

DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y
CARBAMATOS EN AGUA PARA CONSUMO HUMANO DEL DEPARTAMENTO
DE NARIÑO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA
(HPLC-VWD)

FRANKLIN EDMUNDO QUENGUAN CUARAN
EDWIN GIOVANNY ERASO GUERRERO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2015

DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y
CARBAMATOS EN AGUA PARA CONSUMO HUMANO DEL DEPARTAMENTO
DE NARIÑO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA
(HPLC-VWD)

FRANKLIN EDMUNDO QUENGUAN CUARAN
EDWIN GIOVANNY ERASO GUERRERO

Trabajo de grado presentado al comité curricular y de investigaciones del
Departamento de Química como requisito parcial para optar al título de Químico

Director
DAVID ARTURO PERDOMO
Químico

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
SAN JUAN DE PASTO
2015

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado, son de responsabilidad exclusiva del autor.

Artículo 1^o del acuerdo No. 324 del 11 de octubre de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación:

DAVID ARTURO PERDOMO
Asesor

JUAN JOSE LOZADA CASTRO
Jurado

NELSON HURTADO GUTIERREZ
Jurado

San Juan de Pasto, 8 de Mayo de 2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la sabiduría y constancia para sacar adelante esta meta.

A nuestros padres, hermanos y demás familiares por su apoyo infinito.

Al Químico David Arturo Perdomo por la dirección del trabajo de grado, la orientación, paciencia, apoyo y constante motivación en el transcurso de esta investigación.

A la Química Farmacéutica Lucy Bravo por la asesoría, orientación y colaboración con todo el desarrollo de esta investigación en el laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño.

A la Doctora Elisabeth Trujillo, Directora del Instituto Departamental de Salud de Nariño por permitirnos formar parte de la Institución, por su atención, confianza y colaboración constante.

Al Coordinador técnico del Laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño Mario Alonso Ibarra Burbano por su apoyo y colaboración prestada durante la ejecución del proyecto.

A las auxiliares de laboratorio y demás trabajadores del Laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño, por su amistad y colaboración durante la ejecución del proyecto.

Al grupo de investigación de Estudios de Sistemas Contaminantes, LAC por sus asesorías y colaboración durante la ejecución del proyecto.

Al grupo de profesores del programa de Química por sus enseñanzas y a todos nuestros compañeros por su amistad incondicional.

Edwin G. Eraso G.
Franklin E. Quenguan C.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fué determinar la presencia de plaguicidas Organofosforados (Clorpirifos y Metamidofos) y Carbamatos (Carbofuran y Carbaril) en agua de consumo humano de los municipios de Gualmatán, Pupiales, Ipiales, Potosí y Tuquerres del Departamento de Nariño-Colombia. Estos municipios se caracterizan por estar dedicados a la agricultura y según SIVIGILA actualmente el uso inadecuado de estos plaguicidas está causando diversos problemas de intoxicación en la población humana. El estudio fue realizado durante cinco semanas continuas, entre enero y febrero de 2013. Las muestras de agua fueron sometidas a un proceso de extracción en fase sólida (SPE) y se analizó la presencia de residuos de plaguicidas mediante HPLC con detector de longitud de onda variable (HPLC-VWD). El método de extracción y análisis por HPLC-VWD cumplió con los criterios de validación analítica: linealidad (R^2 : 0,997-0,998), precisión (CV inter-día 0,27-2,25, CV intra-día 0,259-1,026), exactitud (porcentaje de recuperación > 80%, desviación estándar relativa 6,75-19,0%), límite de detección de $1 \times 10^{-5} \mu\text{g/mL}$ para Metamidofos y de $5 \times 10^{-5} \mu\text{g/mL}$ para Clorpirifos, Carbofuran y Carbaril, límite de cuantificación de $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ para Metamidofos y de $5 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ para Clorpirifos, Carbofuran y Carbaril. De las 50 muestras analizadas, en una muestra proveniente del municipio de Potosí, se detectó Metamidofos, y en una segunda muestra proveniente del municipio de Gualmatán, se detectó Carbaril. En ambos casos ninguno sobrepasa los límites máximos permitidos por la norma Colombiana para agua de consumo humano. Con el presente trabajo se implementó en el Laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño (IDSN) la metodología de análisis de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril en agua de consumo humano por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence of organophosphates pesticides (Clopyriphos and Metamidophos) and carbamate pesticides (Carbofurane and carbaryl) in drinking water from the municipalities from Gualmatan, Pupiales, Ipiales, Potosi y Tuquerres from Nariño Department, Colombia. These municipalities are characterized by being devoted to agriculture and according SIVIGILA currently the inappropriate use of these pesticides is causing various problems of toxicity in the human population. The study was conducted for five consecutive weeks between January and February 2013. The water samples were subjected to a process of solid phase extraction (SPE) and the presence of pesticide residues was analyzed by HPLC with detector with variable wavelength (HPLC-VWD) The method of extraction and analysis by HPLC-VWD met the criteria for analytical validation. linearity (R^2 : 0,997-0,998), precision (CV interday 0,27-0,25, CV intraday 0,259-1,026), exactness (percent recovery > 80%, relative standard deviation 6,75-19,0%), detection limit of 1×10^{-5} $\mu\text{g/mL}$ of Metamidophos; and 5×10^{-5} of chlorpyrifos, carbofuran and Carbaryl. Of the 50 samples analyzed, in a sample from municipiliti de Potosi, was detected Methamidophos, and in a second sample from the municipality of Gualmatan was detected Carbaryl, In both cases none exceeds the maximum limits allowed by the Colombian standard for drinking water With the present work was implemented in the Laboratory of Public Health Department of Health in Nariño (IDSN) analysis methodology of Clorpyriphos, Metamidophos, Carbofurane and Carbaryl. in drinking water by Liquid Chromatography High Efficiency.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	19
1. OBJETIVOS	22
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2. MARCO TEORICO.....	23
2.1 PLAGUICIDAS.....	23
2.2 CLASIFICACION DE LOS PLAGUICIDAS	23
2.2.1 SEGUN SU FUNCION	23
2.2.2 SEGÚN EL TIEMPO DE VIDA MEDIA.....	24
2.2.3 SEGÚN SU TOXICIDAD.....	24
2.2.4 SEGÚN LA FAMILIA QUÍMICA.....	24
2.2.4.1 Organoclorados.....	24
2.2.4.2 Organofosforados.....	26
2.2.4.3 Carbamatos.....	28
2.3 TOXICIDAD DE LOS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS.....	29
2.3.1 MECANISMOS DE ACCIÓN Y EFECTOS SOBRE LA SALUD.....	30
2.3.2 TOXICIDAD CRONICA.....	31
2.4 INTOXICACION POR PLAGUICIDAS EN COLOMBIA	31
2.5 IMPACTO AMBIENTAL.....	33
2.6 PRODUCCION DE PLAGUICIDAS EN COLOMBIA	37
2.7 LEGISLACIÓN SOBRE LA PRESENCIA DE PLAGUICIDAS EN EL AMBIENTE ..	37
2.8 DETERMINACION DE LOS MUNICIPIOS Y PLAGUICIDAS DE ESTUDIO.....	38
2.9 ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN AGUA.....	39
2.10 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA – METODOS DE EXTRACCION.....	39
2.10.1 EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO (LLE).....	39
2.10.2 EXTRACCIÓN EN FASE SOLIDA (SPE).....	40
2.11 TÉCNICAS ANALÍTICAS USADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS.....	41
2.11.1 CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC).....	41

2.12 VALIDACION DEL MÉTODO ANALÍTICO.....	42
2.12.1 PRECISIÓN.....	42
2.12.2 REPETIBILIDAD	43
2.12.3 REPRODUCIBILIDAD.....	43
2.12.4 EXACTITUD.....	43
2.12.5 LINEALIDAD.....	43
2.12.6 SENSIBILIDAD.....	44
2.12.7 LÍMITE DE DETECCIÓN (LD).....	44
2.12.8 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LC).....	44
-3. PARTE EXPERIMENTAL.....	45
3.1 MATERIALES Y REACTIVOS.....	45
3.1.1 MATERIAL DE LABORATORIO.....	45
3.1.2 REACTIVOS Y SOLVENTES.....	46
3.1.3 MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS.....	46
3.1.4 SOLUCIONES	46
3.1.4.1 Soluciones patrón.....	46
3.1.4.2 soluciones de trabajo	46
3.2 DETERMINACION DE LAS CONDICIONES CROMATOGRAFICAS.....	46
3.2.1 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CLORPIRIFOS	47
3.2.1.1 Diseño experimental.....	47
3.2.2 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE METAMIDOFOS.....	49
3.2.2.1 Diseño experimental.....	49
3.2.3 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CARBOFURAN Y CARBARIL.....	49
3.3 EXTRACCION DE LOS PLAGUICIDAS DE ESTUDIO	50
3.3.1 EVALUACION DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO (ELL).....	50
3.3.2 EVALUACION DE LA EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE).....	52
3.3.3 COMPARACION DE LAS TECNICAS DE EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y EXTRACCION EN FASE SOLIDA.....	54
3.4 ESTANDARIZACION DE LA TECNICA HPLC/VWD	55

3.4.1 LINEALIDAD	55
3.4.2 PRECISIÓN	55
3.4.3 REPETIBILIDAD	55
3.4.4 REPRODUCIBILIDAD	55
3.4.5 EXACTITUD/ PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN	55
3.4.7 SELECTIVIDAD.....	56
3.5 ANALISIS DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO DE LOS MUNICIPIOS DE GUALMATAN, PUIPALES, IPIALES, POTOSI, Y TUQUERRES.	56
3.5.1 DETERMINACION DEL PUNTO DE MUESTREO.....	56
3.5.2 FRECUENCIA PARA TOMA DE MUESTRAS	57
3.5.3 DESCRIPCION DEL PUNTO DE MUESTREO	57
3.5.4 TIPO DE MUESTRA Y METODO DE MUESTREO	58
3,5,5 CONTROL Y VIGILANCIA DEL MUESTREO, PREPARACIÓN Y ANALISIS ...	58
3.5.5.1 Etiquetas.	58
3.5.5.2 Formato Captura de Datos para Campo.....	58
3.5.5.3 Entrega de las Muestras al Laboratorio	58
3.5.6 EQUIPOS Y MATERIALES	58
3.5.7 NATURALEZA Y LIMPIEZA DE LOS RECIPIENTES PARA LAS MUESTRAS	58
3.5.8 CONTROL CON REPLICAS	59
3.5.9 MUESTREO.....	59
3.5.10 ANALISIS DE MUESTRAS	59
4. RESULTADOS Y ANALISIS	61
4.1 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CLORPIRIFOS Y METAMIDOFOS.....	61
4.1.1 ANALISIS DE VARIANZA.....	61
4.2 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CARBOFURAN Y CARBARIL	64
4.3 EVALUACION DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO.....	70
4.3.1 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA POLARIDAD DEL SOLVENTE SOBRE LA EFICIENCIA DE LA EXTRACCIÓN	70

4.3.2 ESTUDIO DEL EFECTO DEL LA CONCENTRACION DEL EXTRACTO SOBRE LA EFICIENCIA DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO	71
4.3.3 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICION DE SAL SOBRE LA EFICIENCIA DE LA EXTRACCION	72
4.4 EVALUACION DEL METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA.....	73
4.5 COMPARACION DE LA TECNICA DE EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y EXTRACCION EN FASE SOLIDA EN EL AISLAMIENTO DE LOS PLAGUICIDAS DE MUESTRAS DE AGUA.	73
4.6 MONTAJE Y ESTANDARIZACION DE LA TECNICA HPLC/WAD.....	75
4.6.1 LINEALIDAD	75
4.6.3 PRECISIÓN	77
4.4.3.1 intervalos de confianza para tiempos de retención de los plaguicidas de estudio.....	77
4.6.3.2 Evaluación de la repetibilidad del método para áreas y tiempos de retención	78
4.6.3.4 Evaluación de la reproducibilidad del método para áreas y tiempos de retención entre días y entre analistas	80
4.6.4 EXACTITUD.....	81
4.6.4.1 Porcentajes de recuperación	81
4.6.4.2 Desviación absoluta o error relativo.....	82
4.6.5 SELECTIVIDAD.....	83
4.7 ANALISIS DE MUESTRAS.....	88
4.7.1 TOMA Y CONSERVACION DE MUESTRAS.....	88
4.7.2 ANALISIS DE MUESTRAS.....	88
4.7.3 DETERMINACION DE PLAGUICIDAS.....	90
CONCLUSIONES.....	92
RECOMENDACIONES	93
BIBLIOGRAFIA.....	94
ANEXOS.....	99

ABREVIATURAS

AChe	Acetilcolinesterasa
ACN	Acetonitrilo
ANOVA	ANalysis Of VAriance
BPL	Buenas Practicas de Laboratorio
CAS	Chemical Abstracts Service
CV	Coefficiente de Variación
°C	Grados Centigrados
C18	Octadecil
DAD	Detector de Longitud de Onda Variable
DL ₅₀	Dosis Letal 50
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
ELL	Extracción Líquido Líquido
EPA	<i>Environmetal Protection Agency</i> (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos).
EPTC	S-Etil Dipropiltiocarbamato
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
GC	Cromatografía de Gases
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia)
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
IDSN	Instituto Departamental de Salud de Nariño
INS	Instituto Nacional de Salud
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
Kow	Octanol-Water Partition Coefficient (Coeficiente de Partción Agua Octanol)
LD	Límite de Detección
LC	Límite de Cuantificación
LPS	Laboratorio de Salud Pública
LMP	Límite Máximo Permitido
mPa	Milipascales
mm	Milímetros
mAU*s	Miliunidades de absorbancia
nm	Nanómetros
N.D.	No detectable
NOEL	Nivel de Efecto no Observable
NTU	Unidades Nefelométricas de Turbidez
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas
OIT	Organización Internacional del Trabajo
PCBS	Bifenilos Policlorados

PTFE	Politetrafluoroetileno
r	Coeficiente de correlación
r ²	Coeficiente de determinación
RP-C ₁₈	Fase Reversa C18
RSD	Desviación Estándar Relativa
SIVIGILA	Sistema Nacional de Vigilancia
S	Desviación Estandar
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Extracción en Fase Solida)
SPME	Micro extracción en Fase Solida
TCP	3,5,6-tricloro-2-piridinol
TMP	3,5,6-trichloro-2-metoxipiridina
t _R	Tiempo de retención
USP	Convención de la Farmacopea de Estados Unidos
UE	Unión Europea
UPtCo	unidades de platino cobalto
VEO	Vigilancia Epidemiológica de Organofosforados y Carbamatos
V _{inj}	Volumen de inyección
VWD	Detector de Longitud de Onda Variable
\bar{X}	Media Aritmética
XAD-2	Resina Amberlita
µm	Micrómetros
µg/mL	Miligramo sobre litro

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Clasificación de plaguicidas de acuerdo a su función.....	23
Tabla N° 2: Clasificación de los plaguicidas según categoría toxicología.	24
Tabla N° 3: Clasificación de los organofosforados	26
Tabla N° 4: Principales plaguicidas organofosforados ²¹	27
Tabla N° 5: Principales plaguicidas N-metilcarbamatos, tiocarbamatos y ditiocarbamatos	29
Tabla N° 6: Reporte de los cuatro casos graves de intoxicación masiva con plaguicidas ocurridos en Colombia.	32
Tabla N° 7: municipios con mayor número de casos de intoxicación por plaguicidas en el año 2003	32
Tabla N° 8: número de casos de intoxicación por plaguicidas en Colombia entre los años 2006 y 2012	32
Tabla N° 9: Propiedades físicas y químicas de algunos plaguicidas organofosforados y carbamatos.....	35
Tabla N° 10: características generales de los plaguicidas de estudio del presente trabajo (Centro Nacional de Información de Pesticidas).....	36
Tabla N° 11: Concentración máxima admisible para plaguicidas individuales y totales en agua potable, según Resolución 2115 de 2007	38
Tabla N° 12: Especificaciones del material de referencia certificado.....	46
Tabla N° 13: Variables a tener en cuenta en el diseño experimental.....	48
Tabla N° 14 Estudios consultados para la determinación de las mejores condiciones Cromatográficas para el análisis de Clorpirifos y Metamidofos por HPLC-VWD.....	48
Tabla N° 15: Estudios consultados para determinar las condiciones cromatográficas para el análisis de Carbofuran y Carbaril por HPLC-VWD.....	49
Tabla N° 16 condiciones cromatográficas utilizadas en los ensayos	50
Tabla N° 17 Solventes empleados en la Extracción Líquido-Líquido	51
Tabla N° 18: Condiciones Cromatográficas para el análisis de Clorpirifos y Metamidofos por HPLC-VWD.	52
Tabla N° 19: Condiciones Cromatográficas para el análisis de Carbofuran y Carbaril por HPLC-VWD.	52

Tabla N° 20: puntos de muestreo para cada uno de los municipios de estudio	57
Tabla N° 21: Evaluación de extracción líquido-líquido y extracción en fase solida.....	74
Tabla N° 22: Porcentaje de recuperación obtenido por extracción líquido-líquido.....	74
Tabla N° 23: Porcentaje de recuperación obtenidos por SPE.....	74
Tabla N° 24: valores de la ecuación de la curva de calibración para cada plaguicida	75
Tabla N° 25: valores de la prueba estadística t.	77
Tabla N° 26: Intervalos de confianza del 98,0% para tiempo de retención (n =42)	77
Tabla N° 27: Repetibilidad para áreas.....	78
Tabla N° 28: Repetibilidad para t_R	78
Tabla N° 29: Reproducibilidad del método para áreas entre días (2 µg/mL)	79
Tabla N° 30: Reproducibilidad del método para tiempos de retención entre días (2 µg/mL)	79
Tabla N° 31: Reproducibilidad del método para áreas entre días y entre analistas	80
Tabla N° 32: Reproducibilidad del método para tiempos de retención entre días y entre analistas (2 µg/mL)	80
Tabla N° 33: Porcentaje de recuperación	81
Tabla N° 34: Desviación Absoluta o error relativo	82
Tabla N° 35: límite de detección y de cuantificación para el método	82
Tabla N° 36: Comparación del límite de detección y de cuantificación con el límite máximo permitido (LMP)	83
Tabla N° 37: Niveles (µg/mL) de plaguicidas detectados en cada uno de los puntos analizados en los municipios de Gualmatán, Pupiales, Ipiales, Potosí y Tuquerres del Departamento de Nariño, Colombia N = 50, tomadas durante 5 semanas, entre enero y febrero de 2013.	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Estructura general de los compuestos organoclorados: A Ciclodienos y B. Diclorofeniletanos.....	25
Figura N° 2: A. Estructura del ácido fosfórico, B. Estructura genérica de los compuestos organofosforados, C. Estructura del malation.	26
Figura N° 3: Estructura general de oxones y tiones.....	27
Figura N° 4: A) Estructura general de un carbamato. B) Estructura del insecticida Carbaril.	28
Figura N° 5: Estructura general de: A. Tiocarbamatos y B. Ditiocarbamatos.	29
Figura N° 6: Índice de intoxicaciones por plaguicidas en el departamento de Nariño entre los años 2010-2012	33
Figura N° 7: Posibles mecanismos de transporte y transformación de plaguicidas en el ambiente	34
Figura N° 8: sistema de cromatografía líquido de alta eficiencia.....	42
Figura N° 9: Cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent 1200	47
Figura N° 10: Procedimiento de extracción líquido-líquido.....	51
Figura N° 11: Extracción de plaguicidas mediante SPE.....	54
Figura N° 12 cajillas de izquierda a derecha: cajilla municipio de Potosí, toma de muestra Potosí, cajilla municipio de Pupiales	57
Figura N° 13 Ilustración general de las etapas llevadas a cabo en el análisis de muestras de agua, realizada por Franklin Quenguan y Giovanni Eraso (Autores de la investigación)	60
Figura N° 14: Diagramas de Pareto de efectos para Clorpirifos.	61
Figura N° 15: Efectos principales de interacción de fase móvil, flujo y longitud de onda, en el análisis de Clorpirifos por HPLC-VWD.	62
Figura N° 16: Cromatograma, Clorpirifos (t_R : 9,093min), HPLC-VWD. λ 200nm.	63
Figura N° 17: Cromatograma, Metamidofos (t_R : 4,471min), HPLC-VWD. λ 200nm.....	63
Figura N° 18 barrido de exploración del Carbofuran desde 190nm a 450nm. En un HPLC-DAD.....	64
Figura N° 19 cromatograma inyección isocrática del Carbofuran en HPLC-DAD.....	65
Figura N° 20 cromatograma inyección isocrática del Carbaril en HPLC-DAD.....	65

Figura N° 21 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril (1:1) en HPLC-DAD	66
Figura N° 22 Cromatograma inyección isocrática de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:1 en HPLC-DAD	66
Figura N° 23 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2, con fase móvil ACN/H ₂ O 60:40 por HPLC-DAD	67
Figura N° 24 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2, con fase móvil ACN/H ₂ O 40:60 por HPLC-DAD	67
Figura N° 25 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2 a un flujo de 1 mL/min.	68
Figura N° 26 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2 a un flujo de 1,2 mL/min.	68
Figura N° 27: Cromatograma para mezcla Carbofuran y Carbaril (t _R : 6,44min y 7,26min respectivamente), HPLC-VWD. λ 200nm.....	69
Figura N° 28: efecto de la polaridad del solvente en la extracción liquido-liquido sobre la eficiencia de extracción de los plaguicidas.....	70
Figura N° 29: Efecto de diferentes mezclas de diclorometano-acetato de etilo en la extracción liquido-liquido.....	71
Figura N° 30: efecto de la concentración del extracto sobre la eficiencia de la extracción liquido-liquido	72
Figura N° 31: efecto de la adición de sal sobre la eficiencia de extracción liquido-liquido	72
Figura N° 32 Extracción en fase solida de los plaguicidas de estudio	73
Figura N° 33: Curvas de calibración para Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril.	76
Figura N° 34: Cromatogramas, para evaluar la selectividad de cada uno de los plaguicidas	84
Figura N° 35 Relación de pendientes entre estándares y muestras.....	88
Figura N° 36: Cromatograma para la muestra de agua proveniente del municipio de Potosí, Metamidofos. HPLC-VWD. λ 200nm	90
Figura N° 37: Cromatograma para la muestra de agua proveniente del municipio de Gualmatán, Carbaril. HPLC-VWD. λ 200nm.....	91

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A. DEFINICIONES	99
ANEXO B. DATOS ESTADISTICOS	103
ANEXO C. DATOS ESTANDARIZACION	110
ANEXO D. PUNTOS DE TOMA DE MUESTRA	113
ANEXO E. ANALISIS FISICOQUIMICOS	115
ANEXO F. INTOXICACIONES EN NARIÑO POR PLAGUICIDAS.....	117
ANEXO G. CROMATOGRAMAS	121
ANEXO H. CONTROL Y VIGILANCIA DE MUESTREO	128

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son productos químicos tóxicos utilizados en la agricultura para prevenir, destruir, controlar o mitigar cualquier tipo de plaga que afecte el desarrollo y la productividad de los cultivos¹.

En Colombia la agricultura constituye uno de los principales rubros de ingreso, ocupa aproximadamente el 40% de la fuerza laboral y representa el 50% de las divisas del país². Esta dependencia hacia la agricultura ha hecho que el uso intensivo de plaguicidas creciera enormemente. En el año 2012 en Colombia se registraron 750 plaguicidas químicos comerciales, formulados con base en 269 ingredientes activos, donde los organofosforados y carbamatos representaron más del 80% de los insecticidas comercializados³.

El uso de plaguicidas por el sector agrícola, si bien ha generado una mejor productividad y rendimiento en los cultivos; La inadecuada utilización de plaguicidas, la falta de medidas preventivas y de protección, almacenamiento inadecuado, reutilización de envases y fumigaciones aéreas también ha generado diversos tipos de contaminación en suelos, agua, alimentos y en especial un serio problema para la salud del ser humano así como en la vida silvestre, debido a su naturaleza toxica, cancerígena, mutagénica y teratogénica⁴.

La contaminación de agua generada por el uso de plaguicidas en el sector agrícola es una de las problemáticas más comunes y preocupantes hoy en día, principalmente porque es un recurso de consumo vital para los seres vivos, y de su calidad depende el buen funcionamiento de estos organismos, incluido el ser humano⁵.

Se ha calculado que más del 80% de todas las enfermedades en el mundo están relacionadas con el consumo de agua no potable o de mala calidad⁶. Por otro lado los plaguicidas causan aproximadamente el 80% de las intoxicaciones en el mundo, causando cerca de 3 millones de intoxicaciones al año y cerca de 200.000 muertes; Estas intoxicaciones son más frecuentes en niños, agricultores y

¹ CERVANTES, MORANT, Rafael. Plaguicidas en Bolivia sus implicaciones en la salud agricultura y medio ambiente. En: *Revista Virtual REDESMA*, Abril, 2010, vol. 4, n.1, pp. 27-38.

² URIVE, VARONA Marcela et al. Determinación de la exposición a glifosato y otros plaguicidas. En: *Revista Biomédica*, Julio-Septiembre, 2009, vol. 29 No. 3, p. 456-475.

³ NIVIA, Elsa. *Mujeres y Plaguicidas*. 1 ed. Rapal. Rionegro (Antioquia), Colombia. 2010, 51 p.

⁴ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. *vigilancia y control en salud pública: Protocolo de vigilancia y control de intoxicaciones por plaguicidas*, Bogota, D.C. 2010

⁵ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Guías para la calidad del agua potable*. primer apéndice. Tercera edición. Vol 1. 2006

⁶ MARTINES, Rodolfo. *Relación entre el suministro de agua para consumo humano y enfermedades diarreicas. estado amazonas, años 2.000-2.009. Trabajo de grado Magíster Scientiarum en Evaluación de Impacto en Salud y Ambiente*. Universidad Central de Venezuela. Centro de estudios del desarrollo. caracas, Marzo 2012. 141 p

trabajadores de manufactura (floricultura, ganaderos y fumigadores)⁷. A partir del año 2003 en Colombia el número de casos reportados por intoxicaciones por plaguicidas ha venido aumentando, donde los departamentos con mayor número de casos en su orden son Nariño, Huila, Meta y Caldas, siendo las edades más afectadas entre los 15 y 45 años. Según el Sistema Nacional de Vigilancia (SIVIGILA), en el año 2009 en Colombia se reportaron 7011 intoxicaciones por plaguicidas, de las cuales 432 se notificaron en Nariño⁷. De igual manera en el año 2011 y 2012 en Nariño se reportaron 837 y 711 casos de intoxicaciones por plaguicidas respectivamente, siendo los insecticidas los principalmente implicados⁸.

En Nariño la presencia inevitable de plaguicidas en el sector agrícola, su manipulación y uso inadecuado, como lo establece el estudio realizado en el año 2007 por la Universidad de Nariño⁹, más las constantes intoxicaciones en la población humana durante los últimos años, antes mencionadas, ha llevado a que entidades comprometidas con la salud y bienestar de las personas, como el Instituto Departamental de Salud de Nariño, adelante mecanismos de control y monitoreo de plaguicidas, como el programa VEO y el sistema SIVIGILA, promoviendo con esto la necesidad de ampliar nuevos estudios encaminados al sector agrícola, la cultura de la gente, el tipo, uso de plaguicidas y el análisis y monitoreo de estos en fuentes tan vitales como los alimentos y el agua de consumo humano.

Debido a la complejidad de los plaguicidas, las condiciones físicas, químicas, ambientales del entorno y su presencia en la naturaleza a niveles de trazas, La determinación de estos, actualmente requiere de procesos analíticos altamente sensibles y específicos, capaces de reportar de manera confiable valores de concentraciones a niveles de ppb. Por otro lado la resolución 2115 de 2007, emanada del ministerio de salud, establece que los niveles máximos permitidos para plaguicidas en agua de consumo humano son $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ para Metamidofos y $1 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$ para Clorpirifos, Carbofuran y Carbaril¹⁰.

Entre las metodologías más adecuadas para determinar residuos de plaguicidas, aun en bajas concentraciones; están la cromatografía líquida de alta resolución

⁷ RODRIGUEZ, Mario A. et al. Intoxicacion por Organofosforados con necesidad de altas dosis de atropina y administración tardía de oximas. En: Revista Med Unab, Abril, 2010, vol. 13, No 1, p. 44-50.

⁸ MAJIN, D. Lady Jhoana. Caracterización epidemiológica de las intoxicaciones por plaguicidas en Colombia 2011-2012. En: IQUEN, noviembre, 2013, vol. 20, No 18, p. 243-258.

⁹ LOPEZ, Oscar. BOTINA, Maria Ximena, JURADO, Mario Andres. Diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en fincas hortícolas del corregimiento de Gualmatán, municipio de Pasto. Trabajo de grado. Especialista en ecología y gestión ambiental. San Juan de Pasto. Universidad de Nariño. 2007. 86 p.

¹⁰ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial. Resolución Número 2115 (22 Jun 2007). 23 p.

(HPLC) que en conjunto a un adecuado método de extracción, como la extracción en fase sólida (SPE), resulta ser bastante efectiva¹¹

Con el presente trabajo de investigación se logró consolidar dos etapas importantes, una primera que comprende la implementación del método de extracción en fase sólida y el análisis de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) utilizando un detector de longitud de onda variable (VWD) y una segunda el monitoreo de estos plaguicidas en agua de consumo humano en los municipios de Gualmatán Pupiales, Ipiales Potosí y Tuquerres del Departamento de Nariño, utilizando la metodología mencionada. El proyecto está inscrito en el grupo de investigación de Estudio de Sistemas contaminantes del programa de química de la Universidad de Nariño y se desarrolló en convenio con el Laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño.

¹¹ CHAVES, C. cristian. Determinación por HPLC de residuos de insecticida órganofosforado (Methamidophos) en tomates comercializados en Lima-Perú. Trabajo de grado. Química farmacéutica, Universidad Nacional Mayor San Carlos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de química farmaceutica. 2010. 88 p.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los plaguicidas Organofosforados (Clorpirifos, metamidofos) y Carbamatos (Carbofuran y Carbaril) presentes en agua de consumo humano en 5 municipios del Departamento de Nariño (Gualmatán, Pupiales, Ipiales, Potosí y Tuquerres) mediante cromatografía líquida de alta eficiencia.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Estandarizar la metodología de extracción en fase sólida y cromatografía líquida de alta eficiencia para la determinación de plaguicidas Organofosforados (Clorpirifos y Metamidofos) y Carbamatos (Carbofuran y Carbaril) en agua de consumo humano.
- ❖ Implementar en el laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño la metodología de extracción en fase sólida y cromatografía líquida de alta eficiencia para la determinación de plaguicidas Organofosforados (Clorpirifos y Metamidofos) y Carbamatos (Carbofuran y Carbaril) en agua de consumo humano.
- ❖ Determinar el contenido de plaguicidas Organofosforados (Clorpirifos, Metamidofos) y Carbamatos (Carbofuran y Carbaril) en agua de consumo humano de los municipios de: Ipiales, Pupiales, Tuquerres, Gualmatán y Potosí del Departamento de Nariño.

2. MARCO TEORICO

2.1 PLAGUICIDAS

Según el *Codex Alimentarius* (comisión creada en 1963 por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, y la Organización Mundial de la Salud, OMS, ambas pertenecientes a la ONU), se define plaguicida o pesticida como “*cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier plaga de los cultivos, incluidos los vectores de enfermedades humanas o de animales y las especies no deseadas en plantas o animales que causen perjuicio o interfieran de cualquier forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, productos de la madera o alimentos para animales, o aquellos que puedan administrarse a los animales para combatir ectoparásitos*”. En esta definición quedan incluidas también las sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas, los defoliantes y los desecantes. Los productos fertilizantes, aditivos alimentarios, fármacos y nutrientes de origen vegetal o animal quedan excluidos¹².

2.2 CLASIFICACION DE LOS PLAGUICIDAS

2.2.1 SEGUN SU FUNCION

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica (EPA) de acuerdo a la función del plaguicida destaca las categorías que se muestran en la tabla N° 1.

Tabla N° 1: Clasificación de plaguicidas de acuerdo a su función¹³.

CATEGORÍA	Función
<i>Algicidas</i>	Tratamiento de algas en lagos, canales, albercas, tanques de agua entre otros.
<i>Antimicrobianos</i>	Tratamiento de microorganismos (como bacterias y virus).
<i>Fungicidas</i>	Tratamiento de hongos.
<i>Herbicidas</i>	Tratamiento de malezas y otras plantas indeseables en cultivos.
<i>Insecticidas</i>	Tratamiento de insectos y artrópodos.
<i>Rodenticidas</i>	Tratamiento de ratones y otros roedores.

¹² PEREZ, R. María Lidia. Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios. Trabajo de grado doctorado ciencias y tecnologías. España. Universidad de la Laguna, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. 2009. 265 p.

¹³ MARTINEZ, V. Carmen. et al. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. En: Rev. Int. Contam. Ambient. 2007, vol.23, n.4, pp. 185-200.

2.2.2 SEGÚN EL TIEMPO DE VIDA MEDIA.

Según el tiempo de vida media los plaguicidas se clasifican en permanentes (vida media indefinida), persistentes (de 2 a 20 años), moderadamente persistentes (de 1 a 24 meses) y no persistentes, con una vida media de días hasta 4 semanas¹⁴.

2.2.3 SEGÚN SU TOXICIDAD.

La clasificación según la toxicidad se realiza con base en la dosis que provoca mortalidad en un grupo seleccionado de animales de experimentación (DL50); para el caso de los plaguicidas las pruebas se hacen en ratas. La clasificación de la toxicidad se presenta en la tabla N° 2.

Tabla N° 2: Clasificación de los plaguicidas según categoría toxicología¹⁵.

<i>Categoría antigua vigente</i>	<i>Definición antigua vigente</i>	<i>Categoría nueva- norma andina</i>	<i>Definición nueva- norma andina</i>	<i>Dosis letal 50 (oral agua en ratas)</i>
I	Extremadamente tóxicos	I A	Extremadamente peligroso	0-5 mg/kg
II	Altamente tóxicos	I B	Altamente peligroso	5-50 mg/kg
III	Medianamente tóxicos	II	Medianamente peligroso	50-500 mg/kg
IV	Ligeramente tóxicos	III	Ligeramente peligroso	Mayor de 500 mg/kg

2.2.4 SEGÚN LA FAMILIA QUÍMICA.

En la actualidad con el gran desarrollo de la industria agroquímica, existe un considerable número de familias químicas de plaguicidas, entre las cuales se destacan los Organoclorados, Organofosforados y Carbamatos¹⁵.

2.2.4.1 Organoclorados

Los compuestos organoclorados se caracterizan por poseer uno o más átomos de cloro alrededor de uno o más anillos hidrocarbonados. En la figura N° 1, se presenta la estructura química algunos como el Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT) y el clordano¹⁶. Se utilizaron ampliamente desde 1940 a 1960 para erradicar plagas en los cultivos y en programas de control de la malaria.

¹⁴ PEREZ, R. María Lidia. Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios. Trabajo de grado doctorado ciencias y tecnologías. España. Universidad de la Laguna, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. 2009. 265 p.

¹⁵ FERNANDEZ, A. Daniel G. et al. Intoxicación por Organofosforados. En: Rev. fac. med, vol. 18, No. 1, Enero-junio, 2010, p. 84-92.

¹⁶ SANCHEZ, Martin. et al. Los plaguicidas Adsorción y Evolución en el suelo. Instituto de recursos naturales y agrobiología. Edición Electronica CeresNet. 1 Edición. 1984. 51 p.

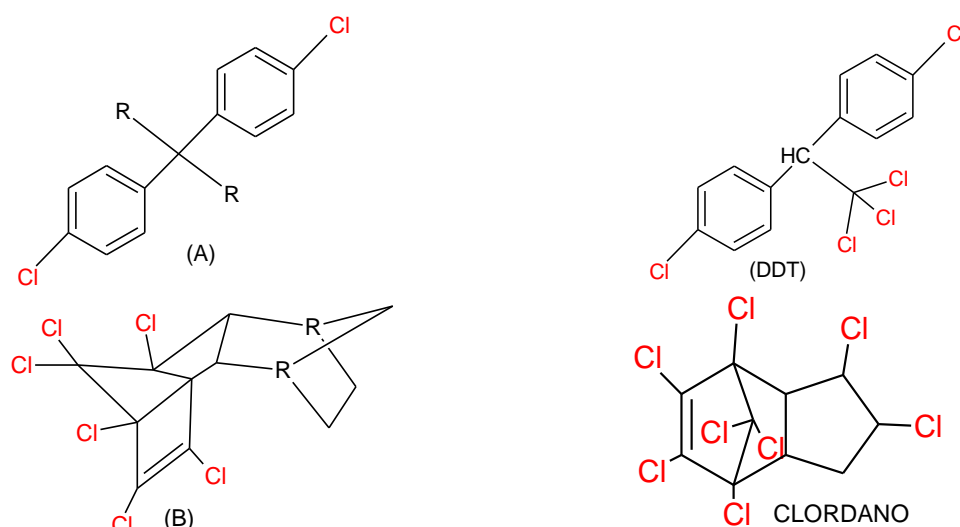


Figura N° 1: Estructura general de los compuestos organoclorados: A Ciclodienos y B. Diclorofeniletenos

Los Organoclorados pueden permanecer en el ambiente, sin ser destruidos, por años, su vida media en el suelo varía de 2 a 10 años, aunque se han encontrado residuos después de un periodo de 30 años¹⁷, ya que se enlazan fuertemente a las partículas del suelo, son insolubles en agua y resisten la degradación biológica. Además, su alta lipofilidad favorece su bioacumulación en cada uno de los eslabones de la cadena alimenticia¹⁸.

Los Organoclorados son estimulantes del sistema nervioso central, donde específicamente rompen el balance de sodio-potasio que rodea la fibra nerviosa, lo que ocasiona la transmisión continua del impulso nervioso¹⁹. Las evidencias sobre los efectos teratogénicos, carcinogénicos, inmunológicos, disruptores endocrinos y de bioacumulación de los plaguicidas organoclorados, llevaron a su prohibición en el mundo²⁰.

¹⁷ VAZQUEZ, Arturo Pérez. et al. Agricultura y deterioro ambiental. En: Revista Elementos, Enero - Marzo, 2009, vol 16. No. 73, 19 p.

¹⁸ HERNANDEZ, Mariluz. et al. Plaguicidas organoclorados en leche de bovinos suplementados con residuos de algodón en San Pedro, Colombia. En: *Rev. salud pública*. 2010, vol.12, n.6, pp. 982-989.

¹⁹ CHAILE, Adriana P. et al. Plaguicidas clorados en el río salí. Tucumán-Argentina. En: Revista boliviana de ecología y conservación ambiental, Diciembre, 1999, Vol. 6, p. 203-209

²⁰ HERNANDEZ, Mariluz. et al. Plaguicidas organoclorados en leche de bovinos suplementados con residuos de algodón en San Pedro, Colombia. En: *Rev. salud pública*. Diciembre, 2010, vol.12, No.6, pp. 982-989.

2.2.4.2 Organofosforados.

Los plaguicidas organofosforados son compuestos esteres derivados del ácido fosfórico; generalmente presentan la siguiente fórmula química estructural:

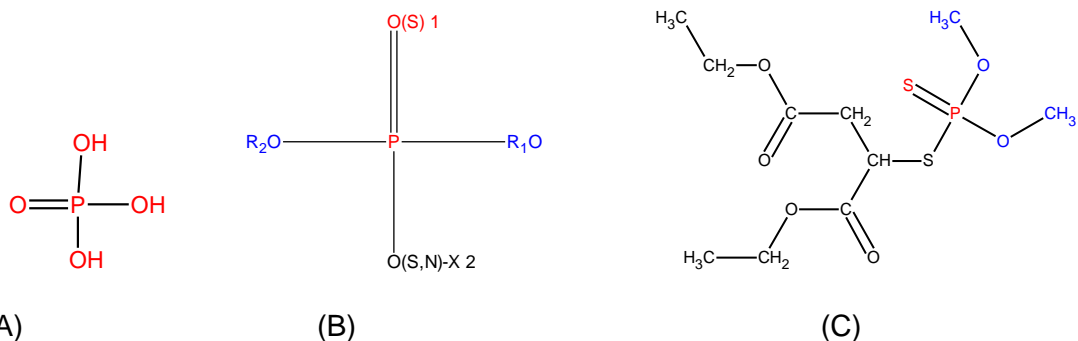


Figura N° 2: A. Estructura del ácido fosfórico, B. Estructura genérica de los compuestos organofosforados, C. Estructura del malation.

Donde los grupos R_1 y R_2 son grupos metilos o etilos, mientras que el grupo X puede ser alifático, homocíclico o heterocíclico. Dependiendo de los átomos que se encuentren en la posición [1] y [2] el compuesto recibe diferentes denominaciones, las cuales se pueden resumir en la tabla N° 3.

Tabla N° 3: Clasificación de los organofosforados ²¹ .

R1 y R2	Radicales metilo o etilo
X	Característico de cada compuesto
[1] O Oxones	[2] O Fosfatos
	[2] S Tiolatos
	[2] N Fosforoamidatos
[1] S Tiones	[2] O Tionatos
	[2] S Tiolotionatos

Cuando el átomo que se une al fósforo es el oxígeno en la posición 1, los compuestos se denominan OXONES, el cual es un potente inhibidor de la enzima colinesterasa y de otras esterases. Sin embargo, con el oxígeno en esta posición, también se favorece la hidrólisis del compuesto, en condiciones alcalinas. Para hacer estos compuestos más resistentes a la hidrólisis y por ende prolongar su vida media en el ambiente.

²¹ ANCHIRAYCO, Mónica Sara. MERE, C. Cecilia. Nuevos Métodos de Tratamiento de Muestra Para la Preconcentración, Estabilización y Determinación de Pesticidas por Cromatografía de Gases. Tesis Química farmacéutica. Lima-Peru. Universidad Nacional Mayor de San Carlos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2008. 87 p.

Muchos organofosforados presentan un átomo de azufre en vez del átomo de oxígeno, estos organofosforados se denominan TIONES. Los tiones son inhibidores pobres de la acetilcolinesterasa, pero penetran las membranas biológicas más rápido que los oxones²².

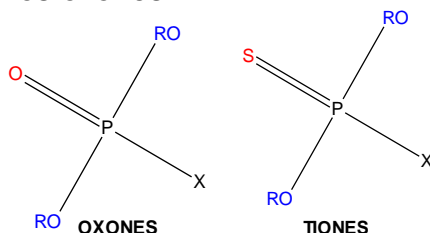


Figura N° 3: Estructura general de oxones y tiones.

Los principales organofosforados según la estructura química se clasifican en: fosfatos, tiolatos, fosforoamidatos, tionatos y tiolotionatos, en la tabla N° 4 se registran algunos ejemplos importantes.

Tabla N° 4: Principales plaguicidas organofosforados²¹

Oxones		Tiones	
<i>Fosfatos</i>	<i>Fosforoamidatos</i>	<i>Tionatos</i>	<i>Tiolotionatos</i>
<ul style="list-style-type: none"> . Diclorvos . Monocrotofos . Mevinfos . Profenofos 	<ul style="list-style-type: none"> . Metamidofós 	<ul style="list-style-type: none"> . Diazinon . Clorpirifós . Paration . Metil-paration 	<ul style="list-style-type: none"> . Malation . Dimetoato . Fosmet . Azinfos

Las primeras moléculas de organofosforados fueron sintetizadas hacia 1941. Estos compuestos se han utilizado principalmente como insecticidas y herbicidas en el control de plagas de cultivos de algodón, maíz, trigo, papa, verduras, hortalizas, contra insectos domésticos y en el control interno y externo de parásitos del ganado²³. Son poco volátiles por poseer baja presión de vapor, son compuestos marcadamente apolares, la mayoría son escasamente solubles en agua, aunque con grandes diferencias de un compuesto a otro, y desde el punto de vista biológico tienden a disolverse en grasas. Por tal motivo, la piel, donde se encuentra una importante capa de tejido con elevado contenido en lípidos, puede constituirse en una importante vía de entrada. La estabilidad de los

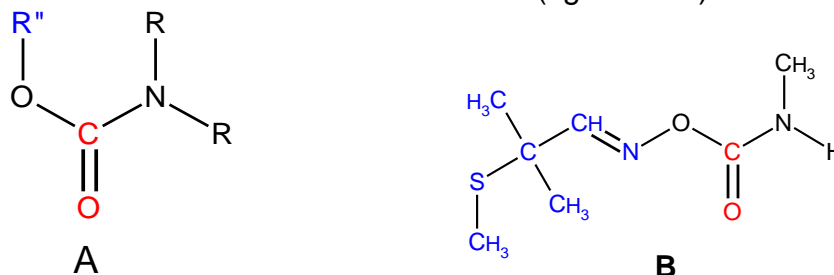
²² CHAVES, C. cristian. Determinación por HPLC de residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en tomates comercializados en Lima-Perú. Trabajo de grado. Química farmacéutica, Universidad Nacional Mayor San Carlos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de química farmacéutica. 2010. 88 p.

²³ BEDMAR, Francisco. Informe especial plaguicidas agrícolas. En: Ciencia Hoy, Abril – Mayo, 2011, Vol. 21, No 122, 57 p.

organofosforados depende del pH del medio; a pH alcalino y buena radiación facilita la degradación que puede ser de días a algunos meses ²⁴,

2.2.4.3 Carbamatos.

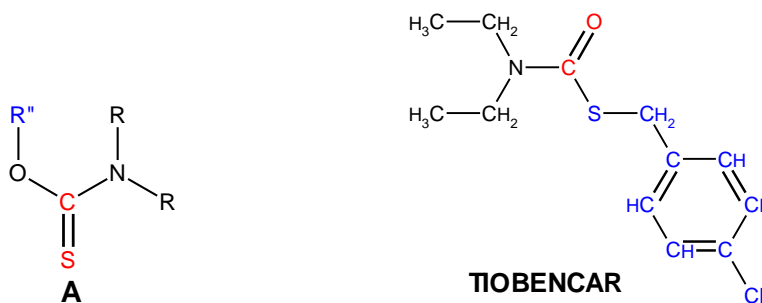
Son ésteres derivados del ácido N-metil ó dimetil carbámico. La estructura general del grupo carbamato posee un átomo de nitrógeno al cual están unidos dos grupos R, que pueden ser alquilo, arilo o hidrogeno. Si poseen un grupo metilo unido al nitrógeno, se conoce como N-metil carbamatos (figura N° 4).



R = H, CH₃, anillo fenólico
R'' = N=CR₂ (oxima), anillo fenólico

Figura N° 4: A) Estructura general de un carbamato. B) Estructura del insecticida Carbaril.

Existen dos subclases adicionales de carbamatos: los tio-carbamatos, los cuales tienen un átomo de azufre sustituyendo un átomo de oxígeno y los ditiocarbamatos, que tienen dos átomos de azufre remplazando los oxígenos (figura N° 5). Los grupos R pueden ser sustituyentes alquilo, arilo, alcoxi, amida o metales como magnesio y zinc²⁵. Los principales carbamatos y su clasificación, según la estructura química, en N-metilcarbamatos, tiocarbamatos y ditiocarbamatos, se registran en la tabla N°5.



²⁴ FALCON, L. Roberto. Degradación del Suelo Causas, Procesos Evaluación e Investigación. Centro interamericano de desarrollo e investigación ambiental y territorial, Universidad de los Andes, Mérida- Venezuela. 2002. 280 p.

²⁵ CHAVES, C. cristian. Determinación por HPLC de residuos de insecticida organofosforado (Methamidophos) en tomates comercializados en Lima-Perú. Trabajo de grado. Química farmacéutica, Universidad Nacional Mayor San Carlos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de química farmacéutica. 2010. 88 p.

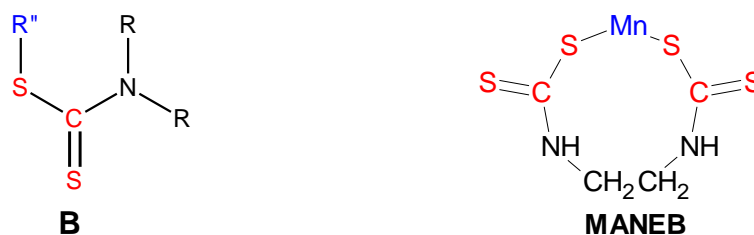


Figura N° 5: Estructura general de: A. Tiocarbamatos y B. Ditiocarbamatos.

Tabla N° 5: Principales plaguicidas N-metilcarbamatos, tiocarbamatos y ditiocarbamatos

<i>N-Metilcarbamatos</i>	<i>Tiocarbamatos</i>	<i>Ditiocarbamatos</i>
. Carbaril	. Butilate	. Dimetilditiocarb
. Bendiocarb	. Cartap	. Ferbam
. Carbofurano	. Dimepiperate	. Ziram
. Carbosulfano	. Fenotiocarb	. Mancozeb
. Methiocarb	. Molinate	. Maneb
. Metomil	. Prosulfocarb	. Anabam
. Oxamyl	. Tiobencarb	. Metiram
. Propoxur	. Tiocarbazil	. Zineb

Los compuestos carbamatos fueron desarrollados alrededor de 1950, el primer producto comercial fue 1-naftil carbamato de metilo, conocido como carbaril. Los carbamatos se usan ampliamente en la agricultura, veterinaria y en el hogar como insecticidas, fungicidas y herbicidas. No tienen olor, ni color, son cristales a temperatura ambiente, estables cuando se exponen al aire, la luz, el calor y durante su almacenamiento. Se caracterizan por ser poco persistentes en el ambiente, son degradados por microorganismos y al igual que los organofosforados son hidrolizados en soluciones alcalinas. Son poco volátiles, polares, solubles en solventes orgánicos y en agua, lo que facilita su excreción y no permite la bio-acumulación, estas propiedades han logrado sustituir en muchas aplicaciones a los compuestos organoclorados y organofosforados²⁷.

2.3 TOXICIDAD DE LOS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS

Toxicidad es un término usado para indicar los efectos adversos producidos por los venenos. Una de las medidas más comunes para medir la toxicidad es la LD₅₀,

²⁶ OYONAR, Cristóbal Avivar. Respuestas ante las intoxicaciones agudas por plaguicidas manual para el sanitario vigilancia epidemiológica. Consejería de salud. Universidad de Granada. Facultad de Medicina. 2003. 23 p.

²⁷ VALDERRAMA, Jhon Fredy. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. En: Revista gestión y ambiente Volumen 15 - No. 3, 2012, p. 27-38.

que se expresa en miligramos de producto por kilogramo de peso del animal²⁸. Teniendo en cuenta los efectos producidos por la exposición oral, la EPA ha establecido cuatro categorías toxicológicas, las cuales se presentan en la tabla N° 2.

2.3.1 MECANISMOS DE ACCIÓN Y EFECTOS SOBRE LA SALUD

Los organofosforados y carbamatos ingresan al organismo por vía digestiva, respiratoria y cutánea. Una vez ingresan los plaguicidas al organismo estos son metabolizados por enzimas oxidasas, hidrolasas y glutatión-s-transferasa, para posteriormente ser eliminados a través de la orina y las heces en un periodo de aproximadamente 12 horas, sin originar acumulación en los tejidos del cuerpo. Sin embargo, su breve paso por el organismo puede originar algunos trastornos dependiendo del grado de toxicidad del compuesto²⁹.

Los organofosforados y carbamatos son plaguicidas que actúan sobre el sistema nervioso central, bloqueando de manera irreversible en los organofosforados y reversible en los carbamatos la acción de la acetilcolinesterasa en el cuerpo. La acetilcolinesterasa es una de las enzimas más importantes en el funcionamiento del sistema nervioso de humanos, otros vertebrados e insectos, ya que interviene especialmente en la transmisión de los impulsos nerviosos³⁰.

La severidad de los síntomas de inhibición de la acetilcolinesterasa depende de múltiples factores, tales como la toxicidad del pesticida, la cantidad involucrada, la frecuencia y la duración de la exposición^{29,31}. Los signos y síntomas de inhibición de la acetilcolinesterasa por exposición a estos plaguicidas se relacionan a continuación^{32, 33}

- Casos leves (contacto entre 4 y 24 horas): fatiga, debilidad, desvanecimientos, náuseas, y visión borrosa;
- Casos moderados (contacto entre 24 y 36 horas): dolor de cabeza, sudoración, lagrimeo, visión túnel, vomito, ansiedad, confusión y convulsiones;

²⁸ FERNADEZ, A. Daniel G. et al. Intoxicación por Organofosforados. En: Rev. fac. med, vol. 18, No. 1, Enero-junio, 2010, p. 84-92.

²⁹ SOTOMAYOR, VERÓNICA. et al. Tesis Doctoral. Efectos de los plaguicidas organofosforados sobre la expresión génica de embriones de *Rhinella arenarum*. Mecanismos de acción y vías de señalización. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011. 181 p.

³⁰ PONCE, Gustavo. et al. Modo de acción de los insecticidas. En: Revista Salud pública y Nutrición. Octubre-Diciembre 2006, Volumen 7 No. 4, 22 p.

³¹ CLAVIJO, H. Carlos M. et al. enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. En: Rev Fac Med Univ Nac Colomb 2005 Vol. 53 No. 4. P. 244-258

³² PRADILLA, G. Neurotoxicidad por plaguicidas. En: Rev. Salud UIS, 1989; vol.17: p. 67-72.

³³ MATOS, E. Loria D. et al. Efectos de los plaguicidas en trabajadores de cultivos intensivos. En: Rev. Bol. of Sanit Panam, 1998, vol. 104, No 2; p. 160-169.

- Casos severos (absorción diaria continua): calambres abdominales, diarrea, temblor muscular, tambaleos, pupilas punto de alfiler, hipertensión, lentitud en los latidos del corazón, dificultad para respirar, y posible muerte, si el paciente no es tratado oportunamente por el médico.

Desafortunadamente, estos síntomas se pueden confundir con los de la influenza, intoxicaciones con alcohol, agotamiento, hipoglicemia, asma, neumonía o hemorragia cerebral, y la intoxicación puede ser tratada de manera inadecuada. Aunque los signos de inhibición de la acetilcolinesterasa son similares, tanto para compuestos organofosforados, como para carbamatos, el retorno a los niveles normales de acetilcolinesterasa en la sangre se lleva a cabo en un periodo de unas horas a unos días para carbamatos y de días a varias semanas para los compuestos organofosforados³⁴

2.3.2 TOXICIDAD CRONICA.

Esta toxicidad hace referencia a los efectos causados a largo plazo sobre los seres vivos, debido a la exposición prolongada a dicha sustancia. Estos efectos pueden ser en la reproducción, teratogénicos, mutagénicos, cancerígenos, hormonales y en los órganos del cuerpo³⁵

2.4 INTOXICACION POR PLAGUICIDAS EN COLOMBIA

En Colombia gran parte de la población se encuentra expuesta a plaguicidas, de manera directa, en especial en las regiones agrícolas. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de exposición mediante la ingestión de alimentos entre las poblaciones residentes en las regiones donde sea habitual el uso de plaguicidas.

Aunque las estadísticas sobre intoxicaciones por plaguicidas en Colombia son deficientes, existen 4 antecedentes importantes de intoxicaciones masivas como, la ocurrida en Chiquinquirá (Boyacá) en 1967, la de puerto López (Meta) en 1970, la de Pasto (Nariño) en 1977 y la de Risaralda en 1993, (Tabla N° 6). Los agentes involucrados en estos 4 brotes de intoxicación fueron los compuestos Organofosforados y todos ocurrieron por consumo de alimentos contaminados. Esto coincide con lo reportado a nivel internacional donde las intoxicaciones son causadas en orden descendente principalmente por Organofosforados seguido por Carbamatos y Organoclorados^{36,37}

³⁴ FERNÁNDEZ A. Daniel G. et al. Intoxicación por organofosforados. En: rev. fac. med. 2010, vol. 18, No 1, p. 84-92

³⁵ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. vigilancia y control en salud pública: Protocolo de vigilancia y control de intoxicaciones por plaguicidas, Bogota, D.C. 2010

³⁶ VALENCIA, Yenny A. Validación De Una Metodología Para La Determinación De Carbofuran En Suelos Mediante Cromatografía Líquida De Alta Eficiencia Con Detección Ultravioleta (CLAR-UV). En: Rev.Colomb.Quim. Septiembre-diciembre, 2010, vol.39 No.3, p. 359-370

Tabla N° 6: Reporte de los cuatro casos graves de intoxicación masiva con plaguicidas ocurridos en Colombia.

CUADRO N° 1 CASOS DE INTOXICACION MASIVA COLOMBIA					
Caso	Ciudad	Fecha	Intoxicación	Muertes	Plaguicida causante
1	Chiquinquirá – Boyacá	1.967	165	63	Parathion
2	Puerto López-Meta	1.970	193	7	Parathion
3	Pasto-Nariño	1.977	300	15	Parathion
4	Risaralda	1.993	40	1	Endosulfan

En el año 2003 SIVIGILA reporta que los Departamentos que más presentaron índices de intoxicación por plaguicidas fueron Cundinamarca, Huila, Caldas y Nariño. Tabla N° 7

Tabla N° 7: municipios con mayor número de casos de intoxicación por plaguicidas en el año 2003^{62,63}.

	CALDAS Chinchiná	NARIÑO Tuquerres	HUILA Garzón	C/MARCA Soacha
Numero Intoxicaciones Reportadas	25	25	21	26
Reporte de Abortos Espontáneos	NO	NO	NO	NO
Clase de Plaguicida Causante	Organofosforados y Organoclorados	Organofosforados	Organoclorados	Carbamatos
Aplicación Plaguicidas a Cultivos	Café	Papa	Tabaco	No

En Colombia en los últimos años el número de casos de intoxicaciones por plaguicidas ha venido aumentando. Tabla N° 8.

Tabla N° 8: número de casos de intoxicación por plaguicidas en Colombia entre los años 2006 y 2012³⁸

Evento	Casos 2006	Casos 2007	Casos 2008	Casos 2009	Casos 2010	Casos 2011	Casos 2012
Intoxicación por plaguicidas	5219	6266	6659	7011	7914	9811	9197

En cuanto al Departamento de Nariño son muchos los reportes de intoxicaciones en los últimos años, según el reporte del Instituto Departamental de Salud de Nariño entre los años, 2010 a 2012, los municipios que más han presentado casos

³⁷ MAJIN, D. Lady Jhoana. Caracterización epidemiológica de las intoxicaciones por plaguicidas en Colombia 2011-2012. En: IQUEN, noviembre, 2013, vol. 20, No 18, p. 243-258

³⁸ GONZALEZ, Guillermo. Intoxicación Por Plaguicidas: Casuística Del Hospital Universitario Del Caribe Y De La Clinica Universitaria San Juan De Dios De Cartagena 2009-2010. Universidad Nacional De Colombia, facultad de medicina departamento de toxicología convenio con la universidad de Cartagena, 2011, Bogota D.C. 105 p.

de intoxicación por plaguicidas son Gualmatán, Pupiales, Ipiiales, Potosí, Tuquerres y Guachucal³⁹. Figura N° 6 y anexo 6.

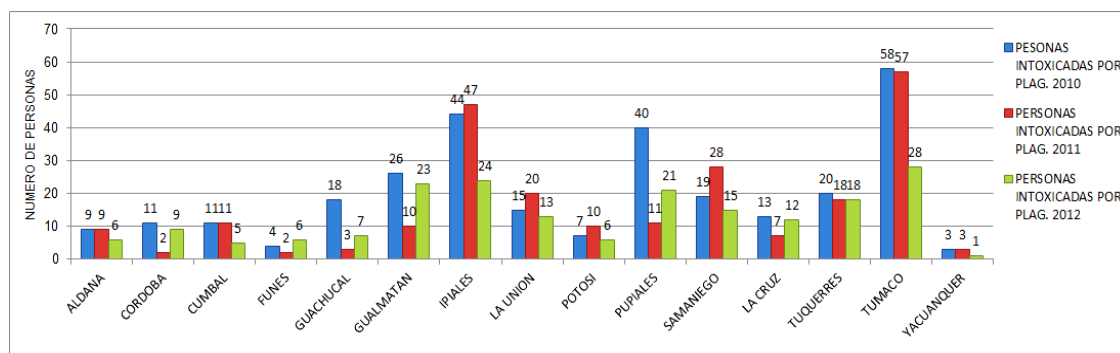


Figura N° 6: Índice de intoxicaciones por plaguicidas en el departamento de Nariño entre los años 2010-2012

2.5 IMPACTO AMBIENTAL

Según estudios cuando un plaguicida es aplicado a un cultivo, solamente alcanza el organismo “blanco” aproximadamente el 1%, mientras que el 25 % es retenido en el follaje, el 30 % llega al suelo y el 44 % restante es exportado a la atmósfera y a los sistemas acuáticos por escorrentía y lixiviación⁴⁰

El impacto nocivo de los organofosforados y carbamatos en el ambiente radica en su movilidad en el suelo y volatilización (Figura N° 7), fenómenos que son favorecidos por las propiedades físicas de las moléculas: presión de vapor, coeficiente de partición octanol - agua, coeficiente de absorción, solubilidad en agua, entre otras Tabla N° 9

La solubilidad en agua de estos plaguicidas, los hace susceptibles a ser arrastrados por la lluvia, contaminando las fuentes de aguas superficiales y subterráneas, donde se han encontrado meses después de su aplicación.

El deterioro de la calidad del agua es uno de los mayores problemas asociados al uso de plaguicidas. Este puede ser debido a alguna de las siguientes causas: deriva de pulverizaciones, lixiviación y percolación hacia capas freáticas, lavado de equipos y elementos de aplicación en fuentes de agua, mala eliminación de desechos de plaguicidas y envases, rotura de envases y accidentes con vuelco de

³⁹ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. vigilancia y control en salud pública: Protocolo de vigilancia y control de intoxicaciones por plaguicidas, Bogota, D.C. 2010

⁴⁰ SOLANO, C. Gulianna. MENESES, L. Silva. Diagnóstico de uso de agroquímicos y prácticas ambientales en 10 fincas arroceras ubicadas en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Barra del Colorado Región Huertar Atlantica Canton de Sarapiquí Costa Rica. Tesis Gestión Ambiental. Universidad Nacional. Facultad de Tierra y Mar. Escuela de ciencias ambientales. 2014. 145 p.

productos hacia fuentes de agua, por aplicaciones aéreas cercanas a los ríos y lagos, y por el uso indebido de estos productos como instrumentos de pesca⁴¹.

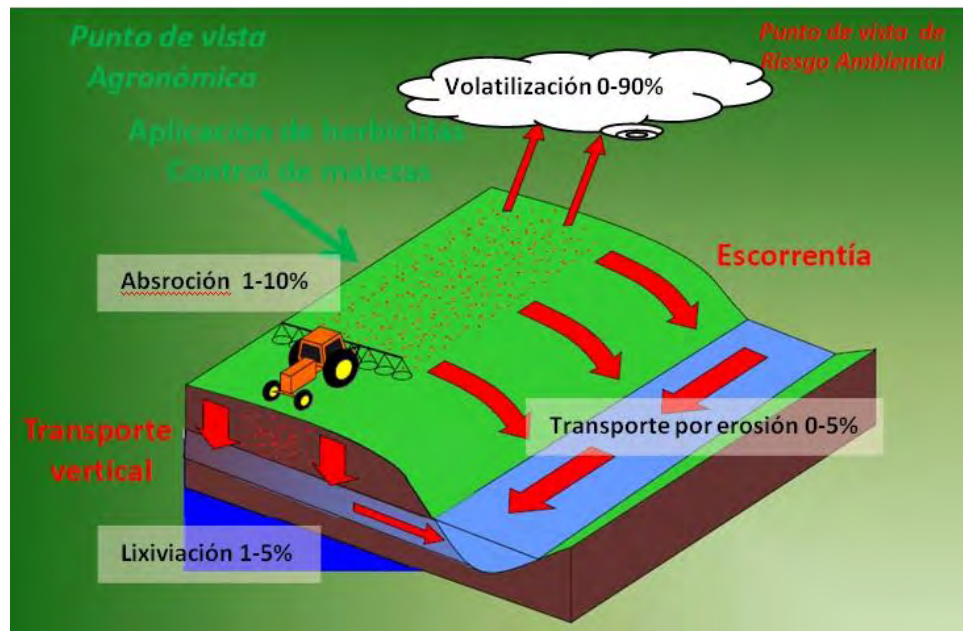


Figura N° 7: Posibles mecanismos de transporte y transformación de plaguicidas en el ambiente⁴²

⁴¹ POMA, L. Mónica, M. evaluación del daño genotóxico por exposición a plaguicidas en agricultores del municipio de Luribay. Tesis licenciatura en bioquímica la paz-Bolivia. Universidad mayor de San Andrés facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímicas, carrera de bioquímica, mención genética instituto de genética, 2007. 150 p.

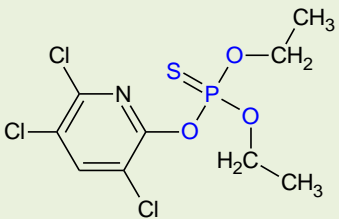
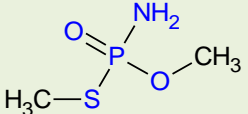
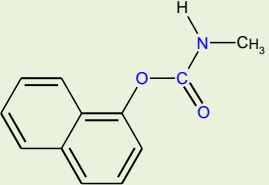
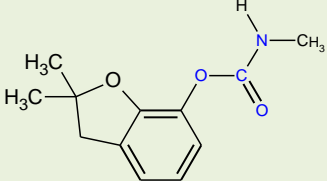
⁴² TOMASONI, Marcos. Generación de derivas de plaguicidas no hay fumigación controlable. En: red universitaria de ambiente y salud/red de médicos de pueblos fumigados. Noviembre 2013. 18 p.

Tabla N° 9: Propiedades físicas y químicas de algunos plaguicidas organofosforados y carbamatos

NOMBRE	CATEGORIA TOXICOLOGICA	FORMULA MOLECULAR	PESO MOLECULAR	SOLUBILIDAD EN AGUA, $\mu\text{g/mL}$ 25°C	SOLUBILIDAD EN OTROS DISOLVENTES	PUNTO DE FUSION °C	PRESION DE VAPOR, mPa	K_{OW}
<i>Carbofuran</i>	II	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	221.25	320 $\mu\text{g/mL}$	Acetona, acetonitrilo, benceno, Ciclohexanona	153-154	2.7 (33°C)	1,80
<i>Carbaril</i>	II	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$	201.23	40 $\mu\text{g/mL}$	Dimetilformamida, acetona, Dimetilsulfoxida, ciclohexanona	142	<5.3 (25°C)	No disponible
<i>Mancozeb</i>	III	$(\text{C}_7\text{H}_6\text{N}_2\text{S}_4\text{Mn})_x(\text{Zn})_y$ x:y=10:1	266.31	6 $\mu\text{g/mL}$	Insoluble en la mayoría de los disolventes organicos	192	Despreciable a 20°C	1,33
<i>Aldicarb</i>	II	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	190.27	6000 $\mu\text{g/mL}$	Acetona, xileno, éter etílico, tolueno y otros disolventes orgánicos	142	13 (20°C)	1.13
<i>Propoxur</i>	II	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	209.25	2000 $\mu\text{g/mL}$	Acetona, metanol, ciclohexanona, cloroformo, tolueno	87	300 (120°C)	0.14
<i>Oxamyl</i>	III	$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$	219.36	280 g/L	Acetona, etanol, 2-propanol, metanol, tolueno	100-102	31 (25°C)	No disponible
<i>Metamidofos</i>	I	$\text{C}_2\text{H}_8\text{NO}_2\text{PS}$	141.1	>200 g/l a 20°C.	Sumamente soluble en alcoholes y cetonas, poco soluble en éter y éter de petróleo	44.9	4,7 mPa (25°C)	0,8
<i>Clorpirifos</i>	II	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$	350.62	2 $\mu\text{g/mL}$	Hexano, Tolueno, Diclorometano, Metanol, Acetona, Etil acetato.	41.4 - 43.5	1.0×10^{-3} Pa a 25°C	4,30
<i>Profenofos</i>	III	$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{BrClO}_3\text{PS}$	373.6	28 $\mu\text{g/mL}$	Es muy soluble con la mayoría de los disolventes orgánicos.	17 – 18	1.24×10^{-1} mPa25°C	4.44
<i>Malation</i>	I	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{PS}_2$	330.358021	145 $\mu\text{g/mL}$ (20°C)	soluble en solventes orgánicos; poco soluble en éter de petróleo y en ciertos aceites minerales	2,9	$16,6 \times 10^{-3}$ Pa	2,75
<i>Paration</i>	I	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{NO}_5\text{PS}$	291,27 g	24 $\mu\text{g/mL}$ 0.0024 ml/100 ml a 25° C	Soluble: en diclorometano, 2-propanol, tolueno > 200 g/l; en n-hexano 50-100 g/l; poco soluble en querosén y aceite vegetal	6,1	5×10^{-3} Pa	3,83
<i>Metilparation</i>	I	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NO}_5\text{PS}$	277.27	55-60 $\mu\text{g/mL}$ insoluble	Soluble: en diclorometano, 2-propanol, tolueno > 200 g/l; en n-hexano 50-100 g/l; poco soluble en querosén y aceite vegetal	35-38	Pa a 20°C: 0.13	2.04

Fuente: VALDERRAMA, N. Jhon, F. et al. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad . En: Revista Gestión y Ambiente, Diciembre de 2012, Vol. 15, No. 3, pp. 27-38

Tabla N° 10: características generales de los plaguicidas de estudio del presente trabajo (Centro Nacional de Información de Pesticidas)

PLAGUICIDA	NOMBRE QUIMICO Y COMERCIAL	CULTIVOS	IMPACTO EN EL AMBIENTE
<p>CLORPIRIFOS *</p> 	<p>O, O-dietil O-3 ,5,6-trichloropyridin-2-il fosforotioato</p> <p>Arriero 2,5, Lorsban Lorsban, Dursban, Suscon Green, Empire, Equity.</p>	<p>Insecticida: alfalfa, algodón, girasol, sorgo, soja, manzana, pera, cítricos, maíz, tabaco. papa tomate.</p>	<p>La vida media por fotólisis en el agua es de 3 a 4 semanas. La vida media troposférica se estima sea de 1.4 horas. Bajo condiciones de suelo aerobias, la vida media es generalmente de 30 a 60 días. Los principales productos de degradación son, El TCP (3,5,6-trichloro-2-pyridinol), el 3,5,6-trichloro-2-methoxypyridine (TMP) y el Clorpirifos oxon</p> <p>Tox: II LD₅₀ 32 a 1000 mg / kg.</p>
<p>METAMIDOFOS *</p> 	<p>O,S-dimetilfosfamidotioato</p> <p>Tamaron, Monitor Filitox, Tamanox, Metamidofos Estrella, Methedrin 60, Morithion,</p>	<p>Insecticida, Acaricida: papa. Alverja, Algodón, cítricos, maíz, verduras, hortalizas, flores, y tabaco</p>	<p>La vida media en suelo: de 1.9 a 12 días. En agua: 4-6 días, catalogándola como una molécula no persistente en el agua. En aire: 0.578 días. Los productos de degradación son CO₂, mercaptán, sulfuro de dimetilo y disulfuro de dimetilo, no bioacumulable</p> <p>Tox: I LD₅₀ 33 mg / kg.</p>
<p>CARBARIL</p> 	<p>1-Naftil-carbamato de metilo</p> <p>Sevin, Adios, Carbamida, Carbakill, Denapom, Carbamax, Parkiller, Sinpuldry.</p>	<p>Insecticida. Arroz, Maíz, papa, Sorgo, Hortaliza, Cítricos, Banano, Palma africana, yuca.</p>	<p>Produce Quemaduras por contacto con la piel y los ojos. Letal para abejas. Su tiempo de vida media es de 7-14 días en suelos arenosos y de 14-28 en suelos arcillosos. Su producto de descomposición es 1-naftol.</p> <p>Tox: II. LD₅₀ 250-850 mg/Kg.</p>
<p>CARBOFURAN</p> 	<p>2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofurano carbamato de metilo.</p> <p>Carboter, Curater, Furadan, Carbodan, Carbugran. Crysfuran. Cufuran.</p>	<p>Insecticida. Papa, legumbres, Hortalizas Café, tomate, Banano, Plátano, Arroz.</p>	<p>Su uso fue restringido por la EPA, afecta pájaros, peces y abejas. Tiene una vida media de 30-120 días. Productos de degradación: 3-hidrocarbofuran y 3-cetocarbofuran.</p> <p>Tox: II. LD₅₀ 5-13 mg/Kg.</p>

2.6 PRODUCCION DE PLAGUICIDAS EN COLOMBIA

En Colombia, según reportes dados por el instituto Colombiano de Agricultura (ICA), la industria de plaguicidas en el país empezó en 1962. Con base en la importación de ingredientes activos. La síntesis a nivel nacional se inicia en 1985 con la producción de herbicidas y 1995 con fungicidas. Los primeros plaguicidas elaborados fueron maneb y mancozeb, por las empresas Dupont de Colombia y Rohn and Haas en Barranquilla. Según Dominguez et al. En Colombia se usan anualmente más de 17 millones de kg de plaguicidas, cifra que ubica a nuestro país como el tercer consumidor en Latinoamérica después de países como Brasil y México⁴³.

Actualmente en Colombia se registran 250 ingredientes activos, 750 productos comerciales, comprendidos en 254 insecticidas, 206 fungicidas, 325 herbicidas y 133 de otras formulaciones. De la totalidad de plaguicidas manejados en Colombia, el 80% corresponden a la familia de los Organofosforados y Carbamatos y entre los 10 insecticidas más utilizados se encuentran: Clorpirifos, Carbofuran, Metamidofos, Mancozeb, Aldicarb, Cipermetrina, Metomil, Carbaril, Profenofos y Propoxur⁴³.

Por otro lado los anteriores reportes se respaldan por el ICA, ya que según este los plaguicidas de mayor consumo en el Departamento de Nariño están Clorpirifos, Carbofuran, Mancozeb, Metamidofos, Carbaril, Aldicarb y Propoxur, principalmente en cultivos como papa, zanahoria, legumbres entre otros⁴⁴.

2.7 LEGISLACIÓN SOBRE LA PRESENCIA DE PLAGUICIDAS EN EL AMBIENTE

El problema de la presencia de plaguicidas en el ambiente ha generado gran preocupación a nivel mundial, lo cual ha llevado a organizaciones como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA 2011), la Unión Europea (UE) (Comisión 2011), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO 2011), la Organización Internacional del Trabajo (OIT) y la Organización Mundial de Salud (OMS 2011) a implementar unas normas y procedimientos donde se establecen los límites máximos permitidos de residuos de plaguicidas en agua corriente y para consumo humano, alimentos, aire y suelos⁴⁵.

⁴³ BUITRAGO G. Cesar. Agosto. Uso aparente de plaguicidas en Colombia durante los años 2004 – 2007. ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial. 2007, 28 p.

⁴⁴ LOPEZ, Oscar. BOTINA, María Ximena, JURADO, Mario Andres. Diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en fincas hortícolas del corregimiento de Gualmatán, municipio de Pasto. Trabajo de grado. Especialista en ecología y gestión ambiental. San Juan de Pasto. Universidad de Nariño. 2007. 86 p

⁴⁵ ICA. Disponible en <http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Regulacion-y-Control-de-Plaguicidas-Quimicos.aspx>

En Colombia, el Ministerio de Salud a través del Decreto 1575 de 2007, establece en el capítulo III, Artículo 11 y siguientes, la concentración máxima admisible para plaguicidas en agua potable (Tabla N° 1). El presente Decreto prescribe además que las personas prestadoras del servicio de acueducto deben realizar análisis periódicos de plaguicidas dependiendo del número de habitantes servidos⁴⁶.

Tabla N° 11: Concentración máxima admisible para plaguicidas individuales y totales en agua potable, según Resolución 2115 de 2007⁴⁷

CATEGORIA TOXICOLOGICA	TIPO DE PLAGUICIDA	CONCENTRACION MAXIMA ADMISIBLE DE PLAGUICIDAS INDIVIDUALES ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CONCENTRACION MAXIMA ADMISIBLE DE PLAGUICIDAS TOTALES ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
I	Metamidofos	0.0001	0.001
II y III	Clorpirifos Carbofuran Carbaril	0.001	0.01
IV		0.01	0.1
<i>La suma total de las concentraciones individuales de plaguicidas no debe ser mayor de 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$.</i>			

2.8 DETERMINACION DE LOS MUNICIPIOS Y PLAGUICIDAS DE ESTUDIO

Para la determinación de los municipios de estudio se tuvo en cuenta los reportes de intoxicaciones por plaguicidas de los últimos años determinados por SIVIGILA (Figura N° 6), encontrando que los municipios con mayor índice de intoxicaciones fueron: Gualmatán, Pupiales, Ipiales, Potosí y Tuquerres.

Estos municipios forman parte de la denominada exprovincia de obando, excepto Tuquerres que pertenece a la región occidental andina, están ubicados al sur del Departamento de Nariño, en límites con Ecuador, poseen una altitud promedio de 2.800-2.900 msnm por lo tanto son de clima frío, con temperaturas promedio de 12°C; su principal actividad económica es la comercialización de leche y de cultivos agrícolas como papa, alverja, frijol, mora, verduras, hortalizas, maíz, entre otros derivados. El complejo hídrico de estos municipios se basa en redes rurales y municipales abastecidas de ríos propios de cada municipio. Es importante destacar, que muchas de las corrientes de aguas superficiales de la región son utilizadas para alimentar sistemas de riego agrícola y además para el consumo humano⁴⁸.

⁴⁶ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL decreto número 1575 de 2007.

⁴⁷ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial. Resolución Número 2115 (22 Jun 2007).

⁴⁸ GOBERNACION DE NARIÑO. Disponible en <http://www.narino.gov.co/index.php/nuestro-departamento/municipios>

En la determinación de los plaguicidas de estudio se tuvo en cuenta factores como: los cultivos más importantes de cada municipio, información recolectada del ICA, estudios adelantado por la Universidad de Nariño en el año 2006⁴⁹ y diversas entrevistas realizadas a diferentes empresas comercializadoras de agroquímicos, con lo cual se seleccionaron los plaguicidas: Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril.

2.9 ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN AGUA

La determinación de organofosforados y carbamatos en agua se desarrolla a través de dos etapas: una primera de extracción y concentración de los analitos y, una segunda de análisis de estos. Para cada una de estas etapas se han implementado numerosas técnicas teniendo en cuenta factores como costo, tiempo, propiedades de los analitos y sensibilidad requerida. A continuación, se reseñan las principales técnicas usadas para la extracción de plaguicidas organofosforados y carbamatos de muestras de agua y las técnicas Cromatográficas de análisis más utilizadas.

2.10 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA – METODOS DE EXTRACCION

La preparación de la muestra es un paso determinante en el análisis de plaguicidas. En éste, los analitos en concentraciones de trazas deben ser extraídos cuantitativamente de la muestra, hacia una matriz que sea compatible con el resto del procedimiento analítico. Las técnicas más utilizadas para la extracción de plaguicidas en agua son: extracción liquido-liquido y extracción en fase solida (SPE).

2.10.1 EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO (LLE).

Es una técnica útil en el análisis de matrices acuosas de carácter ambiental. Su principio consiste en la distribución o reparto de un analito entre el agua y el solvente de extracción, este último generalmente de baja polaridad como hexano, cloroformo o diclorometano.

Dicha separación depende del tipo de solvente orgánico, de la temperatura, el pH del medio acuoso y la cantidad de materia orgánica, entre otros factores; por lo cual se hace necesario establecer los valores adecuados de estos parámetros en

⁴⁹ LOPEZ, Oscar. BOTINA, Maria Ximena, JURADO, Mario Andres. Diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en fincas hortícolas del corregimiento de Gualmatán, municipio de Pasto. Trabajo de grado. Especialista en ecología y gestión ambiental. San Juan de Pasto. Universidad de Nariño. 2007. 86 p

la aplicación de dicha técnica, para así obtener buenos porcentajes de recuperación y reproducibilidad⁵⁰.

2.10.2 EXTRACCIÓN EN FASE SOLIDA (SPE).

La extracción en fase sólida es una técnica muy utilizada para la extracción de plaguicidas, que evita los inconvenientes asociados a la extracción con disolventes como elevado consumo de los mismos, separación incompleta de fases, e interferencias de matriz, y se obtienen ventajas como reducción de la cantidad de muestra y de tiempo de extracción⁵¹.

La SPE utiliza cartuchos de polipropileno rellenos con un adsorbente que puede ser un sustrato de sílice enlazado a un compuesto organosilano. Los cartuchos más usados son de gel de sílice modificado con C18, octadecilo, etilo, propilo, enlazados químicamente. Inicialmente la columna se acondiciona asiéndose pasar volúmenes de solventes de diferentes polaridades en orden creciente, hasta terminar en la matriz en la cual están los analitos.

Una vez acondicionada la columna, se aplica la muestra, los analitos presentes son retenidos por el adsorbente debido a las fuerzas atractivas que se generan. Seguidamente, se lava el adsorbente con un solvente adecuado, que no eluya el analito, para eliminar algunas interferencias que hayan quedado retenidas en la columna; por último, se eluyen los analitos con un solvente de polaridad similar⁵².

En el caso de plaguicidas la SPE ha sido utilizada en matrices como leche, jugos de frutas, hortalizas y muestras ambientales de aguas superficiales y subterráneas, agua de mar y de consumo, por citar algunas^{53,54}

⁵⁰ BUSCEMA, I. Método de extracción líquido-sólido para el análisis de residuos de plaguicidas N-Metil carbamatos en aguas. En: Rev. Fac. Agron. (LUZ). 1999, vol. 16, No 1, p. 136-205

⁵¹ BUSCEMA, I. et al. Optimización de la Extracción en Fase Sólida de Residuos de Plaguicidas Organofosforados en Agua Potable Empleando Cartuchos de Carbón Grafitado. En: Rev. Fac. Agron. Julio, 2004, vol.21, No. 3, 8 p.

⁵² VALENZUELA, Q. et al. Optimización y validación de un método de dispersión de matriz en fase sólida para la extracción de plaguicidas organofosforados en hortalizas. En: Rev. Fac. Agron. 2006, vol.23, n.4, pp. 471-482

⁵³ PEREZ, Ma. Antonia et al. Residuos de plaguicidas organofosforados en cabezuela de brócoli (*Brassica oleracea*) determinados por cromatografía de gases. En: Rev. Int. Contam. Ambient, mayo, 2009, vol.25, no. 2, pp. 103-110.

⁵⁴ PEREZ, R. María Lidia. Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios. Trabajo de grado doctorado ciencias y tecnologías. España. Universidad de la Laguna, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. 2009. 265 p.

2.11 TÉCNICAS ANALÍTICAS USADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS

2.11.1 CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC).

HPLC es un método de separación físico usado en la determinación de un amplio rango de compuestos orgánicos y que hoy día es aplicada con frecuencia en análisis ambiental. En esta técnica los analitos se separan por partición entre una fase estacionaria enlazada a un soporte, y una fase móvil, que en este caso es un líquido. La cromatografía líquida de alta resolución requiere de instrumental especial que permite trabajar con altas presiones, se lleva a cabo en una columna de acero inoxidable de 10 - 30 cm de longitud, y un diámetro interno de 4 - 10mm. La sílice utilizada generalmente posee como soporte grupos funcionales enlazados a la superficie, y generalmente son de un tamaño aproximado de 5 - 10µm. Los analitos son transportados a través de la columna por una fase móvil líquida, donde son retenidos selectivamente por la fase estacionaria permitiendo así su separación ^{55,56}.

Existen 2 formas en el desarrollo de la cromatografía líquida: cromatografía líquida en fase normal y cromatografía en fase reversa. En la primera, la superficie enlazante es polar y la fase móvil es no polar. En la segunda, se trabaja con una superficie no polar y una fase móvil polar. Un equipo para cromatografía líquida de alta resolución puede representarse por la figura N° 8:

⁵⁵ Técnicas Cromatográficas, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Química Analítica Instrumental II, 2007,

⁵⁶ VALENCIA, Yenny. A. et al. Validación De Una Metodología Para La Determinación De Carbofuran En Suelos Mediante Cromatografía Líquida De Alta Eficiencia Con Detección Ultravioleta (CLAR-UV). En: Rev.Colomb.Quim. Sept./Dec. 2010, vol.39, no.3. pp. 359-370

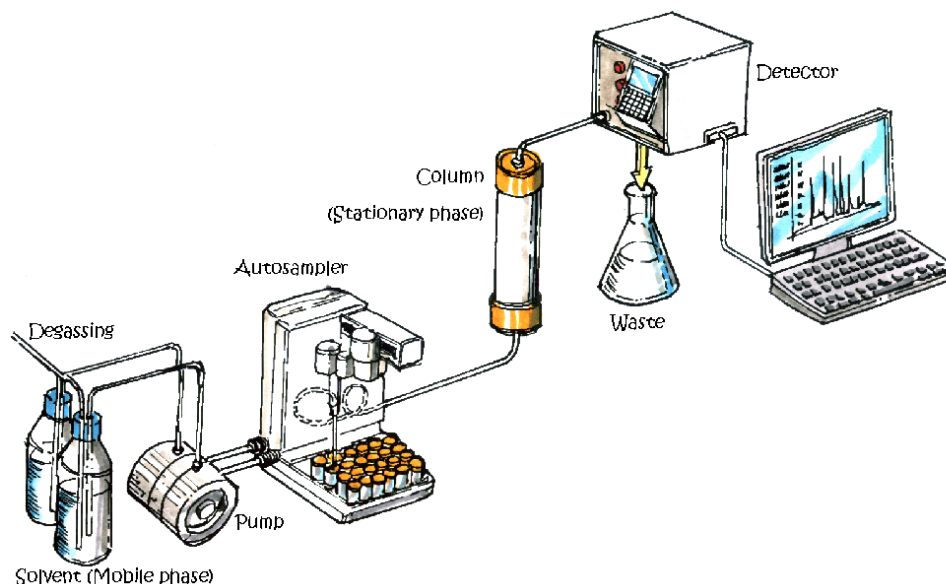


Figura N° 8: sistema de cromatografía líquido de alta eficiencia

Se compone de 6 módulos principales: El reservorio o depósito de la fase móvil, la bomba o sistema de bombeo de la fase móvil que facilita la formación de mezclas o gradientes, el inyector o automuestreador (manual o automático) que incorpora la muestra a la fase móvil, la Columna donde se lleva a cabo la separación de los analitos y, por último el detector (VWD, DAD, Fluorescencia) que permite mediante un sistema de cómputo identificar y cuantificar las señales de los analitos de interés.

2.12 VALIDACION DEL MÉTODO ANALÍTICO

La validación es un proceso netamente experimental, efectuado 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 exactitud⁵⁷.

2.12.1 PRECISIÓN.

La precisión expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas de tomas múltiples a partir de una misma homogénea en las

⁵⁷ VILLANOBA. V. María, P. Estandarización De Métodos Analíticos Usados Para El Análisis De Agua, En El Laboratorio Del Centro De Estudios e Investigaciones Ambientales (Ceiam).tesis , Universidad Industrial De Santander Facultad De Ciencias Escuela De Química Bucaramanga, 2008.

condiciones prescritas⁵⁸. El objetivo del estudio de la precisión es conocer si la variabilidad del método de ensayo ésta debida a errores aleatorios inherentes al método. Para evaluar la precisión se debe determinar la repetitividad y reproducibilidad del método. La precisión de un método analítico se expresa en términos de la desviación estándar (S), Desviación Estándar Relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV)⁵⁹.

2.12.2 REPETIBILIDAD.

Refleja la precisión de un método, cuando se desarrolla bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo en un período corto⁵⁹.

2.12.3 REPRODUCIBILIDAD.

Es la medida de la precisión de los resultados de ensayos realizados sobre la misma muestra homogénea, pero ejecutados por diferentes analistas en días diferentes y se expresa con los mismos parámetros matemáticos que la repetibilidad⁵⁹.

2.12.4 EXACTITUD.

La exactitud de un método analítico es la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado. La exactitud se expresa como el porcentaje de recuperación en la valoración de una cantidad conocida de analito añadida sobre la muestra^{59,60}.

2.12.5 LINEALIDAD.

Es la capacidad de un método analítico para obtener los resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un margen de concentración determinada⁶¹.

⁵⁸ AGUIRRE ORTEGA, L., et al., Validación de métodos analíticos, ed. A.E.F. Industria. 2001, España.

⁵⁹ CORREDOR, David. et al. Desarrollo y validación de una metodología para la determinación de plaguicidas en café verde por cromatografía de gases. en: revista colombiana de química, 2005, volumen 34, no. 2

⁶⁰ INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM. Protocolo – Estandarización De Métodos Analíticos.

⁶¹ ESPINOZA Manuel, et al. Adaptación Y Validación De Un Método Unificado Para La Determinación De Residuos De Pesticidas Organoclorados Y Organofosforados En Agua De Bebida Como En Vegetales Con Materia Grasa Menor Al 7% Por Cromatografía De Gases, Laboratorio CETTIA - UTPL

2.12.6 SENSIBILIDAD.

La sensibilidad se determina mediante el cálculo de los límites de detección y cuantificación⁵⁹.

2.12.7 LÍMITE DE DETECCIÓN (LD).

El límite de detección corresponde a la menor cantidad de analito en una muestra que puede ser detectado, pero no necesariamente cuantificado con exactitud⁵⁹.

2.12.8 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (LC).

El límite de cuantificación corresponde a la menor cantidad de analito en la muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud⁵⁹.

3. PARTE EXPERIMENTAL

El presente proyecto se desarrolló en el área instrumental del Laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño, y comprendió las siguientes etapas:

- ☞ Determinación de las condiciones cromatográficas adecuadas para la identificación de los plaguicidas: Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril.
- ☞ Evaluación de la extracción liquido-líquido y la extracción en fase sólida para la determinación de los plaguicidas de estudio en muestras de agua.
- ☞ Estandarización de la técnica HPLC/VWD para la determinación de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril.
- ☞ Aplicación de la técnica desarrollada, en muestras de agua para consumo humano, tomadas de los municipios de Gualmatán, Pupiales, Ipiales, Potosí y Tuquerres, del Departamento de Nariño.

3.1 MATERIALES Y REACTIVOS

3.1.1 MATERIAL DE LABORATORIO

- Balanza analítica Adventures de precisión 0,1 mg.
- Purificador de Agua Simplicityt Marca Millipore,
- Baño Ultrasónico VWR Modelo 97043-952.
- Rota-evaporador marca Heidolph WB 2000.
- Manifold de SPE Marca Restek.
- Conductivímetro Marca Mettler Toledo.
- pH-Metro Marca Metrohm.
- Espectrofotómetro Marca Thermo Electron.
- Pipetas graduadas y volumétricas marca Silberbrand y Blaubrand.
- Micropipetas marca Transferpette.
- Micro jeringas de 25 y 50 μ L marca Agilent.
- Filtros Simplepure PTFE 0,45 μ m.
- Balones Aforados en vidrio transparente y de boro silicato marca Glassco y Duran.
- Papel filtro cualitativo franja azul, 6 μ m de poro, 125mm de diámetro marca Whatman.
- Botellas de boro silicato de 1L con tapa rosca.
- Viales para cromatografía de 1.5 ml marca Agilent.
- Discos BAKERBOND *Speedisk* de Octadecyl C18 marca J.T.Baker.

3.1.2 REACTIVOS Y SOLVENTES

Se emplearon los solventes: Acetato de etilo, Hexano y Diclorometano a una concentración del 99.9%, Acetona al 99.7% y Metanol grado HPLC todos marca *Mallinckrodt*, además se utilizó Acetonitrilo grado HPLC marca Merck, Sulfato de Sodio Anhidro marca Carlo Erba y Nitrógeno grado 5.

3.1.3 MATERIALES DE REFERENCIA CERTIFICADOS

En la tabla N° 12 se reportan las especificaciones comerciales de los estándares de referencia, empleados en este estudio.

Tabla N° 12: Especificaciones del material de referencia certificado.

PLAGUICIDA	NOMBRE IUPAC	CAS	FABRICANTE	CONCENTRACION $\mu\text{g/mL}$
<i>Clorpirifos</i>	O, O-dietil O-3 ,5,6-triclorpiridin-2-il fosforotioato	2921-88-2	ABSOLUTE STANDARD	1000
<i>Metamidofos</i>	O,S-dimetil fosforamidotiodato	10265-92-6	ABSOLUTE STANDARD	1000
<i>Carbaril</i>	Metil carbamato de 1-Naftilo.	63-25-2	ABSOLUTE STANDARD	1000
<i>Carbofuran</i>	2,2 dimetil-2,3-dihidro-1-benzofuran- 7-il-metilcarbamato.	1563-66-2	ABSOLUTE STANDARD	1000

3.1.4 SOLUCIONES

3.1.4.1 Soluciones patrón

A partir de cada estándar de plaguicida, se preparó una solución patrón de 100 $\mu\text{g/mL}$ en metanol grado HPLC.

3.1.4.2 soluciones de trabajo

A partir de las solución patrón de cada plaguicida, se prepararon soluciones de trabajo de concentraciones de 2, 1, 0,5, 0,1, 0,05, 0,01 0,001, 0,0001, 0,00005 y 0,00001 $\mu\text{g/mL}$ en agua grado HPLC

3.2 DETERMINACION DE LAS CONDICIONES CROMATOGRAFICAS

Para el presente trabajo se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución HPLC Agilent 1200, el cual se compone de los siguientes módulos:

- Bomba cuaternaria
- Detector de longitud de onda variable
- Compartimento termostatzado de columna
- Automuestreador para 100 muestras,
- Desgasificador.
- Sistema de control a través del software Chemstation de Agilent Versión 0302



Figura N° 9: Cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent 1200

3.2.1 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CLORPIRIFOS

3.2.1.1 *Diseño experimental*

Para la determinación de las condiciones cromatográficas de detección de Clorpirifos, se tuvo en cuenta las condiciones cromatográficas de 4 estudios reportados (Tabla N° 14); estas condiciones se evaluaron mediante un diseño experimental factorial multinivel 3^3 aleatorizado, en el cual se evaluaron 3 variables (composición de la fase móvil, flujo de la fase móvil y longitud de onda) a 3 niveles (alto, medio, bajo) tomando como variable de respuesta, el área cromatográfica, tabla N° 13.

Tabla N° 13: Variables a tener en cuenta en el diseño experimental.

Variable	Niveles			Variable de Respuesta
	Alto	Central	Bajo	
(A) Fase móvil (ACN:H ₂ O)	80:20	75:25	60:40	Área Cromatográfica
(B) Flujo (mL/min)	1.0	0.8	0.5	
(C) Longitud de onda (nm)	220	210	200	

Tabla N° 14 Estudios consultados para la determinación de las mejores condiciones Cromatográficas para el análisis de Clorpirifos y Metamidofos por HPLC-VWD.

AUTOR O TITULO	MATRIZ ESTUDIADA	PLAGUICIDAS ESTUDIADOS	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS					
			COLUMNA	FASE MÓVIL ACN/H ₂ O (V/V)	FLUJO FM (mL/min)	λ (nm)	T (°C)	VOLUMEN DE INYECCION (μL)
Richard E. Mauldin Thomas M. Primus y col. (2006)	Semillas de aceite de girasol	Clorpirifos	C18 (250 x 4.6 mm, 5 μm)	75:25	1	220	25	100
Shahid Mahboob; Ghazala, S. Sultana, y col. (2011)	Carne de pez <i>cirrhinus rigala</i>	Clorpirifos Metamidofos	C18 (250 x 4.6 mm, 5 μm)	80:20	1	200	30	20
ZAHIDA PARVEEN, RIAZUDDIN, SAJID IQBAL, y col. (2011)	Frutas	Clorpirifos Metamidofos	C18 (250 x 4.6 mm, 5 μm)	75:25	0.5	210	35	20
Campos Ch. Cristian A. y col. (2010)	Tomate	Metamidofos	C18 (250 x 4.6 mm, 5 μm)	60:40	1	210	25	50
WAKOPAK WAKOSIL *		Metamidofos	C18 (250 x 4.6 mm, 5 μm)	10:90	0,8	200	35	50

* Se evaluó solo para Metamidofos

En total se realizaron 64 experimentos (tabla N° 1, anexo 2); Utilizando soluciones de trabajo de Clorpirifos de 2μg/mL previamente filtradas en filtros de jeringa PTFE de 0,45μm

3.2.2 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL ANÁLISIS DE METAMIDOFOS

3.2.2.1 Diseño experimental

Para la determinación de las condiciones cromatográficas de detección de Metamidofos, se tuvo en cuenta las condiciones cromatográficas de 5 estudios reportados (Tabla N° 14); estas condiciones se evaluaron mediante un diseño experimental factorial multinivel 3^3 aleatorizado, en el cual se evaluaron 3 variables (composición de la fase móvil, flujo de la fase móvil y longitud de onda) a 3 niveles (alto, medio, bajo) tomando como variable de respuesta, el área cromatográfica, tabla N° 13.

En total se realizaron 64 experimentos (tabla N° 1, anexo 2); Utilizando soluciones de trabajo de Metamidofos de 2µg/mL previamente filtradas en filtros de jeringa PTFE de 0,45µm

3.2.3 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL ANÁLISIS DE CARBOFURAN Y CARBARIL.

Para la determinación de las condiciones cromatográficas de análisis, se tuvo en cuenta las condiciones cromatográficas de 3 estudios reportados (tabla N° 15) cuyas condiciones se evaluaron en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia con detector de arreglo de diodos HPLC-DAD perteneciente al laboratorio de cromatografía de la Universidad de Nariño, como se describe en la tabla N° 16

Tabla N° 15: Estudios consultados para determinar las condiciones cromatográficas para el análisis de Carbofuran y Carbaril por HPLC-VWD.

AUTOR O TÍTULO	MATRIZ ESTUDIADA	PLAGUICIDAS ESTUDIADOS	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS					
			COLUMNA	FASE MÓVIL ACN/H ₂ O (V/V)	FLUJO FM (mL/min)	λ (nm)	T (°C)	VOLUMEN DE INYECCION (µL)
Jorge Juan Soto Chinchilla 2009	aguas y alimentos	Carbofuran Carbaril	C18 (250 x 4.6 mm, 5 µm)	75:25	1,0	215	25	100
Catálogo Phenomenex 2010	Agua	Carbofuran Carbaril	C18(150 mm x 4,6 mm ID, 5-µm)	65:35	0,5	254	22	50
Leonardo H. S. Damasceno*; M. y col. 2008	Aguas subterráneas	Carbaril	C18 (250 x 4.6 mm, 5 µm)	40:60	1.2	200	40	100

Para cada uno de los ensayos se utilizó soluciones de trabajo de Carbofuran y Carbaril de 2,0µg/mL previamente filtradas en filtros de jeringa PTFE de 0,45µm

Tabla N° 16 condiciones cromatográficas utilizadas en los ensayos

FASE MOVIL ACN/H ₂ O (V/V)	LONGITUD DE ONDA (nm)	FUJO FM (mL/min)	T (°C)	VOLUMEN DE INYECCION (µL)
75:25	215	0,5	40	20
	254	0,5	40	20
	200	0,5	40	20
65:35	215	0,5	40	20
	254	0,5	40	20
	200	0,5	40	20
40:60	215	0,5	40	20
	254	0,5	40	20
	200	0,5	40	20

Inicialmente y por separado tanto para Carbofuran como Carbaril se realizaron 3 ensayos, con los cuales se buscó determinar variables como fase móvil y longitud de onda, dejando constantes flujo de fase móvil, temperatura y volumen de inyección; las cuales se evaluaron posteriormente una vez determinadas las primeras.

El flujo se evaluó a 1,0 y 1,2 mL/min, la temperatura a 25°C, 40°C, y 20°C, y el volumen de inyección a 50µL y 20µL.

3.3 EXTRACCION DE LOS PLAGUICIDAS DE ESTUDIO

Se evaluaron los métodos de Extracción Líquido-líquido (Método 3520 de la EPA) y Extracción en fase sólida (Método 525 de la EPA).

3.3.1 EVALUACION DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO (ELL)

Se trabajó con muestras de agua tipo I de 1 litro, enriquecidas con cada uno de los plaguicidas de estudio a una concentración de 0,0001 µg/mL, cada muestra se trasvaso a un embudo de decantación y se extrajo 3 veces utilizando 50 mL de solvente (se evaluaron 7 tipos de solventes, tabla N° 17), posteriormente los extractos obtenidos se concentraron hasta sequedad, se redisolvieron en 1 mL de agua tipo I, se filtraron con filtros de jeringa PTFE 0.45µm y se analizaron por HPLC-VWD. En esta etapa de extracción líquido-líquido se evaluaron variables como: la polaridad del solvente, la adición de sal (0, 5% p/v) y el método de concentración (kuderna danich, corriente de nitrógeno y rotavaporador), el diagrama general del procedimiento se muestra en la figura N° 10

Inicialmente se evaluaron los solventes (hexano, éter, diclorometano, acetato de etilo), utilizándose como método de concentración, corriente de nitrógeno, posteriormente se evaluaron las mezclas de solventes.

Una vez determinado el solvente de extracción, se evaluó el método de concentración, y finalmente se determinó el efecto que ocasiona la adición de sal al rendimiento de la extracción liquido-liquido.

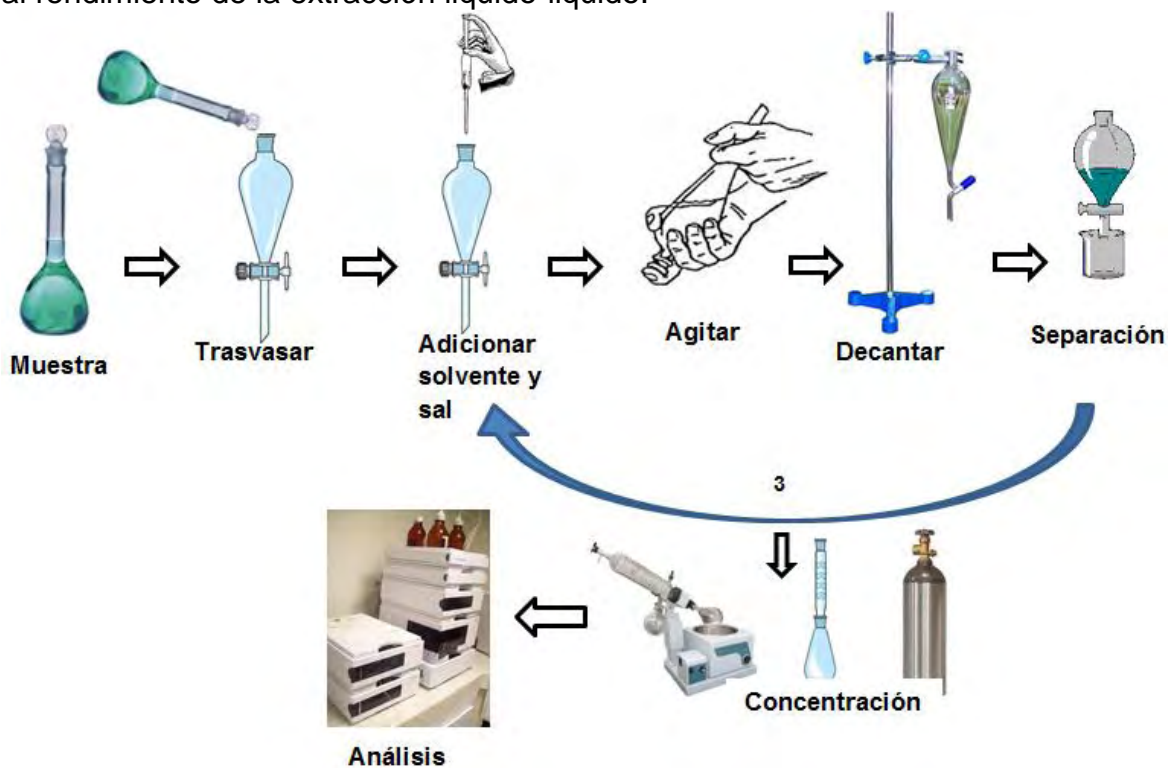


Figura N° 10: Procedimiento de extracción líquido-líquido

Tabla N° 17 Solventes empleados en la Extracción Líquido-Líquido

SOLVENTE	DENSIDAD g/cm ³	POLARIDAD P'	PUNTO DE EBULLICION °C
Hexano	0,655	0,0	69
Éter	0,713	2,8	35
Diclorometano	1,327	3,1	40
Acetato de Etilo	0,902	4,4	77
Diclorometano/Acetato de etilo (1:1)			
Diclorometano/Acetato de etilo (1:3)			
Diclorometano/Acetato de etilo (3:1)			

El análisis cromatográfico se realizó teniendo en cuenta las condiciones establecidas en las tablas N° 18 y 19; condiciones establecidas de acuerdo a los numerales 3.2.1 y 3.2.2

Tabla N° 18: Condiciones Cromatográficas para el análisis de Clorpirifos y Metamidofos por HPLC-VWD.

	<i>CLORPIRIFOS</i>	<i>METAMIDOFÓS (WAKOPAK WAKOSIL)</i>
<i>EQUIPO</i>	Cromatógrafo liquido de alta resolución marca Agilent 1200	Cromatógrafo liquido de alta resolución marca Agilent 1200
<i>COLUMNA CROMATOGRÁFICA</i>	ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6 x 250 mm, 5 µm	ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6 x 250 mm, 5 µm
<i>FASE MÓVIL</i>	Acetonitrilo : agua (75:25)	Acetonitrilo : agua (10:90)
<i>PRESIÓN DE LA COLUMNA</i>	Max 400 bar	Max 400 bar
<i>FLUJO DE LA COLUMNA</i>	1 ml/min	0.8 ml/min
<i>TEMPERATURA DE LA COLUMNA</i>	35°C	35°C
<i>VOLUMEN DE INYECCIÓN</i>	50 µl	50 µl
<i>INYECTOR</i>	Automático	Automático
<i>DETECTOR</i>	Longitud de onda variable	Longitud de onda variable
<i>LONGITUD DE ONDA DEL DETECTOR</i>	200 nm	200 nm
<i>TIEMPO DE ANÁLISIS</i>	11 min	7 min

Tabla N° 19: Condiciones Cromatográficas para el análisis de Carbofuran y Carbaril por HPLC-VWD.

	<i>CARBOFURAN Y CARBARIL</i>
<i>EQUIPO</i>	Cromatógrafo liquido de alta resolución marca Agilent 1200
<i>COLUMNA CROMATOGRÁFICA</i>	ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6 x 250 mm, 5 µm
<i>FASE MÓVIL</i>	Acetonitrilo : agua (40:60)
<i>PRESIÓN DE LA COLUMNA</i>	Max 400 bar
<i>FLUJO DE LA COLUMNA</i>	1.2 ml/min
<i>TEMPERATURA DE LA COLUMNA</i>	40°C
<i>VOLUMEN DE INYECCIÓN</i>	20 µl
<i>INYECTOR</i>	Automático
<i>DETECTOR</i>	Longitud de onda variable
<i>LONGITUD DE ONDA DEL DETECTOR</i>	200 nm
<i>TIEMPO DE ANÁLISIS</i>	12 min

3.3.2 EVALUACION DE LA EXTRACCION EN FASE SOLIDA (SPE)

Para el método de extracción en fase sólida, se tuvo en cuenta el método descrito por el Instituto Nacional de Salud el cual está basado en el método de la Agencia

de Protección del Medio Ambiente (EPA) 525⁶². Las etapas que se llevaron a cabo en la extracción en fase sólida fueron:

Acondicionamiento de los discos Speedisk de Octadecilo C18 de 50mL: cada disco se acoplo herméticamente a un extractor de fase sólida (manifold), con un vacío de 1,0 pulgada de Hg, esto equivale a un flujo de aproximadamente 0,5 mL/min. Cada disco fue acondicionado adicionando de forma sucesiva 10mL de acetato de etilo, 10mL de diclorometano, 10mL de metanol y 10 mL de agua tipo I, sin dejar secar el adsorbente entre porciones y con una velocidad de flujo de 0,5 mL/min.

Aplicación de la muestra de agua: La muestra de 1L de agua destilada tipo I enriquecida con los plaguicidas de estudio, cada uno a una concentración de 0.0001 µg/mL, inicialmente se filtró en papel franja azul, posteriormente se pasó a través de los discos a un flujo de 2,0 mL/min, se lavó el disco con 5 mL de agua tipo I, y se lleva a sequedad por 15 minutos, aplicando vacío de 1,0 pulgadas de Hg,

Desorción de los plaguicidas: se agregó 5mL de acetato de etilo, 5mL de diclorometano y 2 porciones de 3mL de la mezcla acetato de etilo/diclorometano (1:1) sin dejar secar la fase del disco entre porciones y con un vacío de 1,0 pulgadas de Hg. Se deja a sequedad por 15 minutos con un vacío de 10 pulgadas de Hg.

Concentración y análisis: El extracto obtenido se deshidrato con sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad utilizando rota-evaporador. Finalmente el extracto se redisolvió en 1mL de agua tipo I, se filtró por filtros de jeringa PTFE 0.45 µm y se analizó por Cromatografía Líquida de Alta Resolución, utilizando las condiciones cromatográficas establecidas en las tablas N° 18 y 19; Condiciones establecidas de acuerdo a los numerales 3.2.1 y 3.2.3. El diagrama del proceso de extracción SPE se muestra en la figura N° 11.

⁶² EPA Document #: EPA/600/R-12/010. Disponible en: http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/upload/525_2-SOCs.pdf

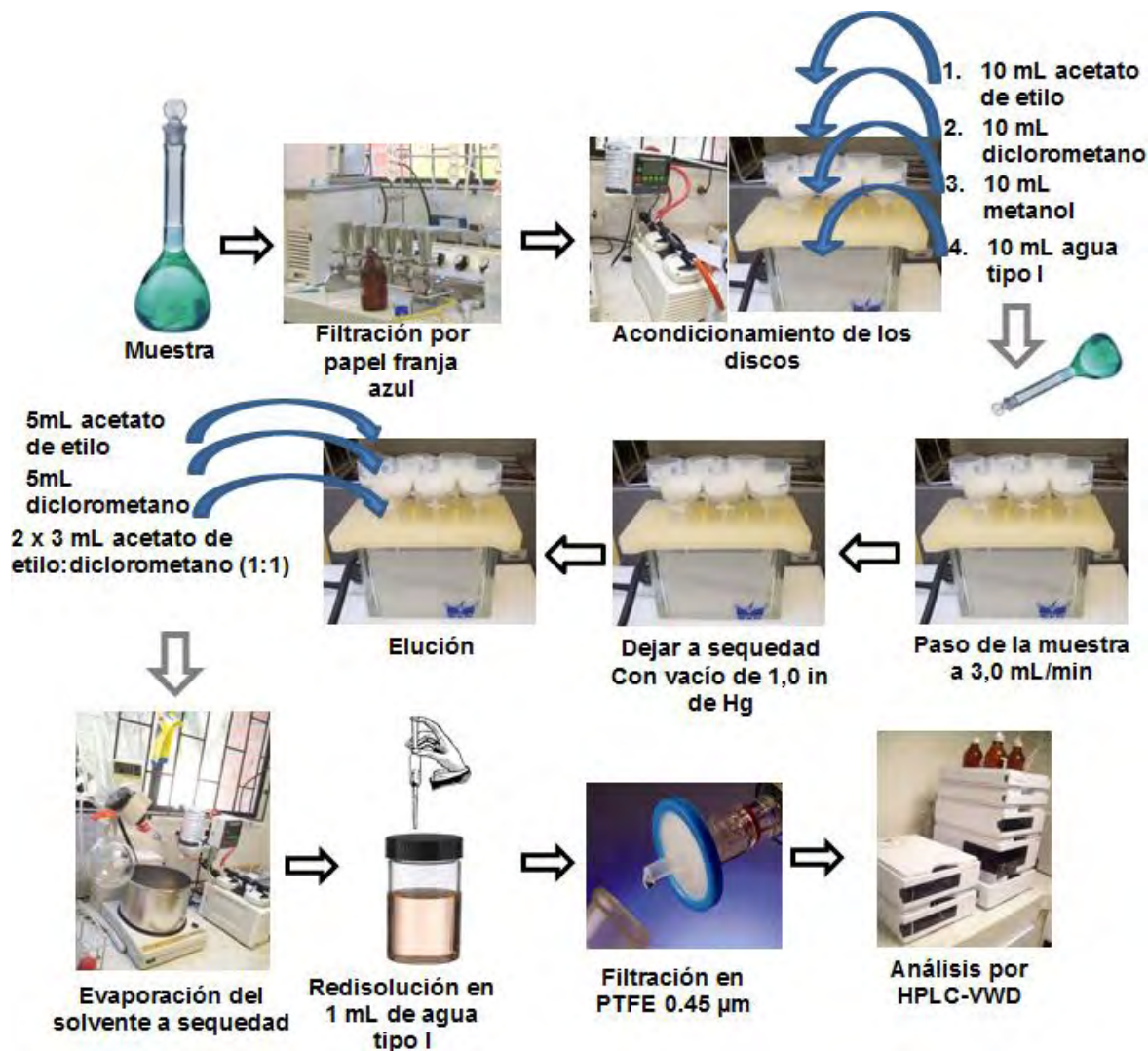


Figura N° 11: Extracción de plaguicidas mediante SPE.

3.3.3 COMPARACION DE LAS TECNICAS DE EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y EXTRACCION EN FASE SOLIDA.

Una vez establecidas las condiciones para la extracción liquido-líquido y extracción en fase sólida (tabla N° 21 sección de resultados y análisis), se compararon entre si su eficiencia y reproducibilidad. Para cada una de las técnicas de extracción se trabajaron 3 muestras de agua destilada tipo I (enriquecidas con cada plaguicida a una concentración de 0,0001µg/mL) y un blanco (agua destilada tipo I). Una vez realizada la extracción se analizó el extracto por HPLC-VWD a las condiciones establecidas en las tablas N° 18 y 19.

3.4 ESTANDARIZACION DE LA TECNICA HPLC/VWD

3.4.1 LINEALIDAD

Para evaluar la linealidad del método para el análisis de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril, se elaboró una curva de calibración utilizando 5 concentraciones (0.05, 0,10, 0,5, 1 y 2µg/mL). Cada concentración se inyectó 4 veces por HPLC-VWD a las condiciones cromatográficas descritas en las tablas N° 18 y 19. Condiciones establecidas de acuerdo a los numerales 3.2.1 y 3.2.3.

Es importante mencionar que para establecer las concentraciones antes mencionadas, inicialmente se realizó un análisis exploratorio, utilizando concentraciones que estaban por encima del extremo mostrado, los cuales al ser relacionados en la recta de calibrado, disminuían el coeficiente de correlación (r).

3.4.2 PRECISIÓN

Para evaluar la precisión se determinó la repetibilidad y reproducibilidad del método.

3.4.3 REPETIBILIDAD

Para este estudio se inyectaron 7 veces soluciones de 2.0µg/mL de Clorpirifos, Metamidofos Carbofuran y Carbaril, empleando las condiciones cromatográficas descritas en las tablas N° 18 y 19. De los datos obtenidos se calculó el promedio, desviación estándar (S), y coeficiente de variación (CV) de las áreas y los tiempos de retención de los analitos.

3.4.4 REPRODUCIBILIDAD

Para este estudio se inyectaron 7 veces soluciones de 2.0µg/mL de Clorpirifos, Metamidofos Carbofuran y Carbaril, empleando las condiciones cromatográficas descritas en las tablas N° 18 y 19. Las inyecciones se realizaron durante tres días, por diferente analista. De los datos obtenidos se calculó el promedio, desviación estándar (S), y coeficiente de variación (CV) de las áreas y los tiempos de retención de los analitos.

3.4.5 EXACTITUD/ PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN

1 mL de solución de concentración de 0,1 µg/mL para cada plaguicida, se llevó a un volumen de 1 L con agua destilada tipo I, alcanzando una concentración de cada plaguicida de 0,0001µg/mL; posteriormente se realizó la correspondiente extracción por SPE y finalmente se analizó por HPLC-VWD a las condiciones cromatográficas descritas en las tablas N° 18 y 19. Esto se realizó 7 veces y se calculó en porcentaje de recuperación.

3.4.6 LIMITE DE DETECCION (LD) Y CUANTIFICACION (LQ)

El límite de detección, se determinó a través del análisis cromatográfico de diluciones sucesivas de cada analito, hasta alcanzar una señal mínima y apreciable visiblemente sobre el ruido del cromatograma, el límite de cuantificación se tomó como 10 veces superior al límite de detección⁶³.

3.4.7 SELECTIVIDAD

Para determinar la selectividad del método para cada plaguicida, en el cromatógrafo se inyectó extracto blanco de matriz (agua tipo I) y extracto blanco de matriz fortificado con el plaguicida a una concentración de 2µg/mL. La interpretación se hizo comparando el cromatograma del extracto blanco de matriz con el cromatograma del extracto blanco de matriz fortificada, evidenciando presencia o ausencia de interferencias al tiempo de retención de cada plaguicida en particular.

3.5 ANALISIS DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS DE AGUA PARA CONSUMO HUMANO DE LOS MUNICIPIOS DE GUALMATAN, PUIPALES, IPIALES, POTOSI, Y TUQUERRES.

3.5.1 DETERMINACION DEL PUNTO DE MUESTREO

Según la Resolución 0811 de 2008 de los ministerios de la Protección Social y de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial “Por medio de la cual se definen los lineamientos a partir de los cuales la Autoridad Sanitaria y las Personas Prestadoras, concertadamente definirán en su área de influencia los lugares y puntos de muestreo para el control y la vigilancia de la calidad del agua para Consumo humano en la red de distribución”. El Instituto Departamental de Salud de Nariño de acuerdo al mapa de riesgos y al número de habitantes de cada municipio (Resolución 4716 de noviembre 18 de 2010), tiene definido el número de puntos de muestreo en cada municipio, de los cuales el presente estudio tomo dos puntos, uno en la zona rural antes de la planta de tratamiento de cada municipio y el otro punto aguas abajo, después de la zona urbana de cada municipio. En la tabla N° 20 se muestran cada uno de los lugares de toma de muestra de la presente investigación.

⁶³ CALLEJON, Raquel. Desarrollo de un método de HPLC para la determinación de aminoácidos en vinagre y su validación en muestras reales, tesis Universidad de Sevilla, 2013

Tabla N° 20: puntos de muestreo para cada uno de los municipios de estudio

<i>MUNICIPIO</i>	<i>GUALMATÁN</i>	<i>PUPIALES</i>	<i>IPIALES</i>	<i>POTOSÍ</i>	<i>TUQUERRES</i>
<i>LUGAR MUESTREO</i>					
<i>Punto 1</i>	vereda el Carmelo	Barrio el Progreso	Barrio la Frontera	Barrio Nazareth	Barrio el Partidero
<i>Punto 2</i>	Barrio San Francisco de Líbano	Vereda Concordia	Barrio el Charco	Barrio la inmaculada	Barrio Cucas Remo

3.5.2 FRECUENCIA PARA TOMA DE MUESTRAS

Si bien los artículos 21-24 de la resolución 2115 de 2007 establecen la frecuencia y número de muestras para control y vigilancia de la calidad físico – química y microbiológica del agua para consumo humano, dependiendo de la población y el mapa de riesgos; para el presente estudio, la toma de muestras se realizó semanalmente durante 5 semanas, garantizando que durante este periodo, haya existido por lo menos una aplicación de plaguicidas en el tratamiento de los cultivos agrícolas (según los agricultores la aplicación de plaguicidas a los cultivos se realiza cada 10 o 12 días)

3.5.3 DESCRIPCION DEL PUNTO DE MUESTREO

En cada punto de muestreo se localizaba una cajilla con tapa también denominada cometida domiciliaria ubicada ya sea bajo el andén o a nivel del piso (Figura N° 12), la cual contenía en su interior un grifo conectado directamente a la tubería de distribución.



Figura N° 12 cajillas de izquierda a derecha: cajilla municipio de Potosí, toma de muestra Potosí, cajilla municipio de Pupiales

3.5.4 TIPO DE MUESTRA Y METODO DE MUESTREO

Se tomaron muestras de tipo puntuales, es decir se recogieron en el mismo lugar y momento determinado representado la composición de la fuente en ese punto, tiempo y circunstancias particulares. El método utilizado para la toma de muestras fue de forma manual.

3.5.5 CONTROL Y VIGILANCIA DEL MUESTREO, PREPARACIÓN Y ANALISIS

3.5.5.1 Etiquetas.

Se identificó cada muestra con un rotulo o cinta adherido al recipiente con tinta indeleble, el cual contenía: Numero de muestra, lugar de muestreo (Municipio o vereda), nombre del recolector, fecha, hora, punto de muestreo y preservación realizada, Figura N°1 Anexo 8

3.5.5.2 Formato Captura de Datos para Campo

También llamada cadena de custodia (Figura 2 Anexo 8), en la cual se diligencio información como: localización del punto de muestreo, propósito de muestreo, tipo de muestra, preservación, fecha y hora de la recolección, observaciones y mediciones en campo, firmas del personal responsable del muestreo. Este formato se llevó al laboratorio junto con las muestras recolectadas.

3.5.5.3 Entrega de las Muestras al Laboratorio

Las muestras se entregaron al laboratorio personalmente lo más pronto posible después del muestreo, en el transcurso de 12 horas como máximo. Las muestras se entregan en la oficina de recepción del laboratorio, registrándose su llegada con fecha y hora. Posteriormente las muestras se guardan en nevera para su refrigeración menor a 4° C, hasta el momento de su análisis.

3.5.6 EQUIPOS Y MATERIALES

Para la toma de muestras se utilizaron los siguientes implementos: Libreta de apuntes, geoposicionador y nevera portátil con suficientes pilas de hielo para mantener una temperatura cercana a los 4° C. frasco lavador, cinta pegante o de enmascarar, adhesivos, bolígrafo o marcador de tinta indeleble, papel absorbente, formato de cadenas de custodia, guantes, carnet de identificación, frascos de plástico de 500 mL, frascos de vidrio ambar de 1 L.

3.5.7 NATURALEZA Y LIMPIEZA DE LOS RECIPIENTES PARA LAS MUESTRAS

Recipientes de plástico

Para análisis fisicoquímicos, se utilizaron recipientes de plástico en polipropileno de 500 mL de capacidad, previamente lavados con el siguiente procedimiento: inmersión en solución jabonosa neutra al 1% v/v por una hora, lavado con esponja o churrusco adecuado, enjuague con abundante agua de grifo, Purga con agua destilada tipo I, 3 veces.

Recipientes de vidrio

Para el análisis de plaguicidas se utilizaron recipientes de vidrio, de color ámbar, de 1 L de capacidad, previamente lavados con el siguiente procedimiento: Lavado con agua y detergente neutro, enjuague con agua destilada tipo I, secado en horno a 105 ° C por 2 horas, enfriamiento, enjuague hexano y finalmente secado a temperatura ambiente.

3.5.8 CONTROL CON REPLICAS

En cada muestreo se realizó una réplica para el análisis de plaguicidas, cuya muestra siguió el mismo procedimiento descritos en este documento.

3.5.9 MUESTREO

En los recipientes de boro silicato se tomó 1L de muestra por cada punto, se cerraron herméticamente colocando en la boca del recipiente papel aluminio (para evitar el contacto directo de la muestra con la tapa plástica), se refrigeró aproximadamente a 4°C, y se transportó inmediatamente al laboratorio para el análisis de plaguicidas. En el caso de los recipientes plásticos se tomó 500mL de muestra. Las muestras se rotularon, se refrigeraron aproximadamente a 4°C y se transportaron inmediatamente al laboratorio para efectuarles el respectivo análisis fisicoquímico.

3.5.10 ANALISIS DE MUESTRAS

Las muestras de agua inicialmente se filtraron, posteriormente se extrajeron mediante extracción en fase sólida (proceso definido en la sección 3.3.2) y finalmente se analizaron por HPLC-VWD, utilizando la condiciones cromatográficas definidas en las tablas N° 18 y 19. Condiciones establecidas de acuerdo a los numerales 3.2.1 y 3.2.3. El procedimiento en general se muestra en el flujograma de la figura N° 13 El tiempo de almacenamiento para realizar el análisis no superó los siete días, tal como lo establece la EPA (Método 507) para muestras acuosas⁶⁴

⁶⁴ EPA. METHOD 507. determination of nitrogen- and phosphorus-containing pesticides in water by gas chromatography with a nitrogen-phosphorus detector. 1989.



Figura N° 13 Ilustración general de las etapas llevadas a cabo en el análisis de muestras de agua, realizada por Franklin Quenguan y Giovanni Eraso (Autores de la investigación)

4. RESULTADOS Y ANALISIS

4.1 CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CLORPIRIFOS Y METAMIDOFOS.

Los resultados del diseño experimental factorial multinivel 3^3 (tabla 1 anexo 2) fueron analizados mediante ANOVA, usando el *software* estadístico *Statgraphics Centurion XVI*.

4.1.1 ANALISIS DE VARIANZA

Con este diseño se estudiaron 6 efectos: tres principales y tres interacciones de segundo orden.

El análisis de varianza ANOVA, para la variable de respuesta, medida en área cromatográfica (mAU*s) se encuentra en el Anexo 2, tabla N° 2. Allí se resume el análisis estadístico realizado para el diseño experimental. Para cada factor se muestran dos términos: la *Razón-F* que mide la contribución de cada factor en la variación de la respuesta y el *Valor-P*, el cual es una medida de la significancia estadística de cada uno de estos valores, de manera que para este estudio los factores considerados como significativos en el análisis cromatográfico de Clorpirifos, son aquellos que presentan un valor $p < 0,05$ que es el valor de probabilidad o nivel de confianza del 95%.

En la tabla ANOVA (Anexo 2, tabla N° 2) y los diagramas de Pareto de la figura N° 14, se observa que el factor significativo para el análisis de Clorpirifos por HPLC.VWD, corresponde a la interacción principal de la longitud de onda cuya variable corresponde a la de mayor sensibilidad analítica.

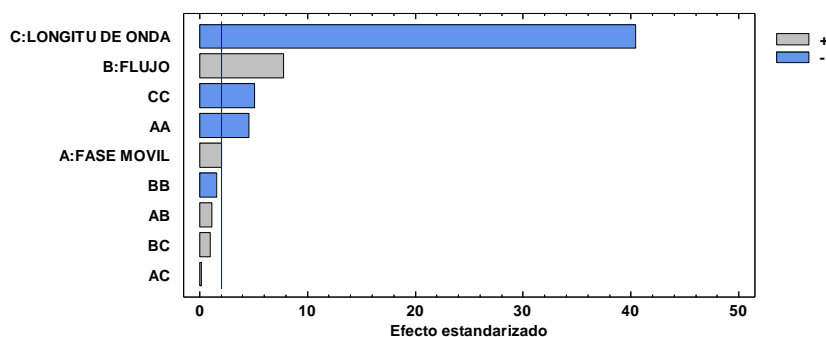


Figura N° 14: Diagramas de Pareto de efectos para Clorpirifos.

En la figura N° 15 se observan los efectos de interacción entre los factores. La interpretación gráfica de estas interacciones, muestran que las condiciones cromatográficas óptimas para el análisis de Clorpirifos por HPLC-VWD fueron: fase móvil ACN/H₂O (75:25), flujo de 1.0ml/min y longitud de onda de 200nm.

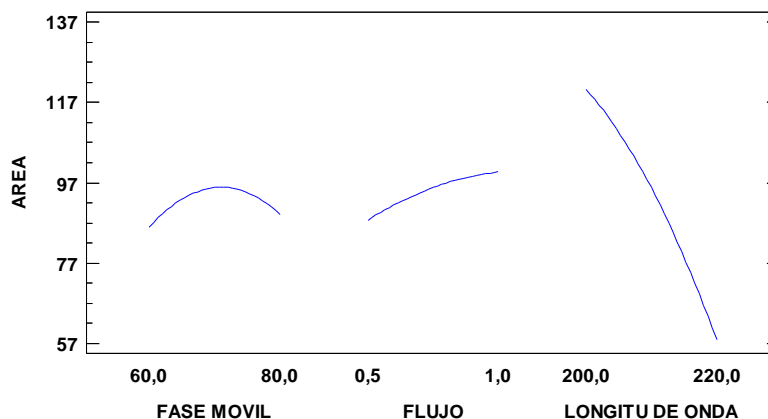


Figura N° 15: Efectos principales de interacción de fase móvil, flujo y longitud de onda, en el análisis de Clorpirifos por HPLC.VWD.

En el caso de Metamidofos, no fue posible identificarse la señal utilizando las mismas condiciones cromatográficas utilizadas para Clorpirifos, y en un tiempo máximo de 45 minutos, esto se explica por tratarse de Metamidofos un analito con polaridad relativamente opuesta a la de Clorpirifos; por esta razón se utilizaron las condiciones Cromatográficas establecidas por WAKOPAK WAKOSIL⁶⁵. En la tabla N° 18 se resumen las condiciones cromatográficas establecidas para el análisis de Clorpirifos como de Metamidofos.

En las figuras N° 16 y 17 se muestran los perfiles cromatográficos de Clorpirifos y Metamidofos respectivamente correspondientes a las condiciones cromatográficas establecidas.

⁶⁵ http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/chromato/pdf_app/Pesticide/01.htm#20000202-1 revisado 16 de mayo de 2012

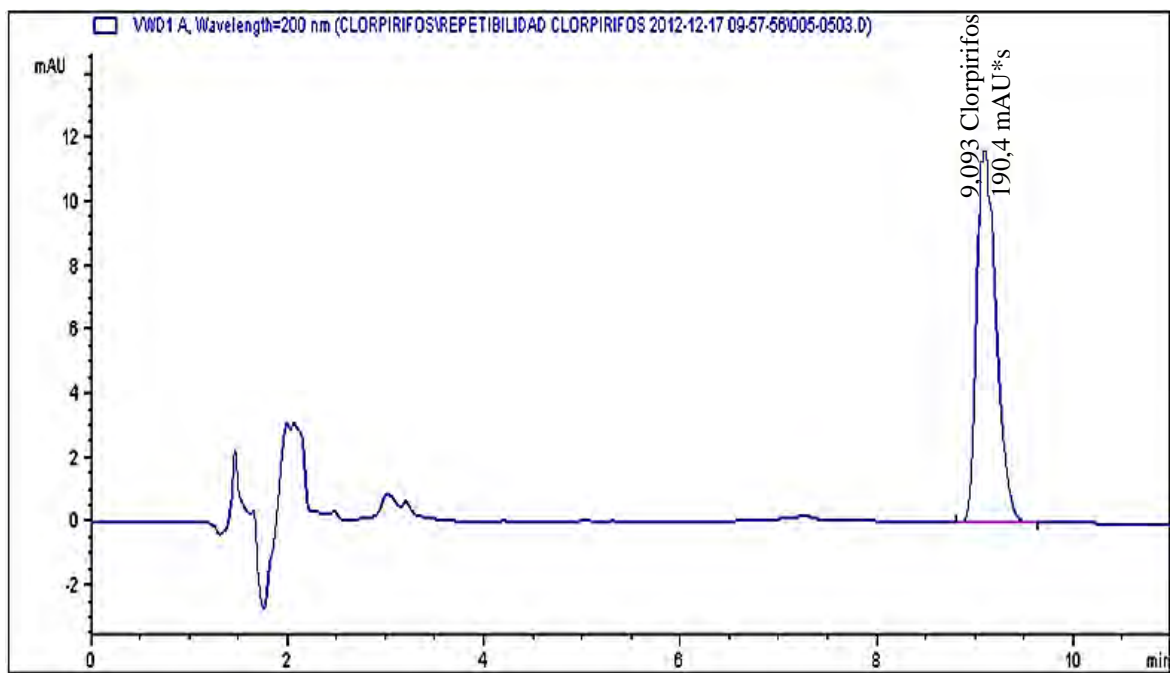


Figura N° 16: Cromatograma, Clorpirifos (t_R : 9,093min), HPLC-VWD. λ 200nm.

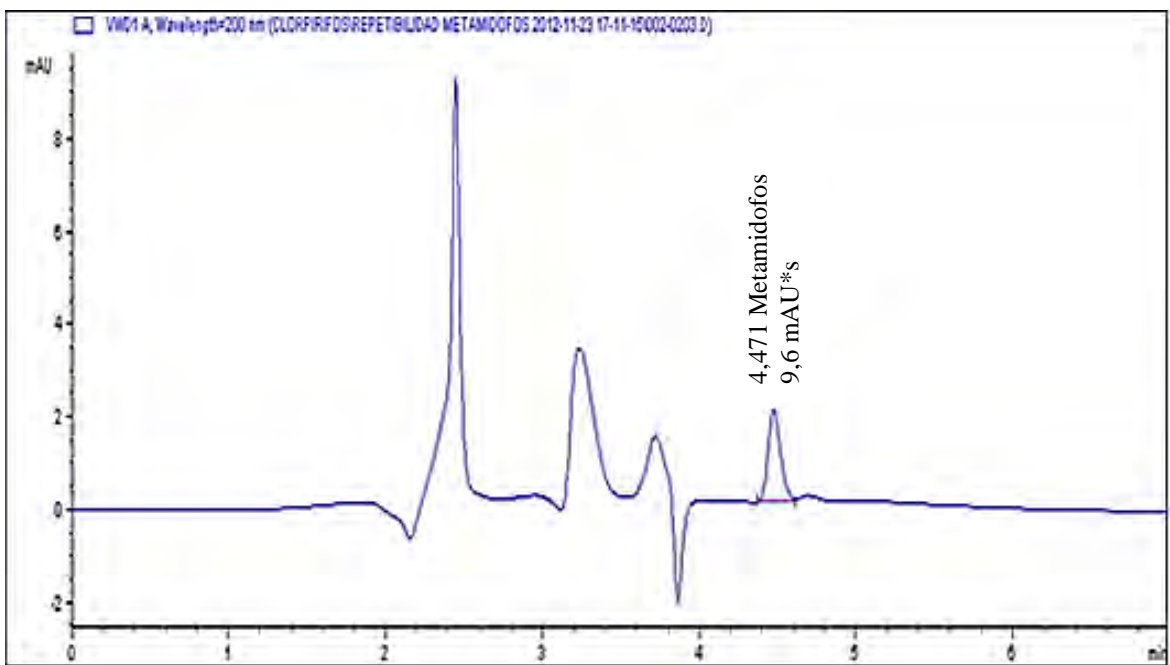


Figura N° 17: Cromatograma, Metamidofos (t_R : 4,471min), HPLC-VWD. λ 200nm.

4.2 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL ANÁLISIS DE CARBOFURAN Y CARBARIL

1. Barrido de exploración del Carbofuran desde 190nm a 450nm para visualizar la región en la que mejor absorbe este compuesto.

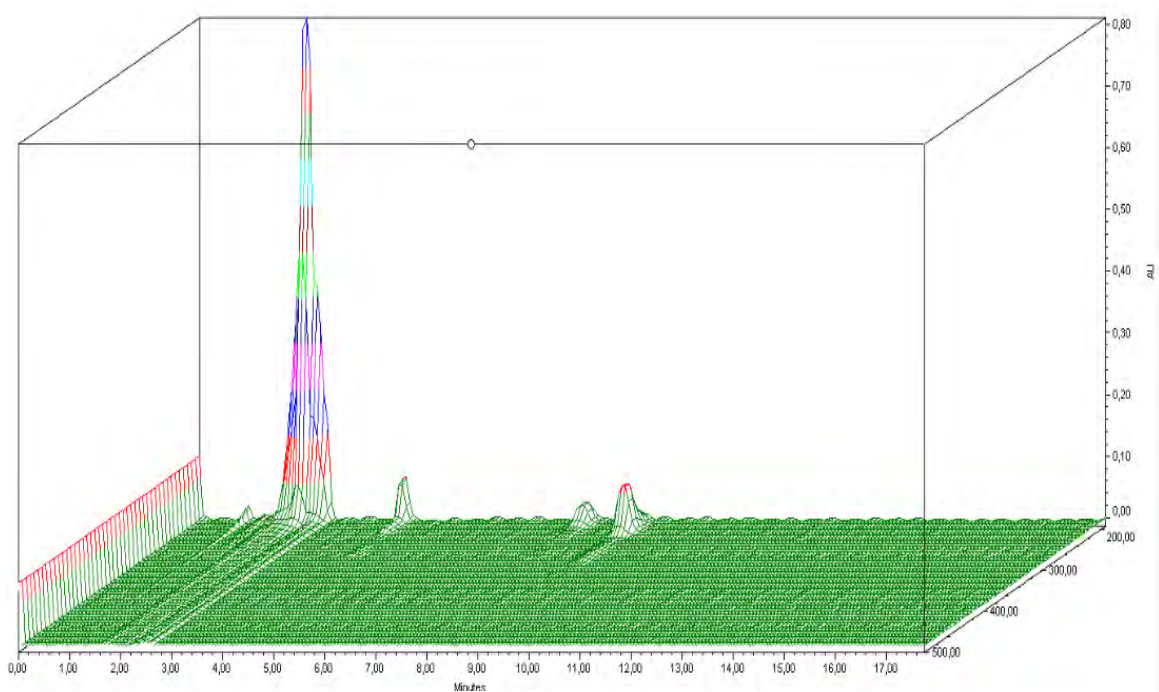


Figura N° 18 barrido de exploración del Carbofuran desde 190nm a 450nm. En un HPLC-DAD

2. Inyección del Carbofuran en gradiente a tres longitudes de onda reportadas 200nm, 215nm y 254nm, con un flujo de referencia de 0,5ml/min y una temperatura de 40°C.

Resultados: tiempo de retención 21,964, con una composición fase móvil óptima de ACN-H₂O 60-40.

3. Inyección isocrática del Carbofuran: composición fase móvil ACN/H₂O (60:40), flujo 0,5ml/min, temperatura 40°C, longitud de onda 200nm, Figura N° 19

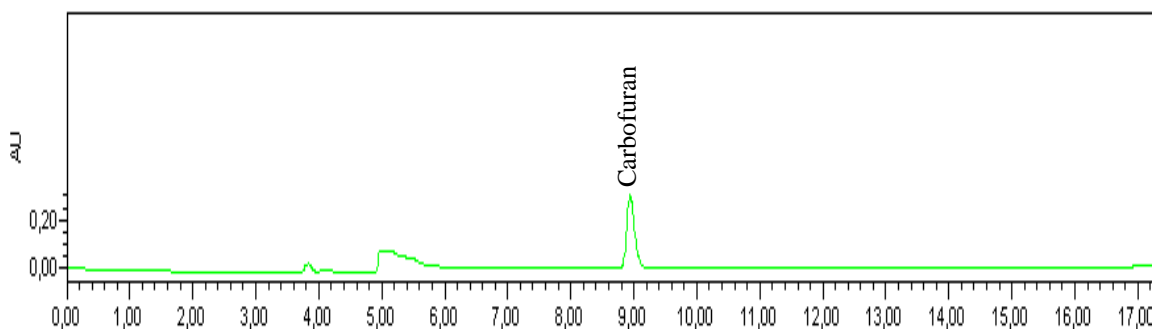
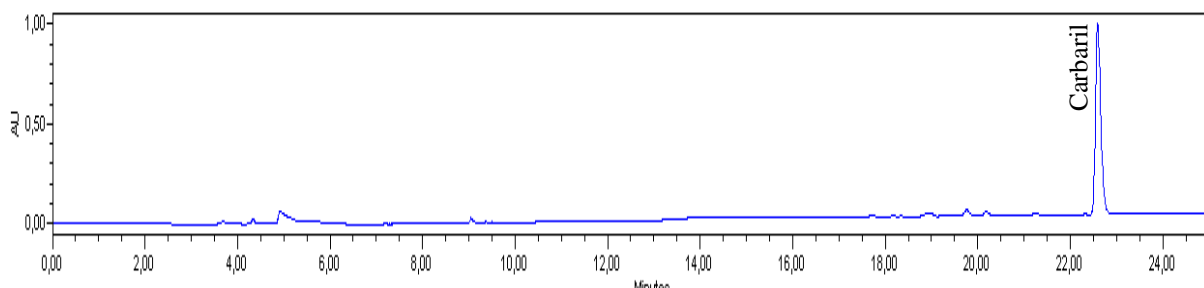


Figura N° 19 cromatograma inyección isocrática del Carbofuran en HPLC-DAD

Como se observa en la figura N° 19 la señal de Carbofuran mejora el tiempo de retención, disminuyendo a 8,943 min.

4. Inyección del Carbaril en gradiente, a 200nm, flujo de 0,5 ml/min y temperatura de 40°C.



Respuesta: Se identificó el Carbaril a un tiempo de retención de 22,593 min. Utilizándose como fase móvil ACN/H₂O 60:40.

5. Se Inyecta isocráticamente el carbaril por HPLC-DAD a un flujo de 0,5mL/min., una fase móvil de ACN/H₂O 60:40, una temperatura de 40°C y una longitud de onda de 200nm

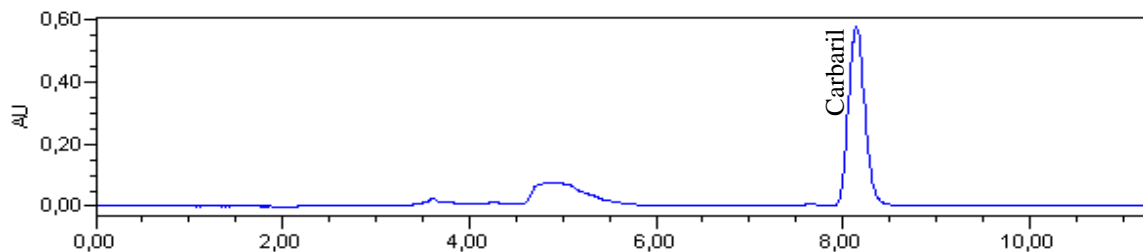


Figura N° 20 cromatograma inyección isocrática del Carbaril en HPLC-DAD

Como se observa en la figura N° 20 el Carbaril mejora su tiempo de retención disminuyendo a 8,214 min.

6. una vez identificadas las señales de Carbofuran y Carbaril por separado, se preparó una mezcla 1/1 de Carbaril/Carbofuran y se inyectó en gradiente por HPLC-DAD, a 200nm, un flujo de 0,5 ml/min, una fase móvil de ACN/H₂O 60:40 y una temperatura de 40°C. obteniéndose el cromatograma de la figura N° 21

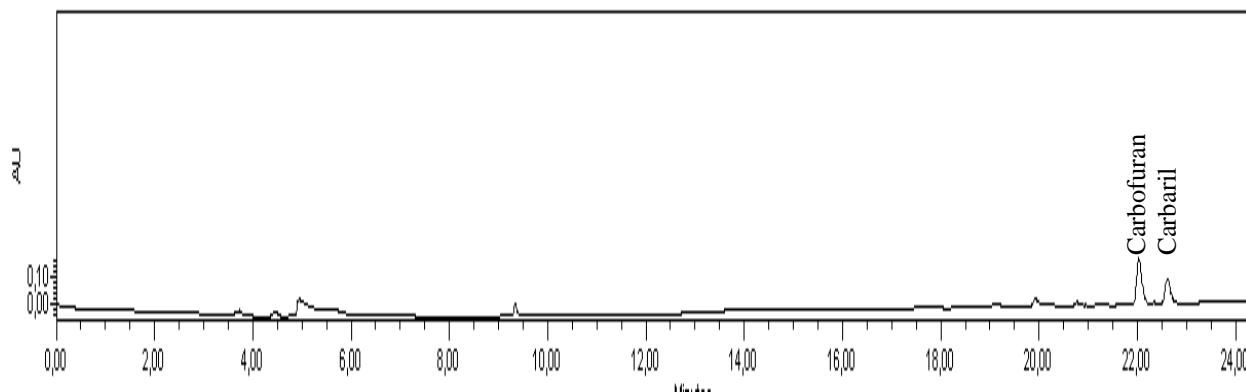


Figura N° 21 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril (1:1) en HPLC-DAD

Como se observa en la figura N° 21 los picos se muestran de forma clara, pero demasiado juntos lo que dificulta la identificación de cada plaguicida.

7. Inyección isocrática de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:1 por HPLC-DAD a 200nm, un flujo de 0,5 ml/min., una fase móvil de ACN/H₂O 60:40 y una temperatura de 40°C.

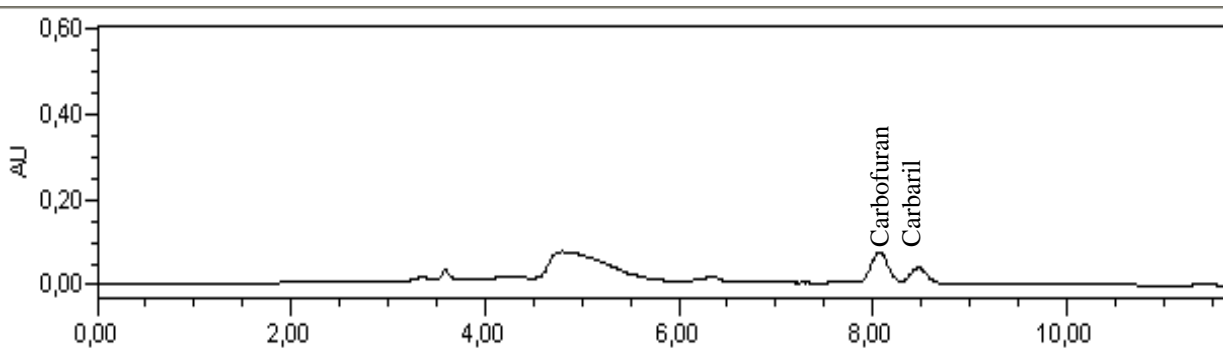


Figura N° 22 Cromatograma inyección isocrática de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:1 en HPLC-DAD

8. Para poder diferenciar mejor los picos de los analitos, se inyectó isocráticamente la mezcla de Carbofuran/Carbaril 1:2 por HPLC-DAD a 200nm, un flujo de 0,5 ml/min, una fase móvil de ACN/H₂O 60:40 y una temperatura de 40°C, obteniéndose el cromatograma de la figura N° 23

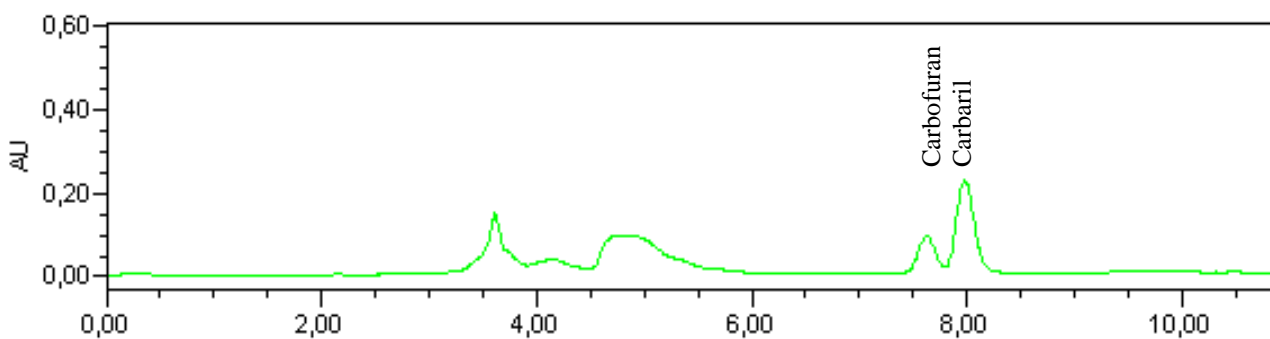


Figura N° 23 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2, con fase móvil ACN/H₂O 60:40 por HPLC-DAD

Como se muestra en el cromatograma de la figura N° 23 se pueden identificar los picos de Carbofuran (t_R :7,6 min.) y Carbaril (t_R :7,9 min.) pero debido a que aún siguen muy juntos entre sí, se utilizó como fase móvil la mezcla de ACN-H₂O 40:60, conservando las demás condiciones cromatográficas, obteniéndose el cromatograma de la figura N° 24

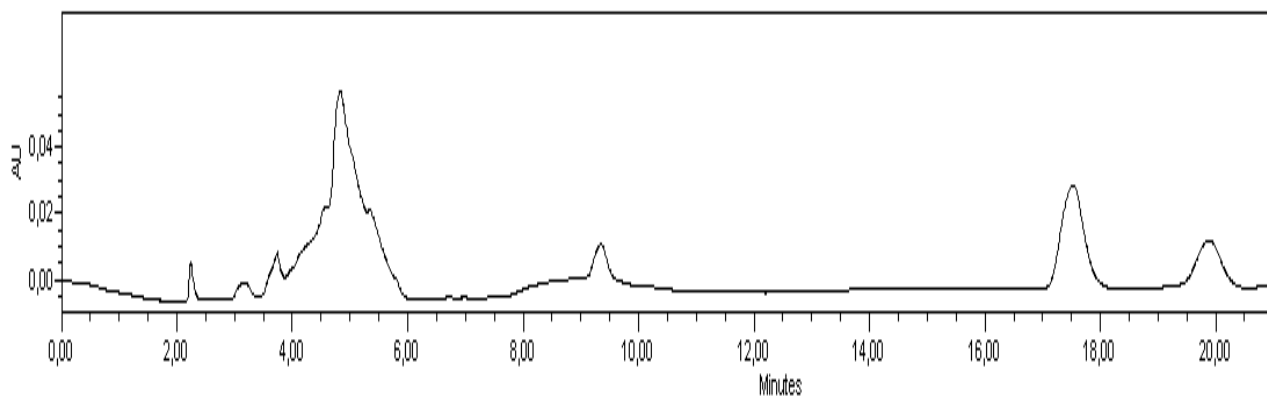


Figura N° 24 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2, con fase móvil ACN/H₂O 40:60 por HPLC-DAD

Con el cromatograma obtenidos en la figura N° 24 se logró una buena separación, pero el tiempo de análisis se extendió demasiado, razón por la cual se ensayó a flujos de 1 mL/min y 1,2 mL/min., conservándose las demás condiciones. Obteniéndose los cromatograma de las figuras N° 25 y 26 respectivamente.

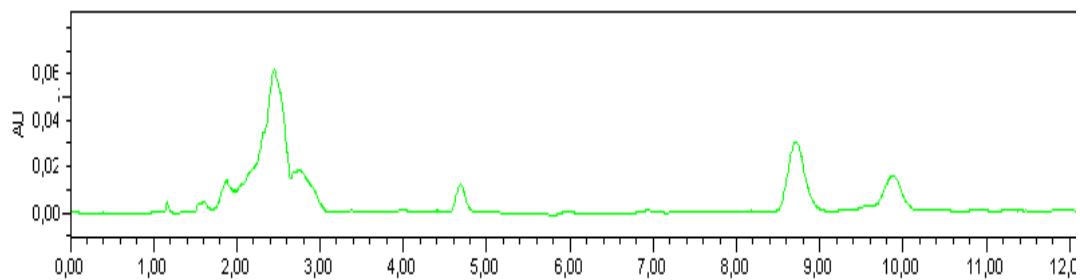


Figura N° 25 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2 a un flujo de 1 mL/min.

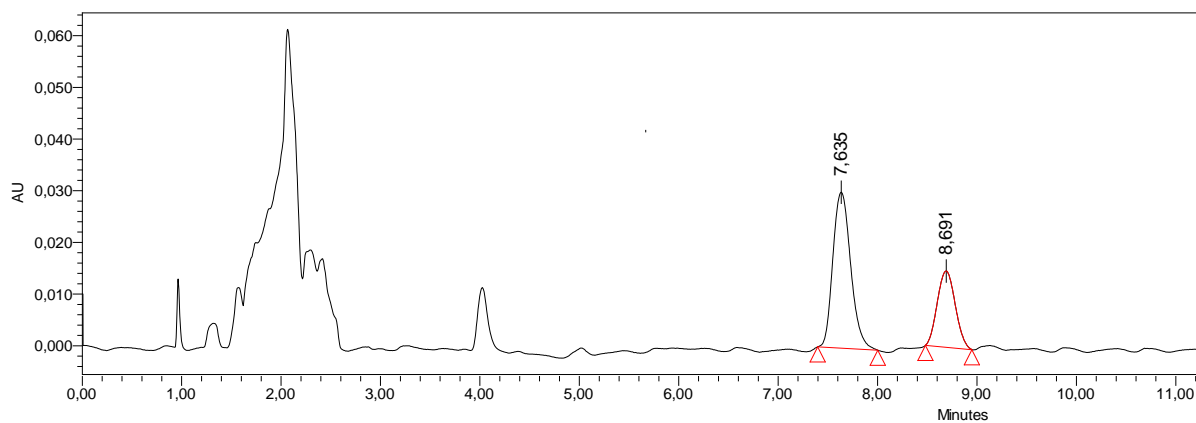


Figura N° 26 cromatograma de la mezcla Carbofuran/Carbaril 1:2 a un flujo de 1,2 mL/min.

El cromatograma de la figura N° 25 presenta picos poco simétricos, lo que permitió establecer como condiciones cromatográficas: λ 200nm, un flujo de 1,2 ml/min., una fase móvil de ACN/H₂O 40:60, una temperatura de 40°C y un volumen de inyección de 20 μ L.

Este mismo proceso se replicó en el laboratorio instrumental del IDSN con las condiciones ya optimizadas, el resultado se ilustra en la Figura N° 27

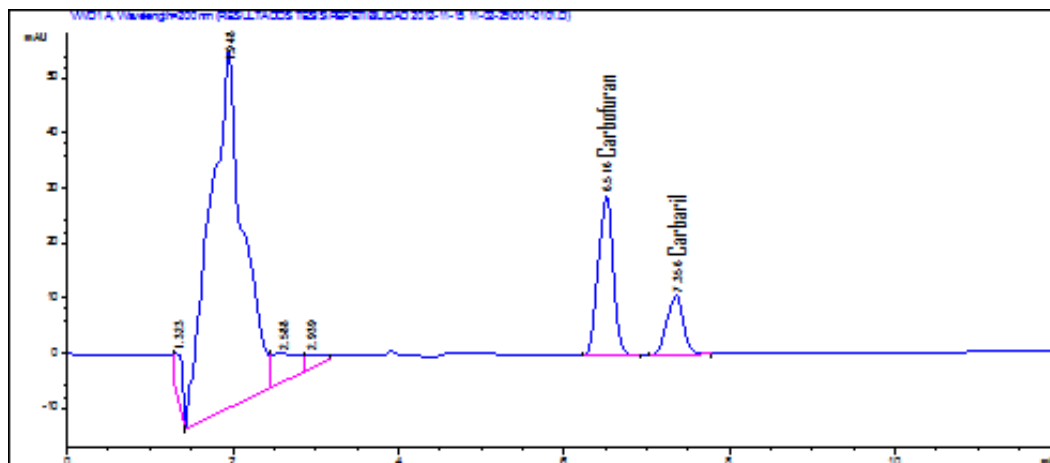


Figura N° 27: Cromatograma para mezcla Carbofuran y Carbaril (t_R : 6,44min y 7,26min respectivamente), HPLC-VWD. λ 200nm.

Resolución de los picos (R)

Como se puede evidenciar en el cromatograma de la figura N° 27 existe una buena resolución entre las dos señales por que la señal del Carbofuran no se solapa con la señal del Carbaril. Esto se comprueba calculando la resolución teórica mediante la ecuación (3).

$$R = \frac{t_{RB} - t_{RA}}{\frac{1}{2}(a_A + a_B)} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Como el valor de $R = 8,01603$ es mayor que $1,5^{66}$ se puede afirmar que los picos poseen una separación cromatográfica adecuada

Factor de selectividad (α)

$$\alpha = \frac{t_{RB} - t_m}{t_{RA} - t_m} \quad \text{Ecuación (4)}$$

El factor de selectividad $\alpha = 1,162$ indica que existe una buena separación cromatográfica de los analitos, ya que esta entre 1 y 2, que es el valor establecido⁸⁶.

⁶⁶ Douglas A. Skoog. Fundamentos de Química Analítica, Editorial Reverte, 4° Edición.

4.3 EVALUACION DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO

4.3.1 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA POLARIDAD DEL SOLVENTE SOBRE LA EFICIENCIA DE LA EXTRACCIÓN

Como se observa en la figura N° 28, el diclorometano presento una mayor eficiencia de extracción en extracción liquido-liquido en comparación con los otros solventes, debido a las interacciones dipolo-dipolo que se presentan entre este y los plaguicidas, otro solvente con alta eficiencia en la recuperación de los plaguicidas fue acetato de etilo, ya que su elevada polaridad y habilidad para aceptar protones favorece a la extracción de los plaguicidas, que son polares.

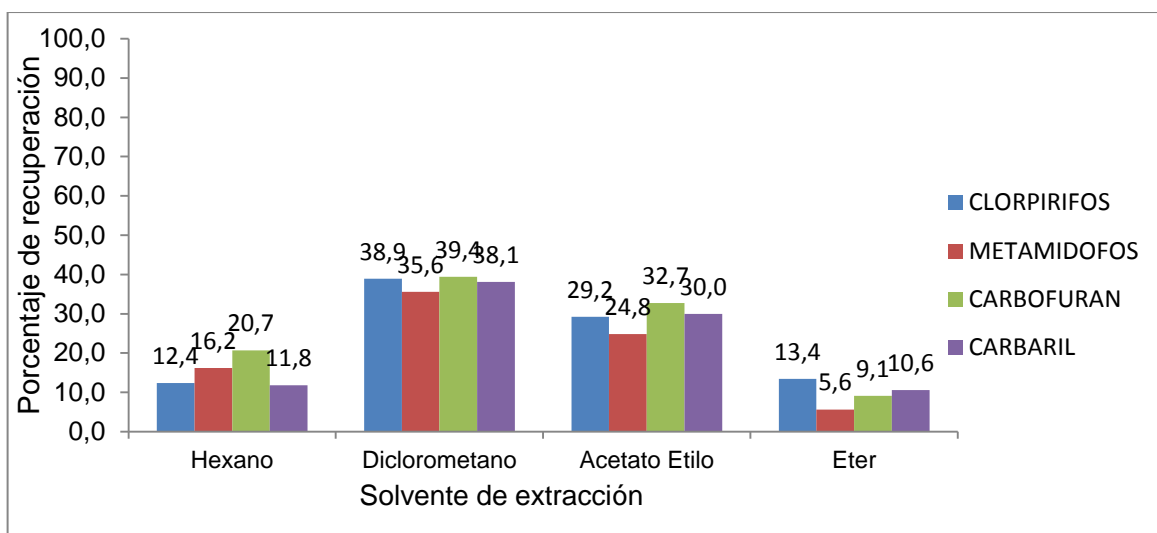


Figura N° 28: efecto de la polaridad del solvente en la extracción liquido-liquido sobre la eficiencia de extracción de los plaguicidas.

Para aumentar la eficiencia de extracción de los plaguicidas se prepararon mezclas de diclorometano y acetato de etilo en diferentes relaciones (tabla N° 17), lográndose una mejor eficiencia en la extracción con la mezcla diclorometano-acetato de etilo (1:1), en comparación con las otras mezclas y solventes puros, debido a que se presentan efectos de sinergismo o suma de interacciones de cada solvente con los plaguicidas, facilitando la solvatación y extracción de estos compuestos.

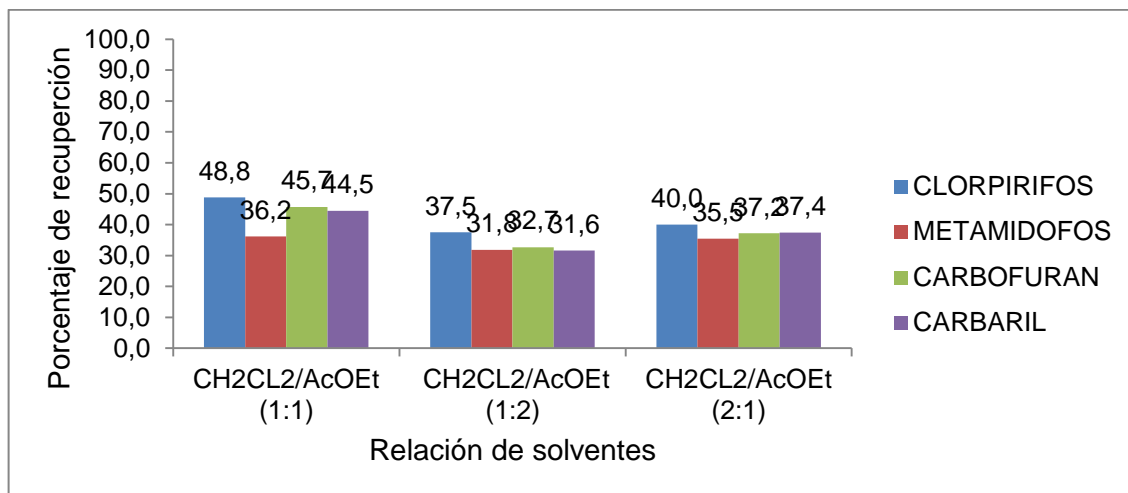


Figura N° 29: Efecto de diferentes mezclas de diclorometano-acetato de etilo en la extracción liquido-liquido.

Como se observa en la figura N° 29 la mezcla de solventes diclorometano-acetato de etilo (1:1) presenta una eficiencia más alta en la extracción de los plaguicidas debido al mayor número de interacciones entre este y los solventes, ya que se presentan interacciones tipo dipolo-dipolo con el diclorometano y puentes de hidrogeno con el acetato de etilo.

4.3.2 ESTUDIO DEL EFECTO DEL LA CONCENTRACION DEL EXTRACTO SOBRE LA EFICIENCIA DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO

Como se observa en la figura N° 30 el método de concentración más efectivo en el método de extracción liquido-liquido es por rotavaporador, generando porcentajes de recuperación más altos para Clorpirifos (67,4%) y Carbofuran (56,0%) utilizando como solvente de elución la mezcla de diclorometano:acetato de etilo (1:1).

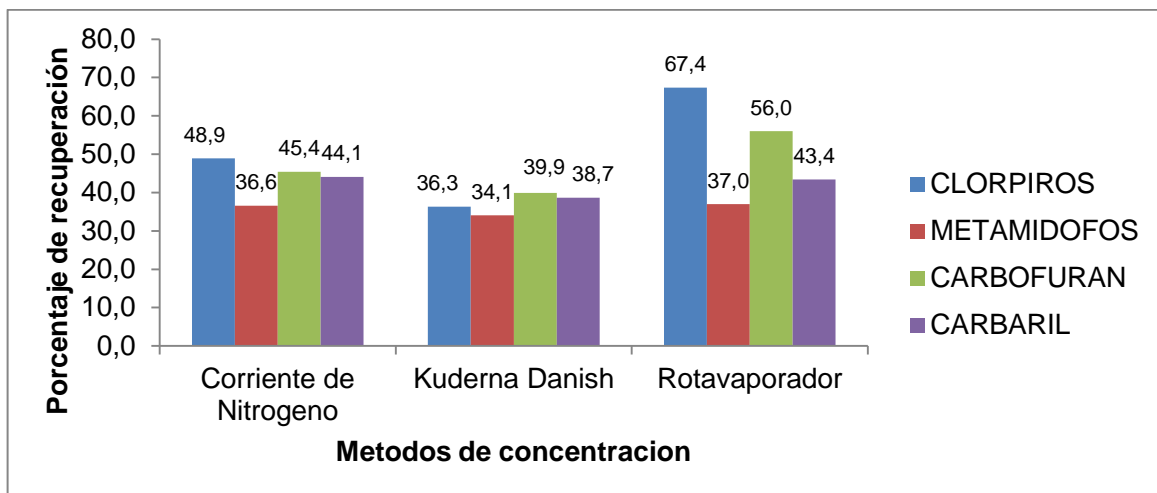


Figura N° 30: efecto de la concentración del extracto sobre la eficiencia de la extracción liquido-liquido

4.3.3 ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICION DE SAL SOBRE LA EFICIENCIA DE LA EXTRACCION

La adición de sales inorgánicas como NaCl antes de la extracción (efecto *salting-out*) evita la formación de emulsiones y aumenta la fuerza iónica del agua, lo cual origina que los compuestos orgánicos presentes pierdan afinidad por ella y se disuelvan más fácilmente en la fase orgánica favoreciendo su extracción. En este trabajo, se evaluó la extracción con la adición de sal (5% p/v) y sin la adición de esta. En la figura N° 31 se observa la variación en el proceso de extracción de los plaguicidas para cada condición.

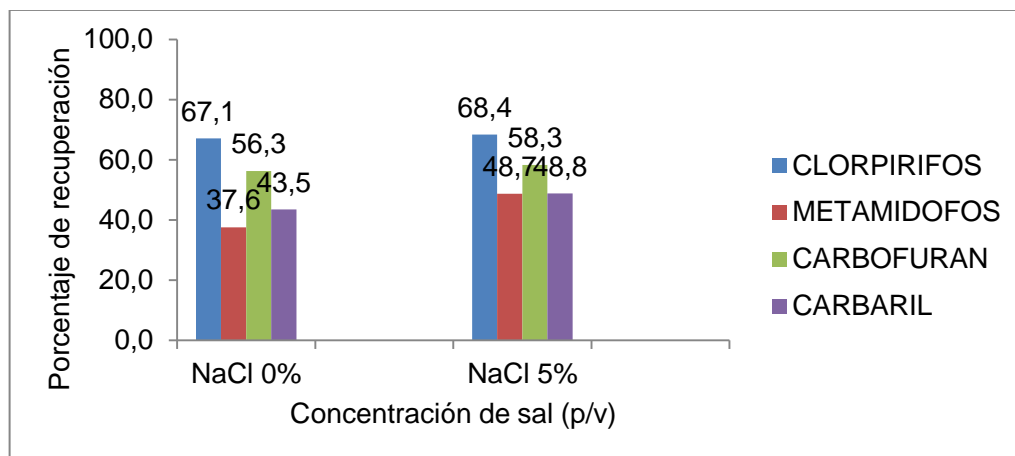


Figura N° 31: efecto de la adición de sal sobre la eficiencia de extracción liquido-liquido

Como se aprecia en la figura N° 31, la adición de sal (5%) (usando como solvente la mezcla de diclorometano/acetato de etilo (1:1), y la concentración por rotavaporador) resulto ser favorable en la recuperación de los plaguicidas por extracción liquido-liquido. Estas condiciones posteriormente se aplicaron en unos ensayos para evaluar la eficiencia y reproducibilidad de la técnica.

4.4 EVALUACION DEL METODO DE EXTRACCION EN FASE SOLIDA

Una vez pasadas las muestras de agua destilada tipo I (de concentración 0.0001 µg/mL para cada plaguicida), a través de los discos Speedisk C18, estos se eluyeron, el extracto se concentró, se redisolvió, se llevó a 1 mL y luego de analizarse por HPLC, se estableció la eficiencia de la extracción en fase solida mediante los porcentajes de recuperación, los cuales se muestran en la figura N° 32.

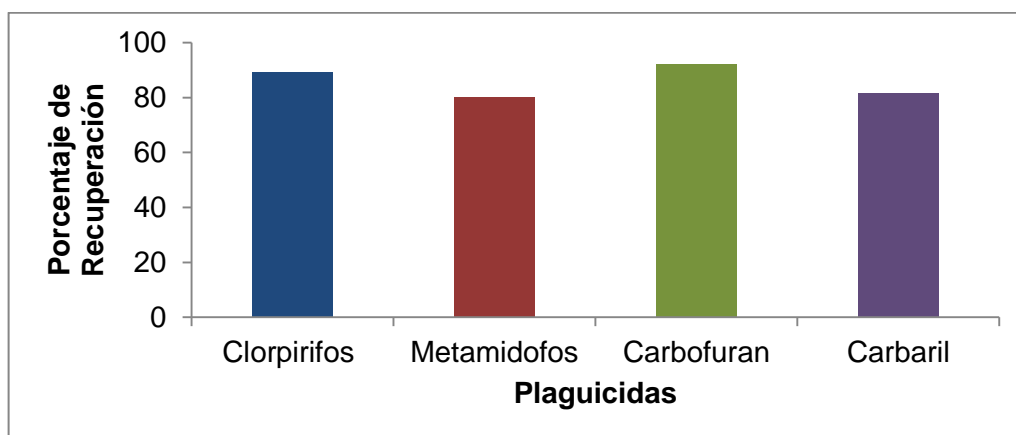


Figura N° 32 Extracción en fase solida de los plaguicidas de estudio

Como se puede observar en la figura N° 32 el porcentaje de recuperación para cada uno de los plaguicidas supera el 80 % lo que hace que el método sea eficiente en la extracción de plaguicidas en agua⁶⁷.

4.5 COMPARACION DE LA TECNICA DE EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO Y EXTRACCION EN FASE SOLIDA EN EL AISLAMIENTO DE LOS PLAGUICIDAS DE MUESTRAS DE AGUA.

Una vez establecidas las condiciones para la extracción liquido-líquido y extracción en fase sólida, se compararon entre si su eficiencia y reproducibilidad. Para cada una de las técnicas de extracción se trabajaron 3 muestras de agua tipo I enriquecidas con los plaguicidas en una concentración de 0,0001µg/mL de cada uno. Una vez realizada la extracción se analizó el extracto por HPLC-VWD a las condiciones establecidas en las tablas N° 18 y 19. Los parámetros utilizados para cada técnica de extracción se encuentran indicados en la tabla N° 21.

Tabla N° 21: Evaluación de extracción líquido-líquido y extracción en fase solida

PARAMETROS	TECNICAS DE EXTRACCION	
	LLE	SPE (Método INS)
Cantidad de Muestra	1000mL	1000mL
Acondicionamiento cartucho	No aplica	10 mL acetato etilo 10 mL diclorometano 10 mL metanol 10 mL agua tipo I
Solvente de extracción o elución	CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (1:1)	5 mL AcOEt, 5 mL CH ₂ Cl ₂ y 2 x 3 mL CH ₂ Cl ₂ /AcOEt (1:1),
Adición de sal (NaCl)	5%	0%
Concentración de la muestra	Rotavaporador	Rotavaporador

La eficiencia en la extracción para cada una de las técnicas se determinó calculando los porcentajes de recuperación para cada uno de los plaguicidas. Las tabla N° 22 y 23 muestra los porcentajes de recuperación obtenidos.

Tabla N° 22: Porcentaje de recuperación obtenido por extracción líquido-líquido.

PLAGUICIDA	% RECUPERACION	S	%CV
CLORPIRIFOS	67,4	4,1	6,0
METAMIDOFOS	37,0	2,4	8,8
CARBOFURAN	56,0	5,2	9,2
CARBARIL	43,4	3,5	7,4

*Promedio obtenido para n=3

Tabla N° 23: Porcentaje de recuperación obtenidos por SPE.

PLAGUICIDA	% RECUPERACION*	S	%CV
CLORPIRIFOS	90,4	1,3	1,4
METAMIDOFOS	81,1	1,3	1,6
CARBOFURAN	93,3	1,8	3,1
CARBARIL	82,6	2,5	2,8

*Promedio obtenido para n=3

Como se observa en la tabla N° 22, la técnica de extracción en fase solida presento una mayor eficiencia en la recuperación de los plaguicidas de estudio, debido a la menor manipulación de la muestra, afinidad de los analitos tanto por el

adsorbente como por la mezcla de solventes utilizada en la extracción y también, por la rapidez del método.

La recuperación de los compuestos orgánicos mediante SPE, es altamente dependiente de la polaridad de los eluentes, especialmente cuando se extraen varios analitos simultáneamente⁶⁷. Luego de haber probado la eficiencia de extracción de residuos de plaguicidas en muestras de agua por extracción líquido-líquido y extracción en fase sólida, esta última dio mejores porcentajes de recuperación. La recuperación fue calculada comparando el área del pico de cada analito después de la extracción con el área del pico del estándar correspondiente en solvente puro. Como se muestra en la Tabla N° 23, los plaguicidas de estudio presentaron un porcentaje de recuperación mayor al 80%. Estos resultados son bastante satisfactorios, de acuerdo con las Guías de Control de Calidad Europeo⁶⁷, que consideran aceptables las recuperaciones entre 70% y 100%. En cuanto a los porcentajes de recuperación de Metamidofos y Carbaril los cuales son menores con respecto a los otros plaguicidas, puede atribuirse a la poca afinidad que tienen estos con la fase estacionaria C18 (apolar) del cartucho de extracción disminuyendo la recuperación, durante el proceso de extracción mediante SPE.

4.6 MONTAJE Y ESTANDARIZACION DE LA TECNICA HPLC/WAD

4.6.1 LINEALIDAD

La curva de calibración para Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril (anexos) se construyó usando la relación de áreas de cada analito versus las concentraciones correspondientes (0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 µg/mL). A partir de la curva se realizó el análisis de regresión lineal para determinar la linealidad del método así como para generar la ecuación de la curva de calibración: $y = mx + b$, donde y es la relación de área, x la concentración, m la pendiente, b el intercepto r coeficiente de correlación y r^2 coeficiente de determinación, tabla N° 24

Tabla N° 24: valores de la ecuación de la curva de calibración para cada plaguicida

Plaguicida	m	b	R	r ²
<i>Clorpirifos</i>	95,1598	6,30638	0,998994	0,99798
<i>Metamidofos</i>	186,548	0,119842	0,998694	0,99739
<i>Carbofuran</i>	4,78962	0,17408	0,997846	0,99569
<i>Carbaril</i>	77,6282	0,511432	0,998431	0,99686

⁶⁷ GARCIA, F. Mery, E. Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela. En: Rev invest Clin, 2011, vol. 52 no.4, p. 295 - 311

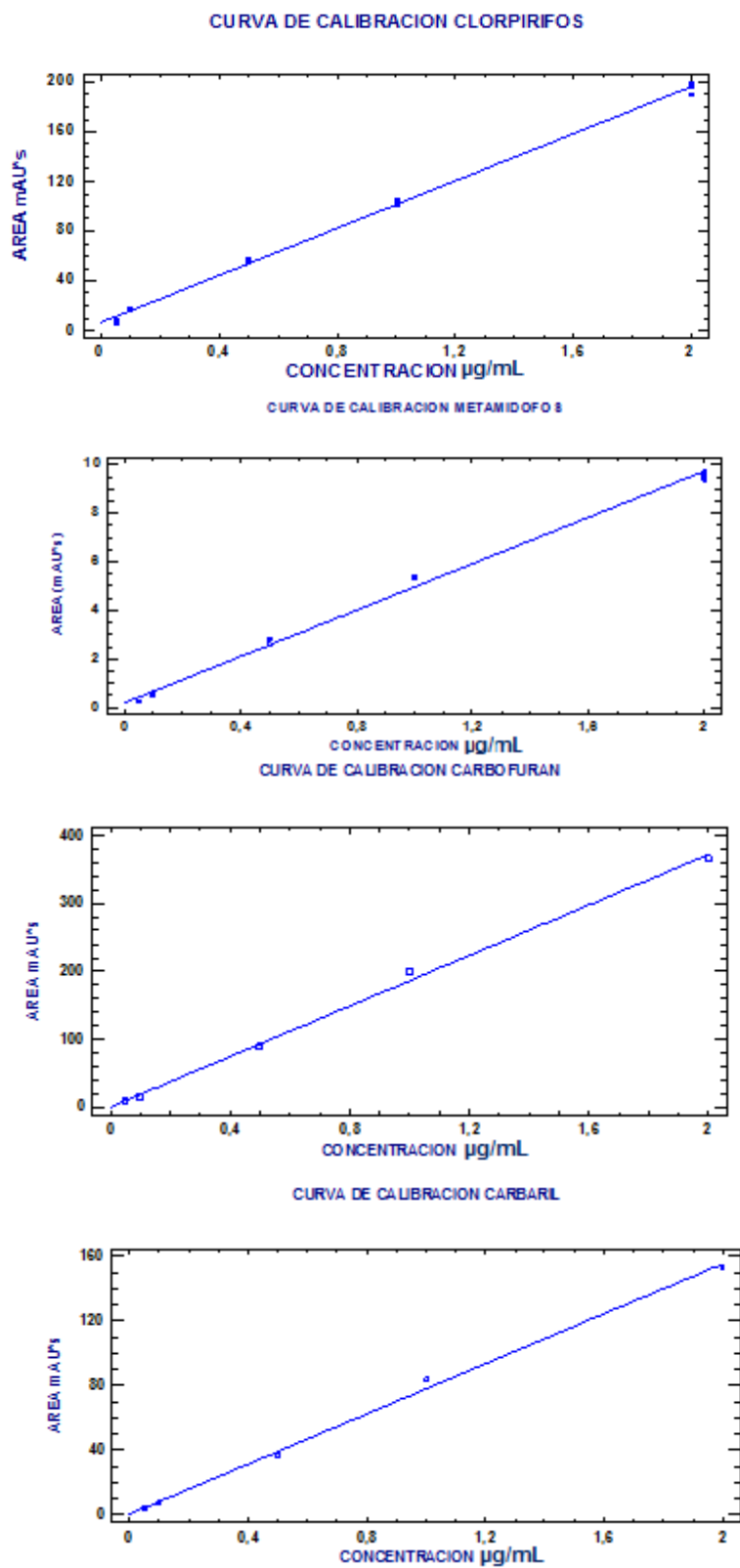


Figura N° 33: Curvas de calibración para Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril.

La linealidad del análisis se indica por la regresión lineal obtenida de una serie de muestras con concentraciones comprendidas entre 0.05µg/mL y 2.0µg/mL. las ecuaciones obtenidas explican de forma adecuada la relación que hay entre la respuesta analítica del área y la concentración del analito. El r obtenido para Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril está por encima de 0.99 lo que muestra que hay relación entre las mediciones y las concentraciones de los analitos. El coeficiente de determinación (r^2) obtenido superior a 99% en todos los plaguicidas demuestra que la curva de regresión se ajusta a los valores experimentales de las mediciones evaluadas. Por lo tanto, la respuesta del equipo demostró ser directamente proporcional a las distintas concentraciones y por lo tanto lineal en este rango de concentraciones, para todos los plaguicidas analizados.

Para comprobar si el coeficiente de correlación r es realmente significativo en las curvas se realizó una prueba estadística t^{68} .

$$t = \frac{r_{xy}\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde r corresponde al coeficiente de correlación, r^2 es el coeficiente de correlación al cuadrado y el valor de t obtenido se compara con el tabulado al nivel de significación deseado, usando una prueba t de dos colas y n-2 grados de libertad, obteniéndose la tabla N° 25

Tabla N° 25: valores de la prueba estadística t.

PLAGUICIDA	R	r^2	$t_{exp} >> t_{tab}$ (p=0,05)
<i>Clorpirifos</i>	0,998994	0,99799	44,54292 >> 2,776
<i>Metamidofos</i>	0,998694	0,99739	39,08412 >> 2,776
<i>Carbofuran</i>	0,997846	0,99570	30,40575 >> 2,776
<i>Carbaril</i>	0,998431	0,99686	35,64426 >> 2,776

Al obtener una $t_{exp} >> t_{tab}$ se comprobó que existe una correlación lineal significativa entre los valores de “x” y “y” para una probabilidad de 0,05.

4.6.3 PRECISIÓN

4.4.3.1 intervalos de confianza para tiempos de retención de los plaguicidas de estudio.

Tabla N° 26: Intervalos de confianza del 98,0% para tiempo de retención (n =42)

⁶⁸ James N. Miller. Estadística y Quimiometria para Química Analítica. 4° Edición. 286 pag. .

LIMITE DE CONFIANZA PLAGUICIDA	t_R $X \pm DE$ (min)
Clorpirifos	9,11 ± 0,011
Metamidofos	4,58 ± 0,004
Carbofuran	6,44 ± 0,023
Carbaril	7,26 ± 0,028

$X \pm DE$, Promedio \pm Desviación Estándar.

4.6.3.2 Evaluación de la repetibilidad del método para áreas y tiempos de retención

La repetibilidad del método cromatográfico se estimó al inyectar Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril (2 $\mu\text{g/mL}$) 7 veces. Los resultados para la evaluación del método, en cuanto a las áreas cromatográficas de los picos y los t_R se observan en las tablas N° 27 y 28 respectivamente.

Tabla N° 27: Repetibilidad para áreas

	Media <i>mUA*s</i>	S	%CV
Clorpirifos	192,27	1,71	0,89
Metamidofos	10,91	0,18	1,62
Carbofuran	360,36	2,89	0,80
Carbaril	146,53	1,73	1,18

Tabla N° 28: Repetibilidad para t_R .

	Media <i>min</i>	S	%CV
Clorpirifos	9,09	0,02	0,21
Metamidofos	4,59	0,01	0,25
Carbofuran	6,52	0,01	0,17
Carbaril	7,36	0,01	0,17

En las tablas N° 27 y 28 se observa, que las mediciones de áreas cromatográficas y t_R de los plaguicidas, no presentaron desviaciones considerables; se concluye que el método implementado es preciso bajo las condiciones de análisis establecidas. Para las áreas los coeficientes de variación estuvieron entre 0,27 y 2,25 y, para los tiempos de retención, entre 0,132 y 0,431. En ambos casos, los coeficientes de variación no superan los valores aceptables por las Normas de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL); las cuales establecen un coeficiente de variación máximo aceptado del 5%, para los t_R , y 10%, para las áreas^{68,69}

4.6.3.3 Evaluación de la reproducibilidad del método para áreas y tiempos de retención entre días

Tabla N° 29: Reproducibilidad del método para áreas entre días (2 µg/mL)

	ANALISTA	NUMERO DE INYECCIONES	MEDIA DE ÁREAS (mAU*s) ENTRE DÍAS 1, 2 Y 3	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	% COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CLORPIRIFOS	A	21	190,37	2,40	1,26
	B	21	190,31	3,06	1,61
METAMIDOFOS	A	21	11,26	0,30	2,66
	B	21	10,90	0,40	3,64
CARBOFURAN	A	21	362,10	2,63	0,73
	B	21	320,57	0,44	0,14
CARBARIL	A	21	148,32	3,67	2,48
	B	21	132,42	0,91	0,69

Tabla N° 30: Reproducibilidad del método para tiempos de retención entre días (2 µg/mL)

	ANALISTA	NUMERO DE INYECCIONES EN LOS 3 DIAS	MEDIA DE T_R ENTRE DÍAS 1, 2 Y 3 (minutos)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	% COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CLORPIRIFOS	A	21	9,110	0,021	0,227
	B	21	9,114	0,006	0,065
METAMIDOFOS	A	21	4,583	0,004	0,090
	B	21	4,584	0,007	0,147
CARBOFURAN	A	21	6,438	0,075	1,166
	B	21	6,447	0,064	0,999
CARBARIL	A	21	7,254	0,094	1,297
	B	21	7,261	0,081	1,114

⁶⁹ HERRERA, A. Mónica Alejandra. Implementación de una metodología para la determinación de glifosato en muestras de agua. Tesis química. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Escuela de Química. 2011, 121 p.

Las tablas N° 29 y 30 muestran la adecuada reproducibilidad de las áreas cromatográficas y los t_R , al no presentar desviaciones significativas, ya que los coeficientes de variación obtenidos se encuentran entre 0,065 y 1,297 para los t_R , y 0,14 y 3,21 para área. En ambos casos, los Coeficientes de Variación no superan los valores aceptables por las Normas de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL); las cuales establecen un coeficiente de variación máximo aceptado del 5%, para los t_R , y 10%, para las áreas⁷⁰.

4.6.3.4 Evaluación de la reproducibilidad del método para áreas y tiempos de retención entre días y entre analistas

Tabla N° 31: Reproducibilidad del método para áreas entre días y entre analistas (2 µg/mL)

PLAGUICIDA	NUMERO DE INYECCIONES TOTALES	MEDIA DE ÁREAS ENTRE ANALISTAS mAU*s	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	% COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CLORPIRIFOS	42	190,357	2,670	1,403
METAMIDOFOS	42	11,076	0,406	3,665
CARBOFURAN	42	341,336	21,194	4,834
CARBARIL	42	140,369	8,449	4,442

Tabla N° 32: Reproducibilidad del método para tiempos de retención entre días y entre analistas (2 µg/mL)

PLAGUICIDA	NUMERO DE INYECCIONES TOTALES	MEDIA DE t_R ENTRE ANALISTAS Minutos	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	% COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CLORPIRIFOS	42	9,112	0,029	0,317
METAMIDOFOS	42	4,583	0,012	0,259
CARBOFURAN	42	6,442	0,060	0,938
CARBARIL	42	7,257	0,074	1,026

⁷⁰ STASHENKO, H. et al. Resonancia Magnética Nuclear y acoplamiento, Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. 354p.

Las tablas N° 31 y 32 muestran que la reproducibilidad de las áreas cromatograficas y los t_R , al no presentar desviaciones significativas, ya que los coeficientes de variación obtenidos se encuentran entre 0,259 y 1,026 para los t_R , y 1,403 y 6,209 para área. En ambos casos, los Coeficientes de Variación no superan los valores aceptables por las Normas de las Buenas Practicas de Laboratorio (BPL); las cuales establecen un Coeficiente de Variación máximo aceptado del 5%, para los t_R , y 10%, para las áreas^{69,70}.

4.6.4 EXACTITUD

4.6.4.1 Porcentajes de recuperación

Tabla N° 33: Porcentaje de recuperación

PALGUICIDA	MUESTRA	CONCENTRACION INICIAL $\mu\text{g/mL}$	CONCENTRACION FINAL $\mu\text{g/mL}$	% RECUPERACION	PROMEDIO % RECUPERACION
CLORPIRIFOS	1	0,1	0,095	94,511	90,4
	2		0,092	92,000	
	3		0,096	95,562	
	4		0,088	88,000	
	5		0,083	83,000	
METAMIDOFOS	1	0,1	0,089	88,926	81,2
	2		0,081	80,574	
	3		0,083	82,662	
	4		0,078	78,486	
	5		0,076	76,399	
CARBOFURAN	1	2	1,838	91,885	93,25
	2		1,878	93,895	
	3		1,885	94,244	
	4		1,853	92,662	
	5		1,872	93,601	
CARBARIL	1	2	1,676	83,787	82,56
	2		1,695	84,749	
	3		1,654	82,698	
	4		1,630	81,480	
	5		1,621	81,032	

4.6.4.2 Desviación absoluta o error relativo

Tabla N° 34: Desviación Absoluta o error relativo

PLAGUICIDA	VALOR REAL CONCENTRACIONES $\mu\text{g/mL}$	VALOR PROMEDIO CONCENTRACIONES $\mu\text{g/mL}$	ERROR ABSOLUTO	% DE ERROR RELATIVO
<i>Clorpirifos</i>	0,1	0,091	0,009	9
<i>Metamidofos</i>	0,1	0,081	0,019	19
<i>Carbofuran</i>	2,0	1,865	0,135	6,75
<i>Carbaril</i>	2,0	1,655	0,349	17,45

Los resultados obtenidos del estudio de la exactitud del método cromatográfico se muestran en la Tabla N° 33. En relación con la exactitud, Carbofuran, Clorpirifos, Carbaril y Metamidofos presentaron porcentajes de recuperación que están por encima del 80%, acordes a los establecidos por las guías de control de Calidad Europeo⁶⁹, por otro lado la tabla N° 34 muestra una desviación relativa menor al 20% indicando que el método analítico para la cuantificación de estos plaguicidas tiene una exactitud aceptable⁷¹. Esto se logró con el acondicionamiento del cartucho mediante la activación con diferentes solventes, a la elución de los plaguicidas con los mismos solventes de la activación y a la presión de vacío adecuada para cada paso.

4.6.5 LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

Los límites de detección y cuantificación calculados experimentalmente se reportan en la tabla N° 35.

Tabla N° 35: límite de detección y de cuantificación para el método

PLAGUICIDA	LD $\mu\text{g/mL}$	LC $\mu\text{g/mL}$
<i>Clorpirifos</i>	0,00005	0,0005
<i>Metamidofos</i>	0,00001	0,0001
<i>Carbofuran</i>	0,00005	0,0005
<i>Carbaril</i>	0,00005	0,0005

En la Tabla N° 35 se aprecia que los límites de detección y cuantificación para los cuatro plaguicidas son bastante bajos, indicando una alta sensibilidad. Además al comparar estos límites de detección y cuantificación con los límites máximos permisibles establecido por el Decreto 1575 de 2007 en agua potable, se observa que están por debajo de lo establecido, tabla N° 36

⁷¹ MILENA G. RAMÍREZ G. et al. Validation of analytical method for the determination of glimepiride in human plasma by HPLC/UV with addition standard using glibenclamide as an internal standard. *Ars Pharm* 2005; vol. 46, no 4, p. 411-427.

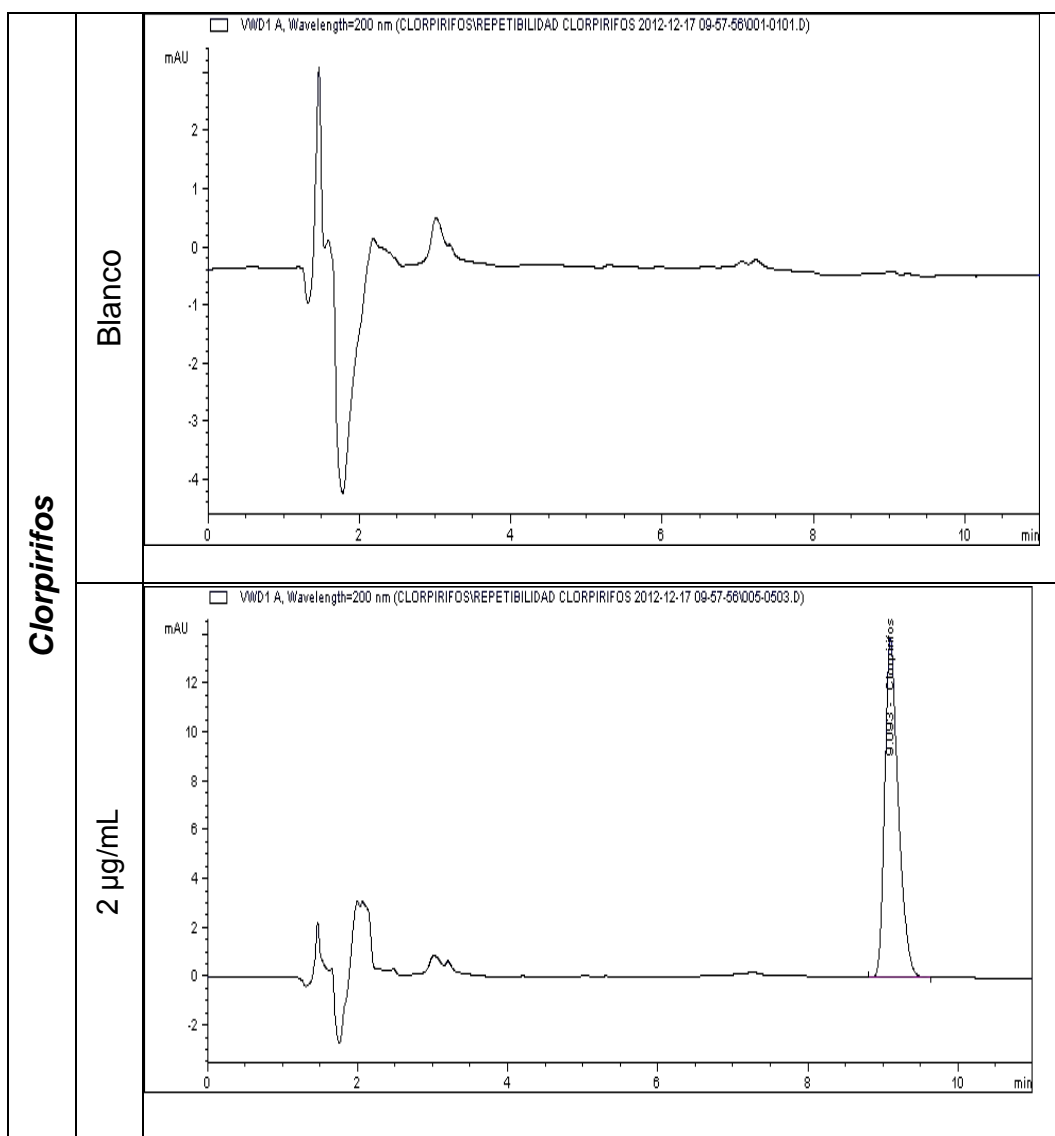
Tabla N° 36: Comparación del límite de detección y de cuantificación con el límite máximo permitido (LMP)

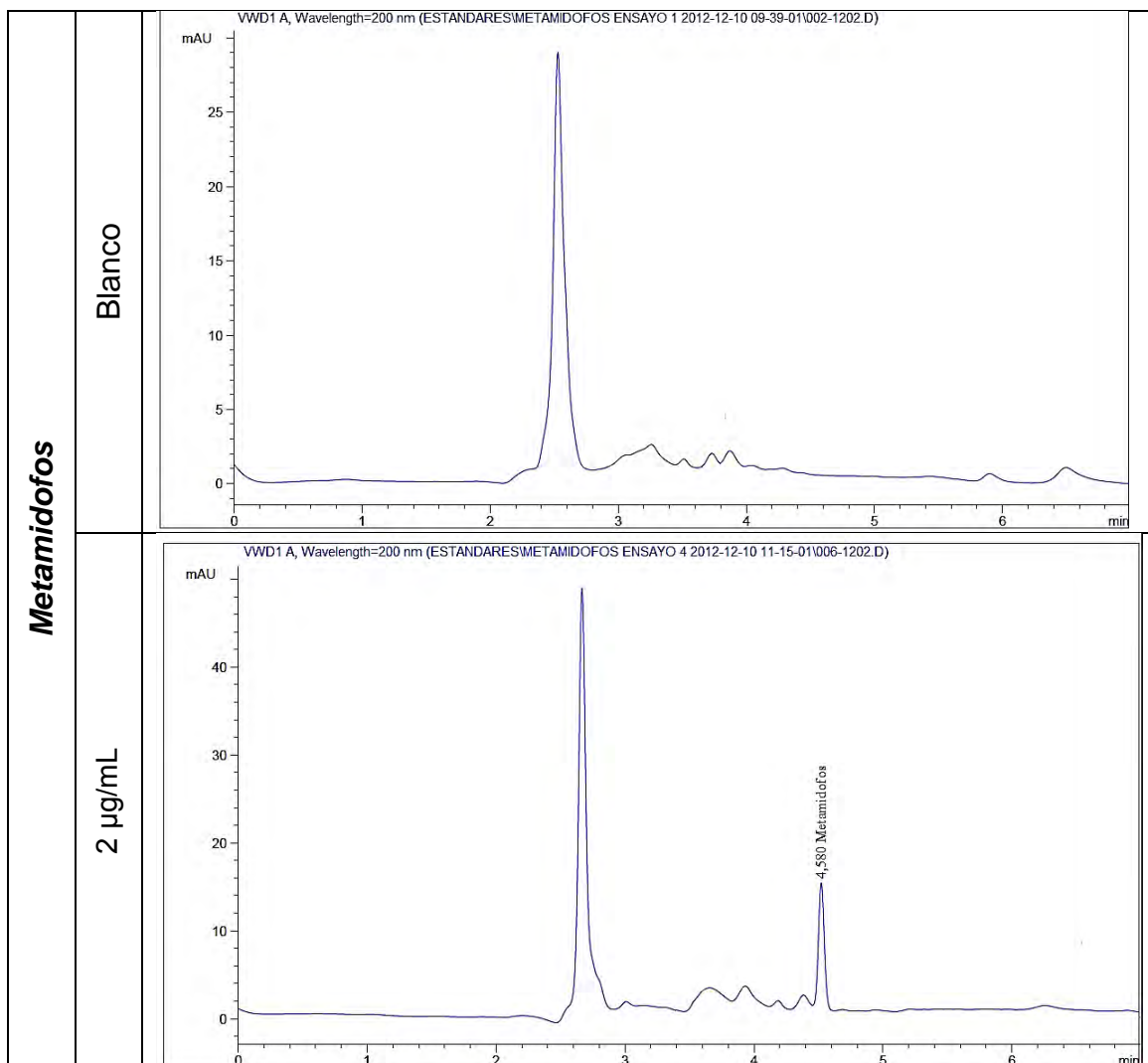
PLAGUICIDA	LD < LMP	LC < LMP
<i>Clorpirifos</i>	0,00005 < 0,001	0,0005 < 0,001
<i>Metamidofos</i>	0,00001 < 0,0001	0,0001 = 0,0001
<i>Carbofuran</i>	0,00005 < 0,001	0,0005 < 0,001
<i>Carbaril</i>	0,00005 < 0,001	0,0005 < 0,001

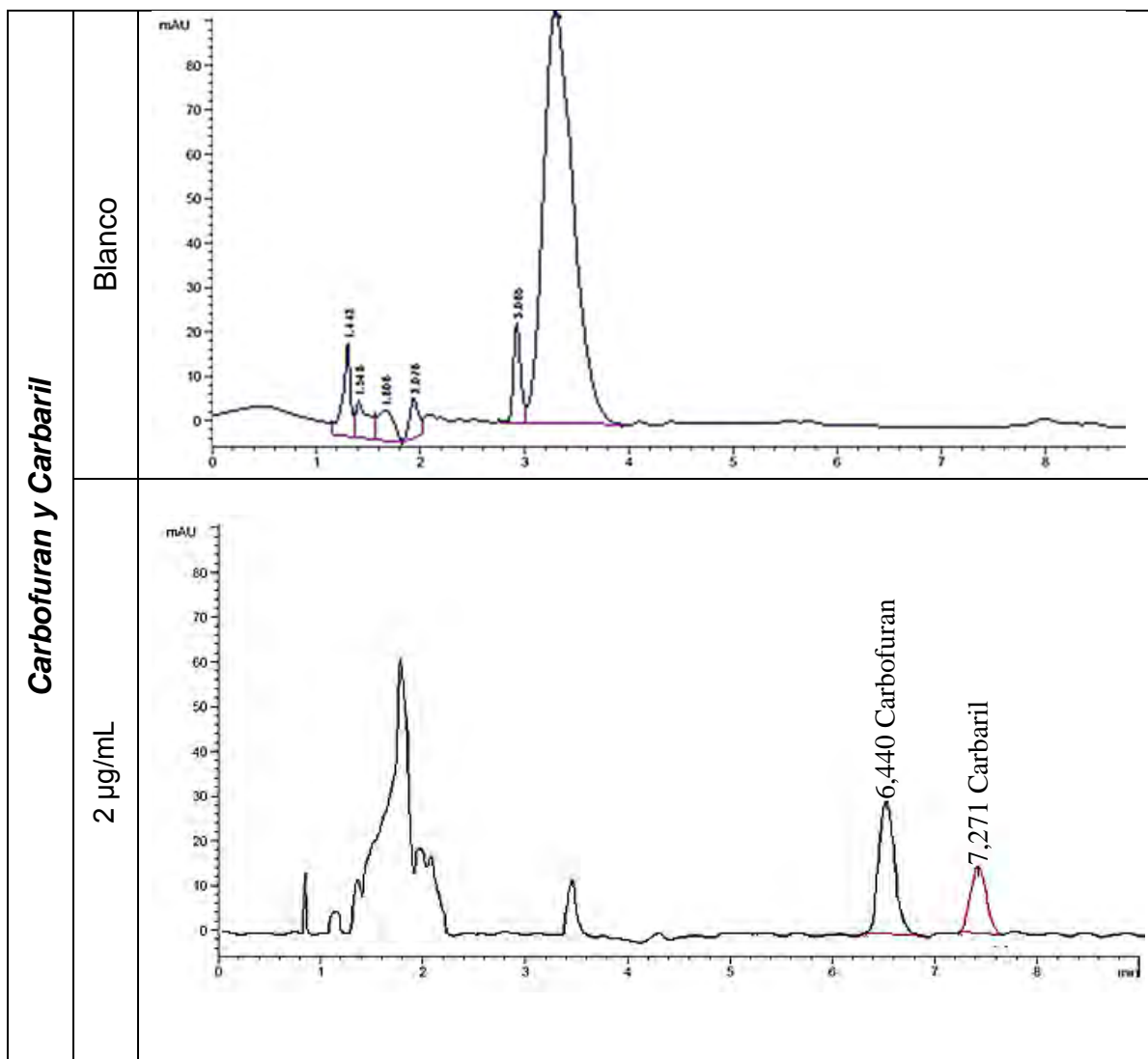
4.6.5 SELECTIVIDAD

Al inyectar el blanco de agua destilada y la matriz fortificada a una concentración de 2µg/mL para cada plaguicida, se pudo observar que hay buena resolución y simetría de los picos; además se observa que el tiempo de retención de cada analito no se ve afectado por la matriz de la muestra. Esto permitió establecer que la metodología propuesta es selectiva para los plaguicidas de estudio (Figura N° 34).

Figura N° 34: Cromatogramas, para evaluar la selectividad de cada uno de los plaguicidas



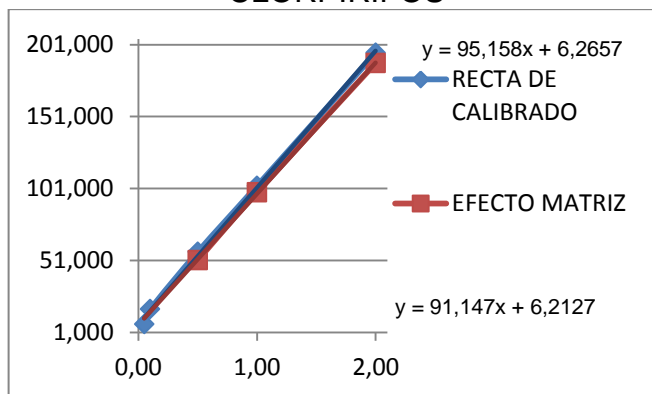




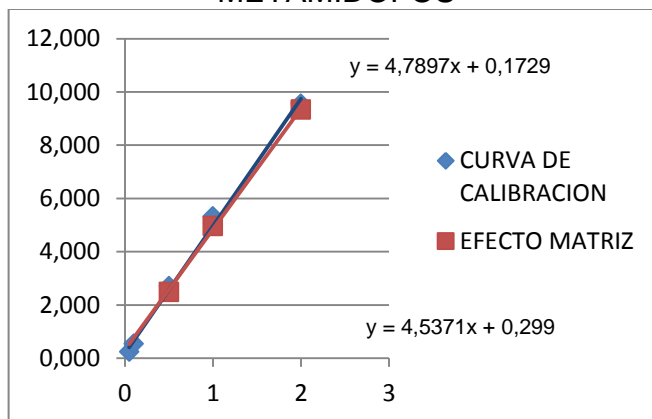
Para demostrar la especificidad del método SPE-HPLC-VWD, se evaluó la variación en el tiempo de retención mediante la adición de estándares en muestras de agua de distintos acueductos. Se tomó diferentes concentraciones de los cuatro estándares de plaguicidas: Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril se adicionaron en la muestra, para determinar la especificidad del método analítico para diferenciar los analitos bajo estudio de otros componentes de la muestra. Después de este proceso, fueron comparadas las pendientes de los estándares de calibración con respecto a las pendientes de la adición de estándar en la muestra. Los resultados demostraron que no hay interferencias importantes producto del efecto matriz, relativas a las pendientes de la curva de calibración y las correspondientes de la adición de estándares de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril.

En la Figura N° 35, se muestran los gráficos donde se compararon las pendientes de los estándares en la calibración con respecto a las pendientes de la adición de estándar en la muestra. Los resultados demuestran que no hay interferencias importantes producto del efecto matriz, ya que la mayor desviación la presenta Metamidofos con 5,2% de diferencia entre ambas pendientes, le sigue Clorpirifos con 4,2%, Carbofuran con 2,0% y Carbaril con 0,8% de desviación entre ambas pendientes.

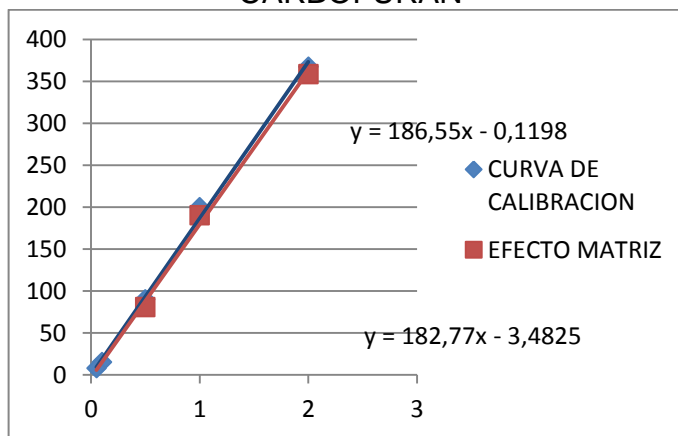
CLORPIRIFOS



METAMIDOFOS



CARBOFURAN



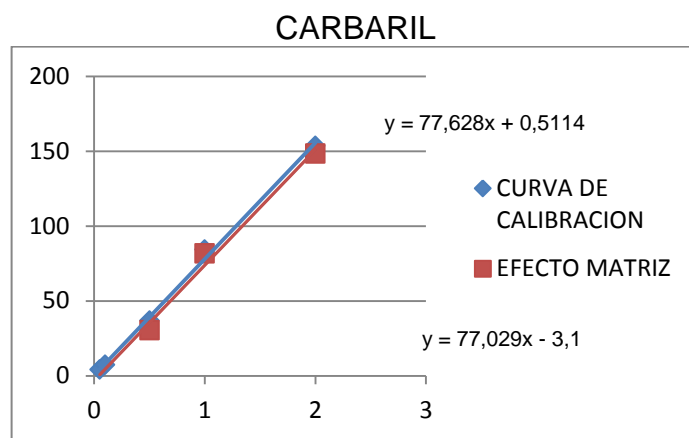


Figura N° 35 Relación de pendientes entre estándares y muestras

También se evaluó el efecto que producían las interferencias haciendo controles durante las inyecciones, en muestras aleatorias dopadas con los plaguicidas de estudio en cada muestreo y de cada plaguicida; allí se pudo evidenciar que los tiempos de retención y simetría de los picos no tienen una variación significativa (Anexo 7)

4.7 ANALISIS DE MUESTRAS

4.7.1 TOMA Y CONSERVACION DE MUESTRAS

Las jornadas de toma de muestras en cada uno de los municipios se programaron en horas de la mañana entre las 8 am y 12 m. Durante la toma de muestras, se pudo observar, que la mayoría de los puntos de muestreo, estaban ubicados cerca de cultivos agrícolas, sin embargo no se pudo evidenciar durante la toma de muestras algún tipo de aplicación o tratamiento con plaguicidas a dichos cultivos. Por otro lado la refrigeración de las muestras a 4°C fue muy importante evitando así la degradación de los analitos de estudio, durante el tiempo comprendido entre la toma de la muestra hasta la llegada al laboratorio, que fue aproximadamente de 6 a 8 horas. Una vez las muestras en laboratorio, estas fueron procesadas en el tiempo establecido, es decir durante las 48 horas siguientes a partir de la toma de la muestra⁷².

4.7.2 ANALISIS DE MUESTRAS

En total se analizaron 50 muestras cuyos reportes se registran en la tabla N° 37

⁷² Method 632. The Determination of Carbamate and Urea Pesticides in Municipal and Industrial Wastewater. 2002, EPA/600/4-82/014 (NTIS PB82156084).

Tabla N° 37: Niveles ($\mu\text{g/mL}$) de plaguicidas detectados en cada uno de los puntos analizados en los municipios de Gualmatán, Pupiales, Ipiiales, Potosí y Tuquerres del Departamento de Nariño, Colombia N = 50, tomadas durante 5 semanas, entre enero y febrero de 2013.

*No cuantificable

MUNICIPIO	LUGAR TOMA DE MUESTRA	PLAGUICIDAS	FECHA DE TOMA DE MUESTRA Y CONCENTRACION EN $\mu\text{g/mL}$.				
			21/01/2013	28/01/2013	04/02/2013	11/02/2013	04/02/2013
GUALMATAN	punto 1 vereda el Carmelo	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	< 0,0004697*	N.D.	N.D.
	Punto 2 Barrio San Francisco de Libano	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PUPIALES	Punto 1 Barrio el Progreso	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Punto 2 Vereda Concordia	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
IPIALES	Punto 1 Barrio la Frontera	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Punto 2 Barrio el Charco	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
POTOSI	Punto 1 Barrio Nazareth	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	< 0,0000823*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Punto 2 Barrio la inmaculada	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TUQUERRES	Punto 1 Barrio el Partidero	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Punto 2 Barrio Cucas Remo	Clorpirifos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Metamidofos	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbofuran	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		Carbaril	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

4.7.3 DETERMINACION DE PLAGUICIDAS

Para determinar la presencia de residuos de plaguicidas en muestras de agua de consumo humano se tuvo en cuenta los tiempos de retención específicos de cada plaguicida y se realizó la respectiva comparación con los espectros obtenidos de los estándares para las muestras de agua. Para la cuantificación de los plaguicidas identificados, se utilizó la correspondiente ecuación de la recta, la cual permitió a partir del área cromatográfica obtener la concentración en unidades de $\mu\text{g/mL}$.

De las 50 muestras analizadas, se identificó 2 positivas (Figura N° 36 y 37); una proveniente del municipio de Potosí, efectuada en la primera semana de muestreo y localizada en el Barrio Nazareth, en la cual se detectó Metamidofos. Una segunda muestra proveniente del municipio de Gualmatán, efectuada en la tercera semana de muestreo y localizada en la Vereda El Carmelo, se detectó Carbaril, en ambos casos fueron no cuantificables, y están por debajo del límite máximo permitido por la norma Colombiana para agua de consumo humano. En cuanto a los plaguicidas Clorpirifos y Carbofuran no se detectó en ninguna de las 50 muestras analizadas.

Los pH encontrados en las 50 muestras analizadas están comprendidos en el rango de alcalinidad entre 6,10 y 7,4 como se aprecia en el anexo 6. Debido a que el agua presenta un cierto grado de acidez, es posible descartar la hidrólisis o degradación de los plaguicidas, pues estos son más estables a pH neutro y ácido, pero por otro lado en el caso de los organofosforados su alta volatilidad permite afirmar que posiblemente hubo una disminución en la concentración de los plaguicidas hallados en las muestras de agua anteriormente mencionadas.

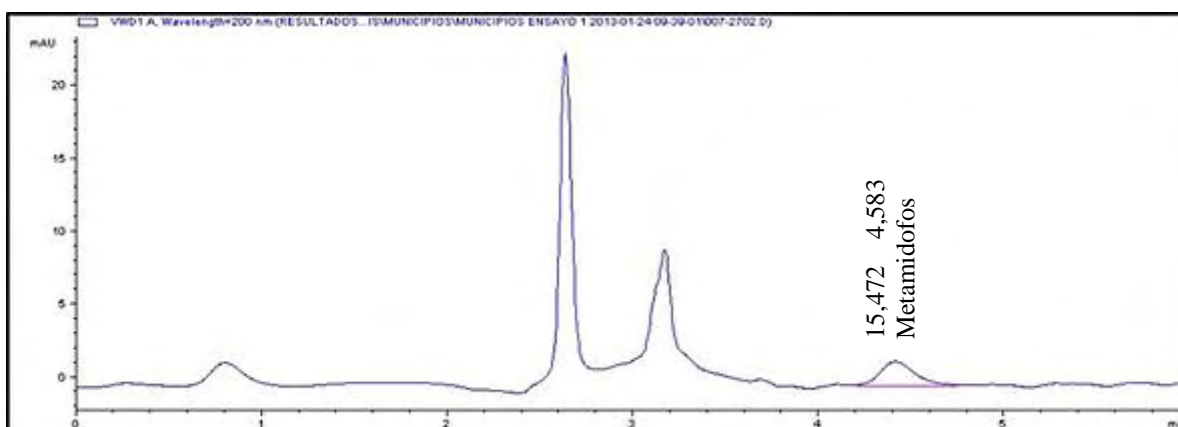


Figura N° 36: Cromatograma para la muestra de agua proveniente del municipio de Potosí, Metamidofos. HPLC-VWD. λ 200nm

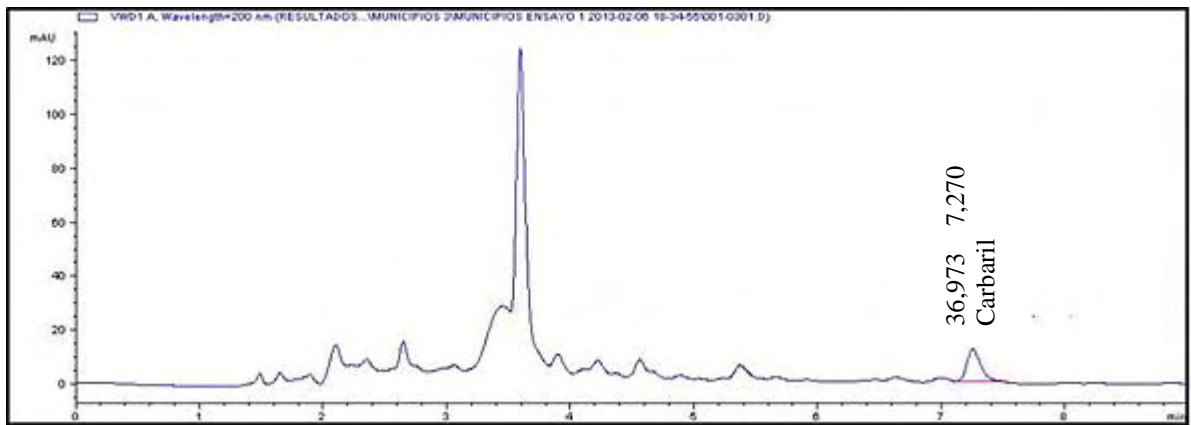


Figura N° 37: Cromatograma para la muestra de agua proveniente del municipio de Gualmatán, Carbaril. HPLC-VWD. λ 200nm

CONCLUSIONES

La determinación de las condiciones cromatográficas por HPLC utilizando un cromatógrafo líquido de alta resolución marca Agilent 1200 y la determinación de las condiciones de extracción en fase sólida utilizando discos C18, permitió identificar y cuantificar de manera sensible, selectiva y en tiempos no mayores a 12 minutos los plaguicidas organofosforados y carbamatos Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril en agua de consumo humano.

La extracción en fase sólida utilizando discos de Octadecil C18 como fase estacionaria permitió obtener porcentajes de recuperación que estuvieron por encima del 80%, los cuales resultaron ser mejores que los obtenidos por extracción en líquido-líquido que estuvieron entre el 37 y el 67%

Los resultados obtenidos en la validación mostraron que la metodología empleada tiene buena linealidad ($r^2 > 0.995$), precisión ($CV < 2,7$), exactitud (%Recuperación $> 80\%$) y buena sensibilidad. Los valores mínimos cuantificables del método SPE-HPLC-VWD para todos los plaguicidas resultaron entre $1 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ y $5 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$, por lo tanto cumplen con la Norma Colombiana estipulada en el decreto 2115 de 2007 que establece que el valor máximo admisible es de $1 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$.

El protocolo de muestreo basado en la resolución 0811 de 2008 de los ministerios de la Protección Social y de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, permitió determinar el punto, el tipo, el método, la preservación, el control y vigilancia del muestreo, garantizando de esta manera la precisión, exactitud y representatividad de los datos que resultaron después en los análisis de laboratorio.

De las 50 muestras de agua analizadas, provenientes de los municipios de Gualmatán Pupiales, Ipiales, Potosí y Tuquerres, en 2 se detectó plaguicidas; una proveniente del municipio de Potosí, efectuada en la primera semana de muestreo y localizada en el Barrio Nazareth, en la cual se detectó Metamidofos. Y una segunda proveniente del municipio de Gualmatán, efectuada en la tercera semana de muestreo y localizada en la Vereda El Carmelo, en la cual se detectó Carbaril, en ambos casos ninguno fue cuantificable.

El desarrollo de este trabajo permitió implementar en el laboratorio de salud pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño, El método de extracción en fase sólida y cromatografía líquida de alta eficiencia, para la determinación de Clorpirifos, metamidofos, Carbofuran y Carbaril en agua de consumo humano.

RECOMENDACIONES

Monitorear de manera más completa las redes de agua de consumo humano, en el Departamento de Nariño, para poder tener una mejor visualización de la situación de salud pública, con respecto al tema de estos plaguicidas.

Es importante tomar las muestras y enviarlas al Laboratorio en el menor tiempo posible (máximo 48 horas entre la toma de muestra y el análisis); igualmente mantener las muestras en refrigeración (2-8° C) durante el periodo de transporte para su posterior análisis. Una vez obtenido el extracto acuoso en el Laboratorio, éste puede guardarse en refrigeración hasta por 7 días antes de ser inyectado por HPLC.

Realizar un estudio complementario de los productos de degradación de los plaguicidas, ya que estos en ocasiones suelen ser más nocivos y persistentes a condiciones ambiente.

Con la implementación del presente método de análisis de Clorpirifos, Metamidofos, Carbofuran y Carbaril de muestras de agua, se podría realizar un estudio sobre la presencia de estos plaguicidas en las fuentes de agua potable y superficial del departamento de Nariño; además, para complementar el estudio se podría aplicar la metodología al análisis de sus residuos en frutas y suelos. Posteriormente sería necesario elaborar un programa para informar y capacitar a los agricultores sobre los peligros, manejo y uso adecuado, disposición de residuos, y sustitución de estos plaguicidas.

BIBLIOGRAFIA

ANCHIRAYCO, Mónica Sara. et al. Nuevos Métodos de Tratamiento de Muestra Para la Preconcentración, Estabilización y Determinación de Pesticidas por Cromatografía de Gases. Tesis Química farmacéutica. Lima-Peru. Universidad Nacional Mayor de San Carlos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2008. 87 p.

BEDMAR, Francisco. Informe especial plaguicidas agrícolas. En: Ciencia Hoy, Abril – Mayo, 2011, Vol. 21, No 122, 57 p.

BUITRAGO G. Cesar. Augusto. Uso aparente de plaguicidas en Colombia durante los años 2004 – 2007. Ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial. 2007, 28 p.

BUSCEMA, I. et al. Método de extracción líquido-sólido para el análisis de residuos de plaguicidas N-Metil carbamatos en aguas. En: Rev. Fac. Agron. (LUZ). 1999, vol. 16, No 1, p. 136-205

BUSCEMA, I. et al. Optimización de la Extracción en Fase Sólida de Residuos de Plaguicidas Organofosforados en Agua Potable Empleando Cartuchos de Carbón Grafitado. En: Rev. Fac. Agron. Julio, 2004, vol.21, No. 3, 8 p.

CALLEJON, Raquel. Desarrollo de un método de HPLC para la determinación de aminoácidos en vinagre y su validación en muestras reales, tesis Universidad de Sevilla, 2013

CENTRO NACIONAL DE INFORMACIÓN DE PESTICIDAS. Disponible en internet: <http://npic.orst.edu/ingred/active.es.html>

CERVANTES, MORANT, Rafael. Plaguicidas en Bolivia sus implicaciones en la salud agricultura y medio ambiente. En: Revista Virtual REDESMA, Abril, 2010, vol. 4, n.1, pp. 27-38.

CESAR AUGUSTO BUITRAGO G. Uso aparente de plaguicidas en Colombia durante los años 2004 – 2007. ministerio de ambiente, vivienda y desarrollo territorial.2007. 28 p.

CHAILE, Adriana P. et al. Plaguicidas clorados en el rio sali. tucuman-argentina. En: Revista boliviana de ecología y conservación ambiental, Diciembre, 1999, Vol. 6, p. 203-209

CHAVES, C. cristian. Determinación por HPLC de residuos de insecticida órganofosforado (Methamidophos) en tomates comercializados en Lima-Perú. Trabajo de grado. Química farmacéutica, Universidad Nacional Mayor San Carlos.

CLAVIJO, H. Carlos M. et al. enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organosfosforados. En: Rev Fac Med Univ Nac Colomb 2005 Vol. 53 No. 4. P. 244-258

CORREDOR, David. et al. Desarrollo y validación de una metodología para la determinación de plaguicidas en café verde por cromatografía de gases. en: revista colombiana de química, 2005, volumen 34, no. 2

EPA. METHOD 507. determination of nitrogen- and phosphorus-containing pesticides in water by gas chromatography with a nitrogen-phosphorus detector. 1989.

ESPIÑOZA Manuel, et al. Adaptación Y Validación De Un Método Unificado Para La Determinación De Residuos De Pesticidas Organoclorados Y Organofosforados En Agua De Bebida Como En Vegetales Con Materia Grasa Menor Al 7% Por Cromatografía De Gases, Laboratorio CETTIA - UTPL

FALCON, L. Roberto. Degradacion del Suelo Causas, Procesos Evaluacion e Investigacion. Centro interamericano de desarrollo e investigacion ambiental y territorial, Universidad de los Andes, Merida- Venezuela. 2002. 280 p.

FERNÁNDEZ A. Daniel G. et al. Intoxicación por organofosforados. En: rev. fac. med. Enero.junio, 2010, vol. 18, No 1, p. 84-92

GARCIA, F. Mery, E. Residuos de plaguicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela. En: Rev invest Clin, 2011, vol. 52 no.4, p. 295 - 311

GONZALEZ, Guillermo. Intoxicación Por Plaguicidas: Casuística Del Hospital Universitario Del Caribe Y De La Clinica Universitaria San Juan De Dios De Cartagena 2009-2010. Universidad Nacional De Colombia, facultad de medicina departamento de toxicología convenio con la universidad de Cartagena, 2011, Bogota D.C. 105 p.

HERNANDEZ, Mariluz. et al. Plaguicidas organoclorados en leche de bovinos suplementados con residuos de algodón en San Pedro, Colombia. En: Rev. salud pública. Diciembre, 2010, vol.12, No.6, pp. 982-989.

HERRERA, A. Mónica Alejandra. Implementación de una metodología para la determinación de glifosato en muestras de agua. Tesis química. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Escuela de Química. 2011, 121 p.
ICA. Disponible en <http://www.ica.gov.co/Areas/Agricola/Servicios/Regulacion-y-Control-de-Plaguicidas-Quimicos.aspx>

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Vigilancia y control en salud pública: Protocolo de vigilancia y control de intoxicaciones por plaguicidas, Bogota, D.C. 2010.

LOPEZ, Oscar. BOTINA, Maria Ximena, JURADO, Mario Andres. Diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en fincas hortícolas del corregimiento de Gualmatán, municipio de Pasto. Trabajo de grado. Especialista en ecología y gestión ambiental. San Juan de Pasto. Universidad de Nariño. 2007. 86 p.

MAJIN, D. Lady Jhoana. Caracterización epidemiológica de las intoxicaciones por plaguicidas en Colombia 2011-2012. En: IQUEN, noviembre, 2013, vol. 20, No 18, p. 243-258

MARÍA PAULA VILLAMIZAR VILLABONA, Estandarización De Métodos Analíticos Usados Para El Análisis De Agua, En El Laboratorio Del Centro De Estudios e Investigaciones Ambientales (Ceiam).tesis , Universidad Industrial De Santander Facultad De Ciencias Escuela De Química Bucaramanga, 2008.

MARTINES, Rodolfo. Relación entre el suministro de agua para consumo humano y enfermedades diarreicas. estado amazonas, años 2.000-2.009. Trabajo de grado Magíster Scientiarum en Evaluación de Impacto en Salud y Ambiente. Universidad Central de Venezuela. Centro de estudios del desarrollo. caracas, Marzo 2012. 141 p

MARTINEZ, V. Carmen. et al. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. En: Rev. Int. Contam. Ambient. 2007, vol.23, n.4, pp. 185-200.

MATOS, E. Loria D. et al. Efectos de los plaguicidas en trabajadores de cultivos intensivos. En: Rev. Bol. of Sanit Panam, 1998, vol. 104, No 2; p. 160-169.

MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial. Resolución Número 2115 (22 Jun 2007).

NIVIA, Elsa. Mujeres y Plaguicidas. 1 ed. Rapal. Rionegro (Antioquia), Colombia. 2010, 51 p.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Guías para la calidad del agua potable. primer apéndice. Tercera edición. Vol 1. 2006

OYONAR, Cristóbal Avivar. Respuestas ante las intoxicaciones agudas por plaguicidas manual para el sanitario vigilancia epidemiológica. Consejería de salud. Universidad de Granada. Facultad de Medicina. 2003. 23 p.

PEREZ, Ma. Antonia et al. Residuos de plaguicidas organofosforados en cabezuela de brócoli (*Brassica oleracea*) determinados por cromatografía de gases. En: Rev. Int. Contam. Ambient, 2009, vol.25, no. 2, pp. 103-110.

PEREZ, R. María Lidia. Metodologías analíticas alternativas para la determinación de plaguicidas en aguas y productos agroalimentarios. Trabajo de grado doctorado ciencias y tecnologías. España. Universidad de la Laguna, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. 2009. 265 p.

POMA, L. Mónica, M. evaluación del daño genotóxico por exposición a plaguicidas en agricultores del municipio de Luribay. Tesis licenciatura en bioquímica la paz–Bolivia. Universidad mayor de San Andrés facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímicas, carrera de bioquímica, mención genética instituto de genética, 2007. 150 p.

PONCE, Gustavo. et al. Modo de acción de los insecticidas. En: Revista Salud pública y Nutrición. Octubre-Diciembre 2006, Volumen 7 No. 4, 22 p .
PRADILLA, G. Neurotoxicidad por plaguicidas. En: Rev. Salud UIS, 1989; vol.17: p. 67-72.

RODRIGUEZ, Mario A. et al. Intoxicacion por Organofosforados con necesidad de altas dosis de atropina y administración tardía de oximas. En: Revista Med Unab, Abril, 2010, vol. 13, No 1, p. 44-50.

SANCHEZ, Martin. et al. Los plaguicidas Adsorción y Evolución en el suelo. Instituto de recursos naturales y agrobiología. Edicion Electronica CeresNet. 1 Edición. 1984. 51 p.

SOLANO, C. Guilianna. MENESES, L. Silva. Diagnostico de uso de agroquímicos y prácticas ambientales en 10 fincas arroceras ubicadas en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Barra del Colorado Region Huertar Atlantica Canton de Sarapiquí Costa Rica. Tesis Gestion Ambiental. Universidad Nacional. Facultad de Tierra y Mar. Escuela de ciencias ambientales. 2014. 145 p.

SOTOMAYOR, VERÓNICA. et al. Tesis Doctoral. Efectos de los plaguicidas organofosforados sobre la expresión génica de embriones de *Rhinella arenarum*. Mecanismos de acción y vías de señalización. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011. 181 p.

STASHENKO, H. et al. Resonancia Magnetica Nuclear y acoplamientos, Cromatografía de Gases/Espectrometria de Masas. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. 354p.

TOMASONI, Marcos. Generación de derivas de plaguicidas no hay fumigación controlable. En: red universitaria de ambiente y salud/red de médicos de pueblos fumigados. Noviembre 2013. 18 p.

URIVE, VARONA Marcela et al. Determinación de la exposición a glifosato y otros plaguicidas. En: Revista Biomédica, Julio-Septiembre, 2009, vol. 29 No. 3, p. 456-475.

VALDERRAMA, Jhon F. et al. Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: Una revisión de los procesos de degradación natural. En: Revista gestión y ambiente, Diciembre de 2012, Vol 15 - No. 3, p. 27-38

VALENCIA, Yenny A. et al. Validación De Una Metodología Para La Determinación De Carbofuran En Suelos Mediante Cromatografía Líquida De Alta Eficiencia Con Detección Ultravioleta (CLAR-UV). En: Rev.Colomb.Quim. Septiembre-diciembre, 2010, vol.39 No.3, p. 359-370

VALENZUELA, Q. et al. Optimización y validación de un método de dispersión de matriz en fase sólida para la extracción de plaguicidas organofosforados en hortalizas. En: Rev. Fac. Agron. 2006, vol.23, n.4, pp. 471-482.

VAZQUEZ, Arturo Pérez. et al. Agricultura y deterioro ambiental. En: Revista Elementos, Enero - Marzo, 2009, vol 16. No. 73, 19 p.

VILLANOBA. V. Maria, P. Estandarización De Métodos Analíticos Usados Para El Análisis De Agua, En El Laboratorio Del Centro De Estudios e Investigaciones Ambientales (Ceiam).tesis , Universidad Industrial De Santander Facultad De Ciencias Escuela De Química Bucaramanga, 2008.

ANEXOS

ANEXO A. DEFINICIONES

MARCO JURÍDICO

-Decreto 1575 de mayo 09 de 2007, expedido por el Ministerio de la Protección Social (MPS), y el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (MAVDT), “Por el cual se establece el Sistema para la Protección y Control de la Calidad del Agua para Consumo Humano”.

-Resolución 2115 de junio 22 de 2007 expedida por el MPS y el MAVDT, “Por medio del cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano”. Según lo ordenado en el Decreto 1575 de 2007.

-Resolución 0811 de marzo 5 de 2008 expedida por el MPS y el MAVDT, “Por medio del cual se definen los lineamientos a partir de los cuales la Autoridad Sanitaria y las Personas Prestadoras, concertadamente definirán en su área de influencia los lugares y puntos de muestreo para el control y la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano en la red de distribución”. Según lo ordenado en el Decreto 1575 de 2007.

-Resolución 00082 de enero 16 de 2009 expedida por el MPS, “Por medio del cual se adoptan unos formularios para la práctica de visitas de inspección sanitaria a los sistemas de suministro de agua para consumo humano. Según lo ordenado en el Decreto 1575 de 2007.

-Resolución 4716 de noviembre 18 de 2010 expedida por el MPS y el MAVDT, “Por medio de la cual se reglamenta el parágrafo del artículo 15 del Decreto 1575 de 2007”, mediante el cual se establecen las condiciones para elaborar los Mapas de Riego la calidad del agua para consumo humano

-Documento Conpes 3550 de noviembre 24 de de 2008 expedido por el Consejo Nacional de Política Económica y Social y el Departamento Nacional de Planeación, Lineamientos para la formulación de la política integral de salud ambiental con énfasis en los componentes de calidad de aire, calidad de agua y seguridad química.

GLOSARIO DE TERMINOS

Acaricida: es un plaguicida que se utiliza para eliminar, controlar o prevenir la presencia o acción de los ácaros mediante una acción química.

Acetilcolinesterasa: La acetilcolinesterasa o Colinesterasa en glóbulos rojos (AChE), es una enzima humana de la familia de colinesterasas que se encuentra en los tejidos nerviosos y los glóbulos rojos, cuya función principal es hidrolizar al neurotransmisor acetilcolina.

Agua potable o agua para consumo humano: Es aquella que cumple las características físicas, químicas y microbiológicas, en las condiciones señaladas en la Resolución 2115 de 2007.

Avicidas: Sustancia (plaguicida) utilizada para eliminar pájaros.

Cadena de custodia: Proceso por medio del cual se mantiene una muestra bajo posesión física o control durante su ciclo de vida completo, es decir, desde que se toma hasta que se desecha.

Calidad del agua: Es el resultado de comparar las características físicas, químicas y microbiológicas encontradas en el agua, con el contenido de las normas que regulan la materia.

Contramuestra: Toma puntual de agua en los puntos de muestreo concertados, en el proceso de control de la Persona Prestadora y que se realiza simultánea y representativamente con la Autoridad Sanitaria.

Insecticida: Un insecticida es un compuesto químico utilizado para matar insectos, mediante la inhibición de enzimas vitales. El origen etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Es un tipo de biocida.

Exactitud del método: Es la capacidad del método analítico para dar resultados lo más próximos posibles al valor verdadero. Si la diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero es pequeña, la exactitud es buena. Una diferencia grande significa que la exactitud es inadecuada y revela la existencia de errores determinados que deberían corregirse. La exactitud se expresa como un porcentaje de recuperación de la cantidad de analito presente en la muestra o bien en la forma de diferencia entre el valor hallado y el valor verdadero.

Herbicida: Es un producto fitosanitario utilizado para eliminar plantas indeseadas. Algunos actúan interfiriendo con el crecimiento de las malas hierbas y se basan frecuentemente en las hormonas de las plantas.

Laboratorio de análisis del agua para consumo humano: Es el establecimiento público o privado, donde se realizan los procedimientos de análisis de las características físicas, químicas y microbiológicas del agua para consumo humano según artículo 27 del Decreto 1575 de mayo 9 de 2007

Linealidad: Es la capacidad de un método analítico de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra, dentro de un intervalo

Método analítico: Adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado.

Monitoreo: Proceso de muestreo del sistema de suministro de agua para consumo humano, que cubre espacio, tiempo y frecuencia en los puntos concertados según norma.

Muestra: Toma puntual de agua en los puntos de muestreo concertados, que refleja la composición física, química y microbiológica representativa del momento, para el proceso de vigilancia de la Autoridad Sanitaria. .

Muestreo: Proceso de toma de muestras que son analizadas en laboratorios para obtener información sobre la calidad del agua del sitio concertado en que fueron tomadas.

Nematicida: Un nematicida es un tipo de pesticida químico para eliminar el parásito nematodo. Un nematicida común que se usa es del origen de pasta de neem que se consigue por exprimir la fruta y semilla en frío.

Plaga: Aquellos organismos nocivos que transmiten enfermedades, compiten por alimentos y/o dañan bienes económicos y culturales.

Procedimiento analítico: Forma en que se realiza el análisis. Debe describir en detalle los pasos necesarios para realizar cada prueba analítica.

Parámetros de desempeño analítico: Características de validación que necesitan ser evaluadas y que típicamente corresponden a la siguiente lista: exactitud, precisión, especificidad, linealidad e intervalo de linealidad.

Puntos de muestreo en red de distribución: Son aquellos sitios concertados y materializados con dispositivos de toma, donde se realiza la recolección de la muestra de agua para la vigilancia y el control según resolución 811 de 2008.

Representatividad: Lapso de tiempo de 10 minutos, dentro de los cuales se toma la muestra y contramuestra de agua en el dispositivo instalado en el sitio de monitoreo concertado entre vigilancia y control.

Sistema de suministro de agua para consumo humano: Es el conjunto de estructuras, equipos, materiales, procesos, operaciones y el recurso humano utilizado para la captación, aducción, pretratamiento, tratamiento, almacenamiento, conducción y distribución del agua para consumo humano.

Traza: Es una cantidad mínima de una característica química encontrada en el agua analizada de la muestra o contramuestra tomada.

Validación de un método analítico: Proceso que establece, mediante estudios en laboratorio, que las características de desempeño del método, cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas.

ANEXO B. DATOS ESTADISTICOS

TABLA 1. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA DETERMINACION DE LAS
CONDICIONES CROMATOGRAFICAS PARA EL ANALISIS DE CLORPIRIFOS Y
METAMIDOFOS UTILIZANDO UNA COLUMNA C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm),
T° = 35°C y V_{inj} 50 µL

FASE MOVIL (ACN:H ₂ O)	FLUJO (mL/min)	LONGITUD DE ONDA (nm)	CLORPIRIFOS		METAMIDOFOS	
			Tr (min)	AREA	Tr (min)	AREA
60:40	0,5	200	17,135	109,4	>40	Nd
75:25	0,5	200	13,912	105,3	>40	Nd
80:20	0,5	200	14,192	109,7	>40	Nd
60:40	0,8	200	14,510	114,2	>40	Nd
75:25	0,8	200	12,973	116,4	>40	Nd
80:20	0,8	200	10,899	115,3	>40	nd
60:40	1	200	11,401	113,6	>40	nd
75:25	1	200	9,097	120,6	>40	nd
80:20	1	200	7,691	116,1	>40	nd
60:40	0,5	210	16,734	70,2	>40	nd
75:25	0,5	210	14,631	86,3	>40	nd
80:20	0,5	210	14,102	85,3	>40	nd
60:40	0,8	210	14,424	83,4	>40	nd
75:25	0,8	210	12,826	98,5	>40	nd
80:20	0,8	210	10,751	85,4	>40	nd
60:40	1	210	11,329	87,1	>40	nd
75:25	1	210	9,061	102,3	>40	nd
80:20	1	210	7,614	98,9	>40	nd
60:40	0,5	220	16,023	46,2	>40	nd
75:25	0,5	220	14,917	40,3	>40	nd
80:20	0,5	220	14,098	44,2	>40	nd
60:40	0,8	220	14,199	49,2	>40	nd
75:25	0,8	220	12,626	65,33	>40	nd
80:20	0,8	220	10,784	48,6	>40	nd

FASE MOVIL (ACN:H ₂ O)	FLUJO (mL/min)	LONGITUD DE ONDA (nm)	CLORPIRIFOS		METAMIDOFOS	
			Tr (min)	AREA	Tr (min)	AREA
60:40	1	220	11,302	50,7	>40	nd
75:25	1	220	9,053	59,7	>40	nd
80:20	1	220	7,712	55,4	>40	nd
60:40	0,5	200	16,692	108,2	>40	nd
75:25	0,5	200	14,734	107,5	>40	nd
80:20	0,5	200	14,197	106,5	>40	nd
60:40	0,8	200	14,328	115	>40	nd
75:25	0,8	200	12,770	117,8	>40	nd
80:20	0,8	200	10,794	112,8	>40	nd
60:40	1	200	11,379	112,9	>40	nd
75:25	1	200	9,089	121,7	>40	nd
80:20	1	200	7,704	115,8	>40	nd
60:40	0,5	210	16,246	69,5	>40	nd
75:25	0,5	210	14,794	87,6	>40	nd
80:20	0,5	210	14,211	83,6	>40	nd
60:40	0,8	210	14,211	84,5	>40	nd
75:25	0,8	210	12,827	99,9	>40	nd
80:20	0,8	210	10,691	88,3	>40	nd
60:40	1	210	11,311	86,2	>40	nd
75:25	1	210	9,042	104,6	>40	nd
80:20	1	210	7,686	97,6	>40	nd
60:40	0,5	220	16,144	45,8	>40	nd
75:25	0,5	220	14,857	40,2	>40	nd
80:20	0,5	220	14,162	42,1	>40	nd
60:40	0,8	220	14,170	50,1	>40	nd
75:25	0,8	220	12,874	66,02	>40	nd
80:20	0,8	220	10,784	47,2	>40	nd
60:40	1	220	11,387	51,2	>40	nd
75:25	1	220	9,049	62,6	>40	nd
80:20	1	220	7,781	53,1	>40	nd

TABLA 2. ANALISIS DE VARIANZA ANOVA

Plaguicida		Factores			Interacciones		
		A: Fase Móvil (ANC:H ₂ O)	B: Flujo (mL/min)	C: Longitud de Onda (nm)	AB	AC	BC
CLORPIRIFOS	Razon-F	4,23	60,88	1633,47	1,27	0,03	0,93
	Razón-P	0,0457	0,000	0,000	0,2659	0,8724	0,3412

FIGURA 1 EFECTOS PRINCIPALES Y DE INTERACCIÓN DE CADA UNO DE LOS FACTORES, EN LA DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS ÓPTIMAS

PARA CLORPIRIFOS.

Gráfica de Interacción para AREA

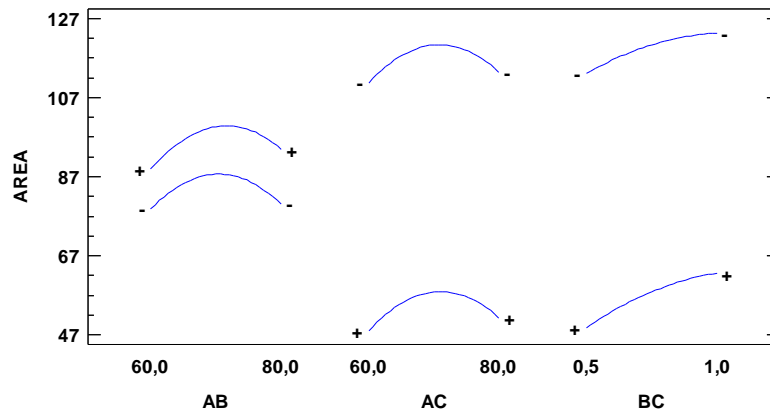


TABLA 3. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA CLORPIRIFOS

Concentración µg/ml	Área mAU*s	Área Promedio mAU*s	Desviación Estándar para área	% CV Para área
0,05	7,5			
0,05	7,8			
0,05	6,4			
0,05	6,8	7,10	0,55	7,80
0,1	12,1			
0,1	12,4			
0,1	11,6			
0,1	11,5	11,89	0,37	3,09
0,5	57,5			
0,5	57,4			
0,5	56,9			
0,5	56,6	57,10	0,37	0,64
1	119,6			
1	119,8			
1	119,9			
1	120,2	119,87	0,22	0,18
2	195,9			
2	190,4			
2	183,3			
2	184,8	188,53	4,98	2,64

TABLA 4. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA METAMIDOFOS

Punto	Concentración estándar	Área mAU*s	Área Promedio mAU*s	Desviación estándar	%CV Para área
1	0,05	0,25			
2	0,05	0,23			
3	0,05	0,23			
4	0,05	0,25	0,242	0,01	4,13
5	0,1	0,56			
6	0,1	0,54			
7	0,1	0,5			
8	0,1	0,55	0,537	0,02	4,24
9	0,5	2,6			
10	0,5	2,6			
11	0,5	2,8			
12	0,5	2,8	2,698	0,1	3,71
13	1	5,3			
14	1	5,3			
15	1	5,3			
16	1	5,4	5,325	0,04	0,81
17	2	9,7			
18	2	9,4			
19	2	9,6			
20	2	9,5	9,549	0,11	1,17

TABLA 5. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA CARBOFURAN

Concentración µg/ml	Área mAU*s	Área Promedio mAU*s	Desviación Estándar para área	% CV Para área
0,05	7,3			
0,05	7,4			
0,05	7,4			
0,05	7,0	7,275	0,19	2,60
0,1	14,5			
0,1	14,2			
0,1	14,8			
0,1	14,1	14,4	0,32	2,19
0,5	73,1			
0,5	73,7			
0,5	72,9			
0,5	73,5	73,3	0,37	0,50
1	202,6			
1	199,8			
1	201,9			
1	201,5	201,45	1,19	0,59
2	365,9			
2	364,8			
2	365,3			
2	365,1	365,28	0,46	0,12

TABLA 6. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA CARBARIL

Concentración µg/ml	Área mAU*s	Área Promedio mAU*s	Desviación Estándar para área	% CV Para área
0,05	1,6			
0,05	1,8			
0,05	1,3			
0,05	1,5	1,55	0,21	1,34
0,1	9,0			
0,1	8,9			
0,1	9,4			
0,1	9,1	9,10	0,21	2,37
0,5	29,8			
0,5	30,5			
0,5	29,7			
0,5	30,2	30,05	0,37	1,23
1	83,9			
1	85,1			
1	85,0			
1	84,7	84,68	0,54	0,64
2	152,6			
2	153,0			
2	152,8			
2	152,1	152,63	0,39	0,25

ANEXO C. DATOS ESTANDARIZACION

TABLA 7. REPRODUCIBILIDAD DE LOS TIEMPOS DE RETENCION Y AREAS PARA CADA UNO DE LOS PLAGUICIDAS DE ESTUDIO, DETERMINADOS POR HPLC-VWD

PLAGUICIDA	DIA	ANALISTA	DIA 1 t _R , min	Área, mAU*s
CLORPIRIFOS	1	1	9,07	190,30
			9,09	192,20
			9,10	191,80
			9,06	191,30
			9,07	192,30
			9,10	192,20
		2	9,11	195,80
			9,12	194,10
			9,14	193,20
			9,16	192,80
			9,10	192,30
			9,06	192,10
	2	1	9,07	190,90
			9,10	191,40
			9,11	193,40
			9,12	190,20
			9,12	190,10
			9,14	189,90
		2	9,16	192,20
			9,09	192,40
			9,12	189,90
			9,10	189,40
			9,15	188,50
			9,15	185,60
	3	1	9,10	187,60
			9,15	185,20
			9,07	184,60
			9,09	186,70
			9,12	185,50
			9,10	187,50
		2	9,15	189,30
			9,15	187,80
			9,10	186,10
9,09			189,50	
9,13			188,80	
9,14			192,20	
	9,16	190,30		
	9,09	194,10		
	9,12	193,30		

			9,10	191,30
			9,09	190,10
			9,13	190,80
METAMIDOFOS	1	1	4,601	10,90
			4,588	10,80
			4,581	11,10
			4,591	10,90
			4,565	10,70
			4,589	10,80
			4,596	11,20
		2	4,580	11,20
			4,576	11,70
			4,602	11,40
			4,559	11,20
			4,580	11,30
			4,580	11,50
			4,576	11,10
	2	1	4,575	11,40
			4,597	11,30
			4,585	11,50
			4,596	11,70
			4,582	11,40
			4,586	11,80
			4,571	11,20
		2	4,597	10,90
			4,585	10,50
			4,596	10,90
			4,578	11,20
			4,597	10,70
		4,597	10,80	
		4,585	10,30	
	3	1	4,566	11,50
			4,580	11,40
			4,576	11,50
			4,602	11,30
			4,559	11,20
			4,588	11,20
			4,566	11,60
		2	4,581	10,50
		4,591	10,40	
		4,565	10,50	
	4,589	10,90		
	4,581	10,80		
	4,588	10,10		
	4,565	10,90		

TABLA 8 INTERVALOS DE CONFIANZA PARA AREA Y TIEMPOS DE RETENCION DE CLORPIRIFOS, METAMIDOFOS, CARBOFURAN Y CARBARIL.

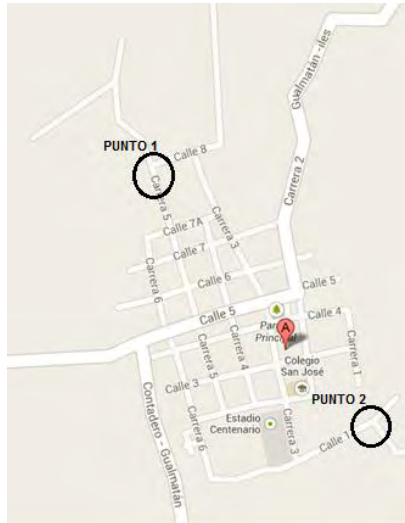
MUESTRA	Area/Tr, N° Día	MEDIA	INTERVALO DE CONFIANZA	LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
Clorpirifos A	Área Día 1	192,271	±1,58	190,691	193,852
	t _R Día 1	9,08571	±0,01759	9,06812	9,10331
	Área Día 2	191,157	±1,354	189,803	192,511
	t _R Día 2	9,12286	±0,02049	9,10237	9,14334
	Área Día 3	187,786	±1,433	186,353	189,219
	t _R Día 3	9,12	±0,02265	9,09735	9,14265
Clorpirifos B	Área Día 1	192,4	±1,002	191,398	193,402
	t _R Día 1	9,10714	±0,03322	9,07392	9,14037
	Área Día 2	186,8	±1,652	185,148	188,452
	t _R Día 2	9,11571	±0,03107	9,08464	9,14678
	Área Día 3	191,729	±1,416	190,313	193,144
	t _R Día 3	9,11857	±0,02472	9,09385	9,14329
Metamidofos A	Área Día 1	10,9143	±0,164	10,7503	11,0782
	t _R Día 1	4,58729	±0,0108	4,57649	4,59808
	Área Día 2	11,4714	±0,1977	11,2737	11,6692
	t _R Día 2	4,58457	±0,00901	4,57556	4,59358
	Área Día 3	11,3857	±0,1455	11,2402	11,5312
	t _R Día 3	4,57671	±0,01372	4,56299	4,59044
Metamidofos B	Área Día 1	11,3429	±0,1915	11,1514	11,5343
	t _R Día 1	4,579	±0,01164	4,56736	4,59064
	Área Día 2	10,7571	±0,2715	10,4856	11,0287
	t _R Día 2	4,59129	±0,00638	4,58491	4,59766
	Área Día 3	10,5857	±0,2745	10,3112	10,8602
	t _R Día 3	4,58043	±0,0105	4,56993	4,59093

A: SOLUCION PREPARADA POR ANALISTA 1

B: SOLUCION PREPARADA POR ANALISTA 2

ANEXO D. PUNTOS DE TOMA DE MUESTRA

PUNTOS DE LA TOMA DE MUESTRA GUALMATAN



PUNTOS DE LA TOMA DE MUESTRA PUIPIALES



PUNTOS DE LA TOMA DE MUESTRA IPIALES



PUNTOS DE LA TOMA DE MUESTRA POTOSI



PUNTOS DE LA TOMA DE MUESTRA TUQUERRES



ANEXO E. ANALISIS FISICOQUIMICOS

RESULTADOS DEL ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE MUESTRAS

SEMANA	MUESTRA	COLOR	TURBIEDAD	pH	ALCALINIDAD	CONDUCTIVIDAD	NITRITOS
1	GUALMATAN 1	100	5.6	6.79	13.3	30.8	N.D
	GUALMATAN 2	20	3.4	6.12	12.4	103.9	N.D
	PUPIALES 1	5	2.2	6.10	38.5	144.8	N.D
	PUPIALES 2	10	3.9	6.25	12.3	105.1	N.D
	IPIALES 1	5	2.2	6.14	21.1	264.0	N.D
	IPIALES 2	5	1.5	6.54	40.0	254.0	N.D
	POTOSÍ 1	30	1.6	6.12	5.8	34.3	N.D
	POTOSÍ 2	30	1.7	6.10	6.7	33.8	N.D
	TUQUERRES 1	12	2.5	6.50	4.5	152.4	N.D
	TUQUERRES 2	11	2.8	6.62	5.2	149.8	N.D
2	GUALMATAN 1	100	3.3	6.98	12.2	31.7	N.D
	GUALMATAN 2	100	3.2	6.94	12.3	31.2	N.D
	PUPIALES 1	15	3.9	6.68	19.5	101.2	N.D
	PUPIALES 2	20	4.2	6.70	20.4	100.0	N.D
	IPIALES 1	7.5	2.4	6.60	50.5	300.0	N.D
	IPIALES 2	7.5	2.4	6.62	54.6	299.0	N.D
	POTOSÍ 1	25	1.5	7.07	7.6	38.4	N.D
	POTOSÍ 2	15	1.4	6.94	5.4	39.0	N.D
	TUQUERRES 1	5	1.2	6.46	24.0	183.7	N.D
	TUQUERRES 2	5	1.4	6.52	26.2	185.8	N.D
3	GUALMATAN 1	85	3.1	7.32	13.1	32.2	N.D
	GUALMATAN 2	85	3.0	7.32	13.2	29.5	N.D
	PUPIALES 1	30	4.1	6.52	24.3	92.5	N.D
	PUPIALES 2	35	10.2	6.54	23.9	95.2	N.D
	IPIALES 1	5	1.7	6.49	62.0	118.7	N.D
	IPIALES 2	5	1.6	6.68	62.4	117.0	N.D
	POTOSÍ 1	25	1.7	6.99	5.6	27.5	N.D

	POTOSÍ 2	25	1.7	6.87	5.7	28.1	N.D
	TUQUERRES 1	10	1.6	6.84	2.05	145.4	N.D
	TUQUERRES 2	10	1.6	6.81	2.04	147.0	N.D
4	GUALMATAN 1	79	4.2	6.85	8.20	32.7	N.D
	GUALMATAN 2	77	4.2	6.90	10.0	31.6	N.D
	PUPIALES 1	20	3.9	7.01	0.0	100.5	N.D
	PUPIALES 2	20	3.7	6.95	0.0	101.1	N.D
	IPIALES 1	7	1.8	6.30	19.4	198.0	N.D
	IPIALES 2	8	1.9	6.18	26.0	210.3	N.D
	POTOSÍ 1	28	2.1	7.00	0.0	32.5	N.D
	POTOSÍ 2	30	1.8	6.97	0.0	35.4	N.D
	TUQUERRES 1	8	1.8	6.87	10.8	153.0	N.D
	TUQUERRES 2	9	2.1	6.75	12.6	162.1	N.D
5	GUALMATAN 1	58	3.8	6.28	11.3	120.3	N.D
	GUALMATAN 2	30	3.6	6.71	15.2	112.5	N.D
	PUPIALES 1	22	3.5	6.79	8.4	190.4	N.D
	PUPIALES 2	18	3.2	6.66	9.3	188.4	N.D
	IPIALES 1	8	1.5	6.50	10.2	120.2	N.D
	IPIALES 2	11	1.8	6.58	23.5	105.2	N.D
	POTOSÍ 1	26	1.6	6.98	28.4	77.3	N.D
	POTOSÍ 2	18	1.2	6.97	34.7	61.3	N.D
	TUQUERRES 1	10	3.1	7.4	23.2	138.5	N.D
	TUQUERRES 2	10	3.3	7.1	22.2	139.5	N.D

ANEXO F. INTOXICACIONES EN NARIÑO POR PLAGUICIDAS
INTOXICACIONES POR PLAGUICIDAS 2010-2012

Municipios	Población			TOTAL CASOS			Tasa * 100.000 hb		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Pasto	411.706	417.484	423.217	66	79	61	16,0	18,9	14,4
Albán	20.688	20.980	21.270	7	11	10	33,8	52,4	47,0
Aldana	6.467	6.397	6.320	9	9	6	139,2	140,7	94,9
Ancuyá	7.962	7.776	7.607	0	1	0	0,0	12,9	0,0
Arboleda	7.503	7.513	7.523	1	5	5	13,3	66,6	66,5
Barbacoas	33.866	34.627	35.406	4	2	9	11,8	5,8	25,4
Belén	7.046	7.133	7.230	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Buesaco	23.602	23.887	24.179	9	13	16	38,1	54,4	66,2
Cartago	7.306	7.348	7.392	5	8	5	68,4	108,9	67,6
Chachagüí	13.308	13.408	13.504	1	2	3	7,5	14,9	22,2
Colón Genova	9.914	9.959	10.005	4	4	4	40,3	40,2	40,0
Consaca	9.852	9.759	9.674	6	2	2	60,9	20,5	20,7
Contadero	6.812	6.839	6.875	4	2	0	58,7	29,2	0,0
Córdoba	13.795	13.844	13.889	11	2	9	79,7	14,4	64,8
Cuaspud	8.348	8.395	8.447	3	3	0	35,9	35,7	0,0
Cumbal	34.186	34.858	35.540	11	11	5	32,2	31,6	14,1
Cumbitara	13.199	13.590	13.982	2	1	3	15,2	7,4	21,5
El Charco	30.785	31.911	33.085	9	4	8	29,2	12,5	24,2
El Peñol	6.683	6.642	6.616	2	2	13	29,9	30,1	196,5

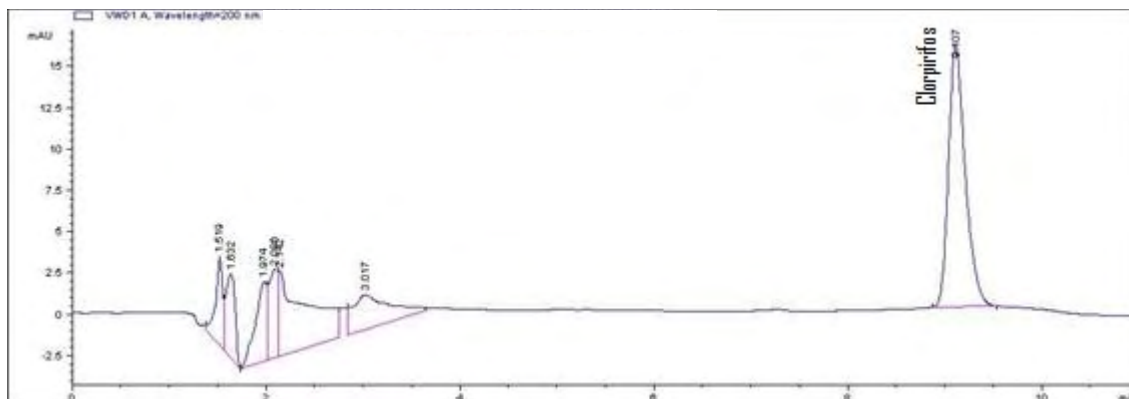
Municipios	Población			TOTAL CASOS			Tasa * 100.000 hb		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
El Rosario	10.826	10.701	10.575	3	2	2	27,7	18,7	18,9
El Tablón de Gómez	13.366	13.247	13.122	10	8	4	74,8	60,4	30,5
El Tambo	13.186	13.006	12.817	4	4	3	30,3	30,8	23,4
Francisco Pizarro	12.910	13.313	13.723	2	3	0	15,5	22,5	0,0
Funes	6.734	6.685	6.645	4	2	6	59,4	29,9	90,3
Guachucal	16.258	16.152	16.029	18	3	7	110,7	18,6	43,7
Guaitarilla	12.821	12.661	12.498	11	4	4	85,8	31,6	32,0
Gualmatán	5.729	5.738	5.747	26	10	23	122,2	17,4	104,4
Iles	8.247	8.342	8.435	0	2	0	0,0	24,0	0,0
Imués	6.848	6.721	6.598	3	4	1	43,8	59,5	15,2
Ipiales	123.341	126.335	129.362	44	47	24	35,7	37,2	18,6
La Cruz	17.992	18.049	18.100	13	7	12	72,3	38,8	66,3
La Florida	10.295	10.116	9.953	2	8	8	19,4	79,1	80,4
La Llanada	6.198	6.127	6.045	0	1	0	0,0	16,3	0,0
La Tola	10.251	10.682	11.130	0	0	0	0,0	0,0	0,0
La Unión	27.001	26.819	26.639	15	20	13	133,3	108,1	48,8
Leiva	12.836	13.039	13.252	2	3	1	15,6	23,0	7,5
Linares	10.932	10.755	10.572	8	6	8	73,2	55,8	75,7
Los Andes	17.766	18.084	18.403	9	7	1	50,7	38,7	5,4

Municipios	Población			TOTAL CASOS			Tasa * 100.000 hb		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Magüi Payan	19.212	19.822	20.435	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Mallama	8.493	8.338	8.190	0	1	0	0,0	12,0	0,0
Mosquera	13.989	14.423	14.874	0	0	1	0,0	0,0	6,7
Nariño	4.518	4.586	4.657	0	1	0	0,0	21,8	0,0
Olaya Herrera	29.324	29.704	30.081	0	5	0	0,0	16,8	0,0
Ospina	8.500	8.547	8.590	1	1	4	11,8	11,7	46,6
Policarpa	15.270	15.583	15.889	4	9	0	26,2	57,8	0,0
Potosí	12.616	12.527	12.425	7	10	6	55,5	79,8	48,3
Providencia	12.488	12.644	12.796	2	1	1	16,0	7,9	7,8
Puerres	8.695	8.635	8.570	7	0	1	80,5	0,0	11,7
Pupiales	18.938	19.029	19.122	40	11	21	211,2	57,8	109,8
Ricaurte	16.711	17.090	17.475	7	9	13	41,9	52,7	74,4
Roberto Payán	19.557	20.132	20.725	3	0	1	15,3	0,0	4,8
Samaniego	49.995	49.906	49.816	19	28	15	86,0	56,1	54,2
San Bernardo	16.617	17.116	17.624	5	9	10	30,1	52,6	56,7
San Lorenzo	19.108	19.261	19.409	3	4	10	15,7	20,8	51,5
San Pablo	17.849	17.778	17.712	5	4	5	28,0	22,5	28,2
Sandoná	25.503	25.547	25.588	3	7	6	11,8	27,4	23,4

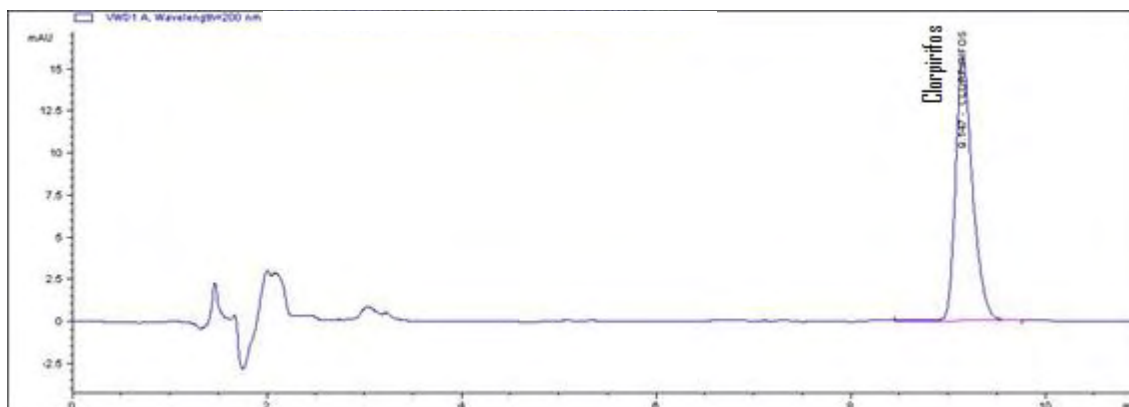
Municipios	Población			TOTAL CASOS			Tasa * 100.000 hb		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Santa Bárbara	15.034	14.993	14.937	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Santacruz	24.130	24.886	25.679	2	3	2	8,3	12,1	7,8
Sapuyes	6.903	6.797	6.681	4	4	1	57,9	58,8	15,0
Taminango	18.775	19.112	19.468	4	7	7	21,3	36,6	36,0
Tangua	10.251	10.130	10.003	4	1	1	39,0	9,9	10,0
Tumaco	179.005	183.006	187.084	58	57	28	32,4	31,1	15,0
Túquerres	41.046	40.966	40.881	20	18	18	48,7	43,9	44,0
Yacuanquer	10.477	10.582	10.678	3	3	1	28,6	28,4	9,4
TOTAL DEPARTAMENTO	1.639.569	1.660.062	1.680.795	555	495	423	33,9	29,8	25,2

ANEXO G. CROMATOGRAMAS

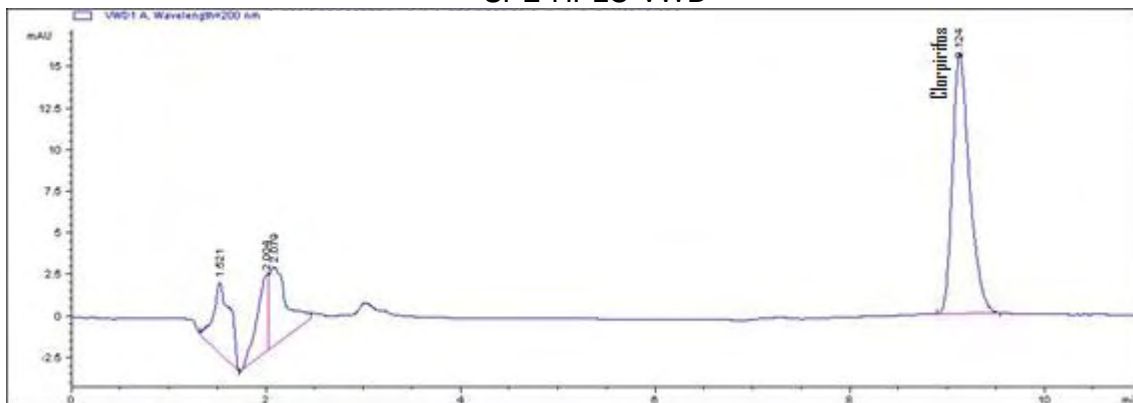
CROMATOGRAMA CONTROL CLORPIRIFOS SEMANA 1. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



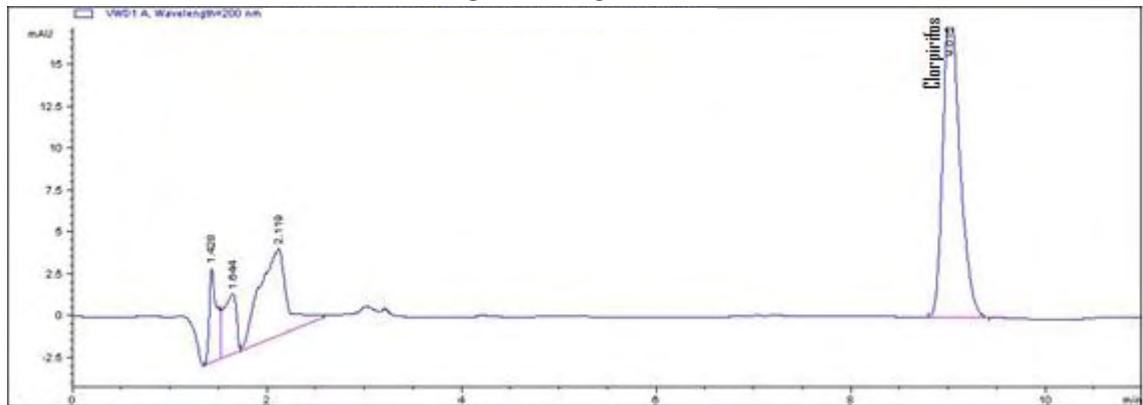
CROMATOGRAMA CONTROL CLORPIRIFOS SEMANA 2. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



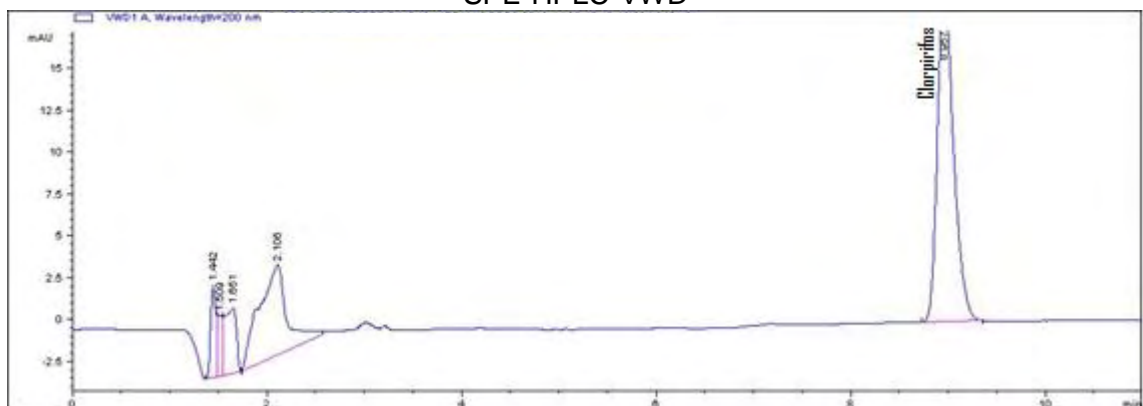
CROMATOGRAMA CONTROL CLORPIRIFOS SEMANA 3. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



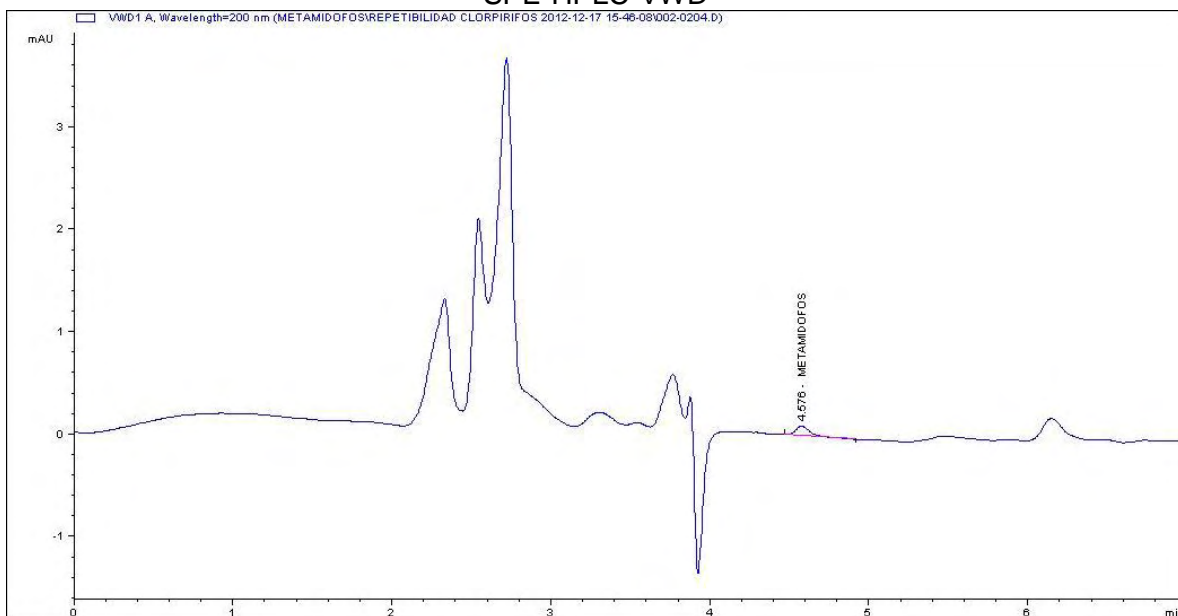
CROMATOGRAMA CONTROL CLORPIRIFOS SEMANA 4. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



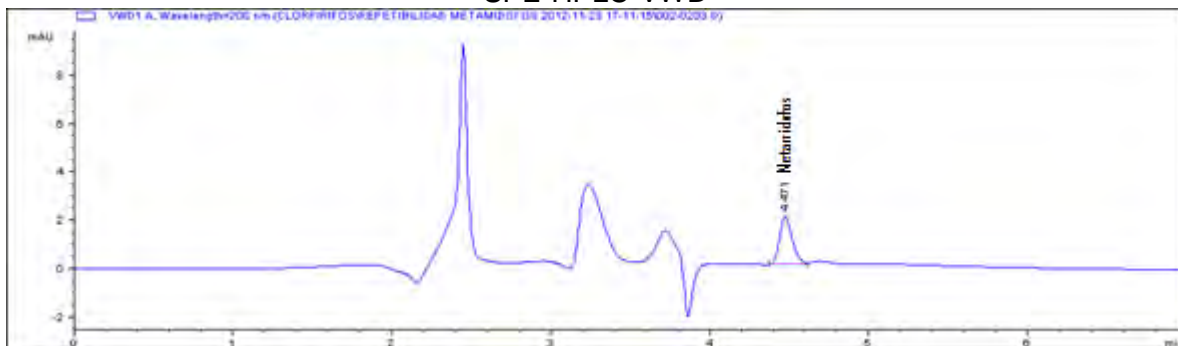
CROMATOGRAMA CONTROL CLORPIRIFOS SEMANA 5. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



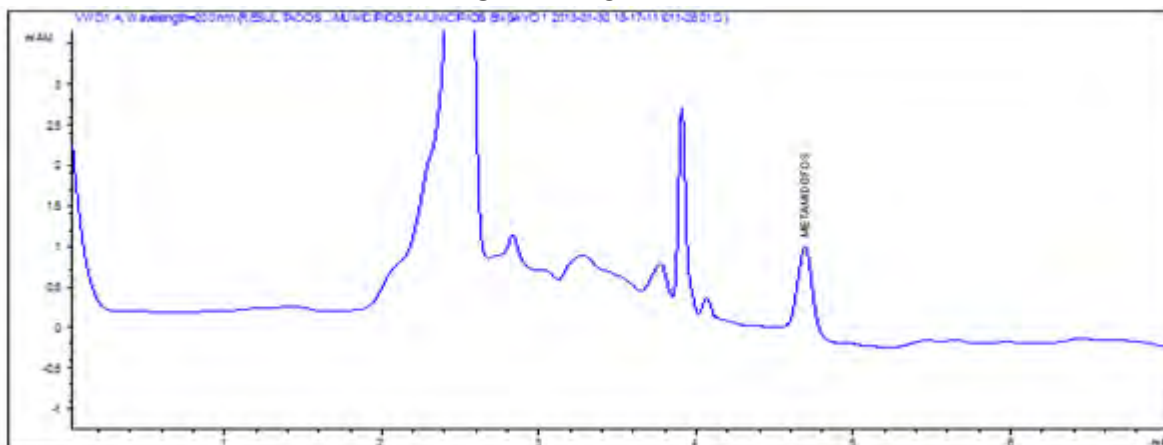
CROMATOGRAMA CONTROL METAMIDOFOS SEMANA 1. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



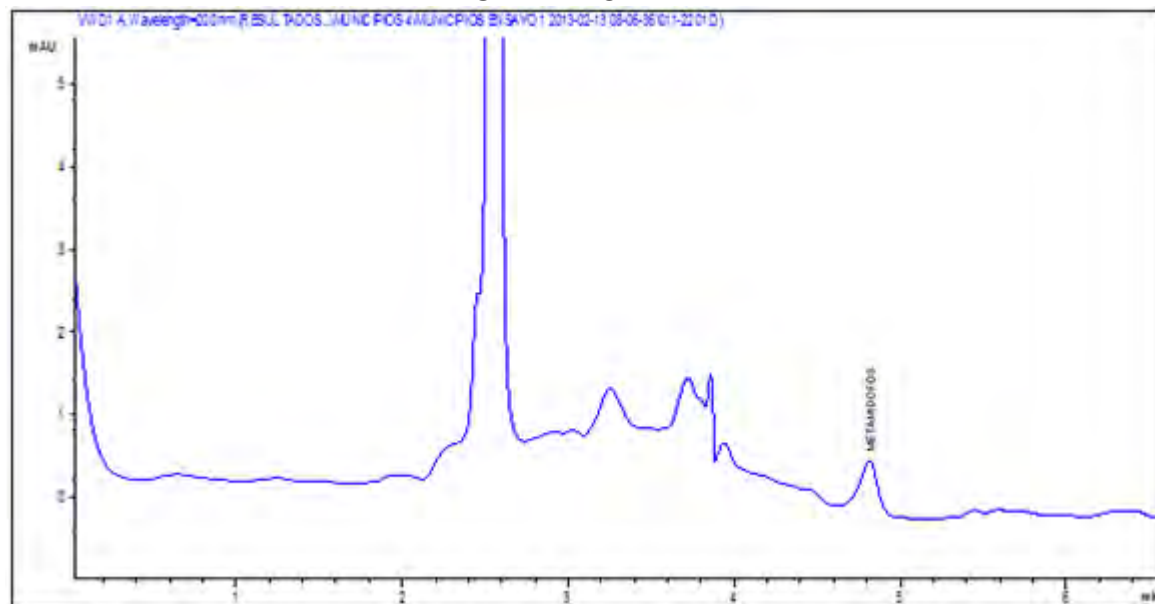
CROMATOGRAMA CONTROL METAMIDOFOS SEMANA 2. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



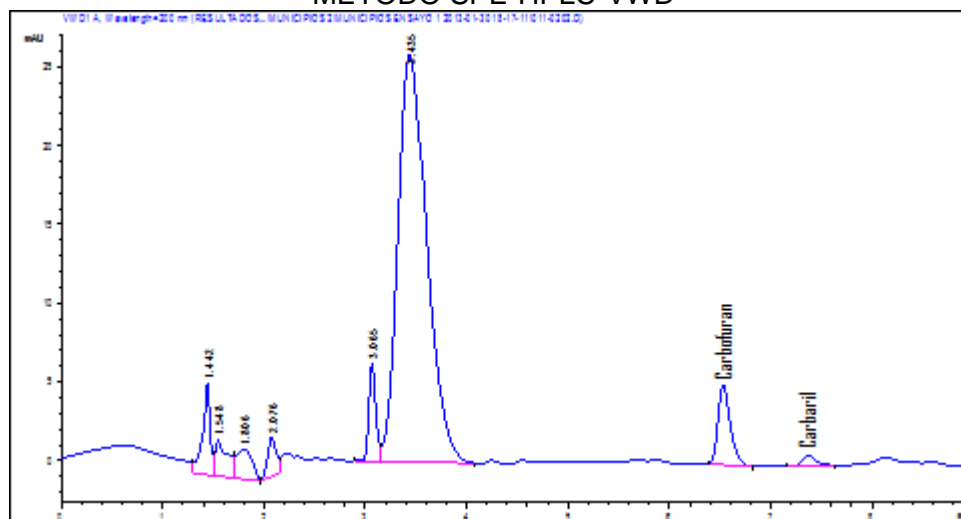
CROMATOGRAMA CONTROL METAMIDOFOS SEMANA 3. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



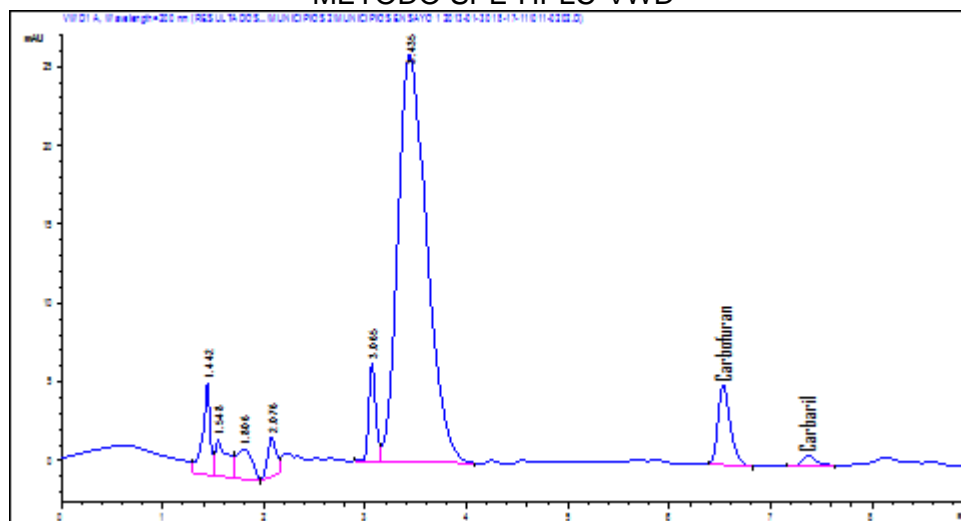
CROMATOGRAMA CONTROL METAMIDOFOS SEMANA 4. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



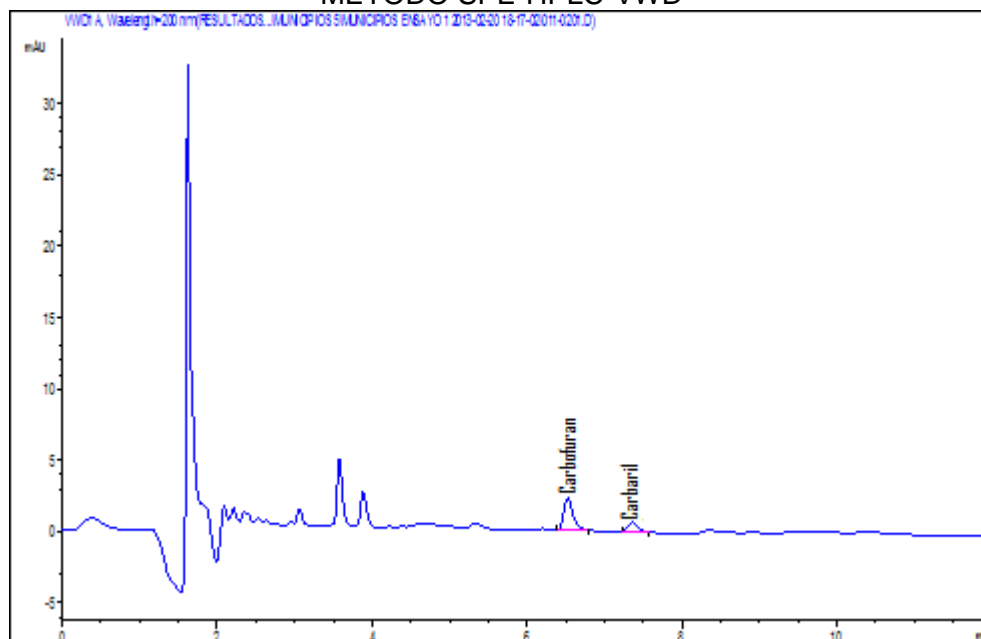
CROMATOGRAMA CONTROL CARBOFURAN Y CARBARIL SEMANA 1. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



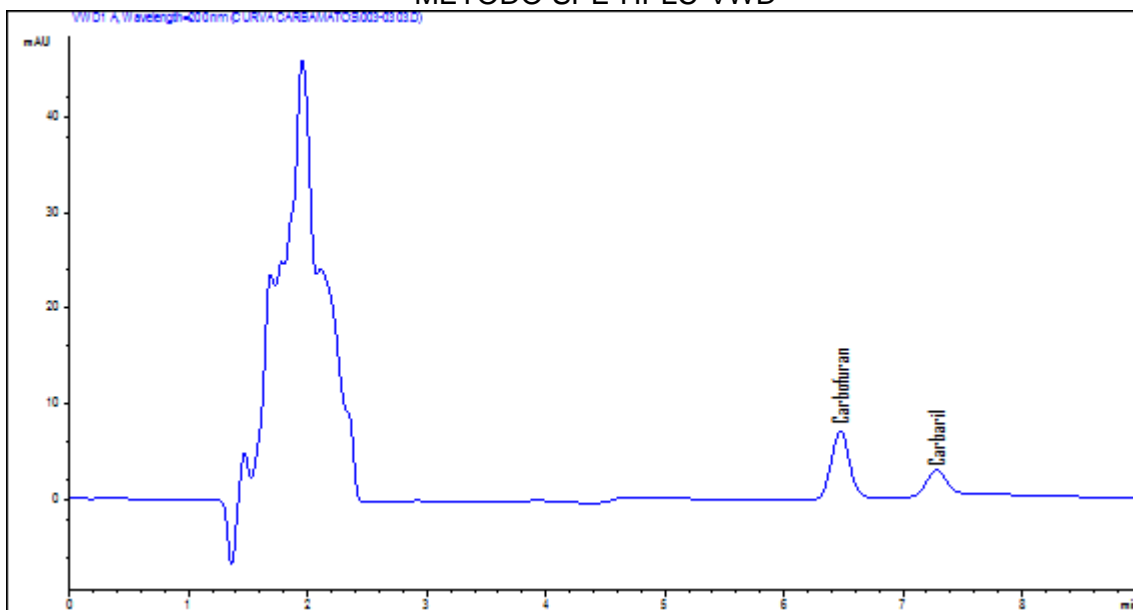
CROMATOGRAMA CONTROL CARBOFURAN Y CARBARIL SEMANA 2. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



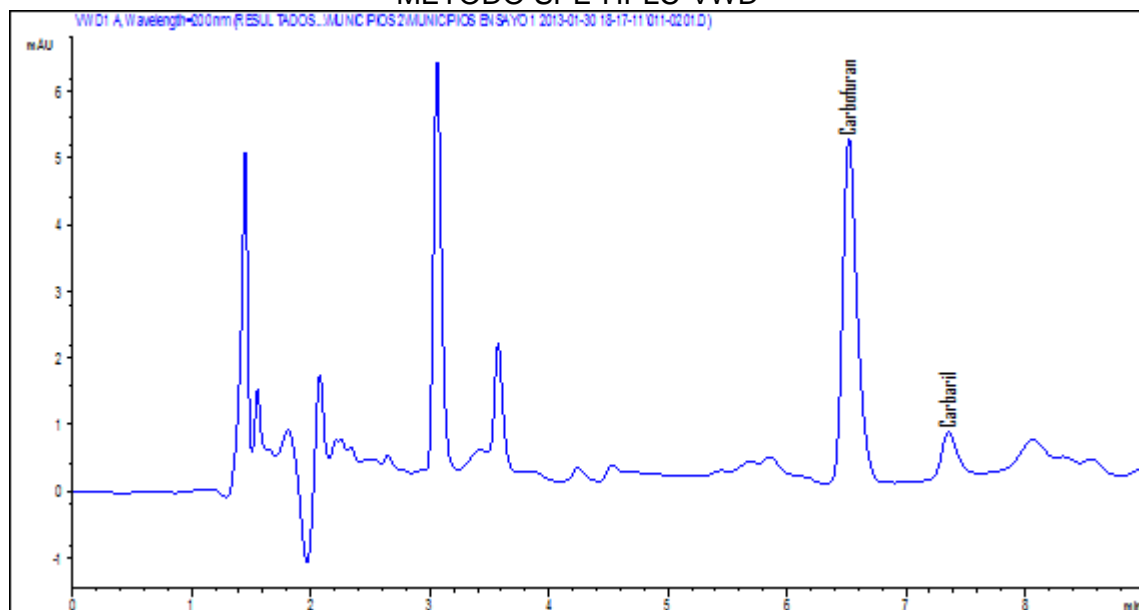
CROMATOGRAMA CONTROL CARBOFURAN Y CARBARIL SEMANA 3. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



CROMATOGRAMA CONTROL CARBOFURAN Y CARBARIL SEMANA 4. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



CROMATOGRAMA CONTROL CARBOFURAN Y CARBARIL SEMANA 5. UTILIZANDO METODO SPE-HPLC-VWD



ANEXO H. CONTROL Y VIGILANCIA DE MUESTREO



SECRETARIA DE SALUD - PERSONA PRESTADORA S.A. E.S.P. RESOLUCIÓN 08 11 5/3/08 DEPARTAMENTO		
FICHA TECNICA TOMA DE MUESTRAS DE AGUA DE CONSUMO HUMANO		
CODIGO	906H/13	
NOMBRE DEL PROYECTO	Determinación plaguicidas	
PUNTO DE MUESTREO	Cajilla N° 1 Barrio la Frontera	
MUNICIPIO	Ipiales	
FECHA TOMA DE LA MUESTRA	11 – Febrero - 2013	
HORA TOMA DE LA MUESTRA	10:30 a.m.	
MUESTRA TOMADA POR	Franklin Quenguan	
TIPO DE MUESTREO	Puntual	
OBSERVACIONES	_____	
REGISTRO FOTOGRAFICO		
	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">PUNTO DE REFERENCIA</td> <td style="width: 50%;">PUNTO DE TOMA</td> </tr> </table>	PUNTO DE REFERENCIA
PUNTO DE REFERENCIA	PUNTO DE TOMA	

Tabla N° 1 Ficha técnica toma de muestras de agua de consumo humano
Figura 1 Etiqueta para toma de muestras.

 <small>Instituto Departamental de Salud de Nariño</small>	Etiqueta de muestreo
Numero de muestra	
Punto de muestreo	
Municipio	
Fecha toma de muestra	
Hora toma de muestra	
Preservación	

CADENA DE CUSTODIA

FICHA DE TOMA DE MUESTRA, RECEPCIÓN Y RESULTADOS DE ANÁLISIS DE AGUA							
CODIGO: F-PLSPSSP01-01		VERSION: 01		FECHA: 30-04-2010			
Escriba con letra legible y con tinta negra							
No MUESTRA 7	FECHA TOMA DE MUESTRA Y HORA 11/02/2013 10:30 AM	TOMADA PARA	CONTROL	ETA	PARTICULAR <small>Recibo No.</small>	OTRO CUAL <small>Proyecto Pagaquides</small>	
Código LABORATORIO:	FECHA DE RECEPCIÓN LAB. Y HORA: 11-Febrero-13 4:30PM	NOMBRE PERSONA QUE RECIBE: Adamma			Temperatura Recepción Muestra °C = 8.0°C		
SOLICITANTE:	IDSN: <input checked="" type="checkbox"/> OTRO: <input checked="" type="checkbox"/>	ANÁLISIS SOLICITADO:	FISICOQUIMICO: <input checked="" type="checkbox"/>	MICROBIOLÓGICO: <input type="checkbox"/>			
MUNICIPIO:	Ipiales		LOCALIDAD:	Barrio La Frontera			
NOMBRE Y DIRECCIÓN DE EMPRESA DE SERVICIO Empobando - Barrio La Frontera							
LUGAR, DESCRIPCIÓN Y DIRECCIÓN DEL PUNTO DE TOMA DE MUESTRA: Cajilla No 1 - Barrio La Frontera CÓDIGO DE CONCERTACIÓN: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>							
EL PUNTO ES: CONCERTADO: SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> INTRADOMICILIARIO: SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> BICADO EN RED: SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>							
NOMBRE DE LA FUENTE DE ABASTECIMIENTO Y UBICACIÓN DE BOCATOMA: Rio-Banco - Carlogama							
MUESTRA TOMADA POR: (Nombre y Apellidos) Franklin E. Quenguan C.							
CLASE DE MUESTRA:	CONSUMO HUMANO: <input checked="" type="checkbox"/>		OTRO USO CUAL?				
TIPO DE MUESTRA:	CRUDA: <input type="checkbox"/>	TRATADA: <input checked="" type="checkbox"/>	VALOR CLORO RESIDUAL:	NOMBRE COAGULANTE:			
OBSERVACIONES:							
Muestra Rechazada Por:							
Laboratorio de Salud Pública de Nariño, Calle 27 con Cra 24 Respaldo Hospital Civil. Teléfono: 7212102. Telefax: 7201935. PASTO, CARRERA							

FICHA DE TOMA DE MUESTRA, RECEPCIÓN Y RESULTADOS DE ANÁLISIS DE AGUA							
CODIGO: F-PLSPSSP01-01		VERSION: 01		FECHA: 30-04-2010			
Espacio exclusivo para Laboratorio							
PARAMETRO Físicoquímico	RESULTADO	PARAMETRO Físicoquímico	RESULTADO	PARAMETRO MICROBIOLÓGICO	RESULTADO		
Color Aparénte	7	Aluminio		Coliformes Totales /100 ml			
Turbiedad	1.8	Fluoruros		E. Coli /100 ml			
pH	6.30	COT (Carbono Organico Total)		Presencia de Vibrio Cholerae			
Alcalinidad Total	19.4	Cadmio					
Fosfatos		Cobre					
Zinc		Piomo					
Dureza Total		Plaguicidas Organofosforados y Carbamatos					
Sulfatos		Conductividad	198.0				
Hierro Total							
Cloruros							
Nitros	ND						
CONFORME		NO CONFORME POR		SIN CONCEPTO		CONFORME	
						NO CONFORME POR	
						SIN CONCEPTO	
RESPONSABLE FÍSICO-QUÍMICO Franklin Q.		FECHA/HORA ANÁLISIS 11-Febrero-2013 5:30PM		RESPONSABLE MICROBIOL		FECHA/HORA LECTURA	
S/NORMA: Res. 2115/07		Otra:		S/NORMA: Res. 2115/07		Ite	
OBSERVACIONES:							
REPORTE DE RESULTADOS:							
TRANSCRIBIR: _____ Nombre y Fecha							
APRUEBA FQ: _____ Nombre y Fecha				APRUEBA MB: _____ Nombre y Fecha			
Visita Nariño Página web: www.idsn.gov.ec							
Calle 15 No. 2B - 41 Plazuela de Bombona - teléfonos: 723 5314 - 723 2259 - 723 2260 - San Juan de Pasto							