351.33	13131.33	17302.67	15801.33	15499.67	10667.00	6799.67	4300.00	2300.67
	S	132.36	151.50	58.05	428.13	294.43	446.45	569.87	770.78	375.99	304.71	196.72	106.88
	CV	4.25	3.62	2.64	4.13	2.24	2.58	3.61	4.97	3.52	4.48	4.57	4.65
<b>3 ppm</b>	$\bar{x}$	4521.00	5602.67	3374.33	12634.67	15107.00	19231.67	18236.67	16815.00	14078.00	8754.67	6396.33	3445.67
	S	189.91	205.78	129.55	636.14	358.08	463.20	318.00	408.77	241.30	224.01	199.93	117.23
	CV	4.20	3.67	3.84	5.04	2.37	2.41	1.74	2.43	1.71	2.56	3.13	3.40
<b>1 ppm</b>	$\bar{x}$	2572.00	3282.33	1938.33	7330.67	9752.33	11041.33	10072.67	9178.33	7274.00	5371.33	3525.33	1706.00
	S	96.27	60.53	63.61	122.48	227.90	313.26	417.79	442.01	302.69	86.56	42.78	81.43
	CV	3.74	1.84	3.28	1.67	2.34	2.84	4.15	4.82	4.16	1.61	1.21	4.77
<b>0.5 ppm</b>	$\bar{x}$	2330.67	2405.67	1597.67	5367.00	5647.67	8196.00	6278.00	5272.33	4044.33	2697.00	1674.33	748.33
	S	26.27	119.93	66.89	180.00	241.14	233.09	325.72	97.16	159.10	86.07	65.01	18.15
	CV	1.13	4.99	4.19	3.35	4.27	2.84	5.19	1.84	3.93	3.19	3.88	2.43
<b>0.1 ppm</b>	$\bar{x}$	2022.67	1091.00	898.00	2749.67	3174.66	4152.00	4211.00	3278.33	2175.00	1838.67	1070.33	352.33
	S	29.26	34.39	45.51	108.13	153.32	182.61	135.97	171.57	54.99	44.05	33.26	17.62
	CV	1.44	3.15	5.07	3.93	4.83	4.40	3.23	5.23	2.53	2.40	3.11	4.99
<b>0.05 ppm</b>	$\bar{x}$	1931.00	1036.33	680.67	1977.33	3135.67	3735.67	3127.33	3108.67	1728.33	1577.67	1018.33	157.00
	S	83.07	36.91	22.12	72.53	122.08	113.44	156.05	144.76	50.00	55.41	26.08	7.94
	CV	4.30	3.56	3.25	3.67	3.89	3.04	4.99	4.66	2.89	3.51	2.56	5.06
<b>0.01 ppm</b>	$\bar{x}$	1533.67	210.67	389.67	549.67	822.33	1009.00	898.33	860.00	652.33	379.00	277.00	
	S	37.00	7.02	5.66	29.69	11.59	38.22	46.36	33.45	16.20	19.08	9.17	
	CV	2.41	3.33	1.46	5.40	1.41	3.79	5.16	3.89	2.48	5.03	3.31	

Anexo F. Tabla de parámetros estadísticos de la mezcla de 6 componentes

		1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico	
		TEPP		Monocrotofos		Dimetoato		Malatión		Paratión		EPN	
		t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area
<b>10 ppm</b>	$\bar{x}$	14.36	437.67	16.34	517.67	18.34	572.00	20.31	465.00	22.25	377.00	24.15	298.67
	S	0.0085	18.50	0.013	11.59	0.013	19.31	0.0098	22.11	0.0092	17.78	0.013	12.90
	CV	0.059	4.23	0.077	2.24	0.069	3.38	0.048	4.76	0.042	4.72	0.053	4.32
	LC±	0.0096		0.014		0.014		0.011		0.010		0.014	
<b>7 ppm</b>	$\bar{x}$	14.36	473.33	16.35	713.67	18.35	1014.66	20.33	893.67	22.27	858	24.16	712.67
	S	0.0085	21.50	0.0098	28.29	0.0085	31.94	0.0046	20.11	0.0085	3.605551	0.0098	26.95
	CV	0.079	4.54	0.060	3.96	0.046	3.15	0.023	2.25	0.038	0.42	0.042	3.78
	LC±	0.0096		0.011		0.0096		0.0052		0.0096		0.011	
<b>5 ppm</b>	$\bar{x}$	14.35	259.33	16.35	400.00	18.35	563.00	20.30	470.00	22.27	515.00	24.17	418.00
	S	0.013	3.06	0.0098	13.23	0.0095	25.36	0.057	19.08	0.0085	13.11	0.022	7.55
	CV	0.089	1.18	0.060	3.31	0.052	4.50	0.28	4.06	0.038	2.55	0.090	1.81
	LC±	0.014		0.011		0.011		0.065		0.0096		0.025	
<b>3 ppm</b>	$\bar{x}$	14.34	154.00	16.34	237.00	18.34	330.00	20.31	260.00	22.25	233.00	24.14	240.00
	S	0.0052	6.56	0.013	9.17	0.013	8.00	0.0090	11.53	0.0098	7.55	0.0092	10.54
	CV	0.036	4.26	0.078	3.87	0.069	2.42	0.044	4.44	0.044	3.24	0.038	4.39
	LC±	0.0059		0.014		0.014		0.010		0.011		0.010	
<b>1 ppm</b>	$\bar{x}$	14.34	66.33	16.34	128.00	18.33	122.00	20.30	126.00	22.24	125.00	24.14	123.00
	S	0.013	3.51	0.022	4.58	0.0046	1.00	0.0092	5.00	0.0085	5.57	0.0092	6.08
	CV	0.089	5.29	0.13	58	0.025	0.82	0.046	3.97	0.038	4.45	0.038	4.95
	LC±	0.014		0.025		0.0052		0.010		0.0096		0.010	
<b>0.5 ppm</b>	$\bar{x}$					18.35	57.67	20.32	30.6	22.26	27.00	24.16	61.00
	S					0.0038	2.52	0.0012	1.15	0.0017	1.00	0.0046	2.00
	CV					0.021	4.36	0.0057	3.77	0.0078	3.70	0.019	3.29
	LC±					0.0043		0.0013		0.0020		0.0052	

**Anexo G.** Tabla de repetividad de la mezcla de 12 componentes de la extracción en fase sólida

**Promedios de las concentraciones de 0.54ppm. 0.38ppm y 0.50ppm**

**Tiempos de retención**

1ª Sln Vol =5.6ml y concentración 0.54ppm

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
	<b>Diclorvos</b>	<b>Mevinfos</b>	<b>Diazinon</b>	<b>Metil Paratión</b>	<b>Fention</b>	<b>Clorpirifos</b>	<b>Tetraclorvinfos</b>	<b>Protiofos</b>	<b>Fensulfotión</b>	<b>Sulprofos</b>	<b>Azinfos metil</b>	<b>Coumafos</b>
$\bar{x}$	26.21	28.45	29.14	30.15	31.71	33.20	34.63	36.01	37.34	38.63	39.91	41.26
S	0.010	0.050	0.012	0.012	0	0	0	0.0058	0.0058	0.0058	0	0.0058
CV	0.038	0.18	0.040	0.038	0	0	0	0.016	0.015	0.015	0	0.014
LC±	0.011	0.057	0.013	0.013	0	0	0	0.0065	0.0065	0.0065	0	0.0065

2ª Sln Vol =8.0ml y concentración 0.38ppm

	<b>1 pico</b>	<b>2 pico</b>	<b>3 pico</b>	<b>4 pico</b>	<b>5 pico</b>	<b>6 pico</b>	<b>7 pico</b>	<b>8 pico</b>	<b>9 pico</b>	<b>10 pico</b>	<b>11 pico</b>	<b>12 pico</b>
$\bar{x}$	26.18	28.39	29.05	30.05	31.62	33.09	34.50	35.92	37.27	38.51	39.81	41.11
S	0.0058	0.015	0.035	0.032	0	0.010	0.020	0.060	0.053	0.015	0.015	0.020
CV	0.022	0.054	0.12	0.11	0	0.030	0.058	0.17	0.14	0.040	0.038	0.051
LC±	0.0065	0.017	0.040	0.036	0	0.011	0.023	0.068	0.060	0.017	0.017	0.057

3ª Sln. Vol =6.0ml y concentración 0.50ppm

	<b>1 pico</b>	<b>2 pico</b>	<b>3 pico</b>	<b>4 pico</b>	<b>5 pico</b>	<b>6 pico</b>	<b>7 pico</b>	<b>8 pico</b>	<b>9 pico</b>	<b>10 pico</b>	<b>11 pico</b>	<b>12 pico</b>
$\bar{x}$	26.14	28.45	29.06	30.06	31.64	33.09	34.50	35.94	37.26	38.62	39.91	41.24
S	0.010	0.050	0.026	0.035	0	0.035	0.026	0.035	0.026	0.026	0	0.036
CV	0.038	0.18	0.091	0.12	0	0.11	0.077	0.098	0.071	0.069	0	0.087
LC±	0.011	0.057	0.030	0.040	0	0.040	0.030	0.040	0.030	0.030	0	0.041

## Areas

### 1<sup>a</sup>sln

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	2081.70	1757.70	1200.30	3835.33	4893.70	6072.67	4534.00	4265.70	3740.70	2520.67	1534.70	590.66
S	29.40	88.94	26.03	76.70	233.33	212.89	102.50	140.36	186.55	107.92	41.19	12.50
CV	1.41	5.06	2.17	1.99	4.77	3.51	2.26	3.29	4.99	4.28	2.68	2.12

### 2<sup>a</sup>sln

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	1971.00	1553.00	1073.66	3441.00	4382.00	5382.33	4123.33	3840.67	3198.33	2246.00	1360.00	510.33
S	42.04	47.44	53.58	163.99	200.04	198.81	150.15	88.55	151.31	49.76	63.10	18.45
CV	2.13	3.06	4.99	4.77	4.57	3.69	3.64	2.31	4.73	2.22	4.64	3.61

### 3<sup>a</sup>sln

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	2033.67	1684.67	1157.00	3708.33	4710.33	5850.33	4348.33	4099.33	3553.00	2429.33	1481.00	561.67
S	56.75	31.00	47.03	113.74	191.48	172.53	157.42	185.81	62.75	48.79	68.64	26.50
CV	2.79	1.84	4.06	3.07	4.06	2.95	3.62	4.53	1.77	2.01	4.63	4.72

## Promedios de los porcentajes de recuperación

	1 pico	2 pico	3 pico	4 pico	5 pico	6 pico	7 pico	8 pico	9 pico	10 pico	11 pico	12 pico
$\bar{x}$	78.73	87.00	93.60	82.96	87.54	88.76	53.28	64.63	91.98	80.79	70.42	56.91
S	3.76	3.23	3.05	3.79	3.64	3.06	2.79	3.28	3.76	3.62	3.18	2.86
CV	4.78	3.71	3.26	4.56	4.16	3.45	5.23	5.07	4.09	4.48	4.52	5.03

**Anexo H.** Tabla de repetividad de la mezcla de 6 componentes de la extracción en fase sólida

**Promedios de las concentraciones de 1.69ppm, 1.32ppm y 1.82ppm respectivamente**

1<sup>a</sup> Sln. Vol =5.90ml y concentración 1.69ppm

	1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico	
	TEPP		Monocrotofos		Dimetoato		Malatión		Paratión		EPN	
	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area
$\bar{x}$	14.27	84.67	16.25	125.33	18.28	88.67	20.22	112.67	22.16	104.00	24.07	133.67
S	0.0090	4.04	0.0046	6.51	0.0053	3.51	0.0086	3.51	0.0082	5.00	0.0095	8.74
CV	0.063	4.77	0.028	5.19	0.029	3.96	0.043	3.12	0.037	4.81	0.040	5.00
LC±	0.010		0.0052		0.0060		0.0098		0.0093		0.011	

2<sup>a</sup> Sln. Vol =7.6ml y concentración 1.32ppm

	1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico	
	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area
$\bar{x}$	14.25	60.00	16.25	97.33	18.27	61.62	20.22	81.33	22.31	73.00	24.06	107.33
S	0.0082	2.00	0.0044	2.082	0.0052	3.00	0.0029	3.51	0.27	2.65	0.0029	5.033
CV	0.057	3.33	0.027	2.14	0.028	4.17	0.014	4.32	1.19	3.62	0.012	3.95
LC±	0.0093		0.0050		0.0059		0.0033		0.30		0.0032	

3<sup>a</sup> Sln. Vol =5.5ml y concentración 1.82ppm

	1 pico		2 pico		3 pico		4 pico		5 pico		6 pico	
	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area	t <sub>R</sub>	Area
$\bar{x}$	14.26	86.33	16.26	128.67	18.27	91.67	20.22	117.00	22.15	110.67	24.07	138.25
S	0.0017	4.04	0.0046	3.51	0.0085	3.51	0.011	5.57	0.0090	4.04	0.011	7.00
CV	0.012	4.69	0.028	2.73	0.047	3.83	0.053	4.76	0.041	3.65	0.044	3.85
LC±	0.0019		0.0052		0.0096		0.012		0.010		0.012	

### Promedios de los porcentajes de recuperación

	<b>1 pico</b>	<b>2 pico</b>	<b>3 pico</b>	<b>4 pico</b>	<b>5 pico</b>	<b>6 pico</b>
$\bar{x}$	100.07	93.76	55.81	77.67	74.63	84.60
S	3.49	4.62	2.24	3.12	2.02	3.10
CV	3.49	4.93	4.01	4.02	2.71	3.67